

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Миролюбов Алексей Александрович

Особенности строения интерны корнеголовых раков
(Cirripedia: Rhizocephala)

03.02.11 — Паразитология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель,
доктор биологических наук,
Галактионов
Кирилл Владимирович

Санкт-Петербург
2020

Оглавление

| | |
|--|-----|
| Введение | 3 |
| Глава 1 Обзор литературных данных | 10 |
| 1.1 Морфологический очерк | 10 |
| 1.1.1 Общая морфология паразитических самок | 10 |
| 1.1.1.1 Интерна | 10 |
| 1.1.1.2 Экстерна | 16 |
| 1.2 Жизненный цикл <i>Rhizocephala</i> | 18 |
| 1.3 Колониальность | 23 |
| 1.4 Происхождение и систематика <i>Rhizocephala</i> | 24 |
| 1.5 Влияние паразита на хозяина | 33 |
| 1.6 Специфичность к хозяину | 35 |
| Глава 2 Материал и методика | 36 |
| Глава 3 Результаты и обсуждение | 37 |
| 3.1 Региональная дифференциация тканей интерны <i>Peltogaster paguri</i> | 39 |
| 3.1.1 Результаты | 39 |
| 3.1.2 Обсуждение | 66 |
| 3.2.1 Мышечные системы интерны | 72 |
| 3.2.1 Результаты | 72 |
| 3.2.2 Обсуждение | 80 |
| 3.3 Взаимодействие с нервной системой хозяина | 83 |
| 3.3.1 Результаты | 83 |
| 3.3.2 Обсуждение | 105 |
| Заключение | 109 |
| Выводы | 111 |
| Список литературы | 113 |

Введение

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Rhizocephala — корнеголовые ракообразные — надотряд уникальных и высоко специализированных облигатных паразитов, входящий в состав инфракласса Cirripedia (усоногие раки). Основной круг хозяев корнеголовых — десятиногие ракообразные. Являясь одними из самых сильно модифицированных многоклеточных паразитов, корнеголовые ракообразные представляют большой интерес с точки зрения фундаментальной науки. Однако до сих пор далеко не все аспекты морфофункциональной организации и биологии этих паразитов детально изучены.

Глубокие адаптации к эндопаразитическому образу жизни отразились на многих аспектах биологии ризоцефал. Сильное видоизменение претерпели строение, физиология и жизненные циклы этих животных. Будучи полостными паразитами других ракообразных, корнеголовые раки полностью утратили не только сегментацию, но и практически все остальные признаки, присущие свободноживущим ракообразным. К телу взрослой самки невозможно применять даже понятия осей тела (передне-задней и дорсо-вентральной). Несмотря на значительные морфологические упрощения, ризоцефалы в ходе эволюции приобрели ряд специфических регуляторных механизмов, позволяющих им брать под контроль тело хозяина. Они способны изменять внешний облик, гормональный и физиологический статус, а также поведение зараженного хозяина. Тело взрослого паразита представлено системой ветвящихся нерасчлененных столонов (интерной), расположенных в полости тела хозяина, и мешковидным образованием, вынесенным за пределы тела хозяина и выполняющим репродуктивную функцию (экстерна). Карликовые самцы демонстрируют такую степень редукции, что от них, в конечном счете, остается только сперматогенная ткань, которая инкорпорируется в организм самки в виде ложной «гонады». Пищеварительная система утрачена на всех стадиях жизненного цикла ризоцефал. Питание паразита происходит исключительно через покровы. Полностью отсутствуют какие-либо специализированные распределительные системы и выделительная система. Интерна корнеголовых ракообразных обычно рассматривается как некая гомогенная структура, имеющая одинаковое строение на всем протяжении, однако в последнее время появляется все больше доказательств наличия региональной дифференциации тканей интерны.

Еще одна адаптация к эндопаразитическому образу жизни — это сильно модифицированный жизненный цикл корнеголовых раков. Взрослое животное паразитирует в теле хозяина и производит огромное количество расселительных личинок — науплиусов

(единственная стадия жизненного цикла, которая не претерпела значительных изменений). Личинка прикрепляется к хозяину, и в ходе сложного метаморфоза формирует капсулу (кентрогон), предназначенную для пенетрации покровов хозяина и впрыскивания внутрь его тела группы зародышевых клеток (вермигон). При этом остальное тело личинки отмирает. Следует обратить особое внимание на то, что вермигон не наследует от личинки никаких органов, включая нервную и мышечную систему. Однако, согласно литературным данным, у взрослого организма находили мышечные и нервные клетки (Høeg, 1995; Bresciani, Høeg, 2001). К сожалению, литературные данные относительно мышечной системы взрослого организма корнеголовых раков крайне скудны и касаются в основном мускулатуры экстерны. Таким образом, тело взрослого животного полностью формируется заново в течение одного онтогенеза, что безусловно вызывает большой интерес к ризоцефалам.

Кроме того, отмеченное выше регулирующее воздействие корнеголовых раков на организм хозяина подразумевает наличие сложных паразито-хозяинных взаимоотношений. Однако до недавнего времени было не понятно, с помощью каких морфологических структур и молекулярных механизмов, как со стороны паразита, так и со стороны хозяина, осуществляется это взаимодействие.

Все вышесказанное свидетельствует, что до сих пор в биологии корнеголовых ракообразных остается много неисследованных аспектов, что и послужило побудительным мотивом для проведения настоящего исследования.

Цель работы:

На примере нескольких видов корнеголовых ракообразных, относящихся к разным семействам, выявить и описать особенности строения и региональную дифференциацию тканей интерны и проследить ее структурно-функциональные связи с организмом хозяина.

Основные задачи исследования:

1. Исследовать региональную дифференциацию тканей интерны на примере вида *Peltogaster paguri*.
2. Описать строение мышечной системы интерны у представителей двух семейств корнеголовых (*Sacculinidae* и *Peltogastridae*) ракообразных и сравнить их.
3. Описать строение столонов паразита, ассоциированных с ганглиями нервной системы хозяина, и сравнить их строение у представителей двух семейств корнеголовых ракообразных (*Sacculinidae*, *Peltogastridae*).
4. Исследовать особенности взаимодействия трофических столонов интерны с участками периферической нервной системы хозяина.

Научная новизна

Впервые для представителей таксона Rhizocerphala проведено сравнение гистологической структуры столонов в разных участках интерны. Обнаружена региональная дифференциация тканей интерны, найдены и впервые описаны ранее неизвестные структуры, такие как якорный диск и бокаловидные органы.

Впервые для корнеголовых ракообразных обнаружена и описана мышечная система столонов интерны на примере представителей двух семейств (Peltogastridae и Sacculinidae). Мышечные системы обследованных организмов оказались уникальны по своей архитектонике и не имеют аналогов в животном мире.

Исследован феномен взаимодействия корнеголовых ракообразных с нервной системой хозяина. Обнаружено, что эти паразиты обладают как минимум двумя точками прямого контакта с нервной системой хозяина: (1) специализированные органы (модифицированные столоны), прорастающие в толщу нервных ганглиев брюшной нервной цепочки хозяина, и (2) оплетение трофических столонов паразита периферическими нервами хозяина. При этом части тела паразита, принимающие участие в этом взаимодействии, сильно модифицированы на уровне тканевых и клеточных структур. В местах такого взаимодействия интерна испытывает особую дифференцировку своей структуры и ультраструктуры, что указывает на выполнение специализированных функций, отличных от тех, которые свойственны остальным частям тела паразита.

Основные положения, выносимые на защиту

- 1) Корнеголовые ракообразные обладают ярко выраженной региональной дифференциацией тканей интерны. Разные отделы интерны различаются между собой по тканевой организации и ультраструктуре.
- 2) Интерна корнеголовых ракообразных обладает хорошо развитой мышечной системой. Архитектоника этой мышечной системы уникальна и не имеет аналогов среди других животных.
- 3) Корнеголовые ракообразные обладают как минимум двумя точками прямого контакта с нервной системой хозяина.

Теоретическая и практическая значимость

Корнеголовые ракообразные являются одними из наиболее специализированных и, вследствие этого, модифицированных многоклеточных паразитов. Изучение особенностей их строения и характера паразито-хозяйинных взаимодействий важно для понимания и реконструкции эволюции этой группы животных и путей становления паразитизма в целом. Исследование взаимодействия паразитов с нервной системой хозяина позволит лучше понять структуру и функционирование нервных систем беспозвоночных животных.

Кроме того, корнеголовые ракообразные представляют огромный интерес не только для фундаментальной науки, но и для прикладных исследований, так как являются паразитами промысловых видов десятиногих ракообразных. В настоящее время во многих странах идет развитие хозяйств аквакультуры, где в том числе выращиваются и десятиногие ракообразные. Экстенсивность инвазии ризоцефалами в условиях высоких плотностей популяций хозяев может достигать крайне высоких значений. Учитывая, что паразиты вызывают паразитарную кастрацию хозяев, это может приводить к вымиранию маточного стада, к потере товарного качества продукции и, как следствие, к огромным убыткам аквахозяйств. Наше исследование приближает к пониманию физиологии взаимодействий паразитов с их хозяевами и его результаты могут быть использованы при разработке мер борьбы с паразитами в аквакультуре ракообразных.

Апробации

Материалы диссертации были представлены на следующих конференциях:

- VI Всероссийская конференция с международным участием «Школа по теоретической и морской паразитологии» (Севастополь, 2016).
- III Всероссийская конференция с международным участием к 110-летию со дня рождения академика А.В. Иванова «Современные проблемы эволюционной морфологии животных» (Санкт-Петербург, 2016)
- 4-й Международный конгресс по морфологии беспозвоночных (4th International Congress on Invertebrate Morphology) (Москва, 2017)
- Всероссийская конференция «Ракообразные: разнообразие, экология, эволюция» (Москва, 2017)
- ЗООЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ – НОВЫЙ ВЕК, посвященная 160-летию со дня основания кафедры зоологии беспозвоночных Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, 2018).
- Международная конференция «Современная паразитология — основные тренды и вызовы» (Санкт-Петербург, 2018)
- 2-я Студенческая Научная сессия Учебно-научной базы «Беломорская» (Санкт-Петербург, 2018)
- Беломорская студенческая научная сессия — 2019 (Санкт-Петербург, 2019)
- Отчетная сессия ЗИН РАН (Санкт-Петербург, 2019)
- Беломорская студенческая научная сессия — 2020 (Санкт-Петербург, 2020)

Публикации

Основные положения диссертации изложены в 5 печатных работах, из них в изданиях, рекомендованных ВАК РФ – 3, включая 3 в журналах индексируемых Web of Science и Scopus.

Структура и объем диссертации

Работа состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и списка литературы. Основная часть работы изложена на 120 страницах и содержит 41 рисунок. Список литературы включает 89 наименований, из которых 4 на русском языке и 85 на других языках.

Благодарности

В первую очередь хочу поблагодарить моего научного руководителя К.В. Галактионова за помощь в работе и руководство при выполнении диссертации. Отдельную благодарность хотелось бы выразить А.А. Добровольскому за неоценимый вклад как в эту диссертацию, так и в развитие направления изучения корнеголовых ракообразных. Так же я хочу поблагодарить Д.Ю. Крупенко за помощь в редактировании текста, С.А. Илюткина, А.Д. Лянгузову, Н.Е. Лапшина и Н.А. Арбузову за помощь и активное участие в изучении корнеголовых ракообразных. Отдельную благодарность хотелось бы выразить И.И. Адамейко (медицинский университет Вены) за помощь в проведении иммуногистохимических окрашиваний, Йенсу Хёгу Jens Нюег (университет Копенгагена) и Хенрику Гленнеру Henrik Glenner (университет Бергена) за ценные комментарии. Кроме того, хотелось бы выразить благодарность всем сотрудникам лаборатории по изучению паразитических червей и протистов ЗИН РАН. Исследование выполнено при поддержке сотрудников ЦКП ЗИН РАН «Таксон» (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/3038/>), ресурсных центров СПбГУ «Микроскопии и микроанализа» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

Работа выполнена в рамках тем государственных заданий № АААА-А17-117030310322-3 и АААА-А19-119020690109-2 в лаборатории по изучению паразитических червей и протистов ЗИН РАН. Работа также поддержана грантами РФФИ №18-34-00727, №20-04-00097 и РНФ № 18-14-00170.

Глава 1 Обзор литературных данных

Надотряд корнеголовых ракообразных традиционно делился на два отряда: Kentrogonida, имеющие в своём развитии стадию кентрогона и Akentrogonida, вторично утратившие эту стадию жизненного цикла. Однако в настоящее время данные молекулярной систематики указывают на то, что оба этих таксона является парафилетическими и систематика корнеголовых ракообразных несколько сложнее, чем представлялось ранее (Nøeg et al., 2019). Однако названия «Kentrogonida» и «Akentrogonida» можно использовать для обозначения жизненных форм. В данной работе мы не касаемся тонкостей филогении этой группы, поэтому в дальнейшем будем использовать традиционную систематику.

1.1 Морфологический очерк

1.1.1 Общая морфология паразитических самок

1.1.1.1 Интерна

Тело взрослой самки всех представителей Rhizocerphala делится, как минимум, на две функциональные части. В туловище хозяина располагается интерна, которая и является непосредственным телом паразита. Основная функция интерны — трофическая. Кроме интерны, существует еще наружная часть тела — экстерна, которая выполняет функции размножения. Следует отметить, что экстерна это только временное образование. Она формируется лишь у полностью развитой интерны и, после завершения генеративной функции разрушается и затем может закладываться заново.

Детали строения интерны могут различаться у разных видов. В некоторых случаях интерна может подразделяться на несколько отделов, каждый из которых выполняет строго определенные функции. Так, у большинства представителей группы Kentrogonida в интерне можно выделить трофическую часть интерны и репродуктивную (Bresciani, Nøeg, 2001; Shukalyuk et al., 2001). Строение экстерны также сильно варьирует у форм, относящихся к разным таксонам (Nøeg, 1995).

Структура столона

К сожалению, литературы, касающейся морфологии и ультраструктуры интерны, сравнительно мало, поэтому большинство приведенных сведений почерпнуты из наиболее детального исследования Брешиани и Хега (Bresciani, Nøeg, 2001).

У представителей разных семейств интерна устроена по-разному. Она может быть представлена диффузной системой нерегулярно ветвящихся столонов. Такую организацию

интерны можно наблюдать у представителей многих семейств (*Sacculinidae*, *Thomsoniidae*, *Polysaccidae*, *Duplorbidae*). В некоторых случаях интерна также представлена хаотично ветвящимися столонами, но при этом не пронизывает все тело хозяина, а локализована более или менее компактно. В таком случае столонны паразита формируют компактные и плотные скопления. Интерна такого типа характерна для представителей семейств *Lernaeodiscidae*, *Mycetomorphidae* и *Clistosaccidae*. У семейства *Peltogastridae* наблюдается иной тип строения интерны. Обычно присутствует крупный стolon, от которого во множестве отходят боковые ветви.

Гистологическая и ультратонкая организация интерны

Кутикула

Стolon интерны покрыт сверху тонкой кутикулой, под которой залегают клетки гиподермы (эпидермиса), расположенные в один слой. Еще глубже располагаются аксиальные клетки. По литературным данным (Bresciani, Нøег 2001), аксиальные клетки также образуют один слой. В центре столонна часто формируется полость. Она образует канала, который тянется вдоль значительной части тела паразита.

Снаружи столонны могут быть покрыты клетками и тканями хозяина. Иногда вокруг тела паразита обнаруживаются той или иной формы волокна, в том числе и коллагеновые (Bresciani, Нøег, 2001). Однако такая картина наблюдается не всегда. Довольно часто поверхность тела непосредственно омывается гемолимфой хозяина.

Наряду с пограничной, кутикула интерны *Rhizosephala* выполняет еще и трофическую функцию, так как через нее осуществляется процесс транспорта веществ из полости хозяина в тело паразита (Bresciani, Нøег, 2001).

Согласно литературным данным (Bresciani, Нøег, 2001), кутикула покрывает всю интерну целиком. Химический состав изучен недостаточно, известно лишь, что в составе кутикулы обнаружен хитин.

Процессы, связанные с линькой растущих интерн, в литературе никем не были отмечены. Также не было обнаружено образование новой кутикулы под старой, или каких-либо остатков сброшенной кутикулы (Bresciani, Нøег, 2001).

Кутикула *Rhizosephala* состоит из двух слоев. Верхний слой тонкий и электронно-плотный. Толщина этого слоя составляет примерно 15 нм. На электронных микрофотографиях этот слой очень хорошо различим.

Внутренний слой кутикулы гораздо более толстый и электронно-прозрачный, его толщина составляет около 0.1 мкм, но иногда может достигать и 0.5 мкм. В этом слое иногда обнаруживаются гранулы и фибриллы неизвестной природы (Bresciani, Нøег, 2001).

Апикальная поверхность кутикулы формирует множество микровыростов, которые, по мнению описавших их авторов (Bresciani, Нøег, 2001), очень сильно увеличивают площадь поверхности интерны. Данные образования хорошо видны на электронных фотографиях, полученных с помощью ТЕМ и SEM, а также хорошо выявляются методом замораживания-скальвания (Bresciani, Нøег, 2001). Длина микровыростов обычно значительно превышает толщину самой кутикулы. Именно поэтому слой микровыростов воспринимается как кутикула при исследовании методом световой микроскопии. Каждый микровырост включает оба основных слоя кутикулы: его центральная часть состоит из электронно-прозрачного материала кутикулы, который сверху покрыт тонким электронно-плотным слоем. Однако у некоторых видов кутикулярные выросты могут быть очень тонкими и тогда они почти полностью лишены электронно-прозрачного матрикса. Микровыросты кутикулы могут ветвиться, количество ветвлений зависит от вида. Наличие подобных микровыростов характерно почти для всей группы *Rhizocephala*. Единственный вид, полностью лишенный микровыростов, это — *Chthamophilus delagei*. Но у разных видов структура, длина, толщина и (плотность) этих микровыростов (Bresciani, Нøег, 2001) может различаться.

У интерны *Sacculina carcini* обнаружены участки кутикулы, полностью лишенные кутикулярных выростов (Bresciani, Нøег, 2001), однако авторы не смогли найти никакой закономерности в их расположении на поверхности столонов. По-видимому, и место расположения столонов в теле хозяин тоже не влияет на их поверхностную структуру.

У вида *Peltogaster paguri* микровыросты представлены двумя типами: короткие и длинные. Таким образом, слой микровыростов условно можно разделить на два отдела: внешний, где присутствуют только длинные микровыросты, и внутренний. Длинные выросты располагаются довольно редко, поэтому внешний слой кажется достаточно разреженным. Короткие микровыросты располагаются между длинными, и все вместе они образуют плотный внутренний слой (Bresciani, Нøег, 2001).

Строение кутикулы науплиуса и циприсовидной личики *Rhizocephala* сходно с кутикулой личинок свободноживущих ракообразных (Collis, Walker, 1994; Walossek et al., 1996). Кутикулу подстилает однослойный эпителий — гиподерма (Bresciani, Нøег, 2001). Авторы не обнаружили никаких специальных клеточных контактов (полудесмосом) между эпителием и кутикулой. Такие же результаты были получены и в более раннем исследовании на *S. carcini* (Vocquet-Vedrine et al., 1977). Между кутикулой и эпидермисом существует довольно обширное субкутикулярное пространство, так как кутикула неплотно прилегает к эпидермису.

Апикальная мембрана эпидермиса образует множество неправильных складок и выпячиваний, которые и располагаются в этом субкутикулярном пространстве. Вероятно, это нужно для увеличения площади поверхности апикальной мембраны (Bresciani, Nøeg, 2001). В некоторых участках электронно-прозрачный слой кутикулы может заходить между апикальными микроворсиками эпителиальных клеток.

По некоторым данным, у *S. carcini* микровилли эпидермиса могут проходить сквозь кутикулу и достигать гемолимфы хозяина (Bocquet-Védrine et al., 1977). Однако более подробные исследования покровов *S. carcini* и других видов ризецефал не подтвердили эти наблюдения (Bresciani, Nøeg, 2001).

У некоторых видов, в том числе и у *S. carcini*, на ультратонких срезах в покровах были обнаружены везикулы, природа которых остается неизвестной (Bresciani, Nøeg, 2001). Они встречаются поодиночке или небольшими группами в толще кутикулы и в субкутикулярном пространстве. Везикулы одеты электронно-плотной оболочкой, которая напоминает либо клеточную мембрану, либо электронно-плотный наружный слой кутикулы. На некоторых электронных фотографиях отчетливо видно слияние оболочки пузырька с электронно-плотным внешним слоем кутикулы (Bresciani, Nøeg, 2001). Однако авторы статьи специально отмечают, что им ни разу не удалось наблюдать слияния этих везикул с апикальной мембраной эпителия (Bresciani, Nøeg, 2001).

Гиподерма

Непосредственно под кутикулой расположены клетки гиподермы, которые формируют хорошо различимый клеточный слой. Как уже было сказано выше, апикальная мембрана эпителиальных клеток образует множество складок, выпячиваний и инвагинаций. Считается, что такая складчатость очень сильно увеличивает площадь поверхности мембраны. Между собой клетки эпидермиса соединены множественными септированными десмосомами, которые изолируют субкутикулярное пространство от нижележащих слоев клеток. При этом, однако, слой клеток гиподермы не подстилается базальной пластинкой (Bresciani, Nøeg, 2001).

Клетки эпидермиса физиологически очень активны: в них во множестве встречаются митохондрии, диктиосомы аппарата Гольджи и разнообразные везикулы. Кроме того, на ультратонких срезах хорошо видны опушенные везикулы. Последние обнаружены как в цитоплазме эпидермальных клеток, так и в момент их формирования на апикальной мембране (Bresciani, Nøeg, 2001).

Аксиальные клетки

Под гиподермой располагается слой аксиальных клеток. По имеющимся в литературе данным, они располагаются в один слой (Bresciani, Нøег, 2001). На обычных гистологических срезах аксиальные клетки окрашивается темнее эпидермальных, а на ультратонких срезах цитоплазма этих клеток более электронно-плотная. По мнению авторов (Bresciani, Нøег, 2001), эта разница в окраске обусловлена присутствием большого количества липидных капель и эндоплазматического ретикулума в их цитоплазме. В клетках гиподермы также встречаются липидные капли, но они не так многочисленны и крупны (Bresciani, Нøег, 2001).

Мышцы

Уолкер (Walker, цит. по Bresciani, Нøег, 2001) отмечал, что при вскрытии хозяина столоны паразита способны немного сокращаться. Это заставляло предполагать, что интерна должны содержать мышечные элементы, однако упоминание о таких структурах в морфологических работах отсутствовало. Лишь в 2001 г. Брешиани и Хег на ультратонких срезах через интерну *Sacculina carcini* обнаружили участки настоящих мышечных волокон (Bresciani, Нøег, 2001). Они описали концевые участки мышечных клеток с характерными коническими полудесмосомами. Авторы предположили, что, возможно, хотя бы часть мышечных клеток крепится непосредственно к кутикуле (Bresciani, Нøег, 2001). Более полное описание всей мышечной системы интерн корнеголовых раков до выполнения нашей работы в литературе отсутствовало.

Центральный канал

В центральной части столона обычно располагается заполненная жидкостью полость — центральный канал (Нøег, 1995; Bresciani, Нøег, 2001). В большинстве случаев он представляет собой правильный цилиндрический просвет, который достаточно четко отграничен от окружающего его слоя аксиальных клеток. У некоторых видов, например, у *Clistosaccus paguri*, центральный канал замещается системой лакун, залегающих в межклеточных пространствах слоя аксиальных клеток (Bresciani, Нøег, 2001). У ряда представителей «Akentrogonida» центральный канал, как правило, отсутствует полностью. В лучшем случае, его удастся обнаружить только в самых крупных столонах.

Канал не отграничен от поверхности аксиальных клеток слоем внеклеточного матрикса (Bresciani, Нøег, 2001).

При изучении ультратонких срезов через интерну *Peltogagestrella* sp. были обнаружены картины, напоминающие процесс голокриновой секреции липидов в просвет канала (Shukalyuk et al., 2001).

Брешиани и Хег (Bresciani, Нюег, 2001) предполагают, что центральный канал выполняет функцию распределительной системы. Однако остается открытым вопрос, каков механизм, обеспечивающий перемещение жидкости в канале.

Стволовые клетки

У некоторых, так называемых «колониальных» представителей корнеголовых раков, в просвете центрального канала были обнаружены предположительно тотипотентные стволовые клетки (Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005). Наиболее часто их находили рядом с местом образования новых почек экстерн и в составе самих почек. Как считают авторы этих исследований, на принадлежность этих клеток к стволовым указывает их морфология. Клетки обладают крупным пузырьковидным ядром с деспирализованным хроматином и крупным ядрышком. Базофильная цитоплазма занимает относительно небольшой объём клетки, что свидетельствует о высоком ядерно-цитоплазматическом отношении, как правило, характерном для стволовых клеток. При этом, в этих же клетках авторы обнаружили высокую активность щелочной фосфатазы, что является маркером стволовых клеток у млекопитающих. Авторы предполагают, что эти стволовые клетки могут дифференцироваться в любые клетки тканей паразита. В частности из них развиваются линии половых и соматических клеток как экстерны, так и интерны (Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005). Однако данное предположение пока что не было подтверждено современными методиками и поэтому ещё рано с уверенностью судить о природе этих клеток.

Фолликулы

Для многих представителей группы *Kentrogonida* характерно наличие утолщений на концах некоторых периферических столонов. Эти вздутия в литературе называются фолликулами (Bresciani, Нюег, 2001). У представителей разных семейств расположение таких фолликулов может немного различаться. Для видов сем. *Peltogastridae* характерно наличие фолликулов на концах столонов, располагающихся в цефалотораксе хозяина. Боковые ветви, отходящие от главного столона в абдомене, не несут никаких фолликулов на своих концах (Bresciani, Нюег, 2001). У рода *Peltogaster* эти фолликулы хорошо различимы, так как они бесцветны и прозрачны в отличие от окрашенных в зеленый цвет столонов интерны (Bresciani, Нюег, 2001). Согласно литературным данным (Dornesco, Fischer-Piette, 1931; Perez, 1937), в фолликулах отсутствуют аксиальные клетки. Пэрэц (Perez, 1937) считает, что фолликулы являются местами роста столона .

Как уже было сказано выше, фолликулы можно обнаружить лишь на части столонов у представителей всех трех семейств Kentrogonida. У Akentrogonida такие фолликулы не найдены (Bresciani, Нøeg, 2001).

Нервная система

В литературе имеются крайне скудные данные о нервной системе Rhizocerphala. Известно лишь, что у некоторых представителей сем. Sacculinida в экстерне находили нечто похожее на ганглий (Нøeg, 1995). Никаких данных, касающихся нервной системы интерны и происхождения нервной системы, в доступной литературе нет вообще.

1.1.1.2 Экстерна

Как уже было сказано выше, экстерна это наружная часть тела паразита, которая образуется в период его полового созревания. Экстерна соединена с располагающейся в теле хозяина интерной. Полностью сформированная экстерна представляет собой той или иной формы мешковидное образование, на одном из полюсов которого расположено небольшое отверстие — пора. Оно ведет в обширную полость, обычно называемую «мантийной». У молодых, еще только приступающих к размножению экстерн, значительная часть внутреннего пространства занята разрастанием его базальной стенки, в котором располагается яичник. Мантийная полость при этом становится щелевидной. У полностью зрелых экстерн объем яичника уменьшается, а вот объем мантийной полости резко возрастает. В нее из яичника поступают яйца, которые здесь же претерпевают дальнейшее развитие, вплоть до окончательного формирования личинки. Мантийная полость функционально становится выводкой камерой.

У представителей группы Kentrogonida по бокам от яичника в основании экстерны находятся два рецептакула, где располагается пара крайне редуцированных самцов.

Снаружи тело экстерны покрыто достаточно толстой кутикулой. Такая же кутикула, но только значительно более тонкая и эластичная, одевает внутреннюю поверхность мантийной полости.

Под кутикулой залегает слой гиподермы. Ниже располагается толстый мышечный слой, пронизанный лакунами. Перистальтические сокращения мантийной стенки обеспечивают вентиляцию воды в мантийной полости для аэрации развивающихся личинок и собственных тканей экстерны (Нøeg, 1995).

В центральной части экстерны располагается крупный яичник. Снаружи он также одет слоем мышечных волокон, поверх которого лежит кутикула, выстилающая мантийную полость. Кроме того, мышечные волокна проходят и в толще самого яичника. Они тянутся как в

продольном, так и в поперечном направлении и делят яичник на отдельные трабекулы (Alvarez et al., 2010). В самом яичнике располагаются женские половые клетки, находящиеся на разных стадиях оогенеза. При этом у некоторых видов среди созревших ооцитов выделяется два типа клеток, различающихся по размеру. Предположительно, различие в размерах обусловлено генетической детерминацией пола будущей личинки, так как личинки самцов обычно крупнее личинок самок (Нøег, 1995; Korn, Rybakov, 2001; Rybakov et al., 2002).

Описанная выше организация экстерны, в целом, характерна для всех Rhizocephala, однако детали строения могут сильно отличаться у представителей Kentrogonida и Akentrogonida (Walker, 2001; Rybakov, Нøег, 2002). Для представителей Kentrogonida характерны крупные экстерны с открытой мантийной полостью. На дистальном конце экстерны всегда присутствует пора, через которую проникают трихогоны самцов (см. ниже). Через эту же пору происходит выход созревших личинок (Alvarez et al., 2010). Строение рецептакулов может различаться у разных видов. У некоторых это два отдельных, не связанных между собой рецептакула, в то время как у других возможно их срастание. В таком случае два сильно редуцированных самца располагаются в одной камере. Собственно, от самца, как такового, остается лишь участок сперматогенной ткани, который полностью «обслуживается» самкой.

У представителей группы Akentrogonida строение экстерны во многом отличается от описанного выше (Glenner et al., 2010). В первую очередь, разница проявляется в размерах экстерны. У Akentrogonida наблюдается тенденция к уменьшению линейных размеров экстерны (Нøег, 1995). Мантийная полость никогда не открывается во внешнюю среду. Пора, характерная для группы Kentrogonida, отсутствует. Из-за этого отличается и механизм проникновения самцов и вывода готовых личинок. Личинки самцов впрыскивают сперматогенную ткань через покровы экстерны, используя для этого одну из антенн. Этот механизм проникновения сходен с впрыскиванием зародышевых клеток, наблюдаемый у личинок самок при заражении хозяина. Выход личинок осуществляется через разрыв стенки экстерны, после чего экстерна сбрасывается. В отличие от экстерн Kentrogonida, способных многократно проходить цикл размножения, экстерны Akentrogonida могут размножаться всего один раз (Нøег, 1995).

Кроме того, в экстерне Akentrogonida полностью редуцированы рецептакулы для приема самцов. Сперматогенная ткань располагается либо на внутренней поверхности стенки мантии, либо на внешней стенке яичника. В отличие от представителей группы Kentrogonida, у которых количество рецептакулов и, соответственно, самцов всегда равно двум, у представителей Akentrogonida это не так детерминировано. Количество «самцов» в одной экстерне может варьировать от одного до десяти и более экземпляров (Нøег, 1995).

У «колониальных» форм (см. главу «колониальность») (один из представителей сем. Thomsoniidae) мужские «гонады» развиваются не во всех, а лишь в нескольких экстернах. Все остальные экстерны при этом несут только женскую гонаду. Вероятно, спермии попадают в другие экстерны через столоны интерны, которые связывают все экстерны между собой (Jespersen, Lützen, 1992).

1.2 Жизненный цикл *Rhizocephala*

Жизненный цикл *Rhizocephala* в связи с переходом этой группы животных к эндопаразитизму приобрел несколько уникальных особенностей. Развитие личинок очень напоминает формирование личиночных стадий у их свободноживущих родственников — группа *Thoracica* из инфракласса *Cirripedia*. Для всех *Rhizocephala* характерно лецитотрофное вынашивание личинок в мантийной полости экстерны (Collis, Walker, 1994; Walossek et al., 1996). У представителей разных таксонов личинки покидают экстерну на разных стадиях развития. Так, у *Kentrogonida* личинки переходят к свободному образу жизни на стадии науплиуса, и последующее их превращение до формирования инвазионной стадии протекает во внешней среде. У *Akentrogonida* развитие в мантийной полости экстерны занимает больше времени. Стадию науплиуса личинки проходят под защитой материнского организма, и во внешнюю среду выходят уже готовые ципривидные личинки (Нøег, 1995). В отличие от личинок *Thoracica*, науплиусы и циприсы корнеголовых раков полностью лишены пищеварительной системы. В остальном же строение личинок корнеголовых похоже на таковое личиночных стадий *Thoracica*. Однако следует отметить, что, несмотря на лецитотрофность, размеры личинок *Rhizocephala* значительно меньше размеров личинок других представителей *Cirripedia* (Нøег, 1995; Korn, Rybakov, 2001; Rybakov et al., 2002). Такое явление может быть определено несколькими факторами. Маленький размер личинок существенно сокращает запасы питательных веществ, которые они содержат. Таким образом, заметно уменьшается время жизни личинок в планктоне, так как ее энерговооруженность крайне низка. Но при этом значительно повышается количество личинок, производимых одной самкой. Кроме того, как считается, малый размер личинок может дать определенные преимущества после оседания их на хозяина. Маленькие размеры значительно понижают вероятность того, что хозяин заметит эту личинку и счистит ее (Нøег, 1995).

Исходно считалось, что *Rhizocephala* являются гермафродитами, так как в экстерне находили как яичник, так и семенники. Однако позднее было обнаружено, что эти животные все-таки раздельнополые (Walker, 2001). А мужские гонады в экстерне, как уже было сказано выше — это сильно редуцированные и видоизмененные самцы. Таким образом, у этих

паразитов проявляется криптогонохоризм. Эта особенность жизненного цикла значительно увеличивает вероятность встречи половых партнеров и успех размножения в целом (Høeg, 1995).

Половая дифференциация проявляется уже на личиночной стадии. У личинок представителей *Kentrogonida* отчетливо выражен половой диморфизм. Личинки самцов значительно крупнее личинок самок, и обладают более сложными органами чувств (Høeg, et al., 1998; Rybakov et al., 2002). По-видимому, это объясняется тем, что личинки самок ищут хозяина, в то время как личинки самцов заняты поиском зараженных особей хозяина, на котором уже сформировались половозрелые экстерны. Считается, что это более сложная поведенческая задача. Различия между личинками разных полов затрагивают некоторые ультраструктурные особенности (Glennner et al., 1989; Høeg, 1995; Korn et al., 2000).

У представителей группы *Akentrogonida* подобный половой диморфизм на личиночной стадии не выражен.

Процесс детерминации пола у *Rhizosephala* изучен сравнительно мало. Согласно некоторым данным, у *Kentrogonida* определение пола генетически детерминировано. Некоторые исследователи даже находили половые хромосомы у видов, относящихся к сем. *Peltogastridae* (Høeg, 1995). Что же касается группы *Akentrogonida*, то у них пол будущего организма зависит от конкретных условий, в которых оказываются личинки. От того, на какой субстрат она оседет, будет зависеть пол развивающегося из нее организма. В случае если личинка осела на незараженного хозяина, будет развиваться женский организм, а в случае прикрепления к экстерне – мужской (Høeg, 1995; Yamaguchi et al., 2014).

Время развития личинки в планктоне зависит от многих факторов. Важную роль играет температура воды, которая влияет на скорость метаболизма и расходования запасных питательных веществ. В среднем личинка проводит в воде от 2 дней до 3 недель (Høeg, 1995). Личинки (у *Kentrogonida* это личинки самок) оседают на кутикулу хозяина и прикрепляются цементными железами. Оседают личинки обычно на тех частях хозяина, где кутикула наименее склеротизирована (например, на жабрах) (Høeg, 1995).

У личинок *Kentrogonida* в передней части осевшего циприса образуется кутикулярная капсула: кентрогон (подробнее см. ниже). На вентральной стороне кентрогон несет полый стилет, который пробивает кутикулу хозяина, и через этот же стилет в гемоцель впрыскивается группа клеток кентрогона. Эта стадия жизненного цикла получила название вермигон (Glennner, Høeg, 1995.). Многие исследователи (Høeg, 1992; Høeg, Rybakov, 2007; Pérez-Losada et al., 2002; Glennner, Høeg, 1994; Høeg et al., 2012) гомологизируют кентрогон с ювенильной стадией свободноживущих *Thoracica*.

Однако не у всех *Rhizocephala* в жизненном цикле сохраняется стадия кентрогона. Все представители «*Akentronida*» полностью ее утратили. Соответственно, у них отсутствует характерный для кентрогона стилет для пенетрации кутикулы. Впрыскивание группы клеток в тело хозяина у «*Akentronida*» осуществляется через одну из антенн.

Строение вермигона изучено у сравнительно небольшого числа видов. Его морфология может сильно различаться. Например, у *Lernaeodiscus porcellana* в тело хозяина впрыскивается всего одна клетка. У *Sacculina carcini* вермигон многоклеточный и округлый, однако, его строение плохо изучено (Нюег, 1995). Лучше всего исследован вермигон у *Loxothylacus ranoraei*. Это продолговатое тело, обычно состоящее из двух слоев клеток с щелевидной полостью внутри. Внутри вермигона (*nature vermigon*) не были обнаружены ни нервные, ни мышечные клетки, хотя науплиус и циприсовидная личика *Cirripedia* обладают достаточно развитой нервной и мышечной системами (Glennner et al., 2000; Lagersson, 2002; Semmler et al., 2006, 2008, 2009). Вермигон мигрирует по лакунам гемоцеля к центральным участкам пищеварительной системы хозяина, где впоследствии и развивается в интерну. Следует отметить, что все органы и ткани паразита не наследуются от личинки, и формируются заново из эмбриональных клеток (Нюег, 1995). Интерна увеличивается в размерах и ветвится. На уже развитой интерне образуется экстерна, которая затем выпячивается во внешнюю среду. Чаще всего экстерны появляются в выводковых камерах хозяев, если такие имеются, либо в тех участках тела, где в норме хозяин вынашивает яйца. Скорее всего, это связано с подходящими условиями аэрации и защиты от внешних повреждений. Обычно прорастание экстерны синхронизируется с линькой хозяина. Сразу же после линьки кутикула хозяина тонкая и не представляет проблем для проникновения вновь образующейся экстерны из тела хозяина наружу. Однако не всем видам ризоцефала необходимо синхронизировать прорастание экстерны с линькой хозяина. Например, *Peltogaster paguri*, *Clistosaccus paguri* и *Sacculina carcini* способны выводить экстерну независимо от линочного цикла хозяина.

Процесс прорастания экстерны опасен как для хозяина, так и для паразита, поэтому непосредственно перед прорастанием кутикула хозяина над экстерной заметно изменяется. В частности, кутикула хозяина над почкой формирует округлую впадину (Нюег, 1995).

Личинки самцов ищут половозрелую экстерну. У представителей «*Kentronida*» личинка оседает на экстерну самки в районе мантийной поры. В теле личинки формируется кутикулярная капсула, которая является гомологом кентрогона личинок самок. Через полый стилет в мантийную полость самки впрыскивается трихогон. Это гомолог вермигона самок. Трихогон мигрирует по мантийной полости в основание экстерны, где располагаются парные рецептакулы, готовые к приему самцов. Трихогон остается в этом рецептакуле, увеличивается в размере и начинает функционировать как мужская гонада в составе экстерны. Это

обстоятельство послужило причиной того, что корнеголовых раков изначально описали и долгое время считали гермафродитами (Müller F., 1862).

У представителей *Kentrogonida* всегда имеются два рецептакула с самцами. Подобный способ взаимоотношений самок и самцов у кентрогонид, по мнению некоторых авторов, является плезиоморфным признаком (Høeg, 1995).

У представителей *Akentrogonida*, так же, как и при метаморфозе личинок самок, пропадает стадия кутикулярной капсулы (кентрогона) и инъекция трихогона осуществляется через антенну. Как уже было сказано выше, у большинства *Akentrogonida* мантийная полость замкнута, а мантийная пора отсутствует. Поэтому попадание трихогона внутрь экстерны осуществляется через прокол ее стенки.

Экстерны всех *Kentrogonida* и некоторых *Akentrogonida* (*Duplorbidae*, *Chthamalophilidae*) способны к многократным циклам размножения. По окончании одного цикла размножения и вымета готовых личинок экстерна линяет. За счет линьки освобождается мантийная полость от личинок прошлого поколения и от эпибионтов внешней поверхности экстерны. Количество линек можно определить по характерным личинным кольцам на стебельке. У некоторых холодноводных видов экстерна может существовать достаточно долгое время: до 5 лет у *Peltogaster paguri* и до 10 лет у *Briarosaccus callos* (Høeg, 1995).

Все своеобразие жизненного цикла, присущего корнеголовым ракам, заключается в особенностях их метаморфоза, т. е. в превращении достаточно типичной свободноживущей личинки (науплиус, циприс) в крайне специализированный паразитический организм, полностью утратившим все признаки родства не только с ракообразными, но и вообще с членистоногими. К сожалению, в настоящее время существует лишь одно детальное исследование, в котором подробно описано превращение *Loxothylacus ranoraei* (Glennner, 2001).

Весь метаморфоз личинки в лабораторных условиях и при комнатной температуре занимает 48–72 ч. Циприс оседает в жаберной камере хозяина — краба. Этот локус на теле хозяина наиболее пригоден для проникновения личинок, так как там встречается самая тонкая кутикула, а под покровами располагается множество кровеносных сосудов. Циприс прикрепляется антеннами к кутикуле хозяина. На концевых участках антенн открываются отверстия цементных желез, секрет которых необходим для адгезии личинки к поверхности хозяина. В момент оседания этот секрет выделяется наружу. В целом, процесс оседания и прикрепления личинки во многом сходен с процессом оседания личинок свободноживущих *Cirripedia*.

Строение циприса также во многом похоже на строение личинок свободноживущих *Thoracica*. Но, как уже говорилось выше, у циприса *Rhizosephala* полностью отсутствует пищеварительная система. Личинка имеет достаточно развитую нервную систему и крупный

науплиальный глаз. В передней части циприса располагаются крупные парные цементные железы. Их протоки проходят внутри антенн и открываются на концевом участке. Кроме того, в полости тела личинки имеются две группы клеток. Кпереди от головного ганглия локализуется группа «инвазионных клеток» (*invasion cells*). Их функция не до конца ясна, но они оказываются в составе вермигона (см. ниже). Позади ганглия лежит еще одна группа клеток (*small posterior cells*), которые, как полагают, дают начало клеткам половой линии. У разных видов количество клеток в этих группах может сильно различаться (Glenner, 2001). У личинок свободноживущих *Thoracica* эти клетки отсутствуют.

Однако затем метаморфоз *Rhizocerphala* приобретает уникальные особенности. В теле прикрепившегося циприса происходит формирование особой кутикулярной капсулы — кентрогона. Согласно многим литературным данным (Нøег 1992, 1995; Glenner, Нøег, 1994; Pérez-Losada et al., 2002; Нøег, Rybakov, 2007; Нøег et al., 2012), процесс образования кентрогона это своеобразная линька. Формирующийся кентрогон занимает переднюю половину тела циприса. Эпидермис задней части мантийной полости отслаивается от кутикулы и мигрирует вперед. За его счет образуется задняя стенка кентрогона. Цементные железы, мышцы и нервная система, которые располагаются в полости формирующегося кентрогона, полностью дегенерируют. Эпителий, выстилающий переднюю часть мантийной полости, начинает расти — его клетки увеличиваются в размере, но при этом не делятся. Затем эти клетки частично отслаиваются от кутикулы и смешиваются с группой упоминавшихся выше инвазионных клеток (*invasion cells*). Морфологические различия между ними исчезают, так что различить их становится невозможно.

В этот момент начинает формироваться стилет. Через некоторое время внутри стилета снаружи образуется глубокая инвагинация. Она выстлана тонкой кутикулой, под которой лежат эпителиальные клетки. Считается, что это те самые клетки, которые выстлали переднюю мантийную полость циприса. Под слоем эпителиальных клеток располагается еще один слой клеток. Его происхождение пока не известно. Кроме того, с этой инвагинацией ассоциирована еще одна компактная группа клеток (*small posterior cells*). Их условно можно разделить на два типа: клетки А и клетки В.

Собственно проникновение паразита в хозяина происходит следующим образом. В районе стилета на кутикулу хозяина выделяется некое вещество неизвестной природы и происхождения. Предполагается, что оно служит для размягчения кутикулы и облегчает пенетрацию покровов хозяина стилетом.

После того как стилет пробил кутикулу, инвагинация, находящаяся в полости стилета и покрытая тонкой кутикулой и двумя слоями клеток, выворачивается наизнанку и оказывается в гемоцеле хозяина. Фактически эта уже стадия вермигона. Выворачивание вермигона

происходит без участия мышечных сокращений. Скорее всего, в его основе лежит повышением осмотического давления в кентрогоне. Предполагается, что в самом кентрогоне происходит высвобождение гликогена из разрушающихся мышц. Полисахарид распадается на отдельные мономеры. В то же время кутикула кентрогона проницаема для воды, которая и поступает в кентрогон по градиенту осмотического давления.

Вермигон сверху покрыт кутикулой, которая раньше выстилала инвагинацию. Первое время вермигон еще соединён с кентрогоном тонкой кутикулярной трубкой. Но потом он начинает двигаться, и эта трубка рвется. После разрыва кутикулярной трубки на заднем конце тела должно оставаться отверстие, которое быстро замыкается. Однако сам механизм замыкания этого отверстия остается неясным.

Остается невыясненным и механизм движения самого вермигона, так как настоящих мышечных клеток в его составе не обнаружено. В эпителиальных клетках, однако, актиновые волокна были найдены (Glennner et al., 2000).

Вермигон состоит из двух слоев клеток. Снаружи располагаются эпидермальные клетки, а внутри — коровые. Центральную часть вермигона занимает щелевидная полость, которая образовалась при его выворачивании из полости стилета. Коровые клетки, скорее всего, являются видоизмененными инвазионными клетками. Именно эти клетки выстилают центральную полость, которая тянется по всей длине вермигона.

В центральной части вермигона залегает так называемый «нуклеус». По общему мнению, эти клетки, которые раньше обозначались как «small posterior cells», и являются «почкой» будущей экстерны.

После освобождения от остатков стилета кентрогона в теле хозяина вермигон мигрирует по лакунам гемоцеля. Чаще всего он останавливается в районе крупной лакуны около кишки хозяина. Там вермигон начинает превращаться в интерну. Он увеличивается в размерах и дает боковые ответвления. При дальнейшем развитии интерны в «почке», сформированной еще у вермигона, закладывается мантийная полость и вообще почти все органы экстерны.

Происхождение нервной и мышечной систем взрослого организма остается неизвестным.

1.3 Колониальность

Среди *Rhizocerphala* довольно часто встречается амплификация женской половой системы и, как следствие, появление более чем одной экстерны. На одной интерне может сразу располагаться несколько экстерн (иногда до тысячи). Некоторые авторы (Høeg, 1995; Lützen, ThiDu, 1999; Walker, 2001; Shukalyuk et al., 2001; Shukalyuk, 2002) рассматривают это явление,

как пример «колониальности». Как правило, такие формы приобретают модульное строение. Каждый отдельный модуль состоит из экстерны и ассоциированного с ней участка интерны. При этом следует отметить, что все модули связаны друг с другом ветвями интерны. Таким образом, подобную модульную конструкцию можно трактовать как колонию (Догель, 1947), возникающую в результате недоведенного до конца бесполого размножения. У некоторых видов может происходить фрагментация этой колонии. У одних видов связь модулей с общей интерной сохраняется на протяжении всей жизни, тогда как у других имеет место настоящее разделение на отдельные организмы. Отдельные модули теряют связь с остальной интерной и приобретают настоящую индивидуальность (Shukalyuk et al., 2001; Shukalyuk, 2002).

1.4 Происхождение и систематика *Rhizocephala*

Вопрос о происхождении всей группы *Rhizocephala* до конца не решен. Согласно одним предположениям (Rees et al., 2014), корнеголовые раки берут начало от эпибионтных морских уточек с редуцированным карликовым самцом. Согласно другой гипотезе (Walker, 2001), они происходят от общего для всех *Cirripedia* свободно плавающего предка.

Корнеголовые раки имеют довольно длительную палеонтологическую историю. Их ископаемые остатки обнаружены в первой половине девона. Их возраст насчитывает около 400 миллионов лет (Нюег, 1992; Walker, 2001).

Rhizocephala, вместе с двумя другими таксонами, *Thoracica* и *Acrothoracica*, входят в состав группы *Cirripedia*. Палеонтологические данные указывают на то, что большинство древних *Cirripedia* были эпибионтами подвижных представителей *Arthropoda* (Glenner, Nebsgaard, 2006). Близость к гемолимфе хозяина, где много питательных веществ, возможно, привела к попыткам эпибионтов использовать этот ресурс.

Согласно литературным данным (Spears et al., 1994; Pérez-Losada et al., 2002; Glenner, Nebsgaard, 2006; Нюег, Rybakov, 2007; Perez-Losada et al., 2008; Perez-Losada et al., 2012), группа *Rhizocephala* вместе с *Thoracica* образуют сестринский таксон по отношению к *Acrothoracica*. Это позволяет предполагать, что предками корнеголовых раков, скорее всего, были древние формы с фильтрующим ротовым аппаратом. Считается, что успешный переход к эндопаразитизму произошел один раз, и это привело к появлению монофилетической группы *Rhizocephala*.

В современной фауне встречаются паразитические *Thoracica*. Их адаптации к паразитизму рассматриваются как возможные аналоги адаптаций, возникших в процессе перехода к паразитизму девонских предков *Rhizocephala*. Среди представителей *Thoracica* довольно много эпибионтов, обитающих на коже морских позвоночных и покровах различных

беспозвоночных. Некоторые организмы погружаются довольно глубоко в кожу своих хозяев, но при этом они, в большинстве своем, не используют хозяина как непосредственный пищевой ресурс (Rees et al., 2014).

Наиболее яркими и специализированными представителями паразитических Thoracica являются *Anelasma squalicola* и *Rhizolepas* sp.

Anelasma squalicola паразитирует на коже акул. У них очень сильно редуцируются ловчие конечности, а вот ножка погружается в тело хозяина, разрастается и сильно ветвится. Считается, что *A. squalicola* абсорбирует питательные вещества из крови хозяина через кутикулу ножки. *Rhizolepas* sp. ведет сходный образ жизни, только паразитирует на полихетах. Следует отметить, что адаптации к паразитизму у этого вида выражены сильнее, чем у *A. squalicola*. Ножка у *Rhizolepas* sp. более разветвленная и, соответственно, обладает большей сорбционной поверхностью. Ловчие конечности подвергаются сильной редукции, а пищеварительная система полностью исчезает (Rees et al., 2014).

Согласно одной из существующих гипотез, предки современных Rhizocerphala вели сходный образ жизни. Постепенно разрастающаяся ножка погружалась все глубже в тело хозяина, в то время как сначала конечности, а потом и остальное тело редуцировались. В этом случае, интерна паразита представляет собой гомолог ножки Lepadomorpha (Rees et al., 2014), многие из которых ведут свободный образ жизни.

Сторонники другой точки зрения тоже сравнивают корнеголовых раков с морскими уточками. Однако, в соответствии с их взглядами, ножка Lepadomorpha является гомологом стилета, который сохраняется у плезиоморфной группы Kentrogonida (Glenner, 2001).

Еще одну гипотезу выдвинул Марченков (2001). По его мнению, процесс перехода к эндопаразитизму шел через мезопаразитизм, как это имеет место у копепод. В качестве переходного звена он указывает на вид *Chthamalophilus delagei* из сем. Chthamophilidae, так как интерна этого паразита представляет собой диск, не несущий никаких выростов. Однако такой вариант происхождения корнеголовых раков представляется маловероятным, так как вид *C. delagei* оказывается одним из наиболее продвинутых и, скорее всего, его сильно упрощенная интерна — это результат вторичной специализации, а не плезиоморфный признак.

Согласно классическим представлениям, таксон Rhizocerphala разделяют на две группы: Kentrogonida (3 семейства) и Akentrogonida (6 семейств) (Walker, 2001). Название групп связано с наличием или отсутствием определенной стадии жизненного цикла — кентрогона. Как следует из названия, в жизненном цикле самок Kentrogonida присутствует стадия кентрогона. Все представители группы Kentrogonida паразитируют исключительно на десятиногих раках (Decapoda).

Представители группы *Akentrogonida* используют в качестве животных-хозяев более широкий спектр ракообразных. Кентрогон в жизненном цикле у этой группы отсутствует. Однако все шесть семейств, входящие в состав этой группы, сильно различаются между собой. Несмотря на это, согласно современной филогении, эта группа все же является монофилетической.

Филогенетические отношения внутри самой группы корнеголовых раков не могут считаться окончательно установленными. Данные молекулярной систематики плохо согласуются с классической системой, построенной на основе только морфологических признаков (Glenner, Hebsgaard, 2006). Гленнер и Хебсгаард утверждают, что группу *Kentrogonida* нельзя считать монофилетичным таксоном. Даже некоторые семейства, входящие в состав *Kentrogonida*, на деле оказываются полифилетическими группами. Так, например, часть сем. *Peltogastridae* занимает базальное положение среди корнеголовых раков, а вид *Peltogaster paguri* вообще оказывается сестринским таксоном по отношению ко всем остальным *Rhizocephala*. В то же время другие представители того же семейства оказываются на удаленных ветвях филогенетического дерева *Rhizocephala*.

Сходная картина наблюдается и в отношении сем. *Sacculinidae*, которое, по-видимому, также включает несколько не связанных между собой групп.

Наличие кентрогона считается плезиоморфным признаком. Гленнер и Хебсгаард (Glenner, Hebsgaard, 2006) гомологизируют кентрогон с ювенильной стадией развития свободноживущих *Thoracica*. Представители монофилетичной группы *Akentrogonida*, утратившие кентрогон, считаются наиболее продвинутыми среди *Rhizocephala*. Эволюция *Akentrogonida* шла по пути упрощения строения интерны, уменьшения размеров экстерны и редукции рецептакулов для приема самцов.

Так как наше исследование не касается вопросов систематики, в дальнейшем мы будем использовать традиционную систему семейств, основанную на морфологических признаках.

«*Akentrogonida*»

Сем. *Polysaccidae*

Семейство *Polysaccidae* крайне немногочисленно, в его состав входит всего один род (*Polysaccus*) и два вида. Эти животные паразитируют на роющих креветках (инфраотряд *Axiidea*). Оба вида этого семейства колониальные. Обычно на одном хозяине можно найти до 50 экстерн, располагающихся на одной интерне. Наиболее часто экстерны можно обнаружить на вентральной стороне первых сегментов абдомена хозяина (Lützen, Takahashi, 1996; Нøeg, Rybakov, 2007).

Интерна представлена системой нерегулярно ветвящихся столонов, располагающихся в районе брюшной нервной цепочки хозяина. Иногда некоторые столоны могут заходить в тораки хозяина, но эти столоны обычно немногочисленны и не проникают на большую длину. Диаметр столонов в среднем составляет около 60 мкм. В центре столона всегда присутствует полость канала (Lützen, Takahashi, 1996).

Прорастание экстерн всегда тесно связано с линькой хозяина. Все экстерны появляются одновременно и сразу же после линьки, когда кутикула хозяина наиболее мягкая. За время своего созревания экстерна претерпевает три линьки. Внутри самой экстерны располагается яичник и несколько участков сперматогенной ткани. Из оплодотворенных яйцеклеток развиваются ципривидные личинки, минуя стадию науплиуса (Lützen, Takahashi, 1996; Нøег, Рыбаков, 2007).

Так как хозяева этих паразитов ведут роющий образ жизни, зачастую паразиту приходится сталкиваться с пониженным содержанием кислорода в воде. Для обеспечения личинок и тканей кислородом экстерна совершает перистальтические движения за счет сокращения мышц. Авторы (Lützen, Takahashi, 1996) утверждают, что не обнаружили никаких элементов нервной системы и предположили, что сокращения мышц обусловлены миогенным способом.

Сем. Mucetomorphidae

Данных касающихся семейства Mucetomorphidae крайне мало, и они отрывочны. Представители этого таксона паразитируют на креветках (инфраотряд Caridea). Интерна слабо развита и распространяется не более чем на 1–2 сегмента абдомена. Большинство столонов интерны залегают в районе брюшной нервной цепочки хозяина (Bresciani, Нøег, 2001).

Сем. Thompsoniidae

Все представители этого семейства имеют колониальную организацию, и одна интерна может нести на себе до тысячи экстерн. Интерна хорошо развита и пронизывает все тело хозяина, в том числе и конечности. Экстерны чаще всего локализуются на конечностях хозяина. При этом экстерны отходят от интерны на очень близком расстоянии друг от друга. Относительно хорошо изучено лишь несколько видов. (Нøег, Lützen, 1993; Lützen, Pham, 1999; Bresciani, Нøег, 2001).

Thompsonia litoralis — паразит литоральных крабов, вид найден в окрестностях Сингапура (Lützen, Jespersen, 1992). После внедрения интерна развивается в течение 4,5 месяцев. Прорастание большого количества экстерн связано с линькой, так как в это время кутикула наиболее мягкая. Чаще всего экстерны прорастают на абдомене и на базальных

члениках конечностей на их вентральной стороне. Через 2,5 месяца экстерны достигают половой зрелости и еще через 2 месяца они заполнены зрелыми эмбрионами. Количество экстерн в момент прорастания может достигать 1000, однако, по мере созревания, их количество сокращается до 150–300. К моменту появления личинок их остается всего 10–50. Вероятно, потеря экстерн происходит в результате механических повреждений.

Система столонов оплетает ЦНС и все главные нервные стволы хозяина. Кроме этого, интерна также обильно оплетает гепатопанкреас и пронизывает гемоцель. На вентральной стороне тела хозяина непосредственно под гиподермой залегает плотная сеть столонов, от которой отходят ветви к экстернам.

Сами столоны имеют толщину 8–30 мкм. В центре столона располагается полость (канал).

Сформированная экстерна имеет овальную форму, а ее размеры составляют около 700 мкм в длину. Экстерна соединяется с интерной стебельком с синусоидным каналом внутри. В районе стебелька кутикула хозяина образует полукруглое впячивание. Пора (отверстие ведущее в мантийную полость) отсутствует. Все тело экстерны покрыто тонкой кутикулой, которая утолщается к стебельку. Стенка экстерны, т. е. стенка мантийной полости состоит из 2 слоев эпителиальных клеток. В дистальной части экстерны эти два слоя клеток сближены, а в базальной части экстерны между ними залегает слой соединительной ткани. Никаких мышц в экстерне обнаружить не удалось. В самой дистальной части экстерны внутренний пласт эпителия переходит в группу крупных округлых клеток. В центральной части экстерны располагается яичник. Он занимает большую часть ее внутреннего объема. Сбоку от яичника лежит сперматогенная ткань. При этом, до сих пор не известно, каким образом происходит осеменение экстерны. Вероятно, личинки самцов механически пробивают кутикулу экстерны и вводят в мантийную полость последней сперматогенную ткань.

Эмбрионы развиваются в мантийной полости до стадии циприса и выходят наружу через разрыв стенки экстерны.

Заражение паразитом влияет на хозяев по-разному в зависимости от их пола. На репродуктивную функцию самцов паразит достоверно не влияет. Что касается самок, то гонада у них морфологически не отличается от гонады незараженных особей, но при этом производит гораздо меньшее количество яиц. Достоверного влияния паразита на вторичные половые признаки хозяина не показано.

Модификации поведения зараженных хозяев детально не изучены, правда, есть данные, что зараженные крабы питаются не так активно.

Жизненный цикл изучен не до конца. Известно, что стадия кентрогона отсутствует, но никто не наблюдал сам процесс развитие интерны паразита в хозяине (Lützen et al., 1992; Нøег, Lützen, 1993; Lützen, Pham, 1999; Bresciani, Нøег, 2001).

Thompsonia dofleini. В целом организация тела особей этого вида очень напоминает морфологию самок *Thompsonia litoralis*. Однако у *T. dofleini* была обнаружена интересная особенность размножения. У остальных изученных форм этого семейства сперматогенная ткань располагается либо в мантийной полости каждой половозрелой экстерны, либо напрямую ассоциирована с яичниками. Оплодотворяются уже созревшие ооциты. После оплодотворения сперматогенная ткань обычно разрушается. Но у *Thompsonia dofleini* развитие сперматогенной ткани осуществляется иначе. У этого вида встречаются экстерны двух типов. Е-экстерны несут только яичники, и таких экстерн большинство. Но при этом есть и S-экстерны. Исходно они развиваются точно так же, как и Е-экстерны. В них начинает формироваться яичник, однако после внедрения самца и проникновения сперматогенной ткани экстерна начинает развиваться другим путем. Яичник дегенерирует, и все пространство экстерны начинает заполнять сильно разросшаяся сперматогенная ткань. Считается, что передача спермы в Е-экстерны происходит через столоны интерны (Jespersen, Lützen, 1992).

Сем. Chthamalophilidae

В отличие от всех других, представители этого семейства паразитируют на *Balanomorpha*. Строение интерны также сильно отличается от других *Rhizocephala*. Стебелек, соединяющий экстерну и интерну, заканчивается крупным диском, по размеру сопоставимым с экстерной. От края этого диска отходят столоны, которые глубоко проникают в тело хозяина, однако при этом они не повреждают внутренние органы (Bresciani, Нøег, 2001). Циприсовидные личинки утратили способность плавать. Вместо этого они ходят на антеннах по субстрату. Вероятно, эта особенность связана с кругом хозяев, которые сами утратили подвижность. *Balanomorpha* чаще всего образуют плотные колонии. Соответственно, поселяющимся на них паразитам не нужно совершать длительные миграции в поисках хозяина (Нøег, 1995).

Один из представителей этого семейства — *Chthamalophilus delagei* представляет особый интерес. Это единственный вид среди всех *Rhizocephala*, который полностью утратил трофическую систему в виде разветвленной системы столонов. Стебелек, на котором располагается экстерна, переходит в крупный лопастной диск, от которого никакие столоны не отходят. Существенные отличия проявляются и на ультраструктурном уровне. Апикальные мембраны клеток эпидермиса интерны несут гораздо меньше складок, чем это характерно для других *Rhizocephala*. Почти полностью отсутствует субкутикулярное пространство, кутикула

плотно прилегает к эпидермису. В отличие от представителей других семейств кутикула видов, относящихся к сем. Chthamalophilidae, однослойная. По своей структуре этот слой схож с электронно-светлым слоем кутикулы остальных Rhizocephala. Апикальная поверхность кутикулы лишена микровыростов и почти всегда плотно прилегает к тканям хозяина. В некоторых участках было замечено, что микровиллы клеток эпидермиса глубоко вдаются в кутикулу, но не ясно, проходят ли эти выросты сквозь кутикулу, или заканчиваются в ее толще. Вообще, клетки эпидермиса у этого вида не очень похожи на клетки, осуществляющие активный транспорт веществ с высоким уровнем метаболизма, как это обычно свойственно другим Rhizocephala.

Под эпидермисом располагается центральная область интерны с крупными и сильно вакуолизированными клетками. В вакуолях клеток содержатся липидные капли. Центрального канала и других лакунарных систем нет, в том числе и в стебельке (Bresciani, Нøег, 2001).

Сем. Duplorbidae

Представители этого семейства, которое рассматривается как сестринская группа сем. Chthamalophilidae, паразитируют на представителях группы Peracarida. Интерна этих ракообразных вполне развита и пронизывает практически все тело хозяина. Особенно плотно столонны паразита оплетают доли гепатопанкреаса и элементы нервной системы. На одной интерне почти всегда располагается несколько экстерн, при этом не происходит фрагментации интерны: все столонны, несущие экстерну, связаны между собой. Только самые крупные столонны имеют центральный канал, более мелкие лишены его (Bresciani, Нøег, 2001).

Сем. Clistosaccidae

Это семейство малочисленно. Описаны только 2 рода, которые довольно сильно отличаются друг от друга и по своей морфологии, и по спектру используемых хозяев.

Sylon hyppolites паразитирует на различных видах креветок (инфраотряд Caridea) и имеет вполне развитую интерну, которая проникает как в абдомен, так и в цефалоторакс (Bresciani, Нøег, 2001). Пучок столоннов залегает под вентральным эпителием в абдомене и продолжается до 5 абдоминального сегмента. Наибольшего обилия система столоннов достигает в районе вентральной нервной цепочки хозяина. В этом же месте интерна соединяется с экстерной. Лутцен (Lützen, 1981) называет этот пучок столоннов «вентральным абдоминальным главным столонном», однако ничего общего в строении этого образования с главным столонном Peltogastridae (см. ниже) нет. Это просто плотное скопление ветвящихся столоннов. Впереди эти столонны продолжают в цефалоторакс, где плотно оплетают гепатопанкреас хозяина и дают ветвь, направленную на дорсальную сторону тела хозяина. На дорсальной стороне

цефалоторакса хозяина система столонов продолжается назад от сердца и доходит до 3 сегмента абдомена. (Bresciani, Nøeg, 2001)

Другой вид этого семейства — *Clistosaccus paguri* паразитирует на раках отшельниках и имеет менее развитую интерну, чем *Sylon hyppolites*. Интерна в основном расположена в абдомене хозяина, и только частично проникает в цефалоторакс. При наличии половозрелой экстерны, интерна оплетает гепатопанкреас, но никогда не проходит сквозь вентральную мышечную ленту, и, таким образом, не достигает брюшной нервной цепочки. Очень часто на одном хозяине может находиться более одной экстерны, но после формирования почки новой экстерны, интерна фрагментируется. Таким образом, каждая экстерна имеет свою собственную интерну (Bresciani, Nøeg, 2001).

«Kentrogonida»

Сем. Lernaediscidae

Паразитируют на декаподах, преимущественно на представителях рода *Galathea*. В статьях, посвященных филогении Rhizosephala, сем. Lernaediscidae сближают с сем. Peltogastridae (Glennner, 2006). Однако строение интерны больше напоминает вариант, характерный для сем. Sacculinidae (см. ниже). Интерна представителей этого семейства имеет вид хаотично ветвящихся столонов. И, так же, как и у Sacculinidae, лишена каких-либо центральных элементов, например, главного столона. Главное отличие от сакуллинид заключается в том, что эти достаточно беспорядочно расположенные столоны никогда не прорастают глубоко в тело хозяина. Ветви интерны пронизывают абдомен и цефалоторакс хозяина, но не было замечено ни одного случая их проникновения в конечности. У некоторых видов отсутствует центральный канал в столоне (Bresciani, Nøeg, 2001; Boyko, Harvey, 2000).

Сем. Sacculinidae

Представители этого семейства имеют наиболее разветвленную интерну среди всех Rhizosephala. Однако интерна этих ракообразных лишена каких-либо центральных элементов. Отсутствует так называемый главный стolon, характерный для Peltogastridae. Ветви интерны хаотично ветвятся. Столоны интерны часто проникают во многие внутренние органы хозяина, в том числе оплетают элементы нервной системы и заходят в конечности (Bresciani, Nøeg, 2001).

Согласно современным взглядам, семейство Sacculinidae распадается на несколько групп, не очень тесно связанных друг с другом. Таким образом, этот таксон нельзя считать монофилетическим (Glennner, Hebsgaard, 2006).

Среди представителей сем. Sacculinidae встречаются как «одиночные» формы, так и «колониальные». У «колониальных» видов наблюдается регионализация интерны. Она

подразделяется на функциональные части. Выделяется трофическая интерна, где в основном происходит поглощение питательных веществ из гемоцели хозяина, и репродуктивная интерна, где на столонах образуется множество почек экстерн (Shukalyuk, 2002).

Сем. Peltogastridae

Большинство представителей этого семейства — паразиты ракообразных из инфраотряда Anomura. На данный момент известно 38 видов, относящихся к 14 родам. Однако постоянно обнаруживают и описывают новые виды (Yoshida et al., 2011).

Наиболее хорошо интерна развита в абдомене хозяина. Интерна представителей этого семейства состоит из главного столона и боковых ветвей (периферических столонев). Главный стolon проходит практически по всей длине абдомена хозяина. Примерно посередине главного столона от него отходит ветвь к экстерне. Главный стolon на всем своем протяжении несет многочисленные боковые ветви, которые пронизывают тело хозяина. Строение боковых ветвей разных видов в зависимости от их родовой принадлежности может существенно различаться. Для представителей рода *Peltogasterella* характерны короткие, не ветвящиеся боковые ветви, в то время как у видов рода *Peltogaster* эти боковые столонев гораздо длиннее и могут ветвиться. Таким образом, главный стolon представителей этого рода напоминает «конский хвост». Что касается видов рода *Septosaccus*, то они обладают очень сложноорганизованными боковыми ветвями. Каждая первичная боковая ветвь делится на более тонкие ветви последующих уровней. Таким образом, каждая боковая ветвь напоминает сосну.

В передней части абдомена главный стolon теряет боковые ветви и проникает в цефалоторакс. Уже внутри цефалоторакса ветвление столонев утрачивает черты регулярности. Неправильный характер ветвей несколько напоминает ветвление столонев у видов сем. Sacculinidae. Эти столонев могут оплетать различные внутренние органы цефалоторакса, в том числе и элементы нервной системы. Отличительной чертой столонев цефалоторакса является большое количество фолликулов на концевых участках. Некоторые из этих столонев могут вторично прорасти в абдомен, но их легко отличить от системы боковых столонев главного канала.

Известны также «колониальные» представители этого семейства. В тех случаях, когда у паразита происходит амплификация половой системы и присутствует несколько экстерн (это характерно для представителей рода *Peltogasterella*), интерна делится на две функциональные части. Одна часть — трофическая — осуществляет поглощение питательных веществ из полости хозяина. Кроме трофической части, есть еще и генеративная часть интерны. На столонев генеративной интерны располагаются множественные экстерны и почки развивающихся экстерн (Shukalyuk et al., 2001).

Столоны интерны представителей сем. Peltogastridae часто ярко окрашены в зеленый цвет. Согласно литературным данным в столонах этих ракообразных был обнаружен гемоглобин (Bresciani, Нøeg, 2001). А зеленый цвет обусловлен наличием биливердина, продукта распада гемоглобина. Столоны интерны других семейств в основном бесцветны и прозрачны, что создает трудности при препарировании (Bresciani, Нøeg, 2001).

Известны также представители сем. Peltogastridae, паразитирующие не на раках-отшельниках, а на других ракообразных. Однако они практически не изучены (Bresciani, Нøeg, 2001).

Сем. Peltogastridae, согласно данным молекулярной систематики, как и Sacculinidae, не является монофилетическим. А вид *Peltogaster paguri* иногда считают сестринским таксоном по отношению ко всем остальным представителям Rhizocephala (Glennner, Hebsgaard, 2006).

1.5 Влияние паразита на хозяина

В ходе адаптивной эволюции к эндопаразитическому образу жизни корнеголовые ракообразные утратили практически все системы органов, характерные для свободноживущих родственников. Однако они приобрели высокоспециализированные механизмы, позволяющие им вступать в тесную связь и управлять своим хозяином.

Rhizocephala оказывают значительное влияние на хозяина на морфологическом, физиологическом и даже на поведенческом уровне (Нøeg, 1995; Bresciani, Нøeg, 2001; Alvarez et al., 2002; Lützen et al., 2018).

Степень воздействия паразита на хозяина очень сильно различается в зависимости от многих факторов. Прежде всего, она определяется систематическим положением конкретного паразита. В целом, наиболее сильный эффект на хозяина оказывают представители группы Kentrogonida. Более специализированные и продвинутые в эволюционном отношении Akentrogonida склонны меньше вмешиваться в жизнь хозяина (Нøeg, 1995).

Влияние паразита на хозяина может быть очень разносторонним. Для многих представителей Rhizocephala характерна паразитарная кастрация хозяина. Так как производство половых продуктов энергетически затратный процесс, кастрация позволяет паразиту получать больше питательных веществ (Bresciani, Нøeg, 2001). Однако не всегда происходит полное разрушение гонады хозяина. Чаще всего имеет место угнетение вителлогенеза и сперматогенеза при сохранении морфологической целостности гонады (Нøeg, 1995).

Большинство представителей Sacculinidae изменяют внешний вид хозяина, в частности имеет место, так называемая, «феминизация» самцов крабов. У последних происходит разрастание абдомена, который принимает форму и размеры, свойственные абдомену самок.

Считается, что это морфологическое изменение обеспечивает паразиту механическую защиту экстерны, которая у саккулин всегда располагается непосредственно под подогнутым брюшком хозяина (Bresciani, Нøег, 2001; Kristensen et al., 2012). Было показано, что и нервная система зараженного хозяина подвергается серьезным изменениям. Так, у зараженных хозяев часто происходит деградация Y-органа (Нøег, 1995).

Развитая система столонов представителей семейства Sacculinidae пронизывает почти все тело хозяина. В первую очередь, столоны паразита оплетают и проникают в вентральную ганглиозную массу хозяина. У представителей других семейств Kentrogonida также было отмечено тяготение столонов к элементам центральной нервной системы хозяина (Нøег, 1995). Однако, к сожалению, детального описания столонов, проникающих в ганглии вентральной нервной цепочки хозяина, в доступной литературе нет.

Непосредственные механизмы воздействия паразита на организм хозяина достаточно многообразны. Прямое механическое воздействие разрастающихся столонов интерны паразита на ткани и органы хозяина, если и имеет место, то весьма ограничено по своим последствиям. А вот химические сигналы, посылаемые паразитом, по-видимому, весьма разнообразны. Так, модификация физиологического состояния хозяина проявляется уже на ранних стадиях заражения, когда паразит еще не имеет развитой системы столонов. Кроме того, не было обнаружено случаев реакции иммунной системы хозяина на столоны паразита (Bresciani, Нøег, 2001). Более того, контроль за состоянием хозяина может осуществляться без непосредственного контакта паразита с тканями хозяина (Bresciani, Нøег, 2001). Гистологическая структура столонов паразита, ассоциированных с нервной системой хозяина, по мнению некоторых исследователей, скорее отражает их секреторную функцию, в отличие от трофических столонов, локализующихся в гемоцеле (Нøег, 1995).

Предполагается, что паразит может секретировать какие-либо вещества в тело хозяина, либо, наоборот, избирательно отбирать из гемолимфы какие-то сигнальные молекулы хозяина (Bresciani, Нøег, 2001).

Наиболее важным для паразита аспектом жизни хозяина является его линочный цикл. Поэтому почти все представители Rhizocephala в той или иной степени влияют на процесс линьки хозяина. Особенно это важно для паразита в период развития и функционирования экстерны. При этом было показано, что линька хозяина не блокируется полностью, а только приостанавливается. После сбрасывания экстерны линочный цикл запускается заново. Есть данные о том, что появление экстерн синхронизируется с линькой хозяина (Нøег, 1995; Alvarez et al., 2010).

Кроме того, значительно изменяется метаболизм зараженного хозяина. Так, к примеру, потребление кислорода сильно повышается у зараженных крабов (Robles et al., 2002). Помимо

этого несколько снижается толерантность хозяев к изменениям солености (Alvarez et al., 2002). Гемолимфа зараженного хозяина также несколько отличается по составу от гемолимфы незараженного. Снижается общая осмолярность гемолимфы, концентрация ионов хлора и натрия, но при этом повышается концентрация белка, гемоглобина и глюкозы (Shirley et al., 1986). С другой стороны, некоторые исследования не выявили каких-либо значимых различий между гемолимфой зараженных и незараженных хозяев (Zacher et al., 2018).

Влияние паразита распространяется не только на морфологию и физиологический статус, но и на поведение хозяина. Хозяин реагирует на появляющуюся экстерну как на собственные развивающиеся яйца, при этом такая реакция наблюдается не только у самок, но и у зараженных феминизированных самцов. Поэтому хозяин не пытается сбросить экстерну со своего тела. Кроме того, в момент расселения личинок паразита хозяин демонстрирует сходные поведенческие паттерны, как и при расселении собственных личинок (Нøег, 1995; Takahashi et al., 1997). Зараженные крабы демонстрируют сниженную двигательную активность, менее агрессивны и больше времени проводят в убежищах. При этом зараженные крабы более прожорливы (Bishop, Cannon, 1979; Innocenti et al., 2003; Vazquez-Lopez et al., 2006; Vázquez-López, 2010; Toscano et al., 2014; Larsen et al., 2015; Belgrad, Griffen, 2015; Pérez-Miguel, 2017).

1.6 Специфичность к хозяину

Большинство *Rhizosiphonia* не проявляют сильной специфичности к одному виду хозяев. Известны случаи (например, *Sacculina carcini*), когда один вид паразита встречается у 10 и более видов хозяев. Несмотря на то, что эти раки могут сравнительно легко переходить на новые виды хозяев, они обычно сохраняют тесную связь со своим предковым хозяином (Нøег, 1995).

Глава 2 Материал и методика

Материалом для исследования послужили взрослые экземпляры представителей трех семейств корнеголовых раков.

Раки отшельники *Pagurus pubescens* (Krøyer, 1838), зараженные *Peltogaster paguri* (Rathke, 1842) (сем. Peltogastridae) были собраны в окрестностях Морской биологической станции ЗИН РАН «Мыс Картеш»: Белое море, Кандакшский залив, губа Чупа, Керетский архипелаг (N 66.312; E 33.610). Сбор материала производили в летние и осенние месяцы 2012–2018 гг. с глубин 5–20 м. Для сбора раков отшельников использовали легководолазное оборудование.

Сбор материала также проводили в летне-осенний период 2017–2018 гг. на Морской Биологической станции «Восток» Национального Научного центра морской биологии Дальневосточного отделения РАН (N: 42.893720, E: 132.732755). В окрестностях станции были собраны следующий материал:

- Раки-отшельники *Pagurus ochotensis* (Brandt, 1851) и *Pagurus pectinatus* (Stimpson 1858), зараженные паразитом *Peltogasterella gracilis* (Boschma, 1927) (сем. Peltogastridae);
- Крабы *Hemigrapsus sanguineus* (De Haan 1835), зараженные *Polyascus polygenea* (Lützen, Takahashi, 1997) (сем. Sacculinidae);
- Крабы *Pugettia quadridens* (De Haan 1839), зараженные *Sacculina pilosella* (Van Kampen, Boschma, 1925) (сем. Sacculinidae);
- Крабоиды *Pachycheles stevensii* (Stimpson, 1858), зараженные *Lernaeodiscus* sp.

Собранные хозяева были вскрыты в морской воде. На вскрытиях производили прижизненные наблюдения за паразитами и исследовали их общую морфологию. Затем паразитов фиксировали для дальнейшей обработки.

Разные методы исследования потребовали разнообразных методик фиксации собранного материала. Для изготовления гистологических срезов в качестве фиксатора применяли жидкость Буэна и жидкость Ценкера. Материал для электронной микроскопии фиксировали 2,5 % глютаральдегидом на 0,1 М фосфатном буфере и 1 % тетраоксидом осмия. Для иммуногистохимических и гистохимических исследований с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (CLSM) был использован материал, зафиксированный с помощью 4 % параформальдегида (PFA).

Материал, зафиксированный жидкостью Буэна и жидкостью Ценкера, использовали для изготовления гистологических срезов толщиной 5 мкм на микротоме Leica RM2125RT. Для

этого нами был применен метод парафин-целлоидиновой заливки через жидкость Петерфи. Перед парафиновой заливкой объекты выдерживали в жидкости Петерфи в течение 5–7 суток. Готовые срезы были депарафинированы в ксилоле и окрашены гистологическими красителями. Для окраски препаратов был использован кислый гематоксилин Эрлиха, железный гематоксилин Гейденгайна, полихромный краситель Маллори, бромфеноловый синий и азур-эозин. Готовые препараты фотографировали с помощью камеры Nikon DS-Fi,1 на микроскопе Leica DM 2500 с объективами 10x, 20x, 40x и 100x. Измерение структур на срезах и обработку фотографий производили в программе FIJI.

Для визуализации элементов мышечной и нервной систем применяли метод конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Для этого нами использована фиксация 4 % параформальдегидом (PFA). Время фиксации составляло от 4 до 24 часов при температуре 4 °С. Затем объекты отмывали в 0,1 М буфере (PBS) и для хранения помещали в 0,1 % раствор азида на PBS. Для выявления мышечных и нервных элементов использовали антитела против серотонина, FMRF-амида и α -тубулина, фаллоидин с флуоресцентной меткой и краситель Hoechst. После отмывки от азида в PBS объекты инкубировали в растворе первичных антител в течение двух суток, затем следовала инкубация во вторичных антителах. После вторичных антител объекты выдерживали в растворе фаллоидина и Hoechst в течение 12 часов. В качестве среды для заключения использовали смесь глицерина с PBS в соотношении 9:1. Серии оптических срезов получены с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа (Leica TCS SP5 MP и Leica TCS SP5) в ресурсном центре СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и в «Ресурсном центре Микроскопии и микроанализа» СПбГУ. Полученные изображения обработаны в программе FIJI.

Для изготовления полутонких и ультратонких срезов был использован материал, зафиксированный глутаральдегидом с постфиксацией тетраоксидом осмия. После отмывки в фосфатном буфере (PBS) от глутаральдегида объекты помещали в 1 % раствор тетраоксида осмия на 1 час при температуре 4 °С. После отмывки от тетраоксида осмия проводили объекты до эпоксидной смолы EPON 812. Изготовленные блоки были нарезаны на ультратоме Leica EM UC7. Нами были изготовлены полутонкие срезы (толщиной 500 нм), которые затем монтировали на предметное стекло и окрашивали. Для этого использовали несколько красителей: краситель Ричардсона, целестиновый голубой с сафронином и толуидиновый синий.

Ультратонкие срезы (толщиной 60–80 нм) были перенесены на бленды с подложкой из формвара (FORMVAR 15/95 CAS#63450-15-7). Для контрастирования срезов использовали растворы уранилацетата и цитрата свинца. Электронные фотографии были получены на

микроскопе Jeol JEM-1400 и Jeol JEM-2100HC в ресурсном центре СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

Нами также применен метод сканирующей электронной микроскопии. Для этого был использован материал, зафиксированный жидкостью Ценкера. Кроме целых столонов, были также сфотографированы разрезанные пополам участки интерны. Для этого использовали метод парафиновой заливки с дальнейшим отрезанием половины объекта на микротоме для того, чтобы изучить структуру столона на срезе. В дальнейшем недорезанные куски были депарафинизированы в ксилоле. Объекты были проведены до ацетона и затем для высушивания использовали метод критической точки (Hitachi critical point dryer HCP-2). Смонтированные на столик объекты напыляли платиной. Напыление производилось с помощью машины для напыления (Giko IB-5 Ion coater). Электронограммы были получены на сканирующем электронном микроскопе FEI Quanta 250 в центре коллективного пользования «Таксон» (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/3038/>) в Зоологическом институте (ЗИН РАН).

Глава 3 Результаты и обсуждение

3.1 Региональная дифференциация тканей интерны *Peltogaster paguri*

3.1.1 Результаты

Общая морфология

Общая схема организации половозрелых особей *Peltogaster paguri* во многом совпадает с имеющимися литературными данными (Рис. 1). Однако некоторые детали строения нами были отмечены впервые (Рис. 2).

Все тело паразита отчетливо подразделяется на несколько участков, различающихся по своему внешнему и внутреннему строению. Это относится не только к разделению тела рака на интерну и экстерну, но и к сложной региональной дифференциации самой интерны (Миролюбов, 2016).

Вдоль абдомена хозяина (*Pagurus pubescens*) проходит главный столон интерны. От него во множестве отходят боковые выросты. В средней части главного столона располагается стебелек, ведущий в экстерну. В районе стебелька, непосредственно под кутикулой хозяина, был обнаружен «якорный диск» — особая структура, которая ранее не была описана. Якорный диск имеет неправильно округлую или овальную форму. Он сильно уплощен и, по сути дела, представляет плоский «воротничок», окружающий стебелек экстерны. «Верхняя» поверхность якорного диска, обращенная к покровам хозяина, покрыта слоем очень мощной кутикулы, окрашенной в желтоватый цвет, и хорошо выделяется на фоне покровов хозяина. Что же касается противоположной стороны, которая обращена в сторону полости тела и расположенного в ней гепатопанкреаса, то ее покровы ничем не отличаются от покровов в остальных частях интерны. Кроме того, по всей площади базальной поверхности якорного диска имеются достаточно многочисленные выросты, во многом похожие на трофические выросты главного столона. От последних они отличаются лишь тем, что несколько тоньше и короче (Миролюбов, 2016).

Сам стебелек прободает покровы хозяина и заканчивается крупной мускулистой экстерной. Последняя имеет овальную или яйцевидную форму. На одном из ее полюсов расположена пора, которая у молодых экстерн плотно сомкнута. У живых раков экстерна способна к активным мышечным сокращениям — вдоль ее продольной оси пробегает перистальтическая волна.

У переднего конца абдомена количество и длина боковых ветвей на главном столоне заметно уменьшается. В гнатотораксе характер ветвления главного столона меняется. Ветвей, отходящих от главного столона, становится меньше. Они далее беспорядочно ветвятся между

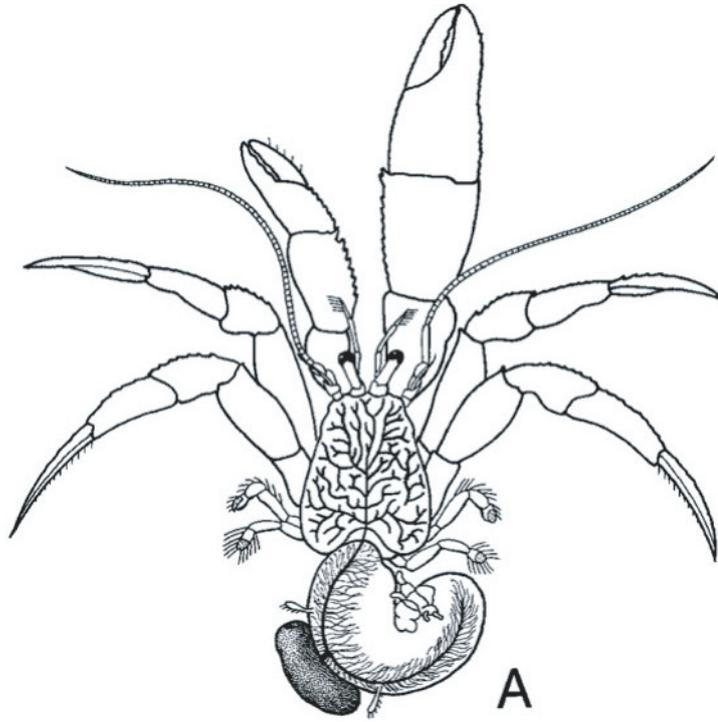


Рисунок 1.
Схема строения тела представителя сем. Peltogastridae. (По Perez, 1937).

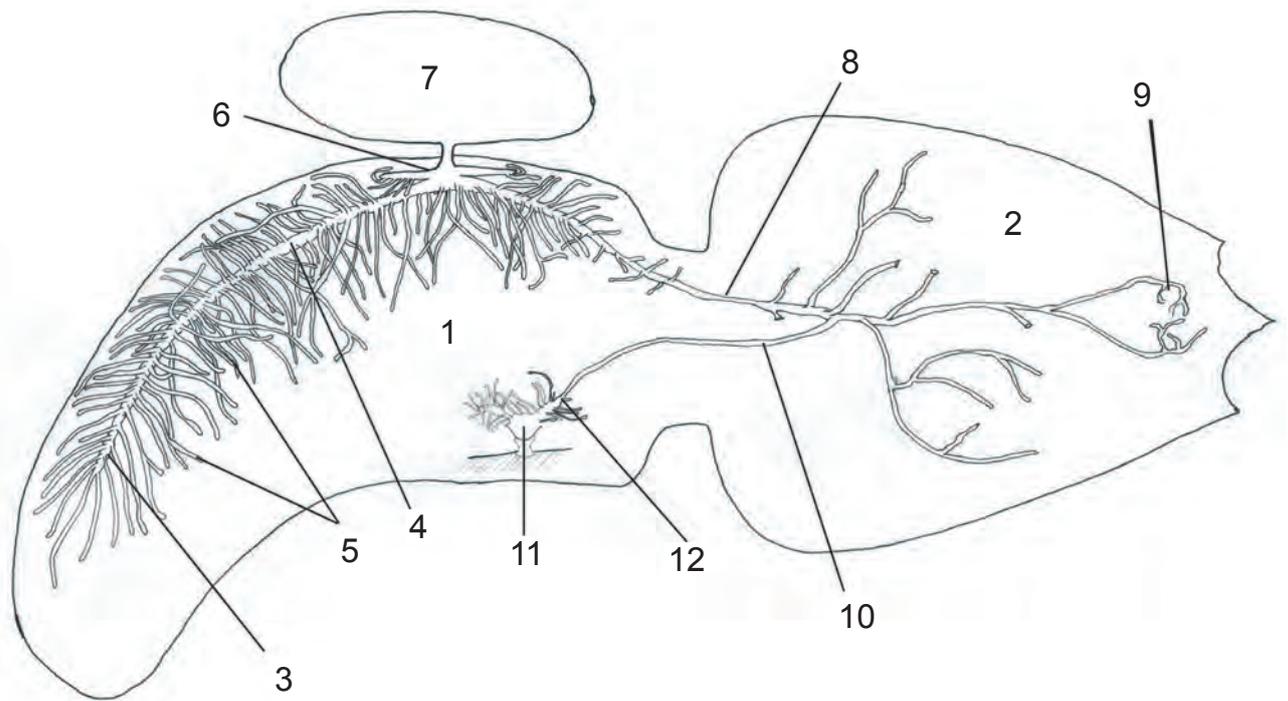


Рисунок 2.

Общая схема организации тела *Peltogaster paguri*.

1 — абдомен хозяина, 2 — торакс хозяина, 3 — задний дистальный участок главного столона, 4 — участок главного столона, приближенный к экстерне, 5 — периферические столоны, 6 — якорный диск, 7 — экстерна, 8 — главный стolon в гнатотораксе, 9 — участок главного столона, оплетающий головной ганглий хозяина, 10 — отходящий от главного столона боковой (возвратный) стolon, на котором формируется почка экстерны, 11 — почка новой экстерны, 12 — вторичный «главный стolon».

органами грудного отдела. По характеру ветвления и своему положению в гнатотораксе они в какой-то мере напоминают интерну саккулин, правда, очень слабо развитую (Миролюбов, 2016).

Сам главный стolon прослеживается вплоть до самого переднего конца тела хозяина. Он располагается с дорсальной стороны от желудка и направляется вперед к церебральному ганглию хозяина. Здесь, в области надглоточного ганглия стolon ветвится. Относительно короткие ветви образуют густое сплетение, которое и окружает ганглий. Однако не было обнаружено никаких свидетельств проникновения столонов в нервную ткань надглоточного ганглия.

У нескольких обследованных особей был выявлен дополнительный крупный стolon, отходящий от торакальной части интерны (Миролюбов, 2016). В отличие от главного столона этот стolon не ветвится. Этот прямой стolon направляется в обратном направлении — из гнатоторакса в абдомен, и поэтому, условно, будет обозначаться как «возвратная» ветвь, или «возвратный» стolon. Уже непосредственно в абдомене, на уровне примерно передней трети его длины, строение возвратного столона резко меняется. На его поверхности на очень ограниченном по длине участке формируется большое количество тонких боковых столонов, которые образуют густое сплетение. В центре этого скопления на поверхности столона расположено небольшое утолщение, сверху покрытое плотной кутикулой, очень напоминающую кутикулу якорного диска. Непосредственно над этим образованием покровы хозяина формируют хорошо выраженное отверстие. Все это говорит о том, что мы имеем дело с образованием почки новой экстерны (Рис. 2).

Иногда встречаются раки-отшельники, которые несут две или три развитые и половозрелые экстерны. В таком случае каждая из экстерн обладает своим собственным развитым главным столоном с периферическими выростами. Однако из-за большого скопления и переплетения столонов не представляется возможным определить, является ли все это частью одного организма или же может иметь место двойное или тройное заражение одного хозяина (Миролюбов, 2016).

*Микроанатомия интерны *Peltogaster paguri**

Разные участки интерны *P. paguri* различаются не только внешним строением, но и своей гистологической структурой. Для этих паразитов характерна высокая степень региональной дифференциации тканей и клеток.

Периферические столоны

Периферические выросты (Рис. 3А, 4), во множестве отходящие от главного столона *Peltogaster paguri*, снаружи одеты тонкой кутикулой (в среднем 0.1 мкм). Верхний тонкий слой кутикулы представлен электронно-плотным материалом, под которым лежит более толстый слой электронно-прозрачного материала. Апикальная поверхность кутикулы образует множество длинных микровыростов (Рис. 3Б).

Под кутикулой лежит слой гиподермальных (эпителиальных) клеток, несущих многочисленные микровилли на своей апикальной поверхности. Кутикула не вплотную прилегает к гиподермальным клеткам. Между апикальной мембраной этих клеток и кутикулой присутствует щелевидный просвет, в котором и располагаются упомянутые микровилли. Ядра гиподермальных клеток обычно вытянуты в длину. Их размер составляет 9.21 ± 1.02 мкм. Толщина гиподермального слоя варьирует. Ядродержащие части клеток заметно утолщены и погружены в подлежащие слои клеток столона. Окраска клеток гиподермы на гистологических препаратах также неоднородна, довольно часто встречаются более темноокрашенные клетки. В цитоплазме гиподермальных клеток часто обнаруживаются кристаллические включения зеленого цвета (Рис. 3С). Все кристаллы по форме напоминают тор. По-видимому, это кристаллы биливердина, которые и придают зеленый цвет всем столонам паразита.

Базальной пластинки, подстилающей слой гиподермы, ни на гистологических препаратах, ни на электронограммах нам обнаружить не удалось.

Под гиподермой располагаются аксиальный слой. Ядра аксиальных клеток несколько меньше ядер клеток гиподермы, их размер составляет 5.7 ± 0.4 мкм (Рис. 4).

На электронограммах нами не были обнаружены клеточные территории, которые ограничивали бы отдельные ядра. Точно такие же результаты были получены и на гистологических препаратах: ядра аксиальной цитоплазматической массы располагались равномерно по всему ее объему вперемежку с многочисленными вакуолями. Лишь на некоторых гистологических препаратах из-за дефектов проводки клетки немного сжались. При этом стали хорошо видны клеточные границы, которых в норме не заметны (Рис. 5А). Внутри одной такой клеточной территории отчетливо различимы несколько ядер.

Синцитиальные структуры располагаются в несколько слоев. В их цитоплазме, наряду с ядрами, в большом количестве присутствуют вакуоли. На гистологических препаратах они кажутся оптически пустыми, но нельзя исключать и того, что их содержимое просто вымылось в процессе подготовки объекта к исследованию. На электронограммах удается обнаружить эти вакуоли, заполненные электронно-плотным содержимым (скорее всего, липидной природы) (Рис. 4, 5Б). Эти включения окружены плотной сетью шероховатого эндоплазматического ретикулума (Рис. 5Б). Аксиальные «клетки» содержат довольно большое количество

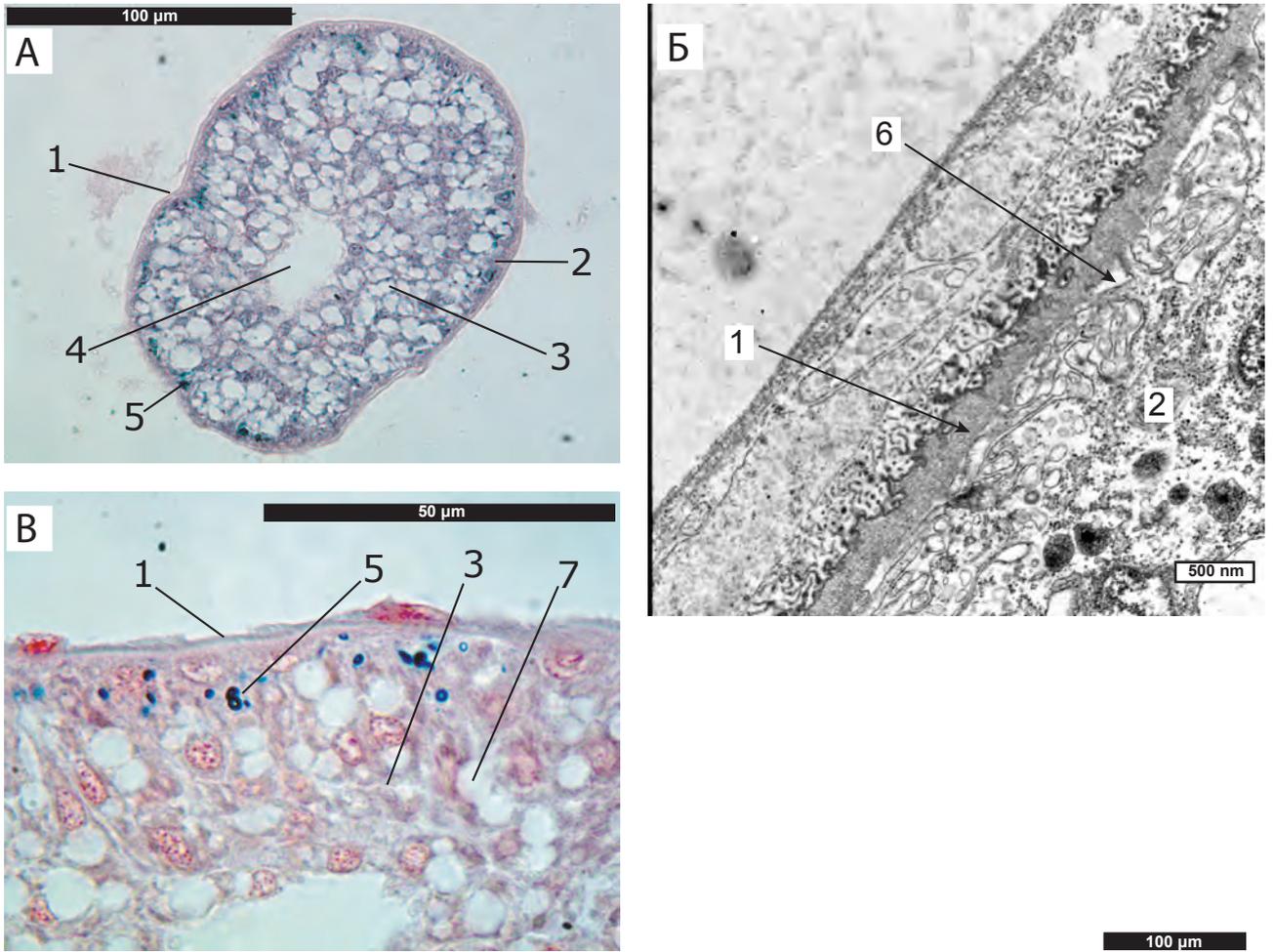


Рисунок 3.

А—Поперечный срез периферического столона; Б—Ультратонкий срез через клетку гиподермы и кутикулу; В—Срез через периферический стolon с гранулами биливердина.

1 — кутикула, 2 — гиподерма, 3 — слой аксиальных клеток, 4 — полость центрального канала, 5 — гранулы биливердина, 6 — субкутикулярное пространство, 7 — вакуоли аксиальных клеток.

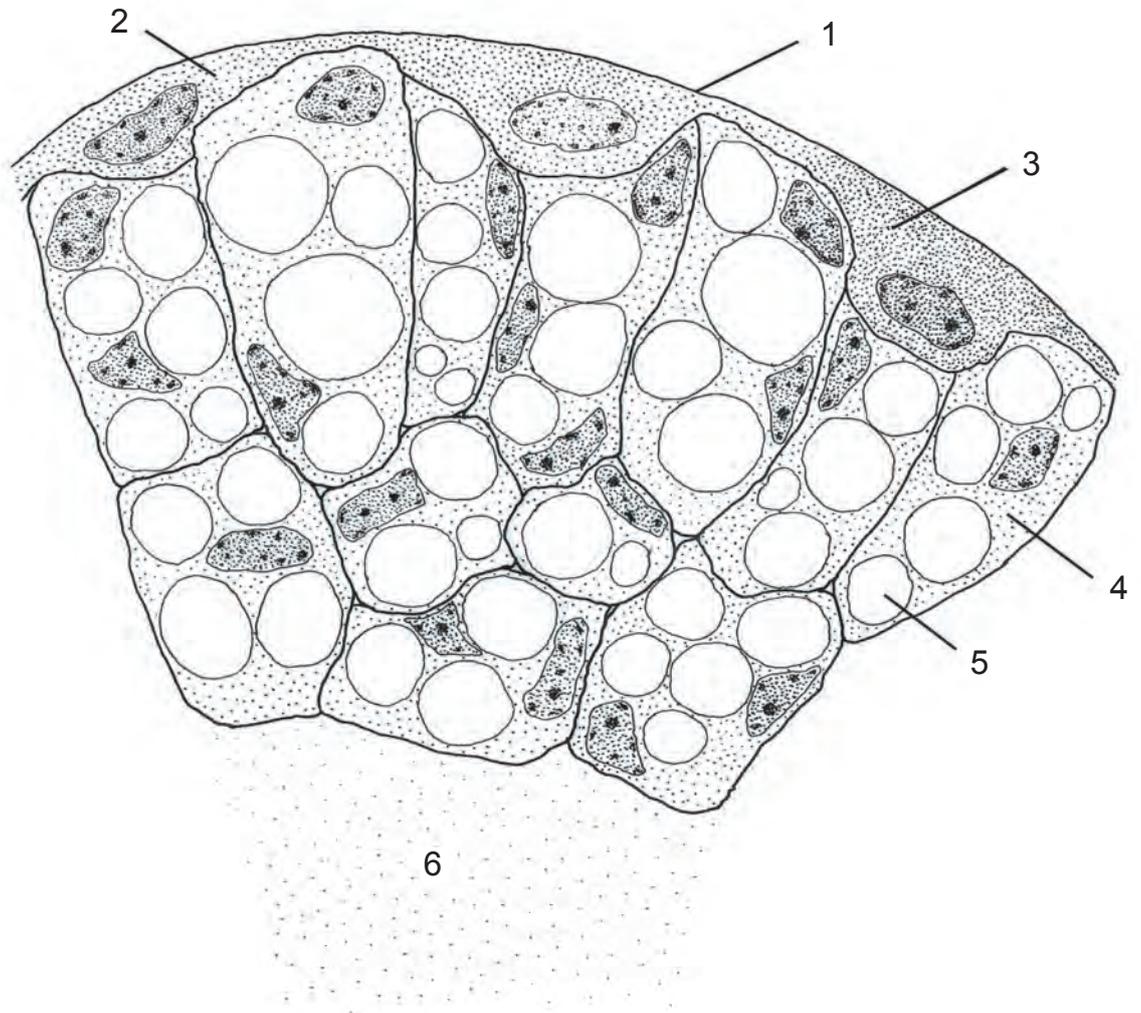


Рисунок 4.

Схема участка стенки периферического столона.

1 — кутикула, 2 — гиподерма, 3 — темно-окрашенная клетка в составе гиподермы, 4 — аксиальная синцитиальная структура, 5 — вакуоль в цитоплазме аксиальной «клетки», 6 — просвет центрального канала.

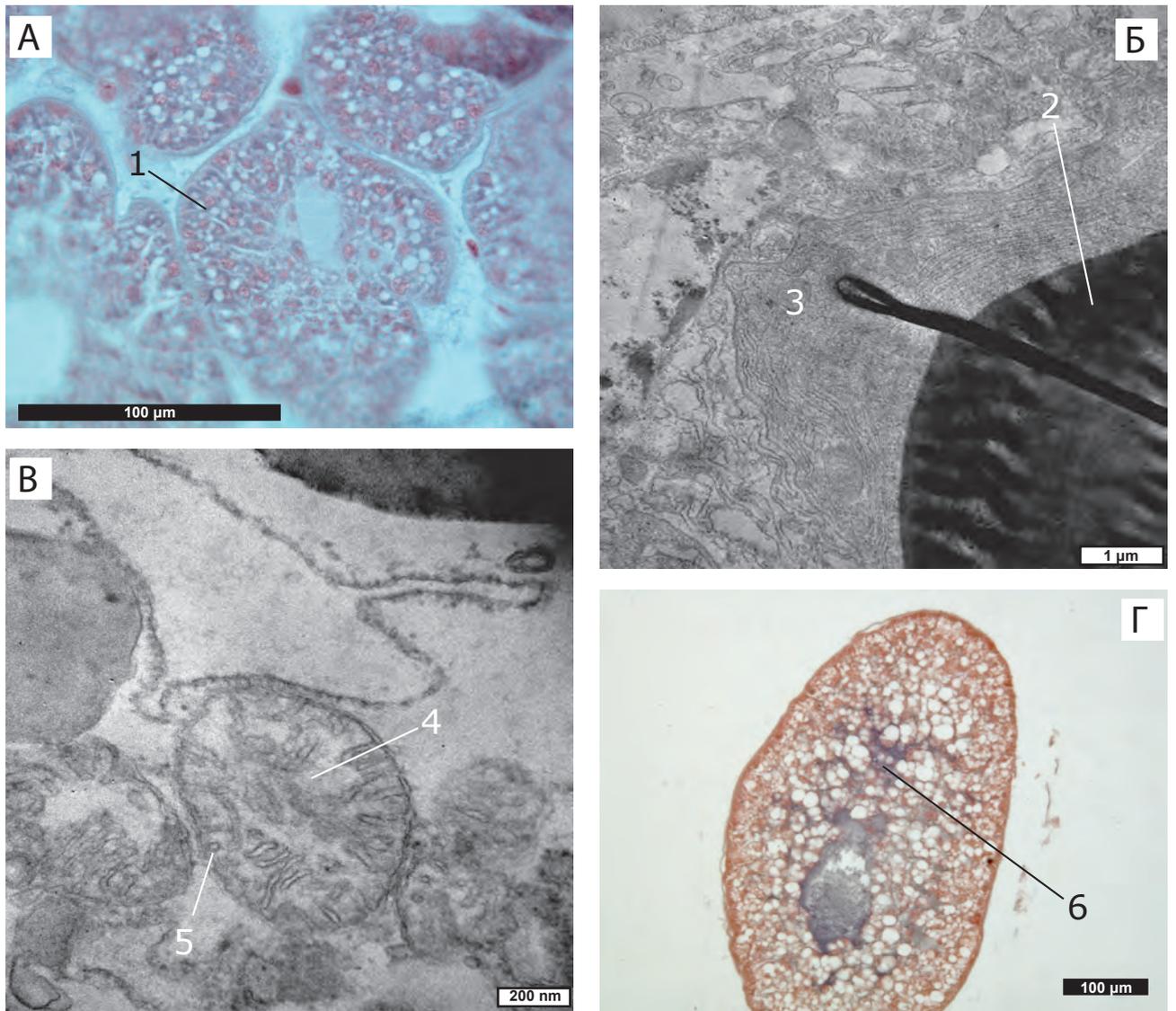


Рисунок 5.

А— Поперечный срез через периферический столон с сжавшимися аксиальными клетками; Б— Ультратонкий срез через аксиальную клетку; В— Митохондрия аксиальной клетки с тубулярными кристами; Г— Поперечный срез через дистальный участок периферического столон.

1 — аксиальные клетки, 2 — вакуоль аксиальной клетки, 3 — шероховатый эндоплазматический ретикулум, 4 — митохондрия, 5 — тубулярная криста, 6 — разветвленные лакуны полости.

митохондрий. Некоторые из митохондрий характеризуются наличием необычных для Metazoa тубулярных крист (Рис. 5В), что может указывать на необычный метаболизм этих клеток.

В центральной части самых крупных периферических столонов находится полость канала. На гистологических препаратах бывает видно, что в просвете канала имеется аморфное содержимое (Рис. 4, 5Г). Просвет канала ограничен непосредственно аксиальными «клетками». В дистальной части периферического столона общий канал отсутствует, а вместо него между аксиальными «клетками» формируется система тонких лагун (Рис. 5Г). Кроме того, на некоторых электронограммах нами был обнаружен процесс разрушения клеток. В просвет канала при этом попадает большое количество клеточного детрита.

Дистальные участки некоторых из периферических столонов, отходящих от главного и возвратного столонов, преобразованы в специализированные структуры, которые сильно отличаются по своему строению от остальных участков столона. Очень часто они обособлены от остального тела столона с помощью небольшой перетяжки (Рис. 6А). В литературе (Bresciani, Hoeg, 2001) эти структуры называют фолликулами, однако их подробное описание отсутствует. Было обнаружено, как минимум, два типа таких фолликулов. Фолликулы первого типа представлены столбчатыми плотно упакованными клетками (скорее всего, секреторными) с темно-окрашенной цитоплазмой (Рис. 6Б, В). Такие фолликулы обычно расположены на коротких и, вероятно, растущих столонах. Фолликулы второго типа встречаются на концах длинных периферических столонов. В этих фолликулах наблюдаются процессы разрушения клеток, лежащих под слоем эпителия, и обычно в них формируется небольшая полость (Рис. 6Г).

Главный столон

Полость центрального канала периферических столонов продолжается в их проксимальных участках и в конце объединяется с полостью главного столона.

Структура стенки главного столона в дистальной его части во многом похожа на стенку периферического столона (Рис. 7А). Снаружи столон покрыт кутикулой, под ней располагается слой гиподермальных клеток, а еще глубже находится сравнительно толстый слой аксиальных «клеток». Однако в этом отделе интерны между аксиальными элементами отчетливо видны мышечные волокна (Рис. 7Б). Толщина стенки главного столона в дистальном участке составляет 96.4 ± 10.76 мкм.

В полости канала главного столона в достаточно большом количестве свободно флоатируют округлые клетки (Рис. 8А, Б). Очень часто они образуют группы. Размеры этих клеток составляют 8.92 ± 0.3 мкм. Они обладают высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Ядро крупное и округлое, и занимает значительную часть цитоплазмы клетки.

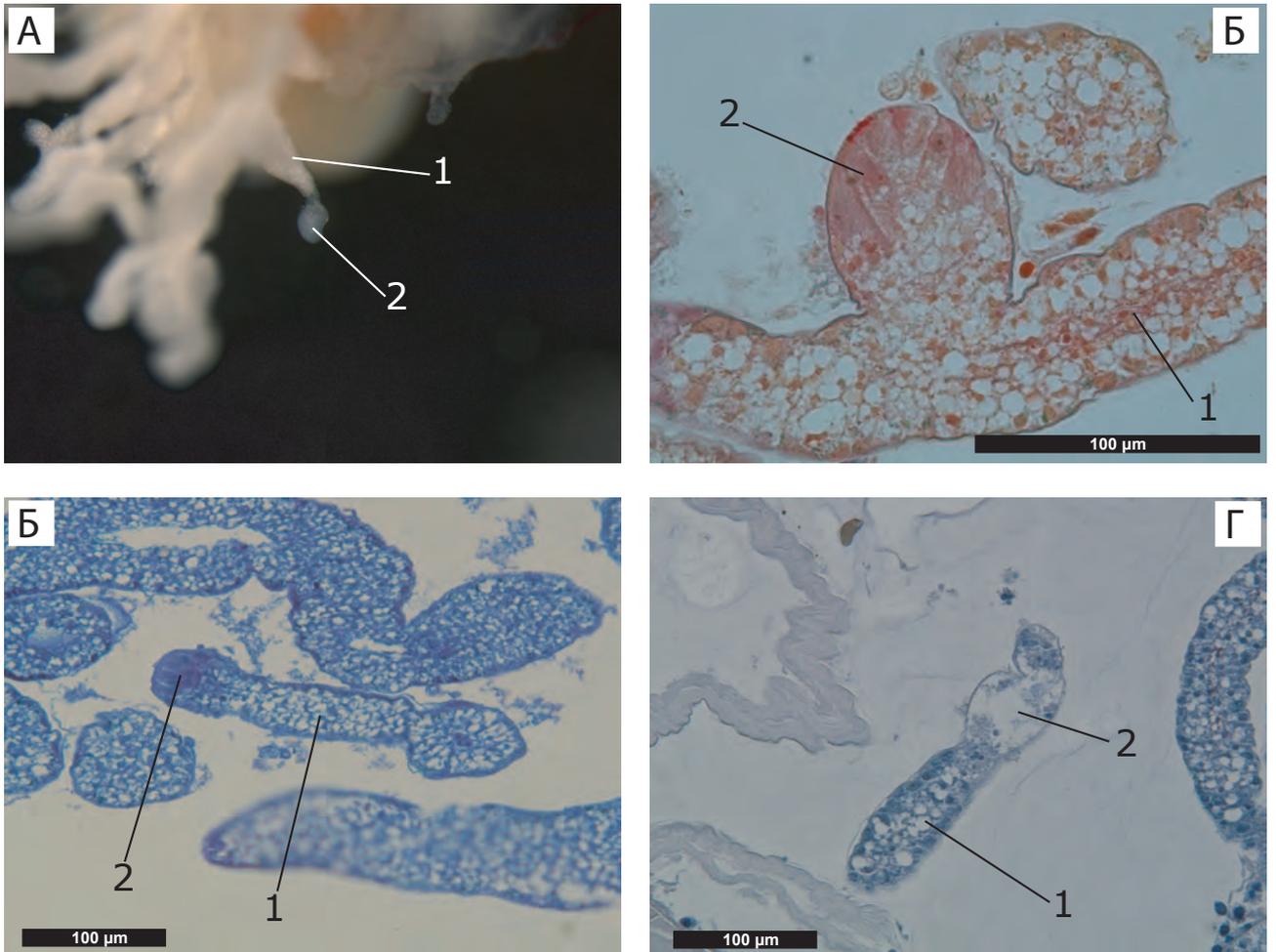


Рисунок 6.

А— Фотография периферического столона с фолликулом на конце; Б, В— Фолликул на конце растущего периферического столона; Г— Разрушающийся фолликул на конце периферического столона.

1 — периферический стolon, 2 — фолликул.

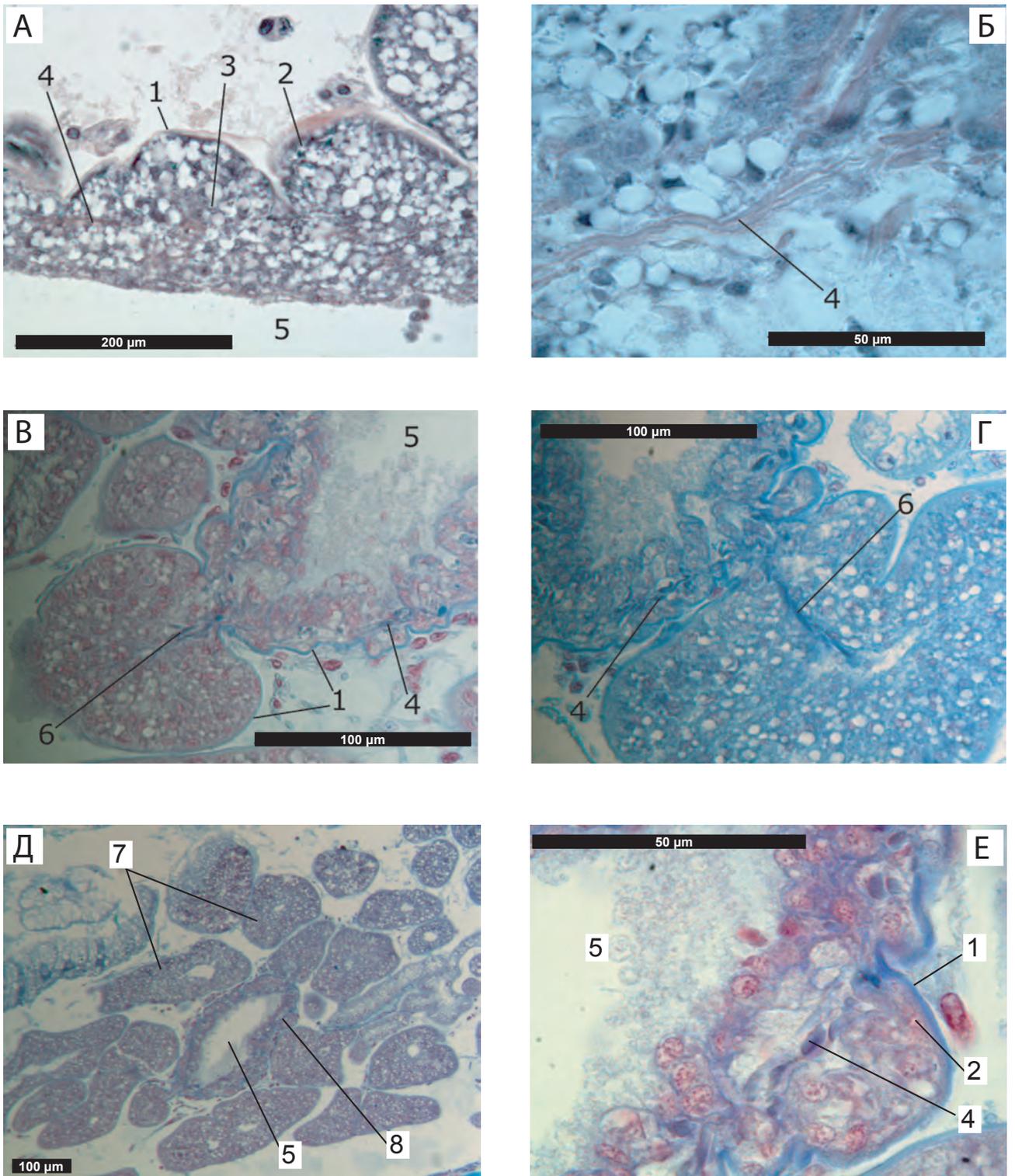


Рисунок 7.

Мышечные волокна в стенке главного столона представителей вида *Peltogaster paguri*.

А, Б — Мышечные волокна в дистальном участке главного столона; В, Г — Мышечные волокна в проксимальном участке главного столона; Д — Поперечный срез через центральный участок главного столона. Е — Фрагмент среза стенки центральной части главного столона.

1 — кутикула, 2 — гиподермальные клетки, 3 — аксиальные клетки, 4 — мышечные клетки в стенке главного столона, 5 — центральный канал главного столона, 6 — мышечные отростки заходящие в периферические выросты, 7 — периферические выросты, 8 — стенка главного столона,

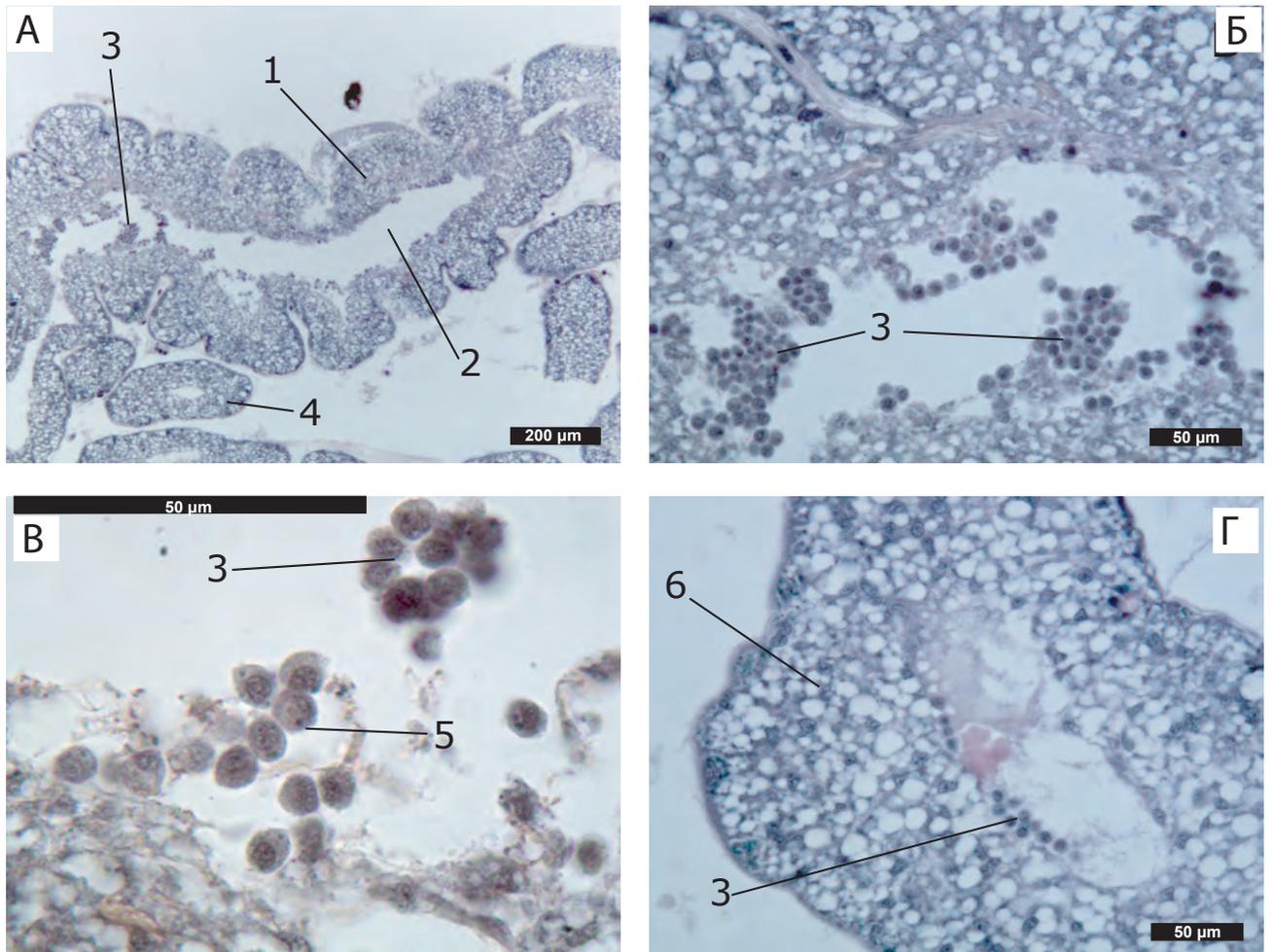


Рисунок 8.

А— Продольный срез дистального участка главного столона; Б— Участок продольного среза дистального участка главного столона; В— Округлые флотирующие клетки; Г— Поперечный срез проксимального участка периферического столона.

1 — стенка главного столона, 2 — центральный канал главного столона, 3 — группы округлых клеток, 4 — периферический столон, 5 — светопреломляющее тело, 6 — аксиальная ткань.

Рядом с ядром всегда располагается небольшое светопреломляющее тело, возможно, кристаллической природы (Рис. 8В). В основном эти клетки приурочены к полости главного столона, но также их можно найти и в проксимальных участках периферических столон (Рис. 8Г).

Тканевая структура стенки главного столона неоднородна по длине. В средней его части в районе места прикрепления экстерны строение стенки столона заметно отличается от описанных ранее его дистальных участков. Толщина стенки столона заметно уменьшается $25,9 \pm 2,23$ (Рис. 9). На светооптическом уровне видно, что кутикула, покрывающая главный стolon, становится толще ($0,88 \pm 0,046$ мкм). У отходящих здесь же периферических столон толщина кутикулы не изменяется (Рис. 7 В, Г, Д)

Под кутикулой располагается слой гиподермальных клеток. На светооптическом уровне эти эпителиальные клетки не отличаются от гиподермальных клеток других участков столона. А вот под гиподермой в этой части столона настоящей аксиальной «ткани» обнаружить не удается. Клетки, которые подстилают покровы, лишены столь характерных для аксиальной ткани вакуолей. Ядра этих клеток округлые и пузырьковидные в отличие от ядер аксиальных «клеток» (Рис. 7Е). В толще этого слоя располагается большое количество мышечных элементов. Детали строения мышечной системы подробнее будут описаны ниже (см. Главу № 3.2 «Мышечные системы интерны»).

В центре главного столона, как и в его дистальном участке, обнаруживается крупная полость канала. В некоторых местах на внутренних стенках канала расположены клетки, которые очень напоминают выстилку (Рис. 10 А, Б). Нами было выявлено три типа таких клеток «выстилки». На стенках канала во множестве встречаются уплощенные клетки, лежащие в один ряд (Рис. 10 В). Кроме них встречаются также высокие цилиндрические клетки. Эти цилиндрические клетки чаще всего приурочены к местам отхождения периферических столон (Рис. 10Г), но в боковые ветви этот слой клеток никогда не продолжается. Кроме того, в некоторых участках стенки главного канала присутствует выстилка из более округлых клеток (Рис. 7Д, 9). В этих участках часто можно обнаружить клеточный детрит и разрушающиеся клетки в полости канала в непосредственной близости от этой выстилки.

Клетки, расположенные на стенках центрального канала, нельзя называть настоящей эпителиальной выстилкой. Во-первых, она присутствует далеко не на всей внутренней поверхности главного канала. Как только в центральном столоне появляется настоящая аксиальная ткань, всякие следы подобных «выстилок» исчезают. Во-вторых, нам не удалось обнаружить никаких признаков базальной пластинки (впрочем, базальная пластинка отсутствует и под наружным слоем клеток, так называемой гиподермой).

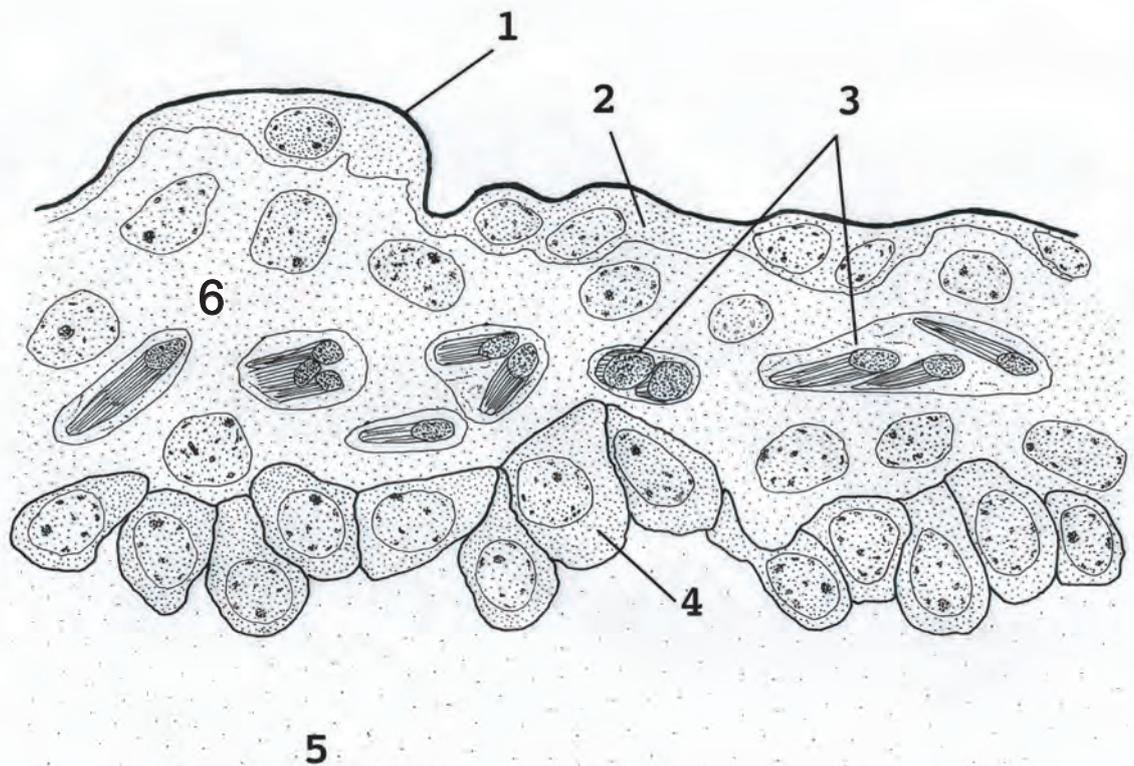


Рисунок 9.

Схема стенки главного столона в районе прикрепления экстерны.

1 — кутикула, 2 — гиподерма, 3 — мышечные волокна, 4 — клетки «выстилки» канала главного столона, 5 — просвет канала главного столона, 6 — клеточные элементы стенки центральной части столона.

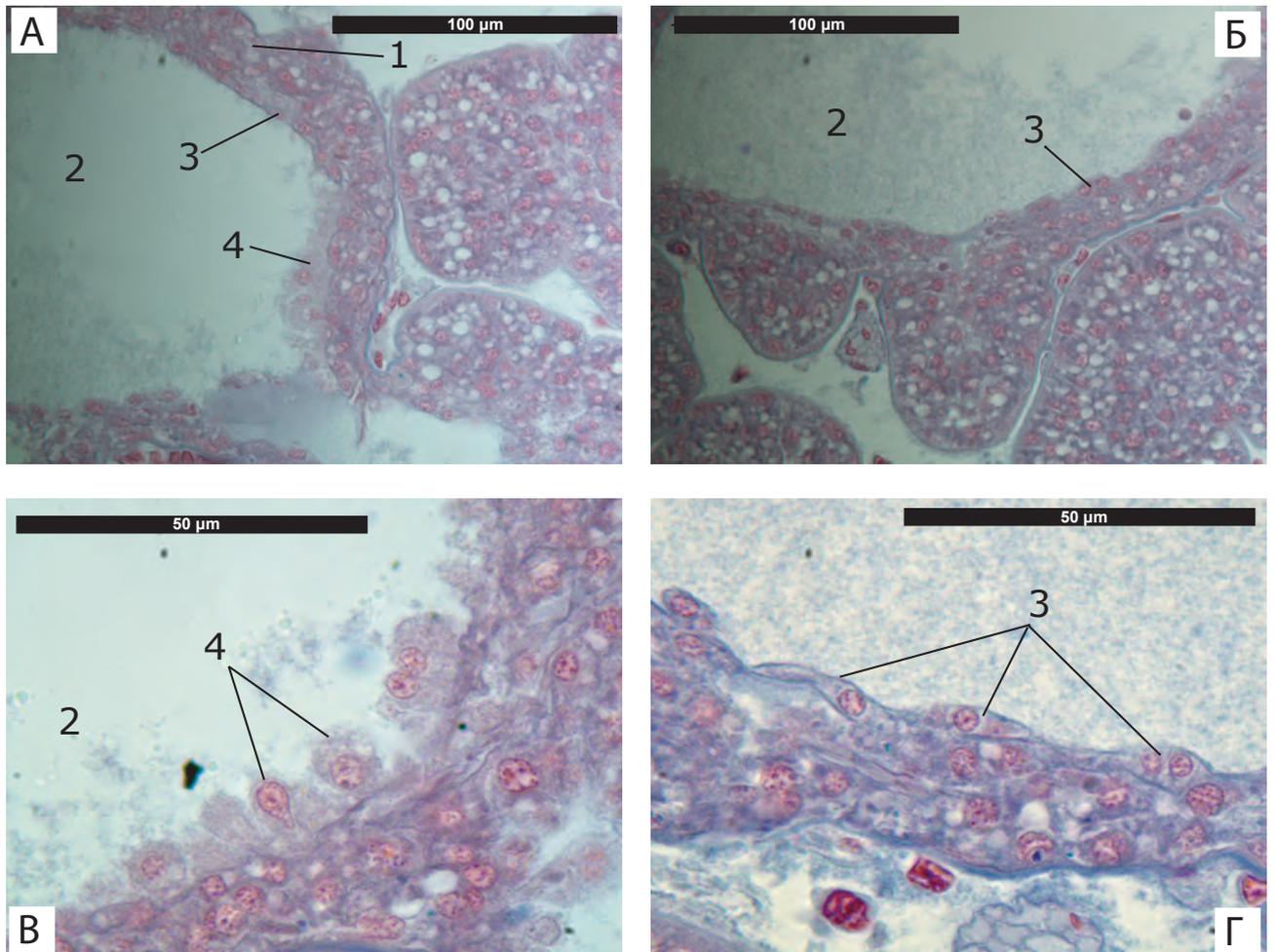


Рисунок 10.

А— Поперечный срез через центральный участок главного столона; Б— Поперечный срез через центральный участок главного столона; В,Г— Фрагмент среза через центральный участок главного столона.

1 — стенка главного столона, 2 — центральный канал главного столона, 3 — уплощенные клетки "выстилки", 4 — цилиндрические клетки "выстилки".

Экстерна и ассоциированные с ней структуры

В средней части главного столона располагается место прикрепления экстерны. От главного столона берет начало короткий стебелек, который пронизывает кутикулу хозяина. На конце этого стебелька и локализуется экстерна. Непосредственно под покровами хозяина в районе стебелька экстерны залегает «якорный диск». Он окружает стебелек со всех сторон и прикрепляется к стебельку экстерны у его основания (Рис. 11).

Часть базальной поверхности экстерны, стебелек и верхняя поверхность якорного диска покрыты толстым слоем плотной кутикулы (Рис. 12А, Б, В). Эта кутикула, значительно толще кутикулы паразита в других участках тела и, по-видимому, имеет иную структуру, нежели кутикула на остальной поверхности интерны. Толщина этой кутикулы составляет $35,6 \pm 2,36$ мкм. Ее ультраструктура, к сожалению, пока не известна. Стебелек представляет собой простую, неразветвленную трубку. Основу стенок стебелька составляет лежащий под кутикулой слой мышечных волокон, пронизанный тонкими лакунами. В центре располагается обширная полость, сообщающаяся с каналом главного столона (Рис. 12Б, Г).

Как уже было сказано выше, якорный диск сверху также покрыт плотной кутикулой, под которой залегает слой гиподермы. Под ней располагается достаточно толстый слой мышечных волокон. Базальная часть якорного диска, напротив, образована довольно типичной аксиальной тканью, слоем гиподермы и тонкой кутикулой, присущей периферическим столонам интерны (Рис. 13, 14А, Б). По своей гистологической структуре аксиальные элементы якорного диска чрезвычайно похожи на обычные аксиальные «клетки» периферических столон. Эти клетки несут в своей цитоплазме большое количество вакуолей (Рис. 14В).

От базальной поверхности якорного диска отходят отдельные периферические столоны, свисающие в гемоцель хозяина (Рис. 13, 14Г, Д). Следует отметить, что эти столоны являются частью именно якорного диска и не имеют никакого отношения к главному столону. По своей структуре столоны якорного диска практически полностью идентичны периферическим столонам, отходящим от главного столона. В центре этих столон располагается канал, который продолжается в якорный диск (Рис. 14Д). Правда, по периферии диска он превращается в систему уплощенных лакун.

С базальной стороны с якорным диском, как уже говорилось выше, соединяется главный столон. Ответвление канала главного столона заходит в диск и дальше продолжается в стебелек, ведущий к экстерне. В стенке главного столона, ассоциированного с якорным диском, наблюдается большое количество мышечных волокон. Часть этих волокон объединяется с мышечной системой якорного диска и стебелька.

В лакунах между мышечными клетками стебелька были обнаружены скопления округлых флотирующих клеток. По размеру и своему строению эти клетки очень похожи на

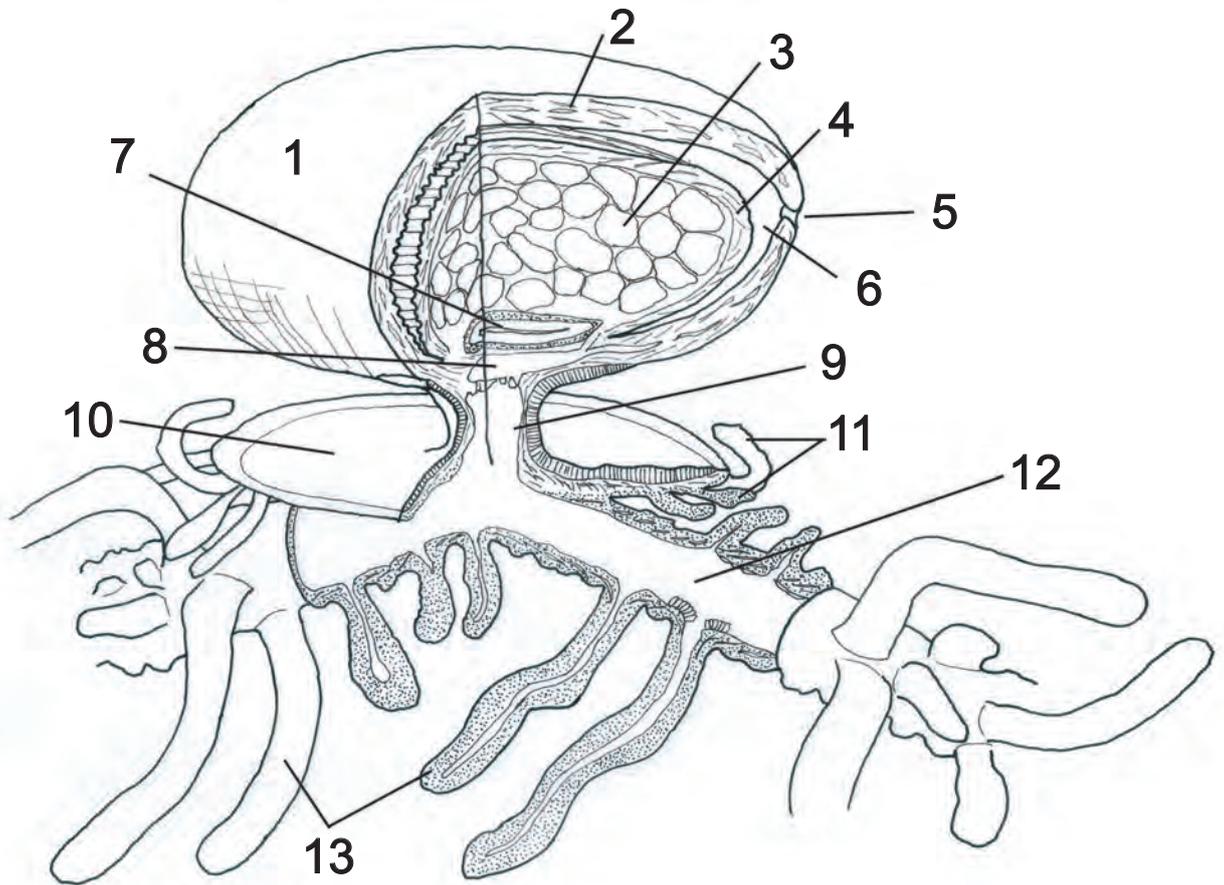


Рисунок 11.

Схема строения главного столона в месте отхождения якорного диска и стебелька с экстерной.
 1 — экстерна, 2 — мантии экстерны, 3 — яичник, 4 — мышечная стенка яичника, 5 — пора экстерны,
 6 — мантийная полость экстерны, 7 — рецептакул с редуцированным самцом, 8 — крупная
 разветвленная лакуна в основании экстерны, 9 — стебелек, 10 — якорный диск, 11 —
 периферические столон, отходящие от нижней поверхности якорного диска, 12 — главный стolon,
 13 — периферические столон, отходящие от главного столона.

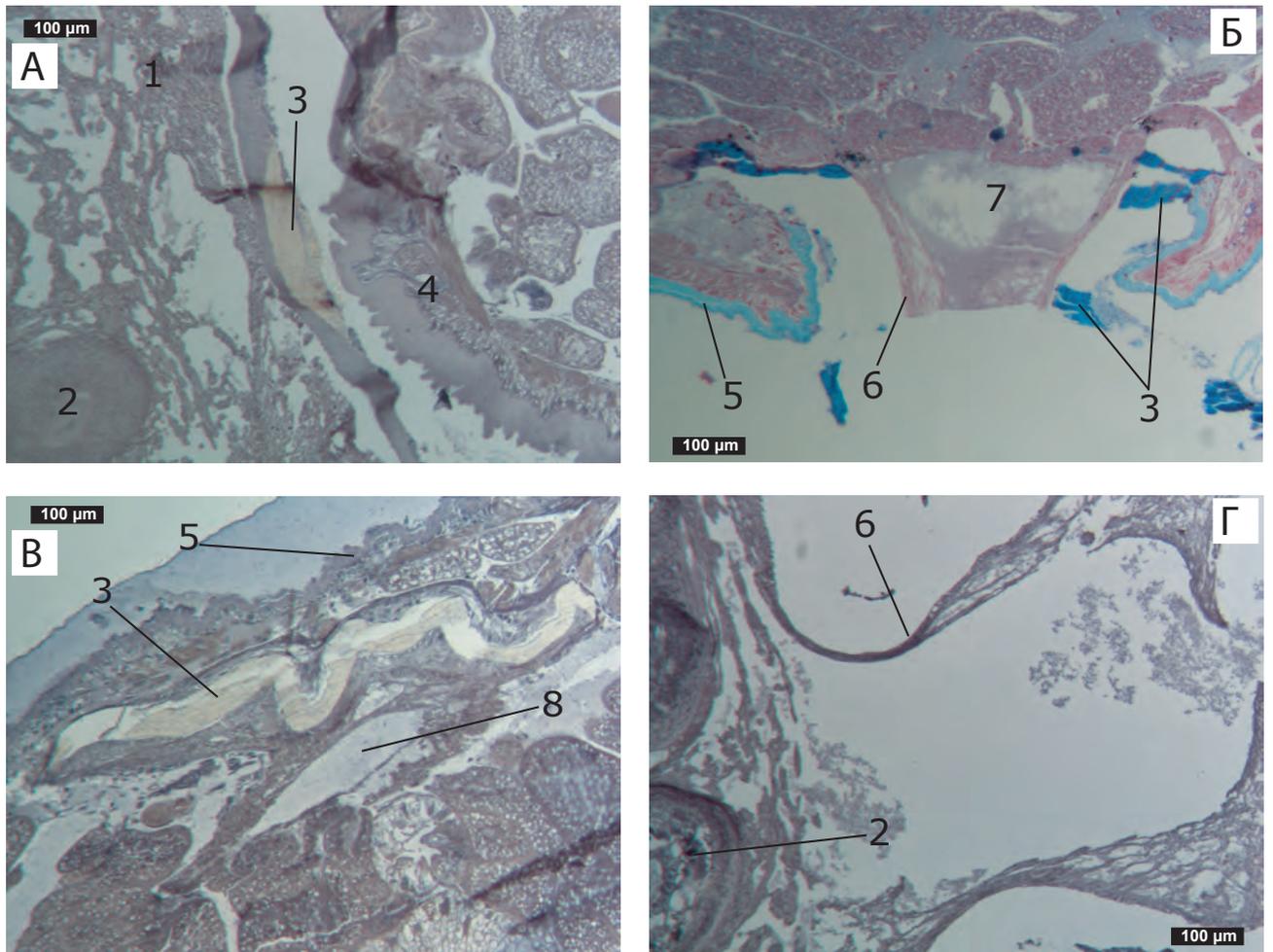


Рисунок 12.

А— Поперечный срез через нижнюю часть экстерны; Б— Срез через стебелек экстерны; В— Срез через якорный диск и главный стolon; Г— Срез через стебелек экстерны.

1 — экстерна, 2 — сперматогенная ткань, 3 — плотная кутикула, 4 — ткани хозяина, 5 — кутикула хозяина, 6 — стенка стебелька, 7 — полость стебелька, 8 — главный стolon.

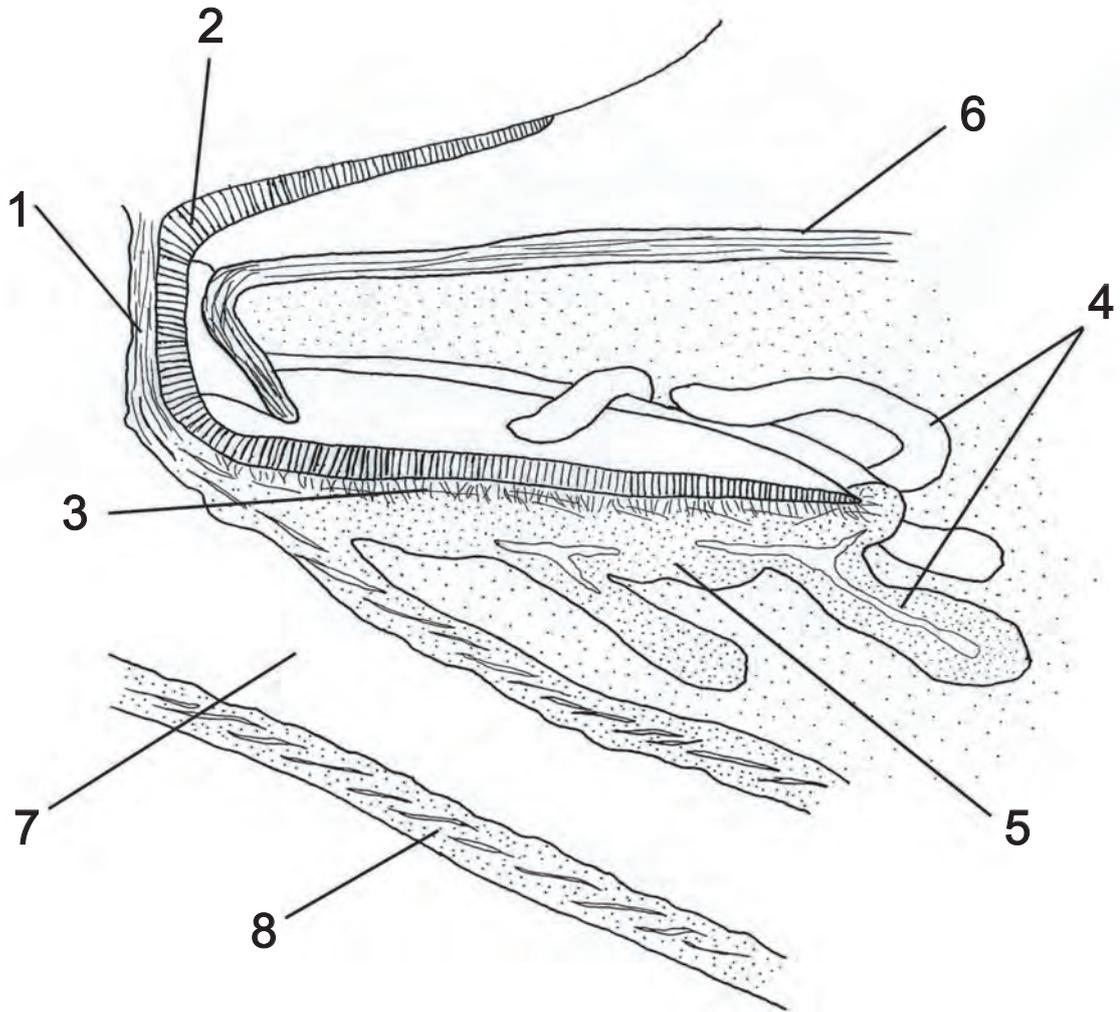


Рисунок 13.

Схема строения якорного диска.

1 — мышечная стенка стебелька, 2 — плотная кутикула, покрывающая нижнюю поверхность экстерны, стебелек и верхнюю поверхность якорного диска, 3 — мышечный слой якорного диска, 4 — периферические stolоны, отходящие от нижней поверхности якорного диска, 5 — аксиальная ткань якорного диска, 6 — кутикула хозяина, 7 — полость канала главного stolона, 8 — стенка главного stolона с мышечными волокнами.

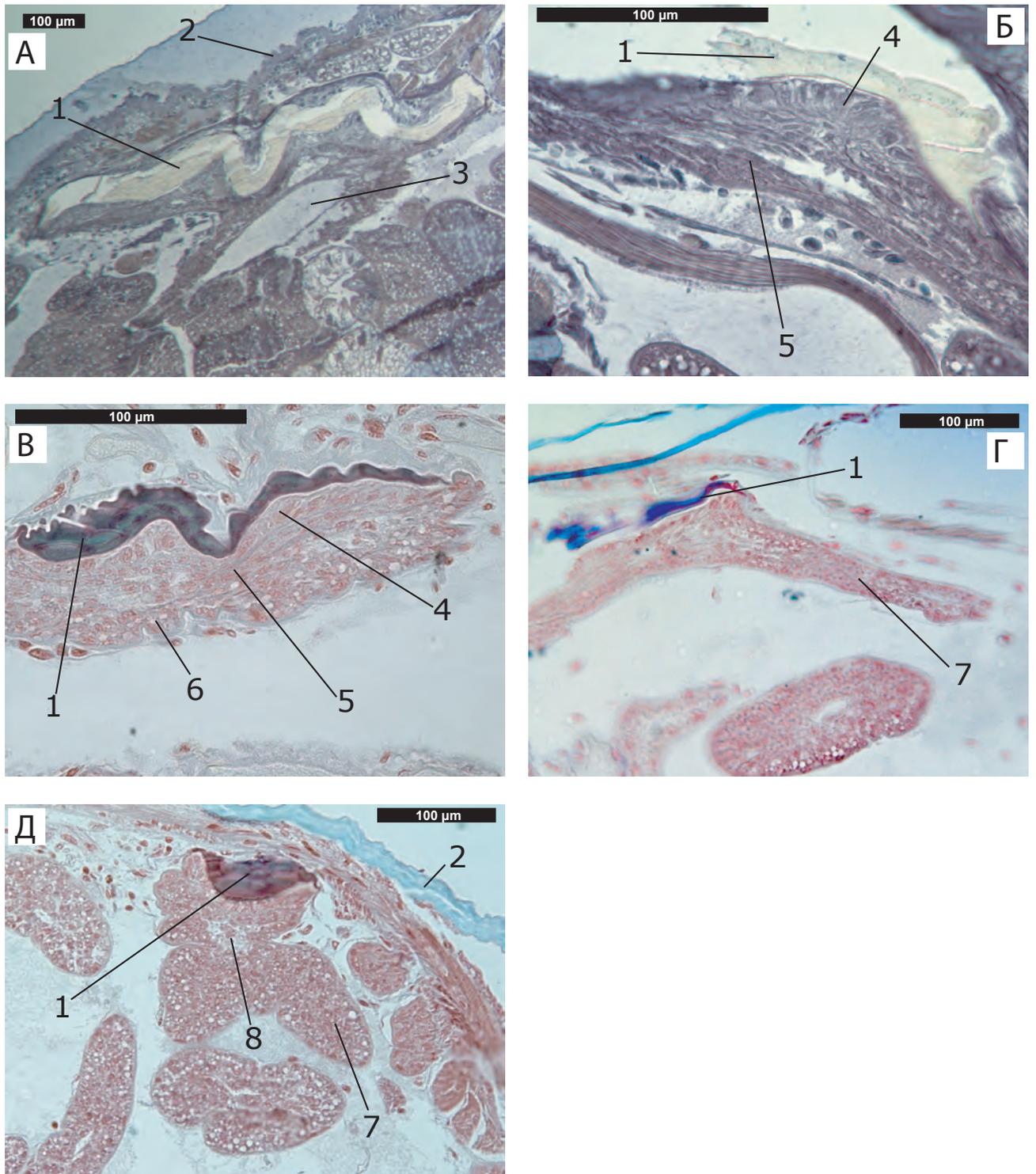


Рисунок 14.

А— Срез якорного диска; Б,В— Срез фрагмента якорного диска; Г— Срез периферического участка якорного диска и отходящего от него периферического столона; Д— Срез периферического столона, отходящего от якорного диска.

1 — плотная кутикула, 2 — кутикула хозяина, 3 — главный стolon, 4 — гиподерма, 5 — слой мышц, 6 — аксиальная ткань, 7 — периферический стolon, 8 — канал периферического столона.

флотирующие клетки, которые были обнаружены в канале периферического отдела главного столона. У многих из них происходит смещение ядра на периферию клетки, тогда как ее центральная часть занята крупным округлым светопреломляющим телом.

На дистальном конце стебелька располагается крупная экстерна (Рис. 11). Строение экстерны *Peltogaster paguri* полностью соответствует данным о строении экстерн других видов этого семейства. Она включает в себя мощную мантию, изолирующую мантийную полость, крупный яичник и два рецептакула для приема самцов.

Снаружи экстерна покрыта плотной и толстой кутикулой (Рис. 15А), которая через пору продолжается на внутреннюю поверхность мантии и выстилает всю мантийную полость. Толщина наружной кутикулы составляет $4,43 \pm 0,12$ мкм. Внутри мантийной полости она становится тоньше и эластичнее.

Кутикулу подстилает слой гиподермы. Далее вглубь экстерны залегают слои многочисленных и крупных мышечных волокон, располагающихся в разных направлениях (Рис. 15Б). Эта мышечная ткань составляет основу мантии и обеспечивает перистальтические сокращения экстерны. Последнее, по-видимому, необходимо для вентиляции и аэрации мантийной полости. Между слоями мышц в толще мантии имеется более или менее регулярная сеть лакун (Рис. 15Б). Мантийная полость открывается во внешнюю среду порой, окруженной кольцевой мускулатурой. Через эту пору в экстерну попадают самцы и выходят созревшие личинки.

В центральной части экстерны располагается крупный яичник (Рис. 15В, Г). Снаружи он покрыт кутикулой, являющейся продолжением кутикулярной выстилки мантийной полости, и мышечной стенкой, которая также непосредственно связана с мышцами самой мантии. Кроме мышц, входящих в состав этой стенки, были обнаружены мышечные пучки в толще яичника. Сам яичник имеет трабекулярное строение и пронизан системой лакун (Рис. 15В, Г). В яичниках происходит созревание яйцеклеток.

В основании яичника располагаются парные рецептакулы, где развиваются мужские гонады (редуцированные самцы).

В основании экстерны, прямо над местом прикрепления стебелька лежит крупная лакуна. Эта лакуна разветвляется и ее ответвления можно обнаружить в разных отделах экстерны, в том числе в яичнике и мантии (Рис. 11).

Возвратный столон и почка экстерны

Проследить детали строения возвратного столона по всей его длине не удалось. Подробно был изучен лишь дистальный конец столона, несущий на себе почку экстерны.

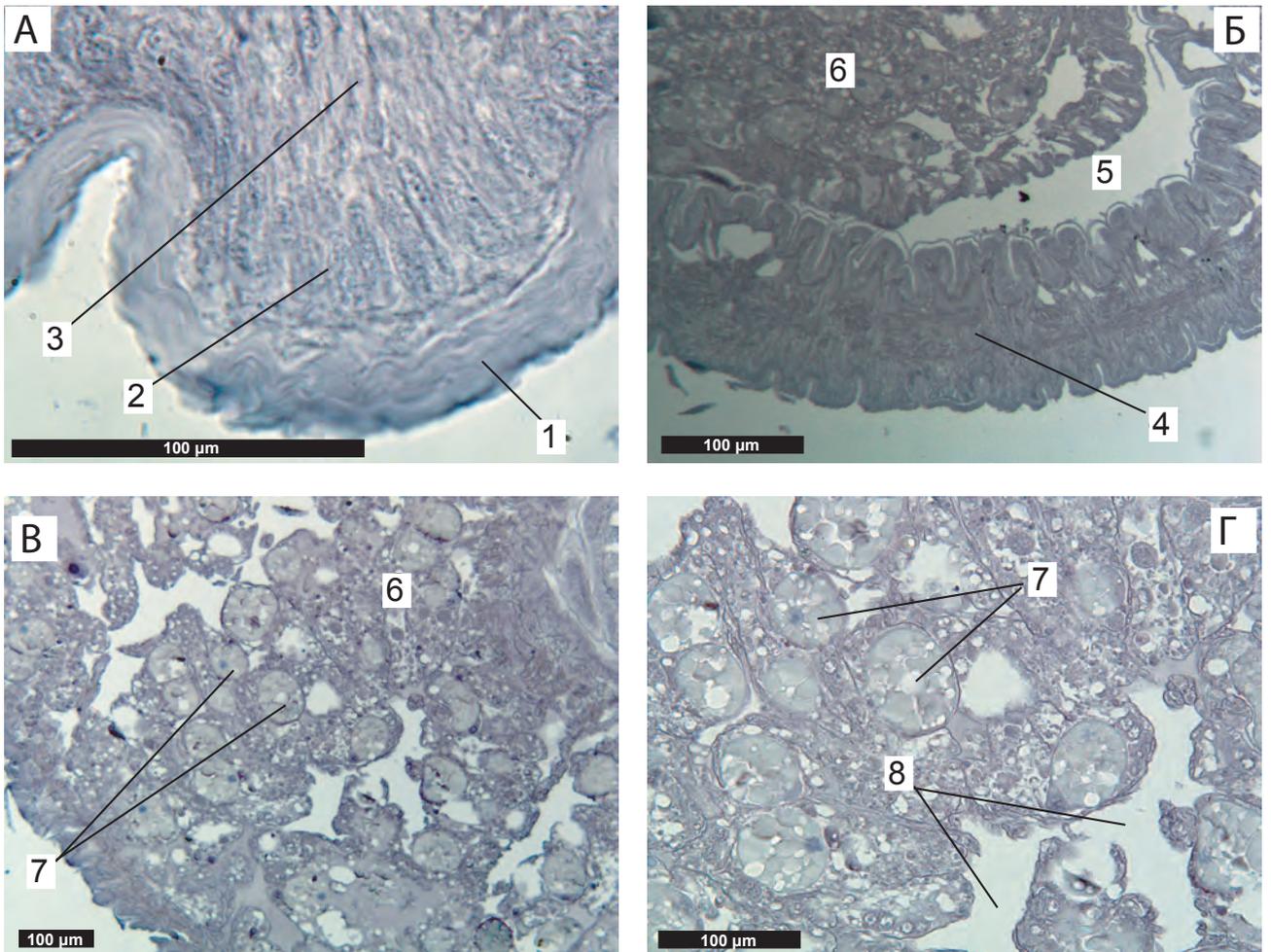


Рисунок 15.

А— Срез поверхности экстерны; Б— Срез стенки экстерны; В,Г— Срез яичника.

1 — кутикула, 2 — гиподерма, 3 — мышечный слой, 4 — мантийная складка, 5 — мантийная полость, 6 — яичник, 7 — ооциты, 8 — лакуны.

Участок интерны, ассоциированный с развивающейся почкой экстерны, в дальнейшем будет называться «вторичной интерной» (Миролюбов, 2016).

Дистальный отдел возвратного столона снаружи покрыт «обычной» тонкой (0.1 мкм) кутикулой. Под ней располагается гиподерма, а еще глубже толстый рыхлый слой вакуолизированных клеток, соответствующий аксиальной «ткани» других участков столона. В толще этого слоя в большом количестве располагаются мышечные элементы, что напоминает строение центрального отдела главного столона. Правда, есть и серьезные отличия, которые касаются центрального канала. В главном столоне обширная полость канала прослеживается по всей длине, в возвратном столоне на гистологических срезах граница полости хорошо видна, но сама полость заполнена рыхлым скоплением клеток (Рис. 16А, Б). Лишь в некоторых местах между клетками встречаются щелевидные лакуны. От возвратного столона во множестве отходят периферические столоны, однако эти столоны сильно отличаются от периферических ветвей главного столона. Они значительно тоньше, при этом у большинства боковых столонов отсутствует полость канала (Рис. 16В, Г). Кроме того, значительно отличается и гистологическое строение этих столонов. В аксиальных клетках вторичной интерны значительно меньше вакуолей, а цитоплазма на гистологических срезах окрашивается более темно. Возможно, мы наблюдаем процесс роста этих столонов и дифференциации их тканей (Миролюбов, 2016).

Почка экстерны представляет собой округлое тело, располагающееся на дистальном конце возвратного столона (Рис. 17). Апикальная поверхность почки покрыта очень толстым слоем плотной кутикулы (до 35 мкм). По своему строению эта кутикула идентична плотной кутикуле, располагающейся на стебельке и якорном диске половозрелой экстерны, описанной ранее (Рис. 17, 18А). Под слоем кутикулы лежат гиподерма и плотный мышечный слой. В центре почки локализуется рыхлая клеточная масса, пронизанная лакунами (Рис. 17, 18А). Базальную часть почки занимает крупная, неправильной формы лакуна, ответвления от которой пронизывают центральную клеточную массу (Рис. 18Б). От базальной и латеральных поверхностей почки отходят боковые периферические столоны. По своему строению они сходны с аналогичными ответвлениями, отходящими от возвратного столона. Таким образом, в районе почки формируется собственная «вторичная» интерна, своего рода «корневая система», обеспечивающая трофику развивающейся «вторичной» экстерны (Миролюбов, 2016).

Кроме того, непосредственно над почкой будущей экстерны обнаружено отверстие в покровах хозяина. В литературе обычно указывается, что образующаяся экстерна по мере своего созревания просто прорывает расположенную над ней кутикулу хозяина (Рупперт и др. 2008). В действительности процесс этот оказывается значительно более сложным. Можно предполагать, что с началом образования почки на возвратном столоне кутикула хозяина

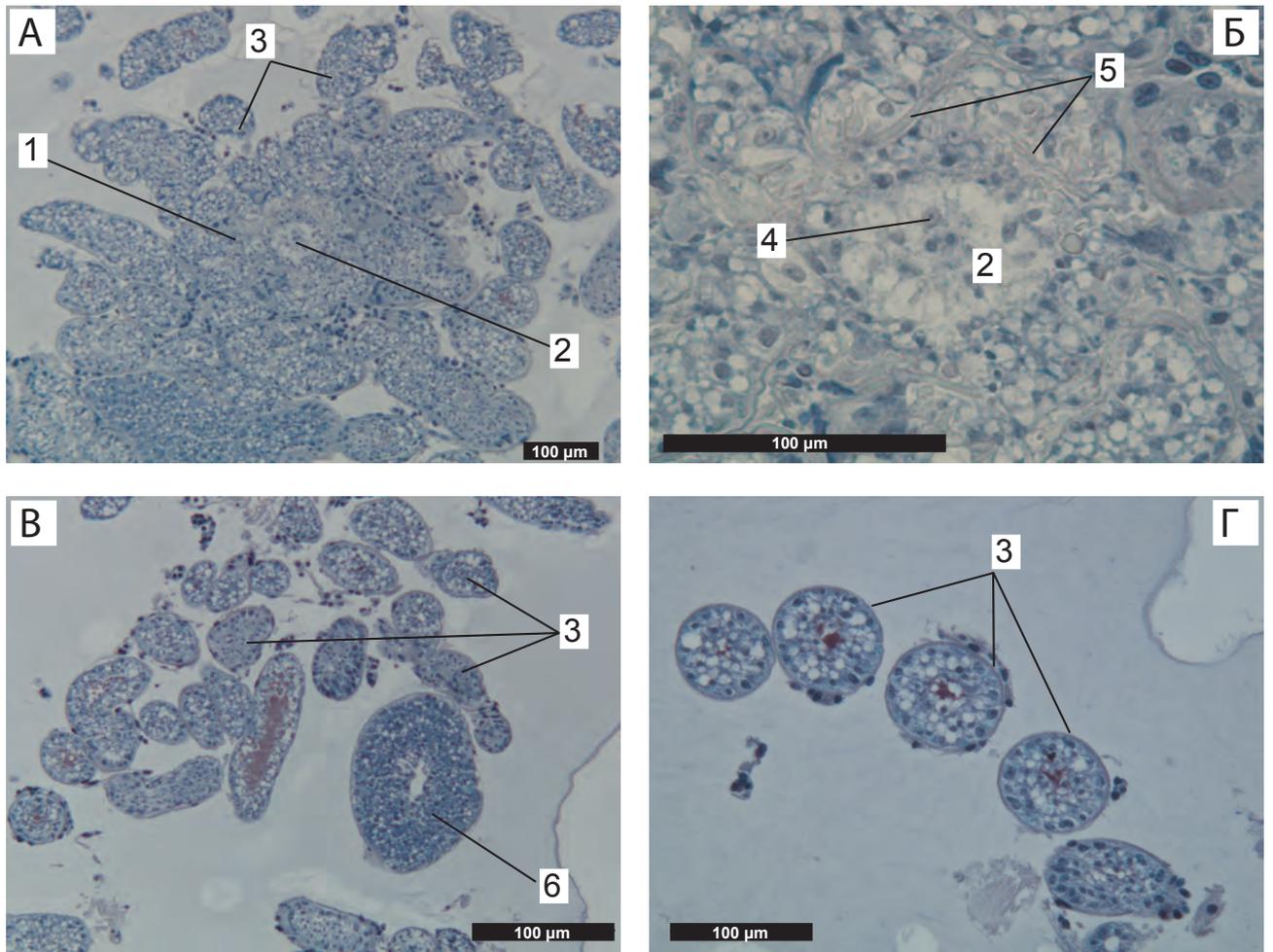


Рисунок 16.

А— Срез через "возвратный столон"; Б— Срез через "возвратный столон"; В, Г— Поперечный срез через периферические столоны вторичной интерны.

1 — стенка возвратного столона, 2 — "полость" возвратного столона, 3 — периферические столоны вторичной интерны, 4 — клетки заполняющие "полость" возвратного столона, 5 — мышцы в стенке возвратного столона, 6 — периферический столон первичной интерны.

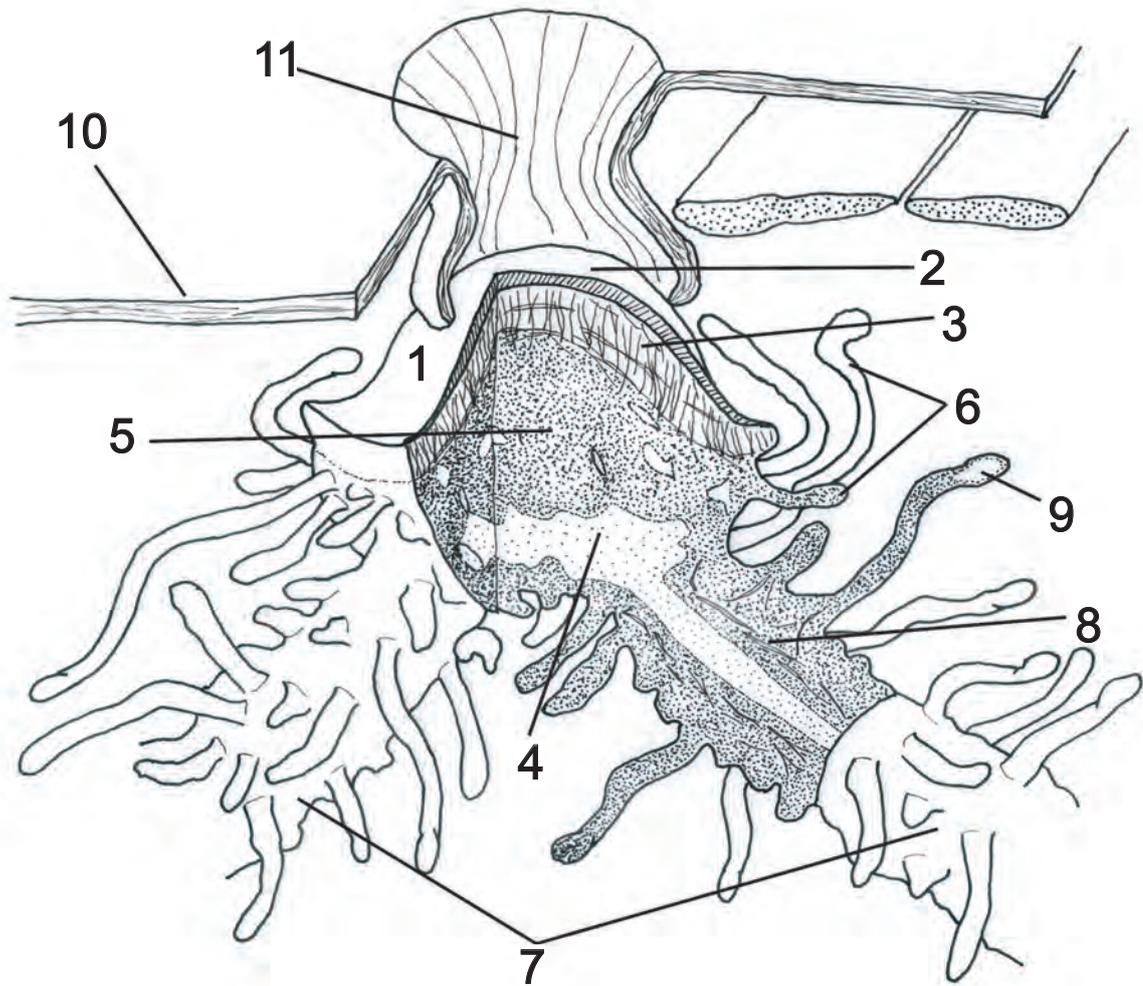


Рисунок 17.

Схема почки новой экстерны.

1 — почка экстерны, 2 — плотная кутикула, покрывающая почку сверху, 3 — мышечный слой, 4 — лакуна в базальной части почки, 5 — центральная рыхлая масса клеток. 6 — периферические столоны, отходящие от краев почки, 7 — возвратный столон, 8 — мышечные волокна в стенке возвратного столона, 9 — фолликул на конце периферического столона, 10 — кутикула хозяина, 11 — воронкообразная впадина в кутикуле хозяина.

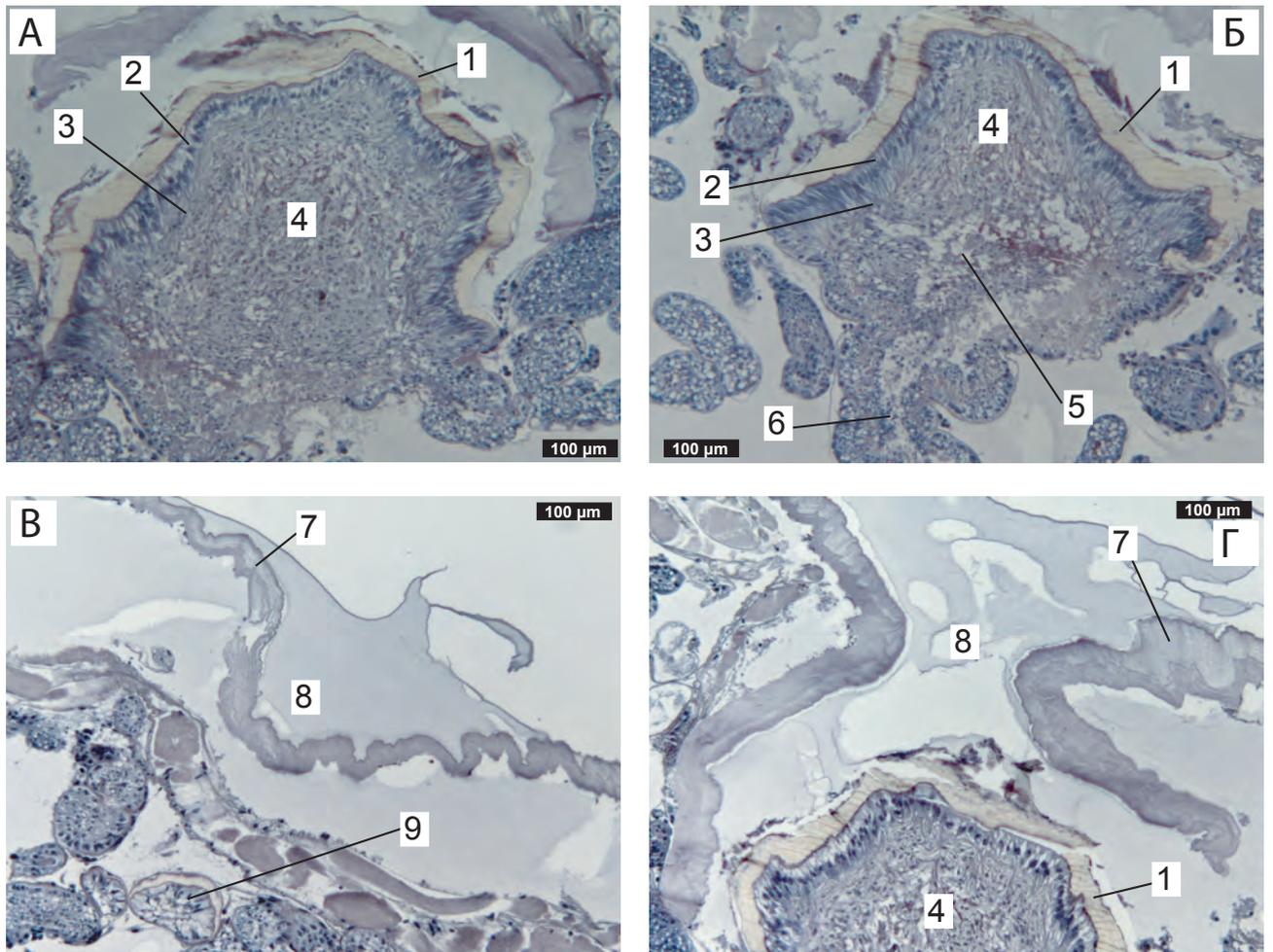


Рисунок. 18

А, Б— Срез через почку экстерны; В,Г— Кратерообразное углубление кутикулы хозяина.

1 — плотная кутикула, 2 — гиподерма, 3 — мышечный слой, 4 — рыхлая масса недифференцированных клеток, 5 — лагуна в основании почки, 6 — возвратный столон, 7 — кутикула хозяина, 8 — кратерообразное углубление в кутикуле хозяина, 9 — периферический участок почки.

подвергается сильным конформационным изменениям. Непосредственно над вновь образующейся почкой в покровах хозяина появляется глубокое кратерообразное впячивание (Рис. 18В). Слепо замкнутый конец впячивания достигает почки, у которой к этому времени формируется колпачок из плотной защитной кутикулы. По-видимому, именно в этот момент кутикула хозяина подвергается локальной резорбции — над почкой становится заметным круглое отверстие, в которое, как «затычка», входит верхняя часть самой почки (Рис. 18Г). Таким образом, ни о каком грубом травмировании хозяина говорить не приходится. Внутренняя среда организма хозяина остается полностью изолированной от контактов с внешней средой (Миролюбов, 2016).

3.1.2 Обсуждение

Дефинитивное тело корнеголовых ракообразных имеет ряд уникальных отличительных черт, непосредственно связанных с процессами развития организма. В ходе заражения личинка впрыскивает в тело хозяина небольшую группу слабо дифференцированных клеток — вермигон (Glennet, 2001). Затем из этого вермигона развивается новое тело взрослой самки. Таким образом, самка не наследует никаких органов и структур личинки, все органы развиваются вторично в пределах одного онтогенеза.

Тело взрослой самки корнеголового рака отчетливо разделяется на два отдела, различающихся по характеру выполняемых ими функций: интерну и экстерну. Интерна (собственно тело рака), расположенная в гемоцеле хозяина, обеспечивает трофику паразита. Об этом свидетельствует ее разветвленная форма, причем ветви интерны способны проникать в самые удаленные участки тела хозяина (Нøег, 1995). Экстерна — часть паразита, расположенная на поверхности тела хозяина — выполняет исключительно генеративную функцию. Судьба экстерны различна. У одних видов это временное (одноразовое) образование, после выполнения своей функции экстерна разрушается (Нøег, Lützen, 1993; Lützen, Pham, 1999). У других же экстерна может подвергаться, своего рода, рециклизации. После выхода личинок, экстерна линяет, в ней восстанавливается нормально функционирующая гонада, и паразит снова приступает к размножению (Нøег, 1995).

В литературе, посвященной корнеголовым ракообразным, интерна обычно рассматривается как некая однородная по своему строению структура. Лишь в некоторых источниках упоминается разделение интерны представителей колониального рода *Peltogasterella* на трофический и репродуктивный отделы (Shukalyuk et al., 2001).

Представители семейства Peltogastridae обладают одной из наиболее сложно устроенных интерн среди всех корнеголовых ракообразных. Уже на первых изображениях паразитической стадии *Peltogaster paguri* (Perez, 1937) (см. рис. 1) обращают на себя внимание удивительные различия в строении участков интерны, приуроченных к абдомену и гнатотораксу. В абдомене это мощный центральный столон, вокруг которого более или менее правильно располагаются периферические столоны. Именно на этом участке локализуется и экстерна. Судя по приводимому в литературе рисунку, периферические столоны относительно короткие и далеко не проникают между долями гепатопанкреаса. Совершенно иная картина наблюдается в гнатотораксе. Различия между продолжением центрального столона и его боковыми ответвлениями минимальны. Периферические столоны, в этом случае очень длинные, обильно ветвятся (они образуют веточки третьего и даже четвертого порядка) и заходят далеко вглубь гнатоторакса. Однако главный столон прослеживается достаточно хорошо вплоть до самого

переднего конца тела. Морфологические различия этих участков тела паразита позволяют предположить, что тканевая организация также будет не однородна на протяжении всей интерны. Детальное изучение паразитической стадии рака *P. raguri* позволило не только подтвердить, но и расширить наши представления о региональной дифференциации интерны этого вида.

В ходе работы было выделено несколько зон интерны, различающихся между собой по тканевой организации и ультраструктуре. Однако эти зоны не имеют четких границ и плавно переходят друг в друга.

Первая выделенная нами зона включает в себя периферические столоны абдомена и дистальный конец главного столона, лишенный мышц. По-видимому, главная функция этого участка интерны — трофическая (Миролюбов, 2016).

Строение покровов (кутикула, апикальная поверхность клеток гиподермы) свидетельствует о высоком уровне транспортной активности этих структур. Сильная складчатость как кутикулы, так и подлежащей мембраны гиподермы, скорее всего, нужны для увеличения площади поверхности, что свойственно тканям, через которые осуществляется тот или иной транспорт. Кроме того, на апикальной мембране клеток гиподермы были обнаружены признаки эндоцитоза, что само по себе указывает на транспортную функцию этой системы.

Расположенная в этих участках интерны аксиальная ткань требует отдельного рассмотрения. Как было уже сказано выше, мы считаем, что она образована синцитиальными структурами, содержащими несколько ядер. В цитоплазме этих образований содержится огромное количество вакуолей. Скорее всего, в них находятся запасные питательные вещества. Более того, данные электронной микроскопии позволяют предполагать, что в основном это нейтральные липиды. На электронограммах в цитоплазме аксиальных структур в изобилии встречаются электронноплотные тела, которые очень похожи на жировые капли. О высоком уровне метаболической активности аксиальной ткани говорит и большое количество митохондрий в цитоплазме симпластов, и наличие там же шероховатого эндоплазматического ретикулума.

На концах периферических столонев нами были обнаружены участки, отличающиеся по своему строению от остальной части столона. В литературе подобные образования описаны под названием «фолликулы» (Bresciani, Hoeg, 2001). Детальных описаний этих структур практически нет. Фолликулы были обнаружены на концах не всех периферических столонев, а только у части из них. Как правило, столонев, несущие на своем свободном конце фолликулы, отличаются более мелкими размерами. Их практически нет в дистальных участках интерны, где локализуются крупные периферические столонев, но зато их достаточно много в зонах, где закладываются новые ветви — зона прикрепительного диска, формирующаяся почка. По-

видимому, фолликулы, лишенные аксиальной ткани, но зато снабженные крупными железистыми клетками, принимают какое-то участие в росте столонов и продвижении их между органами хозяина. Можно предположить, что это своего рода «органы проникновения». Возможно, остановка роста столона происходит из-за частичного разрушения ткани фолликула (см. рис. 23). Подобные фолликулы были также обнаружены нами на концах столонов, проникающих в нервные ганглии хозяина, они будут отдельно описаны ниже (см. главу: «Взаимодействие с нервной системой хозяина»).

Вторая зона интерны, которая была выделена, это центральный участок главного столона. Здесь происходит образование стебелька с якорным диском и самой экстерны. Правда, на этом же участке, включая и базальную поверхность якорного диска, формируется большое количество периферических столонов, явно разного «возраста». Именно здесь чаще всего можно обнаружить столоны с фолликулами. Располагающиеся тут периферические столоны, по сути, должны относиться к первой функциональной зоне, ибо они сохраняют строение, присущее столонам первой зоны, и трофическую функцию.

Микроанатомия собственно центрального участка главного столона принципиально отличается от его дистальных участков. Утолщение кутикулы, мощное развитие мышечных волокон, полное отсутствие аксиальной ткани, появление своеобразной «выстилки» в центральном канале, наличие большого количества клеточного детрита в его просвете — все это говорит о том, что центральная часть главного столона выполняет несколько иные функции, чем остальные его части. Высокая плотность расположения мышечных волокон в этом участке позволяет предположить, что этот отдел интерны выполняет пропульсаторную функцию.

В этом участке главного столона были обнаружены клетки, выстилающие изнутри просвет центрального канала. Однако настоящей эпителиальной выстилкой они не являются, так как не образуют сплошного покрова и не лежат на базальной пластинке. Кроме того, базальные пластинки вообще отсутствуют в интерне корнеголовых ракообразных и таким образом «эпителиальные» клетки, лежащие под кутикулой, также не являются эпителием в строгом смысле.

Природа полости центрального канала интерны также вызывает ряд вопросов. Согласно результатам исследований процессов внедрения паразита в тело хозяина (Glennner, 2001), полость центрального канала по сути является продолжением полости кентрогона. Не очень понятно, можно ли считать ее первичной, вторичной или смешанной полостью тела, и вообще применимы ли эти термины к дефинитивному телу корнеголовых ракообразных. Для того, чтобы ответить на все эти вопросы, необходимо дальнейшее детальное изучение процессов развития этих животных.

Комплекс экстерны включает несколько компартментов. Прежде всего, это формирующийся на поверхности центральной части столона якорный диск. Сам якорный диск совмещает и трофическую, и, главное, якорную функцию. Трофика обеспечивается за счет периферических столонов, растущих на якорном диске, а функция прикрепления — за счет мышечного слоя, мощного слоя кутикулы и за счет формы самого якорного диска.

Начинающийся от якорного диска стебелек полностью утрачивает все микроанатомические признаки, характерные для интерны. Он образован гиподермой, выделяющей толстую кутикулу, и подстилающим гиподерму слоем мышечных волокон. Никаких признаков аксиальной ткани в стебельке не обнаружено. Просвет стебелька сообщается с просветом главного столона. Стебелек сообщает экстерну с главным столоном и является проводником для питательных веществ, которые транспортируются в экстерну.

Развитие мощной мышечной обкладки в центральном отделе главного столона, якорном диске и стебельке особенно важно, потому что это своего рода транзитный путь, по которому пищевые вещества поступают в экстерну.

Экстерна у половозрелой самки рака выполняет чисто генеративные функции. Она производит яйца, создает условия для существования карликовых самцов, низведенных до уровня гонады, и функционирует как выводковая камера.

В центральном канале главного столона и в стебельке экстерны во множестве были обнаружены округлые флотирующие клетки. Сходные флотирующие клетки ранее были описаны у других видов корнеголовых и интерпретированы авторами как тотипотентные стволовые клетки (Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005). Однако метод, который использовали исследователи (обнаружение активности щелочной фосфатазы), не позволяет однозначно это утверждать. Кроме того, мы обнаружили, что в цитоплазме этих клеток располагается некая плотная структура, напоминающая nuage-тело, которое является маркером первично-половых клеток (Isaeva et al., 2009). На основании этих фактов можно предположить, что корнеголовые ракообразные не имеют оформленной гонады, их первично-половые клетки диффузно рассеяны по интерне и по мере созревания мигрируют в экстерну. Таким образом «яичник», который располагается в экстерне, не является по сути таковым и служит лишь местом дальнейшего созревания клеток женской половой линии. К сожалению, пока что нельзя быть полностью уверенным в этом предположении. В будущем планируется проверить эту гипотезу с помощью анализа транскриптомных данных и выявления специфичных маркеров первично-половых клеток.

Особое место в перечне компартментов тела рака *Peltogaster paguri* занимает обнаруженный нами возвратный столон (Миролюбов, 2016). «Репродуктивная» функция (по терминологии Shukalyuk et al., 2001) этой части тела паразита не вызывает сомнений. На конце

возвратного столона формируется почка, из которой в дальнейшем разовьется весь комплекс новой экстерны. Некоторые детали этого комплекса хорошо видны на самых ранних этапах развития почки: начало образования якорного диска, формирование на нем периферических столонов, выделение слоя плотной кутикулы. Таким образом, формируется новый модуль организма, состоящий из главного столона с периферическими выростами и комплекса органов, ассоциированных с экстерной (сама экстерна, стебелек и якорный диск) (Миролюбов, 2016).

Ранее считалось, что представители вида *Peltogaster paguri* — унитарные организмы и обладают только одной «многоцветной» экстерной на протяжении всей жизни (Høeg, 1995). Полученные нами данные говорят о том, что представители этого вида могут приобретать модульное строение. В литературе описаны случаи обнаружения раков-отшельников, зараженных *P. paguri*, с двумя, а иногда и с тремя экстернами. Однако авторы интерпретировали данный феномен как множественное заражение одного хозяина несколькими отдельными паразитами (Reinhard, 1942). К сожалению, в случае, когда две или три экстерны имеют развитую интерну с множеством периферических выростов, на вскрытии методически крайне сложно проследить, существует ли между ними связь. Мы считаем, что возможны оба варианта: множественное заражение и модульное строение одного организма (Миролюбов, 2016).

Одним из наиболее интересных аспектов биологии *Rhizocerphala* являются особенности их взаимоотношений с животными-хозяевами. Этому вопросу посвящено большое количество публикаций. Были исследованы самые разные аспекты паразито-хозяинных отношений, однако чаще всего описываются следствия и результаты этих взаимодействий, тогда как реальные механизмы, позволяющие паразиту «управлять» хозяином изучены крайне слабо (Bresciani, Høeg, 2001). В ходе выполнения этой части работы было обнаружено, что непосредственно над почкой экстерны, развивающейся в покровах хозяина, образуется кратерообразная впадина. Образование этой впадины над почкой, формирование отверстия на дне этого впячивания, фактически точная подгонка развивающейся почки к этому отверстию — все это звенья одного процесса, который явно инициируется паразитом. Конечная его цель — обеспечить «бестравматичное» выведение экстерны во внешнюю среду, но так, чтобы сохранить изолированность внутренней среды организма хозяина. Данный процесс можно рассматривать как одно из проявлений тесных и высоко специализированных паразито-хозяинных взаимодействий.

В заключение можно с уверенностью сказать, что *P. paguri* обладает гораздо более выраженной региональной дифференциацией тканей, чем это считалось ранее. Вопрос о региональной дифференциации интерны у других таксонов корнеголовых раков пока остаётся открытым. Можно лишь предполагать, что она связана с морфологическим обособлением

разных отделов интерны и, соответственно, можно ожидать менее выраженное деление интерны на специализированные зоны у видов с менее гетерогенной интерной.

3.2 Мышечные системы интерны

3.2.1 Результаты

В ходе проведенного исследования обнаружены и описаны мышечные системы в интерне у представителей двух семейств корнеголовых ракообразных: Peltogastridae (*Peltogaster paguri*) (Miroljubov, 2017a) и Sacculinidae (*Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*) (Miroljubov, 2019). В то же время у вида из третьего семейства Lernaediscidae (*Lernaediscus* sp.) в столонах интерны мышечные элементы отсутствуют.

Мышечные системы в интерне корнеголовых ракообразных описаны впервые. В литературе отсутствуют какие-либо описания мышечных систем этой группы животных.

У *Peltogaster paguri* в стенке главного столона были обнаружены мышечные волокна, хорошо видимые на гистологических срезах (Miroljubov, 2017a). Мышцы залегают в слое аксиальных клеток и располагаются под углом к продольной оси главного столона (Рис. 7). Мышечные элементы обнаруживаются как в дистальном участке главного столона (Рис. 7А, Б), так и в проксимальном (Рис. 7В). Некоторые отростки мышечных волокон заходят на небольшую глубину в проксимальные отделы периферических выростов (Рис. 7Г), остальная же часть бокового столона полностью лишена каких-либо сократимых элементов (Miroljubov, 2017a). Все обнаруженные мышечные волокна имели отчетливую поперечную исчерченность (Рис. 19 В, Г) (Miroljubov, 2017a).

С помощью методик гистохимического окрашивания и конфокальной лазерной микроскопии удалось визуализировать мышечную систему интерны. Мышечные волокна в ней образуют однонаправленную правозакрученную спираль, расположенную вдоль главного столона (Рис. 19А, Б). Большинство крупных пучков мышечных волокон располагаются под углом к продольной оси столона. Однако есть и более тонкие волокна, которые образуют своеобразные анастомозы между крупными пучками. Ответвления от спиральных пучков мышечных волокон могут заходить в проксимальные участки периферических столон. Таким образом, спиральная мышечная система оплетает центральный канал главного столона (Miroljubov, 2017a).

Мышечная система неоднородна вдоль главного столона. В дистальной его части плотность расположения мышечных волокон заметно уменьшается (Рис. 20А). Здесь мышцы не образуют сложную спиральную систему, в которой все они связаны между собой, а лежат отдельно друг от друга. Небольшой концевой участок главного столона полностью лишен мышечных элементов (Рис. 20В). Так как концевой участок главного столона является растущим участком интерны, можно предположить, что мышечные волокна закладываются там уже после образования полости в центральном канале (Miroljubov, 2017a).

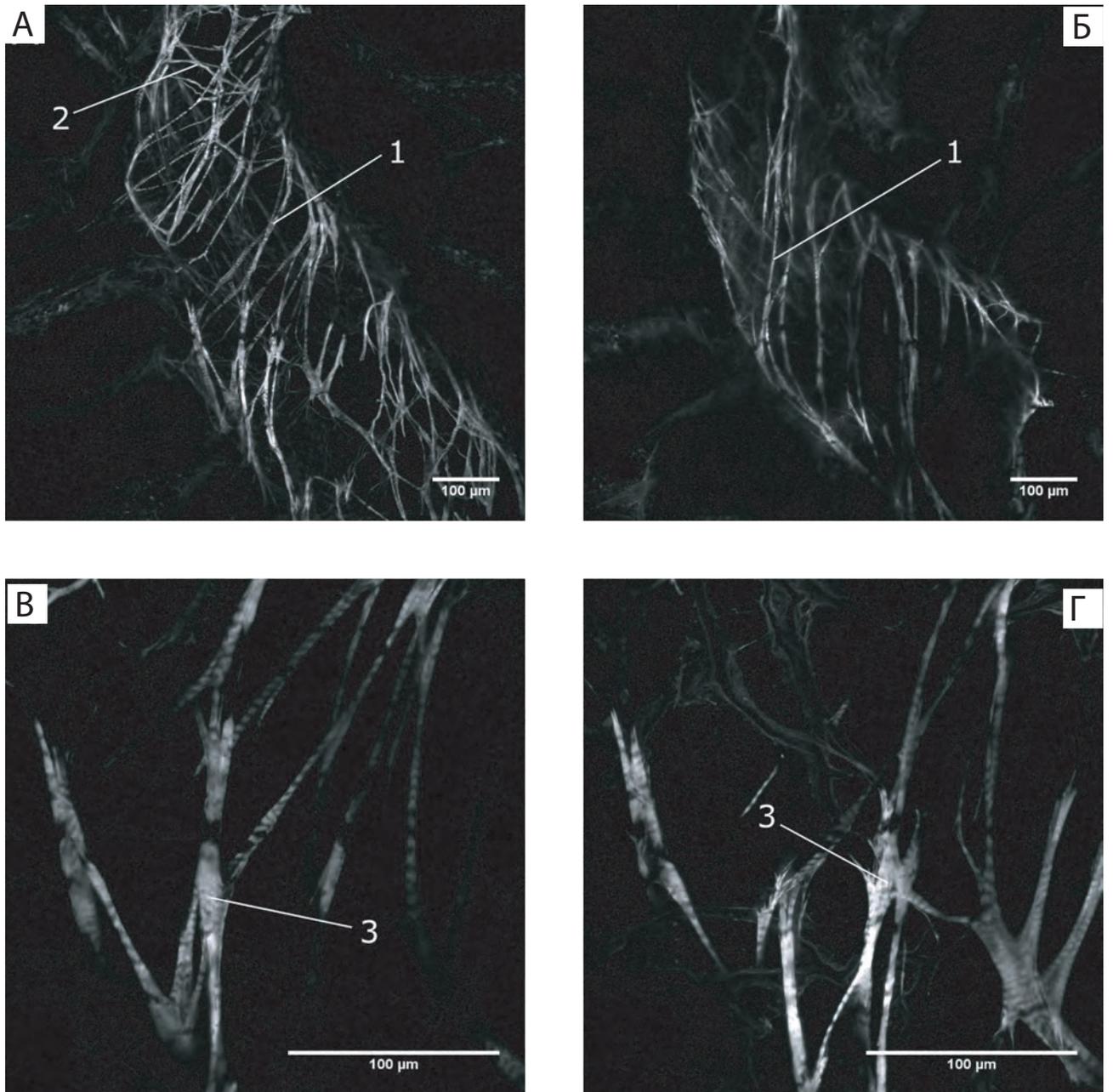


Рисунок 19.

Мышечные волокна в стенке главного столона представителей вида *Peltogaster paguri*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание фаллоидином.

А, Б — Мышечные волокна в дистальном участке главного столона; В, Г — Поперечно полосатая исчерченность мышечных волокон.

1 — крупные спиральные мышечные волокна, 2 — более тонкие анастомозирующие мышечные волокна, 3 — поперечно-полосатая исчерченность мышечных волокон.

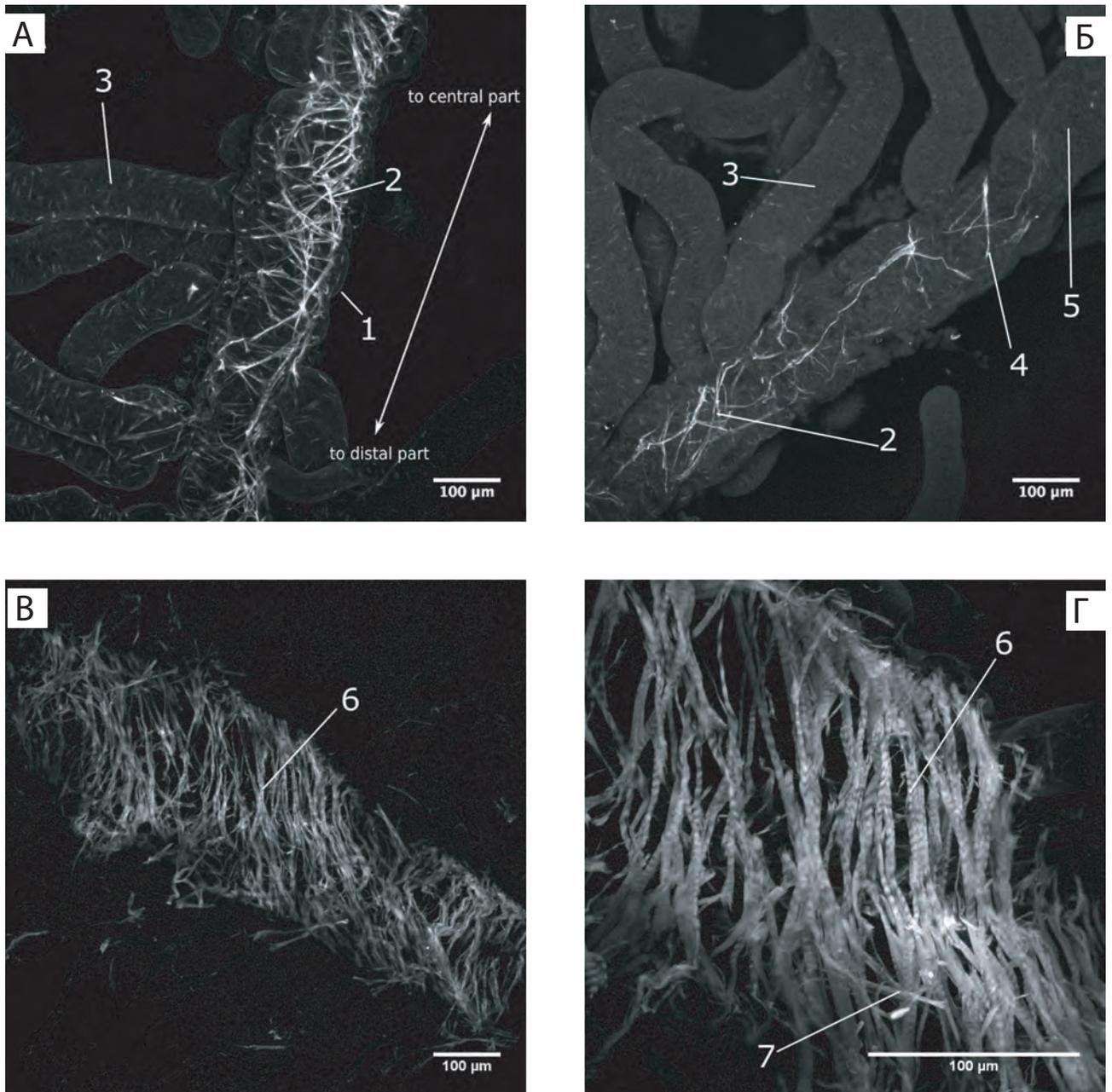


Рисунок 20.

Мышечные волокна в стенке главного stolona представителей вида *Peltogaster paguri*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание фаллоидином.

А, Б — Мышечные волокна в самом дистальном участке главного stolона; В, Г — Мышечные волокна в центральном участке главного stolона.

1 — главный stolон, 2 — мышечные волокна, 3 — периферические выросты, 4 — отдельно лежащие мышечные волокна, 5 — дистальный участок главного stolона, лишенный мышечных волокон, 6 — крупные спиральные мышечные волокна, 7 — тонкие анастомозирующие волокна.

В то же время проксимальный участок главного столона (приближенный к месту присоединения экстерны) характеризуется более высокой плотностью расположения мышечных волокон, сохраняя при этом общую спиральную организацию (Рис. 20 В, Г).

По результатам исследования мышечной системы была построена обобщенная схема ее строения (Рис. 21)

Мышечные элементы также были обнаружены в столонах двух представителей семейства Sacculinidae (*Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*) (Miroliubov et al., 2019). Однако, обнаруженная мышечная система по своей организации принципиально отличается от мышечной системы представителей семейства Peltogastidae, описанной выше. В стенке каждого из обследованных столонеров располагаются множественные звездчатые мышечные элементы (Рис. 22А). Каждый мышечный элемент состоит из нескольких сократимых поперечнополосатых волокон, ориентированных в разных направлениях (Рис. 22Б, В). Отдельные звездчатые мышечные элементы соединены с соседними тонкими волокнами (Рис. 22Б, В, Г, 23А, В). Таким образом получается, что все мышечные элементы образуют единую мышечную сеть, оплетающую центральный канал столонеров, что хорошо видно при визуализации мышечной системы на криосрезках (Рис. 23В). Чаще всего наблюдались столонеры с несколькими рядами мышечных элементов, однако в некоторых дистальных и тонких участках столонеров (предположительно растущие участки) был обнаружен только один ряд сократимых звездчатых элементов (Рис. 22А).

Для родственного вида *Sacculina pilosella* характерно схожее строение мышечной системы в интерне (Miroliubov et al., 2019). В каждом из обследованных столонеров были обнаружены звездчатые мышечные элементы, соединённые тонкими фибриллами в общую сеть (Рис. 24А, В). Незначительное отличие заключалось в том, что плотность расположения мышечных элементов в столонерах *Sacculina pilosella* была несколько выше, чем у *Polyascus polygenea* (Miroliubov et al., 2019).

Также в ходе работы были обследованы трофические столонеры представителей вида *Lernaodiscus* sp. из семейства Lernaodiscidae. Однако, никаких мышечных элементов в столонерах этого вида обнаружить не удалось.

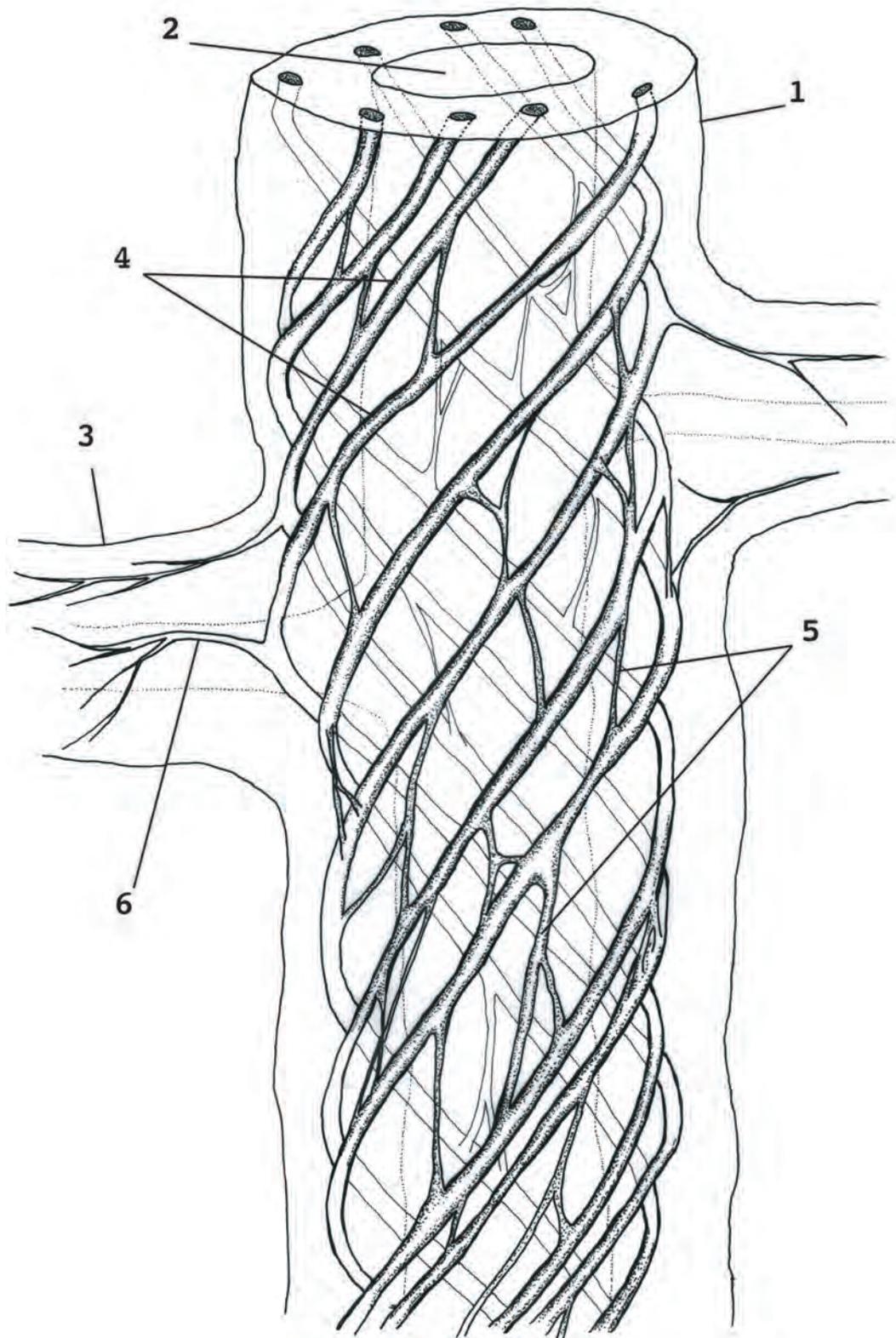


Рисунок 21.

Схема организации мышечной системы главного столона *Peltogaster paguri*.

1 — главный стolon, 2 — полость канала главного столона, 3 — периферический стolon, 4 — крупные спиральные мышечные волокна, 5 — более мелкие мышечные волокна, 6 — мышцы, заходящие в проксимальные участки периферических столон.

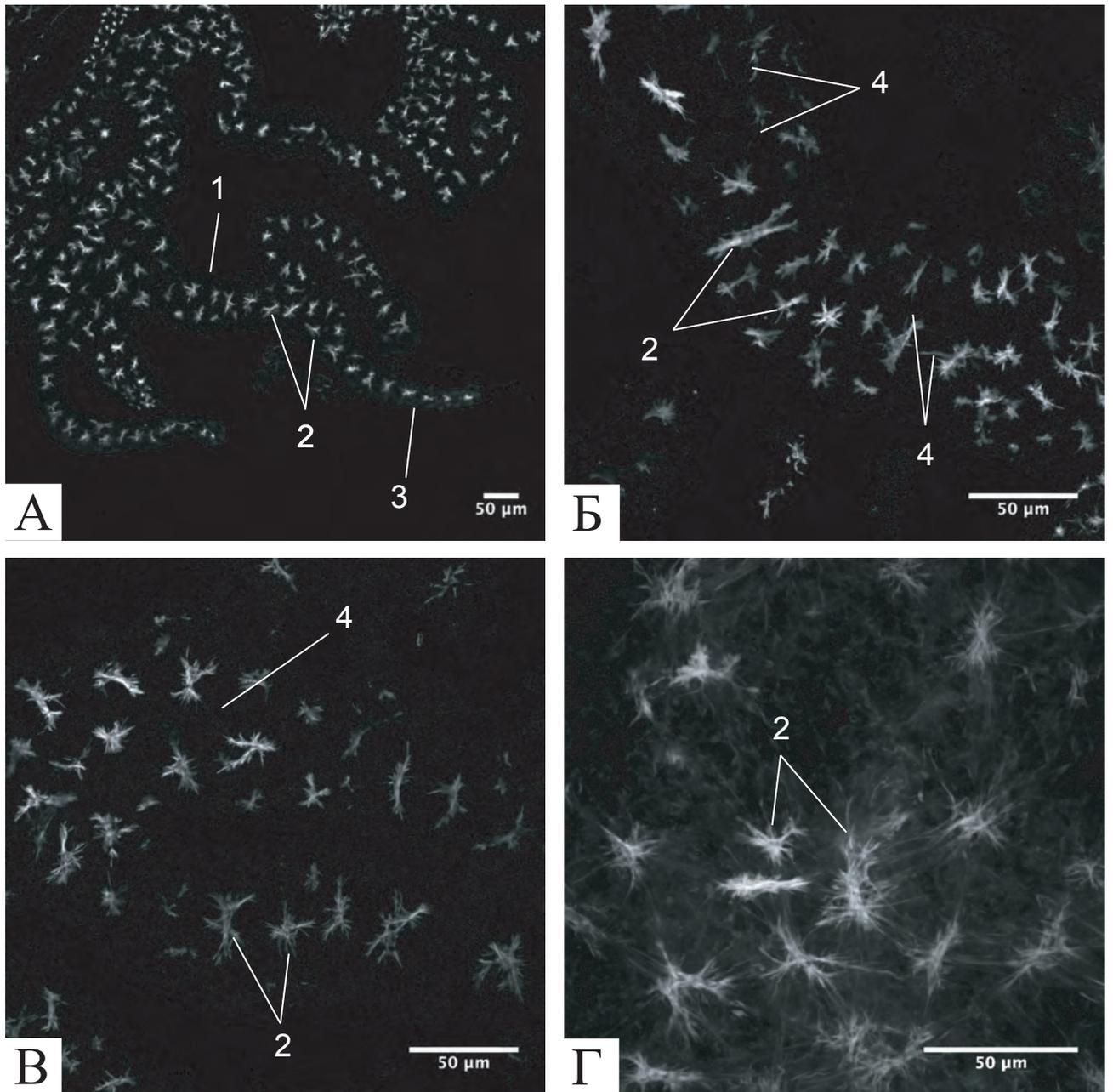


Рисунок 22.

Мышечные волокна в стенке столонов представителей вида *Polyascus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание фаллоидином (А, Б, В, Г).

1 — Трофические столоны, 2 — звездчатые мышечные элементы, 3 — растущий столон, 4 — мышечные волокна между отдельными звездчатыми мышечными элементами.

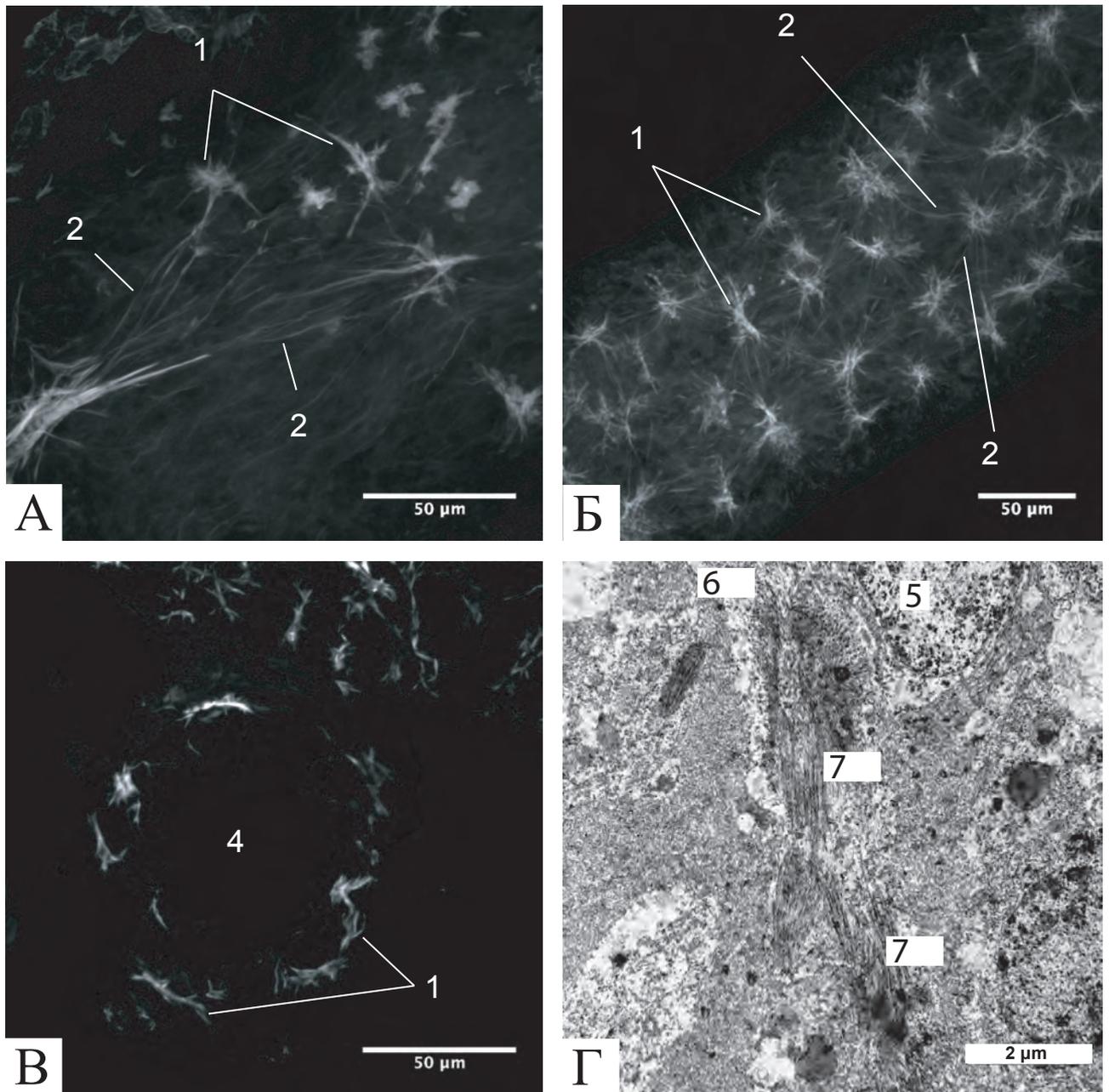


Рисунок 23.

Мышечные розетки в стенке столонов *Polyascus polygenea*. А — Мышечные волокна соединяющие соседние мышечные розетки. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином; Б — фрагмент столона с мышечными розетками. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином; В — поперечный криосрез столона с мышечными розетками в стенке интерны. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином; Г — мышечное волокно с тонофилламентами. TEM.

Сокращения: 1 — мышечные сократимые элементы; 2 — мышечные отростки; 3 — центральный канал; 5 — ядро; 6 — тонофилламенты; 7 — миофиломенты.

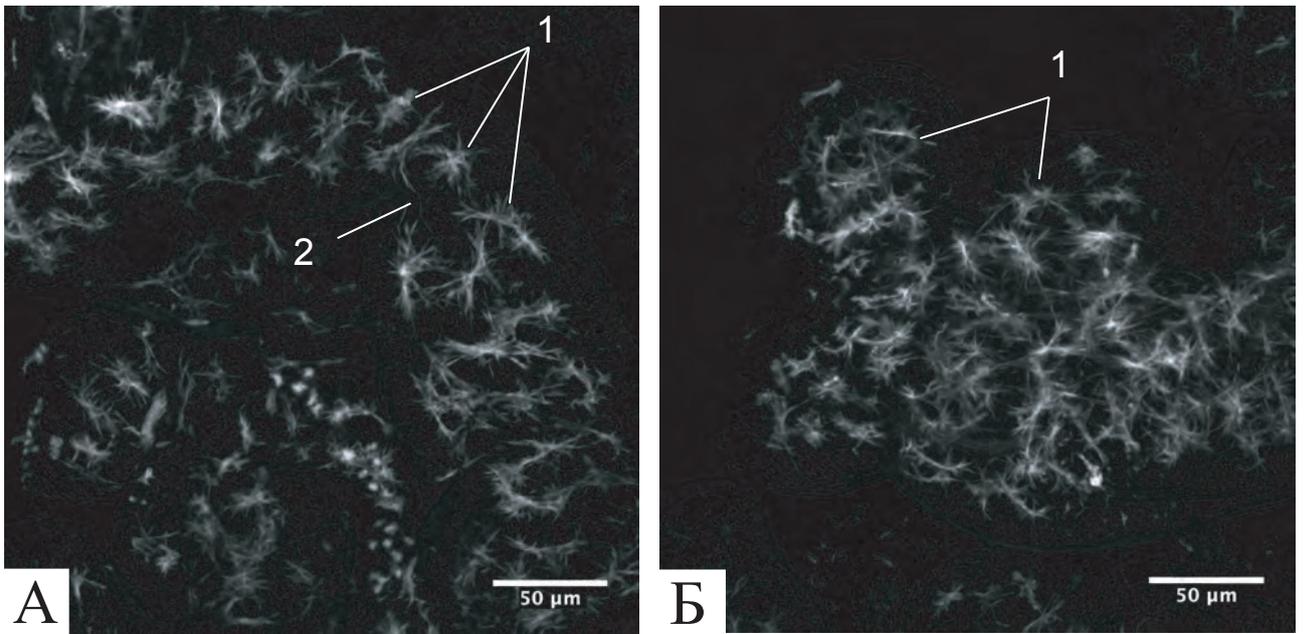


Рисунок 24.

Сократимые мышечные элементы в интерне *Sacculina pilosella*. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином. А–Б — Столоны *S. pilosella* с мышечными розетками а стенке тела.

1 — мышечные сократимые элементы; 2 — мышечные отростки между отдельными мышечными элементами.

3.2.2 Обсуждение

Мышечная система интерны корнеголовых ракообразных долгое время оставалась неизученной. Лишь в одной статье встречается упоминание о наличии мышечных волокон в интерне представителей группы *Rhizosephala* (Bresciani, Нюег, 2001). На одном из ультратонких срезов авторам попался фрагмент мышечной клетки.

В данной работе удалось впервые визуализировать и описать мышечную систему интерны трех видов корнеголовых, относящихся к двум семействам.

Строение мышечной системы и ее расположение в теле паразита указывает на то, что скорее всего она важна для реализации распределительной функции. Интерна корнеголовых раков может достигать значительных размеров. Так как паразит обычно разрастается по всему телу хозяина, расстояние от дистальных концов интерны до экстерны соизмеримо с размером хозяина (до десятков сантиметров). Диффузия на таких расстояниях не эффективна, поэтому паразиту необходимо наличие какой-либо распределительной системы. Скорее всего функцию распределительной системы берет на себя полость центрального канала. Сокращение мышц обеспечивает перистальтическое движение столонов и транспорт жидкости в полости центрального канала. Таким образом, питательные вещества, которые попадают в центральный канал столона, перемещаются по интерне и, в итоге, транспортируются и до экстерны (Miroliubov, 2019).

Плавные движения столонов могут играть важную роль и в создании токов гемолимфы вокруг них, что, вероятно, способствует не только трофике паразита, но и его дыханию (наличие большого количества митохондрий свидетельствует об активном оксидобиозе этих паразитов). Органы выделения у интерн также отсутствуют. Это означает только одно — продукты азотистого обмена (скорее всего, в результате аммонотелии) удаляются с помощью диффузионного транспорта через покровы.

Нами было обнаружено значительное различие в строении мышечных систем у представителей разных семейств (спиральная мышечная лента у представителей сем. *Peltogastridae* (Miroliubov, 2017a) и звездчатые мышечные элементы у представителей сем. *Sacculinidae* (Miroliubov, 2019)). Можно предположить, что столь значительное различие обусловлено разницей в общей морфологии интерн представителей этих семейств. Интерна у видов рода *Peltogaster* состоит из главного столона и периферических выростов, отходящих от него (Рис. 2). Таким образом, полость главного столона является центральным элементом распределительной системы. Спиральные мышечные волокна располагаются в стенке именно главного столона и отсутствуют в периферических выростах. Предполагаем, что центральный канал главного столона выполняет роль пропульсаторного органа (своего рода «сердце»).

Сокращаясь, мышечные волокна обеспечивают конвекционный транспорт жидкости в центральном канале главного столона. Перемещение жидкости в главном столоне в свою очередь приводит к движению жидкости, заполняющей каналы периферических столонов. Таким образом, происходит обмен и перемещение содержимого каналов всей интерны (Miroliubov, 2017). В то же время интерна представителей семейства Sacculinidae устроена принципиально иначе: она представлена сетью случайно ветвящихся столонов, которые пронизывают все тело хозяина и оплетают внутренние органы. При этом отсутствуют какие-либо центральные элементы, такие, как главный стolon у представителей семейства Peltogastridae. Поэтому для успешного транспорта жидкости по полости интерны необходимо наличие сократимых элементов в каждом столоне (Miroliubov, 2019).

Мышечная система взрослых представителей группы Rhizocephala интересна и с эволюционно-морфологической точки зрения. Согласно описанию жизненного цикла этих животных (Bresciani, Nøeg, 2001), вермигон не наследует никаких органов от циприссовидной личинки (в том числе и мышечную систему). Таким образом, мышечная система у взрослого животного формируется *de novo* второй раз в пределах одного онтогенеза. При этом данная вторичная мышечная система, по-видимому, появилась сравнительно недавно. Два обнаруженных типа строения мышечных систем (у двух семейств корнеголовых раков) уникальны и не имеют каких-либо аналогов среди Metazoa. Предполагается, что это связано именно с тем, что эти мышечные системы возникли вторично.

Остается открытым вопрос о происхождении вторичных мышечных систем в разных семействах корнеголовых раков. Возможно, что вторичная мышечная система образовалась у предка корнеголовых и вследствие своей эволюционной «молодости» крайне пластична и соответствует организации интерны. В некоторых группах она могла быть вторично утрачена – например, у представителей семейства Lernaodiscidae. С другой стороны, возможно, что мышечные системы в разных группах корнеголовых ракообразных возникали независимо (Miroliubov, 2019).

На данный момент не известны способы иннервации мышечной системы интерны у корнеголовых ракообразных. Попытки визуализировать нервную систему интерны с помощью иммуногистохимических методов не дали результатов. При этом на тех же самых препаратах нервная система хозяина окрашивается нормально, что говорит о том, что дело не в недостатках методики или же плохом качестве реактивов. Нервная система интерны никогда ранее не была описана в литературе. Таким образом, непонятно, как иннервируются мышцы интерны. К сожалению, пока на данный вопрос нельзя дать какого-либо однозначного ответа, но можно предложить три варианта генерации импульса:

1. Возможно, в интерне есть небольшой нервный ганглий, который ни разу не удавалось обнаружить. Этот ганглий генерирует нервные импульсы для мышечных клеток, а так как все мышечные элементы интерны связаны между собой, то нервный импульс распространяется по всей мышечной системе.
2. Известны примеры, когда некоторые исходно мышечные клетки развиваются в пейсмейкеры, которые так же, как и нервные клетки, способны генерировать импульсы и запускать процессы деполяризации плазматической мембраны. Пейсмейкеры встречаются в мышцах, которым не надо совершать сложных движений, но при этом необходимо постоянное ритмичное сокращение, например, в сердечной мускулатуре. Так как для осуществления перистальтики столонов интерны корнеголовых ракообразных не требуется какой-то сложной и слаженной работы разных отдельных мышечных элементов, возможно, что пейсмейкеров хватает для того, чтобы задавать постоянный и непрерывный ритм сокращения мышц.
3. В литературе имеются сведения, что в экстерне есть некий нервный ганглий. Однако со времен первого описания (Delage, 1884) не было документальных подтверждения его наличия. Но если предположить, что нервный ганглий все же имеется и иннервирует мышцы экстерны, то возможно, что импульсы также могут передаваться и к интерне. Однако при этом непонятно, как происходит работа мышц на ранней стадии развития интерны, пока экстерна еще не сформирована.

К сожалению на данный момент из-за недостатка информации мы не можем склониться ни к одному из этих вариантов.

3.3 Взаимодействие с нервной системой хозяина

3.3.1 Результаты

Столоны корнеголовых раков пронизывают все тело хозяина и обычно располагаются в гемоцеле между его органами, но при этом не прорастают в сами органы. Было обнаружено, что некоторые трофические столоны ассоциированы с участками брюшной нервной цепочки хозяина. Эти столоны прорастают вглубь ганглиев, и их дистальные участки лежат в толще нервной ткани хозяина. Подобный феномен был обнаружен у всех обследованных видов корнеголовых ракообразных, однако детали строения столонов, проникающих в нервную ткань хозяина, значительно отличаются.

Некоторые из трофических столонов *Peltogaster paguri* ассоциированы с первым, вторым и третьим абдоминальными ганглиями брюшной нервной цепочки хозяина (*Pagurus pubescens*) (Miroljubov et al., 2017b; Miroljubov et al., 2020). Торакальный отдел нервной цепочки при этом остается нетронутым паразитом (Рис. 25Б). Столоны паразита подходят вплотную к ганглию хозяина и проникают сквозь оболочку ганглия (Рис. 26А). Дистальные концы столонов характеризуются особым строением; из-за характерной формы было решено назвать их *бокаловидными органами* (Рис. 26Б, В). Размер бокаловидных органов составляет около 100 мкм в длину. Гистологическая структура столонов, которые подходят к ганглиям, ничем заметно не отличается от нормальных трофических столонов (Рис. 26Г), однако при пересечении границы ганглия морфология столон заметно меняется. Глубже места проникновения столон в нервную ткань хозяина клетки столон имеют другую форму, пропадают многочисленные вакуоли, характерные для обычных трофических столонов, отсутствует «типичное» для интерны разделение клеток на эпителиальные и гиподермальные, а центральный канал исчезает (Рис. 26Б). Стенка бокаловидного органа состоит из двух слоев кубических клеток (внешнего и внутреннего), и достаточно толстого слоя оптически плотного внеклеточного матрикса между ними (Рис. 26Б, В) (Miroljubov et al., 2017b; Miroljubov, 2020).

Ультраструктура также заметно отличается от трофических столонов. Почти для всех корнеголовых ракообразных характерно сходное строение кутикулы, покрывающей трофические столоны. Снаружи лежит относительно тонкий электронно-плотный слой, который образует множественные микровыросты, обращенные в полость тела хозяина. Под ним лежит более толстый электронно-светлый гомогенный слой кутикулы (Рис. 27С). Глубже располагаются клетки гиподермы, апикальная мембрана которых, в свою очередь, формирует микровилли, обращенные в обширное субкутикулярное пространство (Рис. 27С). Трофические столоны *Peltogaster paguri* снаружи одеты такой же обычной для ризоцефал кутикулой. В то же время, кутикула, покрывающая бокаловидный орган, значительно отличается от кутикулы

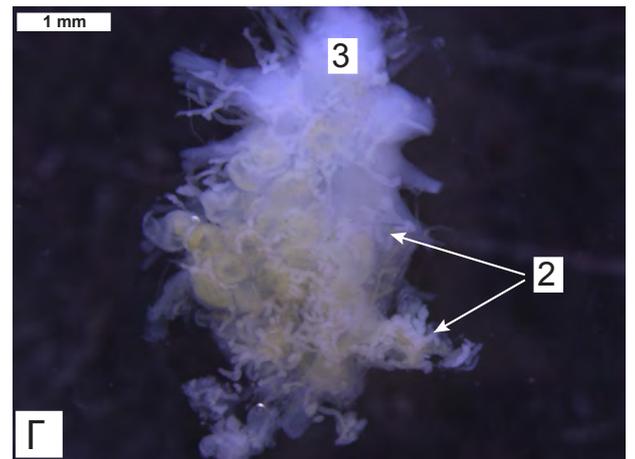
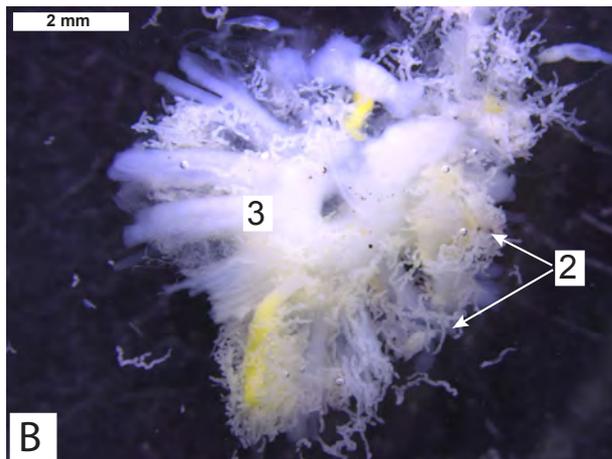
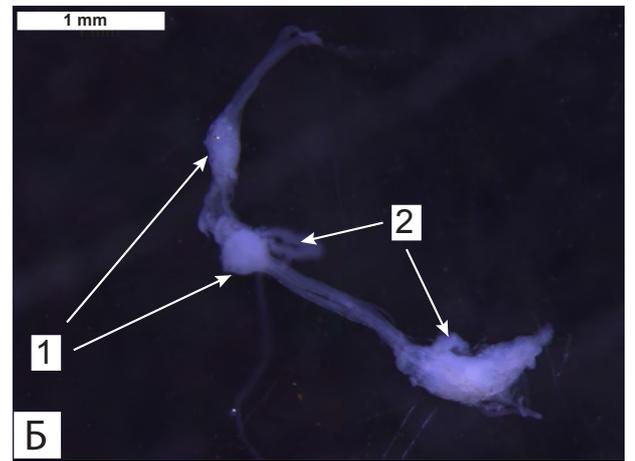
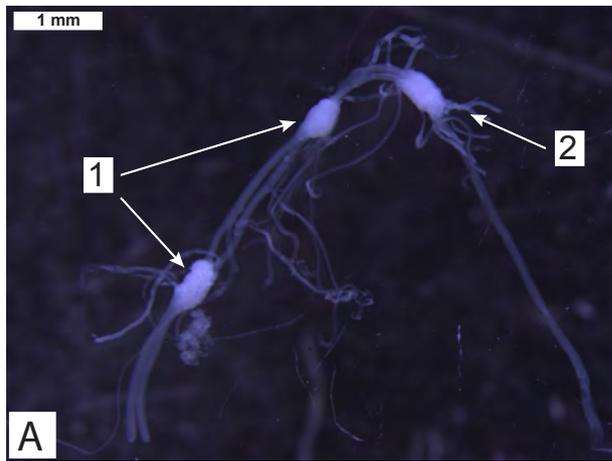


Рисунок 25.

А – Абдоминальный участок брюшной нервной цепочки хозяина со столонами *Peltogasterella gracilis*;

Б – Абдоминальный участок брюшной нервной цепочки хозяина со столонами *Peltogaster paguri*;

В – Торакальная ганглиозная масса хозяина со столонами *Polyascus polygenea*;

Г – Торакальная ганглиозная масса хозяина со столонами *Sacculina pilosella*.

1 — ганглии абдоминального участка брюшной нервной цепочки хозяина, 2 — столонны паразита,

3 — торакальная ганглиозная масса хозяина.

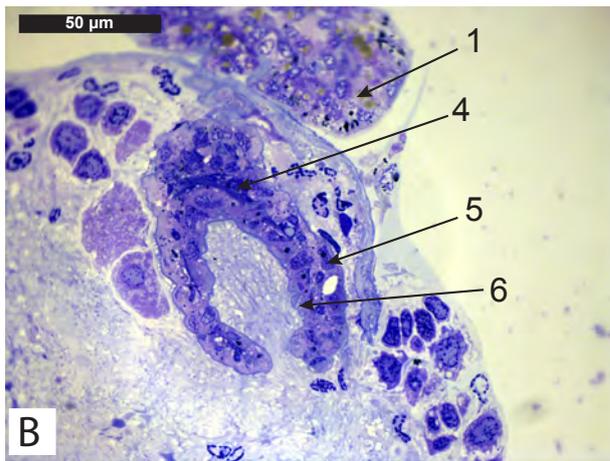
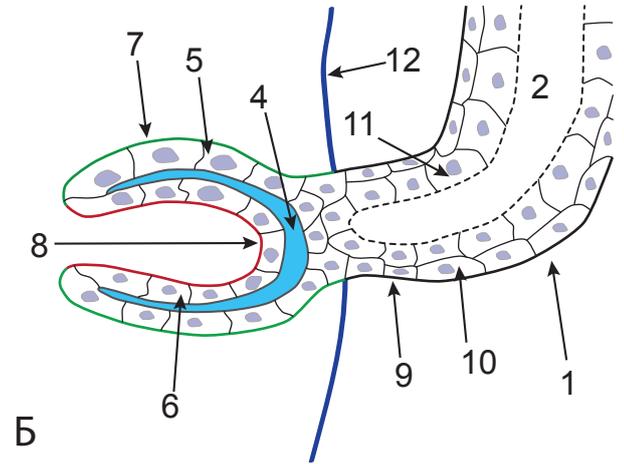


Рисунок 26

А, В – Срезы бокаловидного органа (*Peltogaster paguri*) лежащего в толще нервного ганглия хозяина (*Pagurus pubescens*); Б – Схема бокаловидного органа *Peltogaster paguri*; Г – Нормальный трофический столон (*Peltogaster paguri*) лежащий в гемоцели хозяина (*Pagurus pubescens*).

1 — столон ассоциированный с нервным ганглием, 2 — центральный канал, 3 — часть столон внутри нервного ганглия, 4 — внеклеточный матрикс между слоями клеток бокаловидного органа, 5 — внешний слой клеток, 6 — внутренний слой клеток, 7 — внешняя поверхность бокаловидного органа (зеленый цвет), 8 — внутренняя поверхность бокаловидного органа (красный цвет), 9 — обычная кутикула на поверхности столон, 10 — слой эпителиальных клеток, 11 — слой аксиальных клеток, 12 — оболочка ганглия.

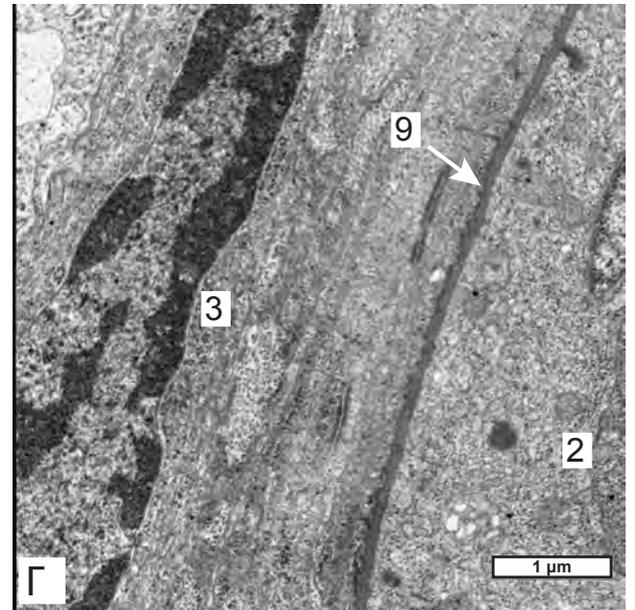
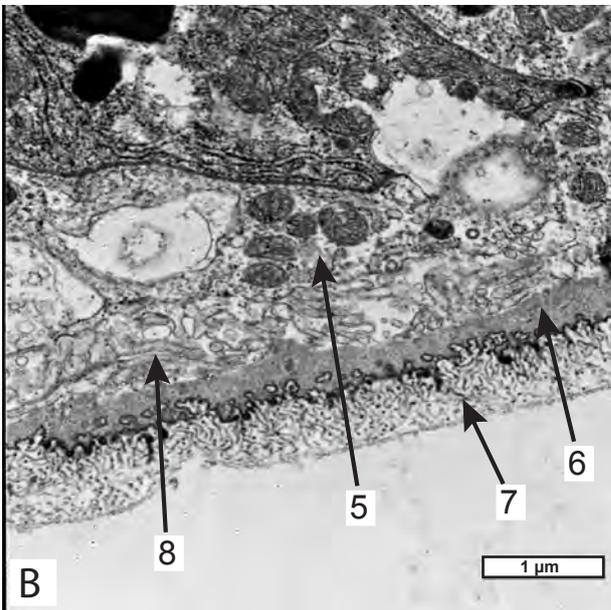
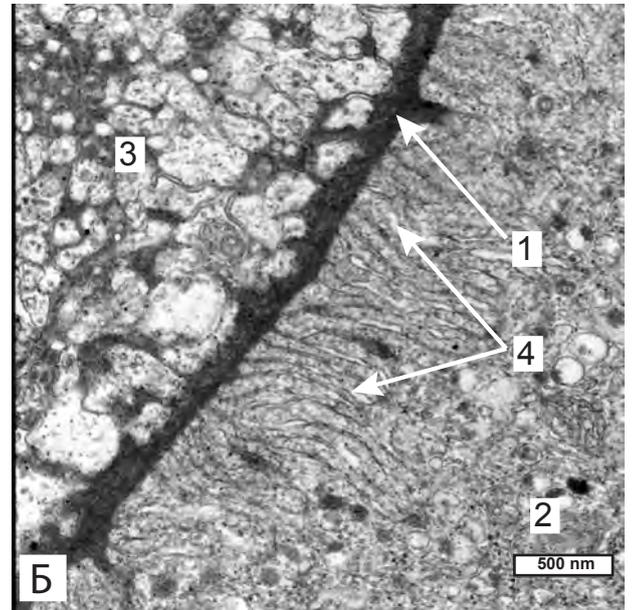
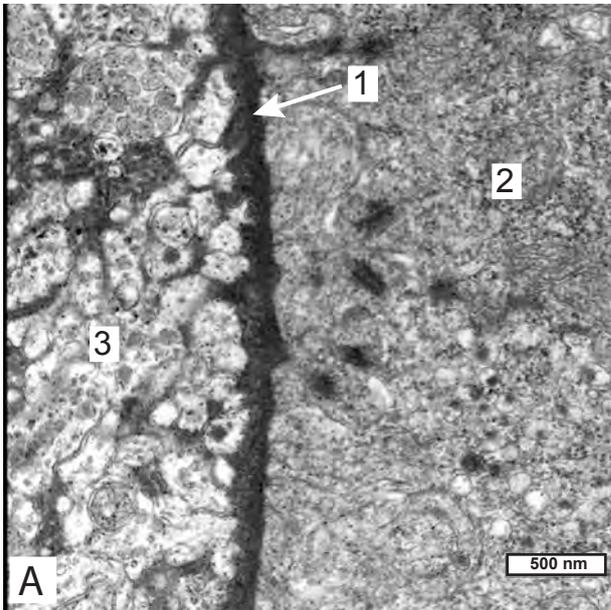


Рисунок 27.

А, Б – Кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа *Peltogaster paguri*; В – Кутикула обычного трофического столона *Peltogaster paguri*; Г – Кутикула на внешней стороне бокаловидного органа.

1 — кутикула внутренней поверхности бокаловидного органа, 2 — ткани паразита, 3 — нервная ткань хозяина, 4 — микровилли под слоем кутикулы, 5 — гиподермальные клетки, 6 — гомогенный слой кутикулы, 7 — микровыросты электронно-плотного слоя кутикулы, 8 — микровилли гиподермальных клеток, 9 — кутикула на внешней стороне бокаловидного органа

обычных трофических столонов. Внутренняя поверхность бокаловидного органа покрыта однослойной кутикулой с редко расположенными микровыростами, обращенными в сторону нервной ткани хозяина (Рис. 27А, В). При этом толщина микровыростов значительно больше, чем у микровыростов кутикулы трофических столонов (Рис. 27В). Под слоем кутикулы лежат клетки гиподермы, апикальная мембрана которых образует множественные микровилли. Однако, в отличие от трофических столонов, микровилли значительно длиннее и уложены очень плотно, так что субкутикулярное пространство почти не выражено и представляет собой систему тонких лакун между этими микровиллиями (Рис. 27А, В) (Miroljubov et al., 2017b; Miroljubov et al., 2020).

Кутикула наружной поверхности бокаловидного органа также однослойная, и в целом похожа на кутикулу его внутренней поверхности. Однако клетки гиподермы прилегают к ней вплотную и не образуют микровилли. Апикальная поверхность покрыта редко расположенными микровыростами (Рис. 27Г, 28А) (Miroljubov et al., 2017b; Miroljubov et al., 2020).

Сами клетки бокаловидного органа также значительно отличаются по ультраструктуре от обычных эпителиальных или аксиальных клеток. В них отсутствуют вакуоли с липидными каплями, характерные для обычных трофических столонов. При этом в цитоплазме клеток встречаются обширные поля шероховатого эндоплазматического ретикулума (Miroljubov, 2017b).

Оптически плотный слой между двумя слоями клеток бокаловидного органа оказался гомогенным внеклеточным матриксом с округлыми электронно-плотными включениями (Рис. 28Б, В, Г) (Miroljubov et al., 2017b).

Взаимодействие с нервной системой хозяина было изучено у еще одного представителя семейства Peltogastridae – *Peltogasterella gracilis*. У этого вида так же, как и у описанного выше *Peltogaster paguri*, были обнаружены столоны, обвивающие 1-3 абдоминальные ганглии брюшной нервной цепочки хозяина (Рис. 25А). Эти столоны также проникают под оболочку ганглия и внедряются в нервную ткань хозяина (Рис. 29А). Концевые участки этих столонов также преобразованы в бокаловидные органы (Рис. 29А, В). Однако, имеется ряд отличий этих органов от таковых у *Peltogaster paguri*. Столоны, ассоциированные с нервными ганглиями у *Peltogasterella gracilis*, значительно более многочисленны чем у *Peltogaster paguri*. При этом бокаловидные органы, располагающиеся в толще нервной ткани хозяина, примерно в два раза мельче, чем у *Peltogaster paguri* — их длина составляет около 50 мкм (Рис. 29В).

Стенка бокаловидного органа *Peltogasterella gracilis* состоит всего из одного слоя кубических клеток (Рис. 29В). В самих клетках на гистологических и полутонких срезах хорошо видны крупные вакуоли с гомогенным содержимым (Рис. 29В). Нервная ткань хозяина,

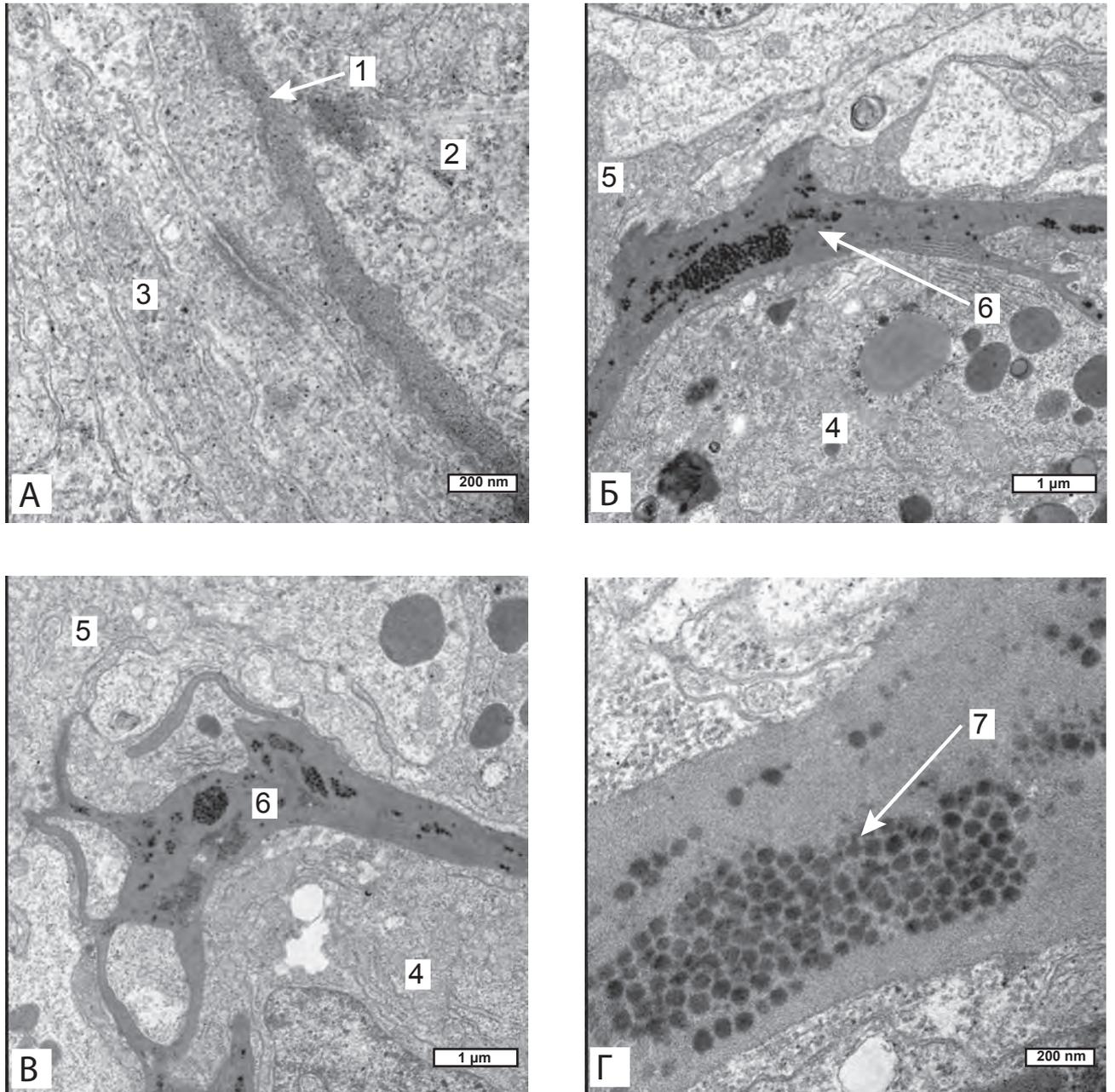


Рисунок 28.

А — Кутикула на внешней стороне бокаловидного органа *Peltogaster paguri*; Б-Г — Внеклеточный матрикс между слоями клеток бокаловидного органа.

1 — кутикула на внешней стороне бокаловидного органа, 2 — ткань паразита, 3 — нервная ткань хозяина, 4 — внутренний слой клеток бокаловидного органа, 5 — внешний слой клеток бокаловидного органа, 6 — внеклеточный матрикс между двумя слоями клеток, 7 — округлые электронно-плотные включения внеклеточного матрикса.

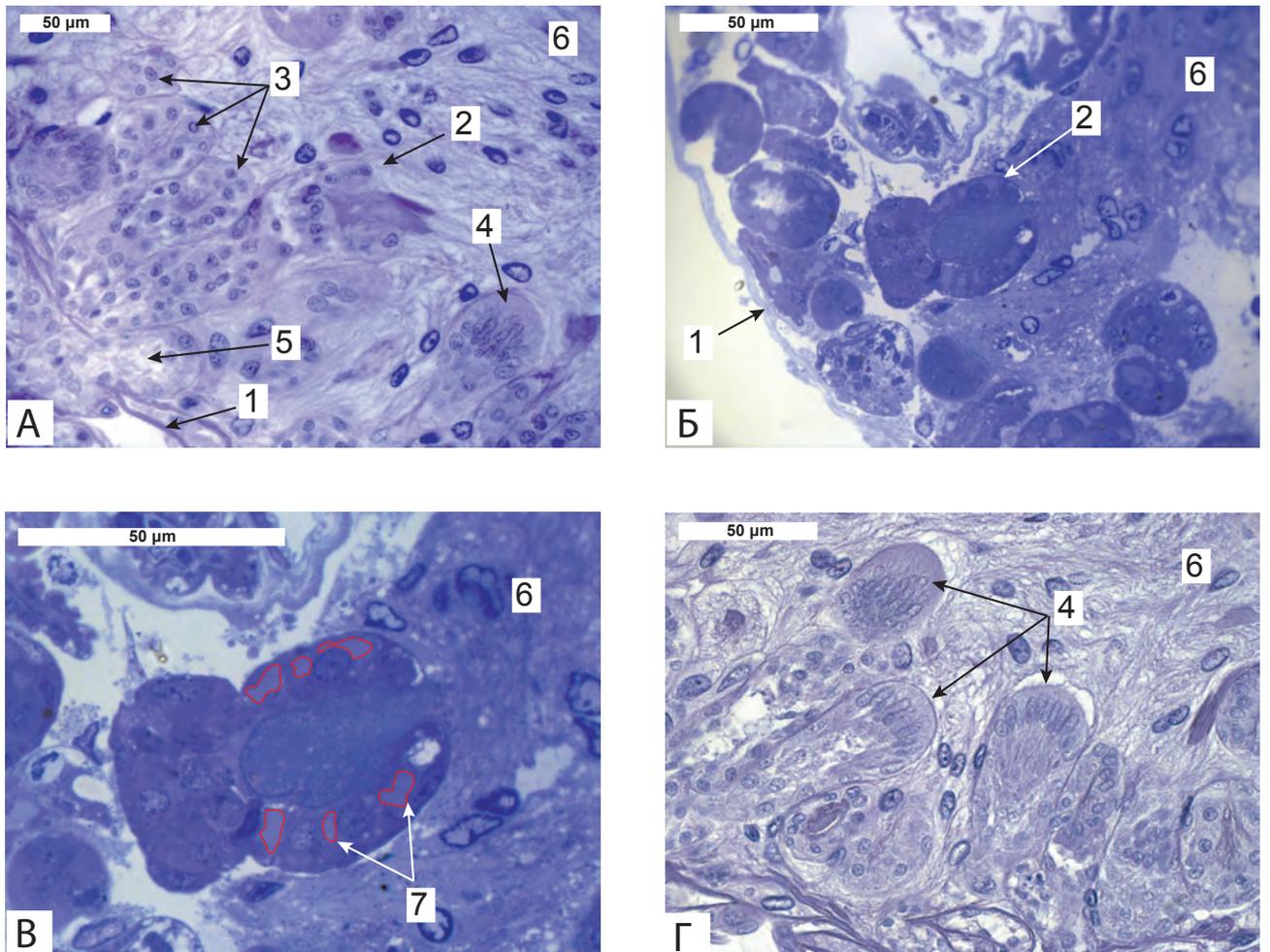


Рисунок 29.

А, Б, В, Г – Столоны *Peltogasterella gracilis* внутри нервного ганглия хозяина.

(А, Г — гистологические срезы; Б, В — полутонкие срезы).

1 — оболочка ганглия, 2 — бокаловидный орган, 3 — столонцы, 4 — фолликулы на концах растущих столонцов, 5 — столон проникающий под оболочку ганглия, 6 — нервная ткань хозяина, 7 — вакуоли в клетках бокаловидного органа (границы отмечены красной линией)

которая находится внутри воронки бокаловидного органа, несколько отличается от обычной (на гистологических срезах она более темно окрашена) (Рис. 29А). Наряду со сформированными бокаловидными органами были обнаружены столоны, заканчивающиеся утолщениями, которые напоминали фолликулы на концах трофических столонов (Рис. 29С).

Кутикула, выстилающая внутреннюю поверхность бокаловидного органа *Peltogasterella gracilis*, состоит из двух слоев: электронно-плотного и электронно-светлого (Рис. 30А). Апикальная поверхность кутикулы несет многочисленные микровыросты, обращенные в сторону нервной ткани хозяина (Рис. 30А), однако эти микровыросты заметно крупнее и реже расположены, чем на трофических столонах (Рис. 30В). Наружная поверхность бокаловидного органа, так же как и внутренняя, покрыта двуслойной кутикулой, но она несет значительно меньше микровыростов и сами они меньше по размеру (Рис. 30С).

Апикальная мембрана клеток гиподермы образует кайму из микровиллей, которые лежат в субкутикулярном пространстве (Рис. 30А). Сами микровилли относительно длинные, и расположены не так плотно, как в бокаловидном органе у *Peltogaster paguri*. Дистальные концы микровиллей достигают кутикулы (Рис. 31В). В клетках бокаловидного органа обнаружены огромные поля ЭПР со вздутыми цистернами, наполненные гомогенным содержимым (Рис. 31А, В).

Как было сказано выше, уже на гистологическом уровне видно, что нервная ткань хозяина внутри воронки бокаловидного органа претерпевает некоторые изменения (Рис. 29А). Исследования с помощью ТЕМ показали, что практически вся нервная ткань, располагающаяся внутри бокаловидного органа, подвергается деградации (Рис. 30Г, 31Г). Обнаруженные картины напоминают лизосомную автофагию нейронов. Следует отметить, что для вида *Peltogaster paguri* не характерны подобные дегенеративные изменения нервной ткани хозяина внутри воронки бокаловидного органа (Miroliubov et al., 2020).

Также было исследовано взаимодействие с нервной системой хозяина у представителей двух видов из семейства Sacculinidae — *Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*. Оба этих вида корнеголовых паразитируют на крабах.

Обнаружено, что столоны представителей вида *Polyascus polygenea* ассоциированы с торакальными ганглиями брюшной нервной цепочки краба-хозяина (*Hemigrapsus sanguineus*). Поражены преимущественно задние ганглии торакального отдела нервной системы (Рис. 25В).

Столоны *Polyascus polygenea* проникают под оболочку ганглия и лежат в толще нервной ткани (Рис. 32А-Г). При этом выявлено, что некоторые столоны проникают не только в сами ганглии, но также и в нервы, отходящие от них (Рис. 33). Каких-либо специализированных органов на концах столонов, наподобие бокаловидных органов, не найдено. Столоны,

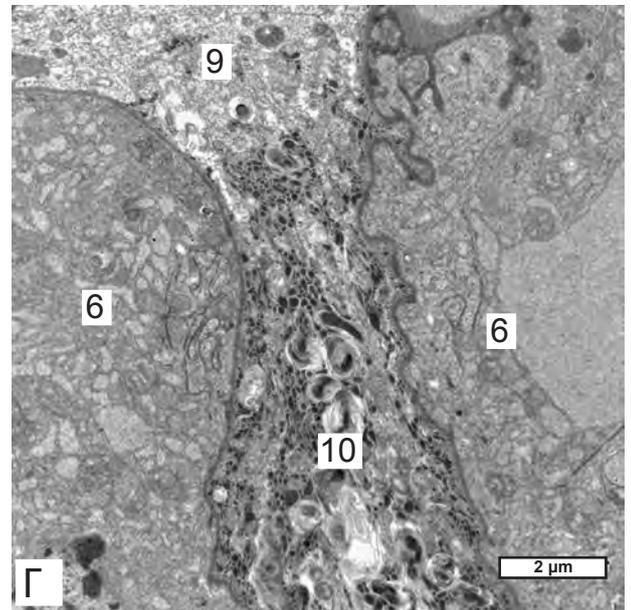
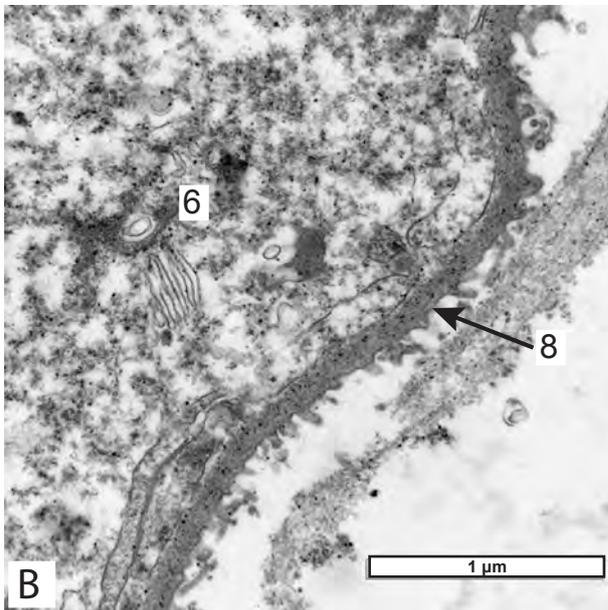
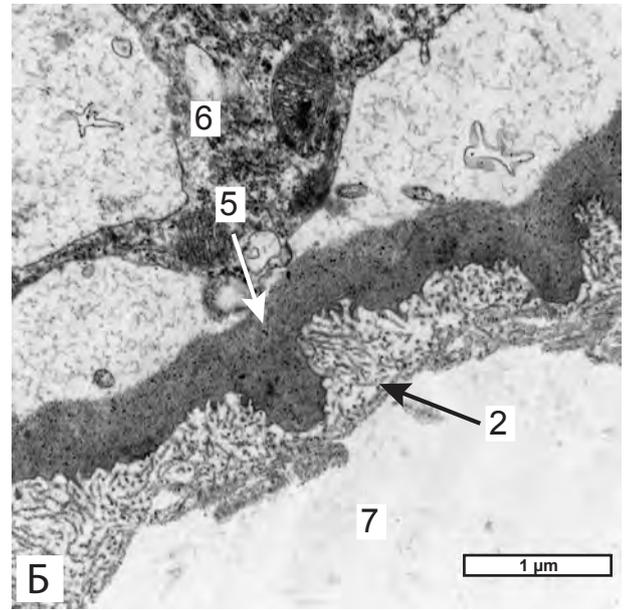
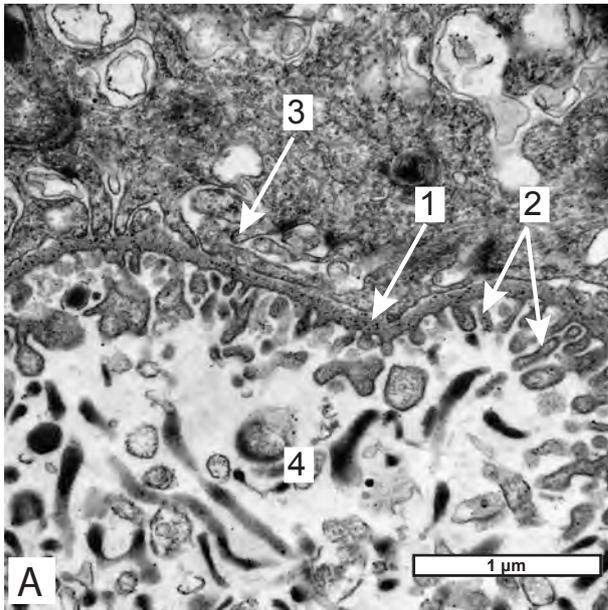


Рисунок 30.

А – Кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа *Peltogasterella gracilis*; Б – Кутикула нормального трофического столона *Peltogasterella gracilis*; В – Кутикула на внешней поверхности бокаловидного органа *Peltogasterella gracilis*; Г – Продольный срез через устье бокаловидного органа *Peltogasterella gracilis*.

1 — кутикула, 2 — микровыросты кутикулы, микровилли под кутикулой, 4 — нервная ткань хозяина, 5 — кутикула нормального трофического столона, 6 — ткань паразита, 7 — полость тела хозяина, 8 — кутикула на внешней поверхности бокаловидного органа, 9 — нервная ткань хозяина за пределами воронки бокаловидного органа, 10 — видоизмененная нервная ткань хозяина внутри воронки бокаловидного органа.

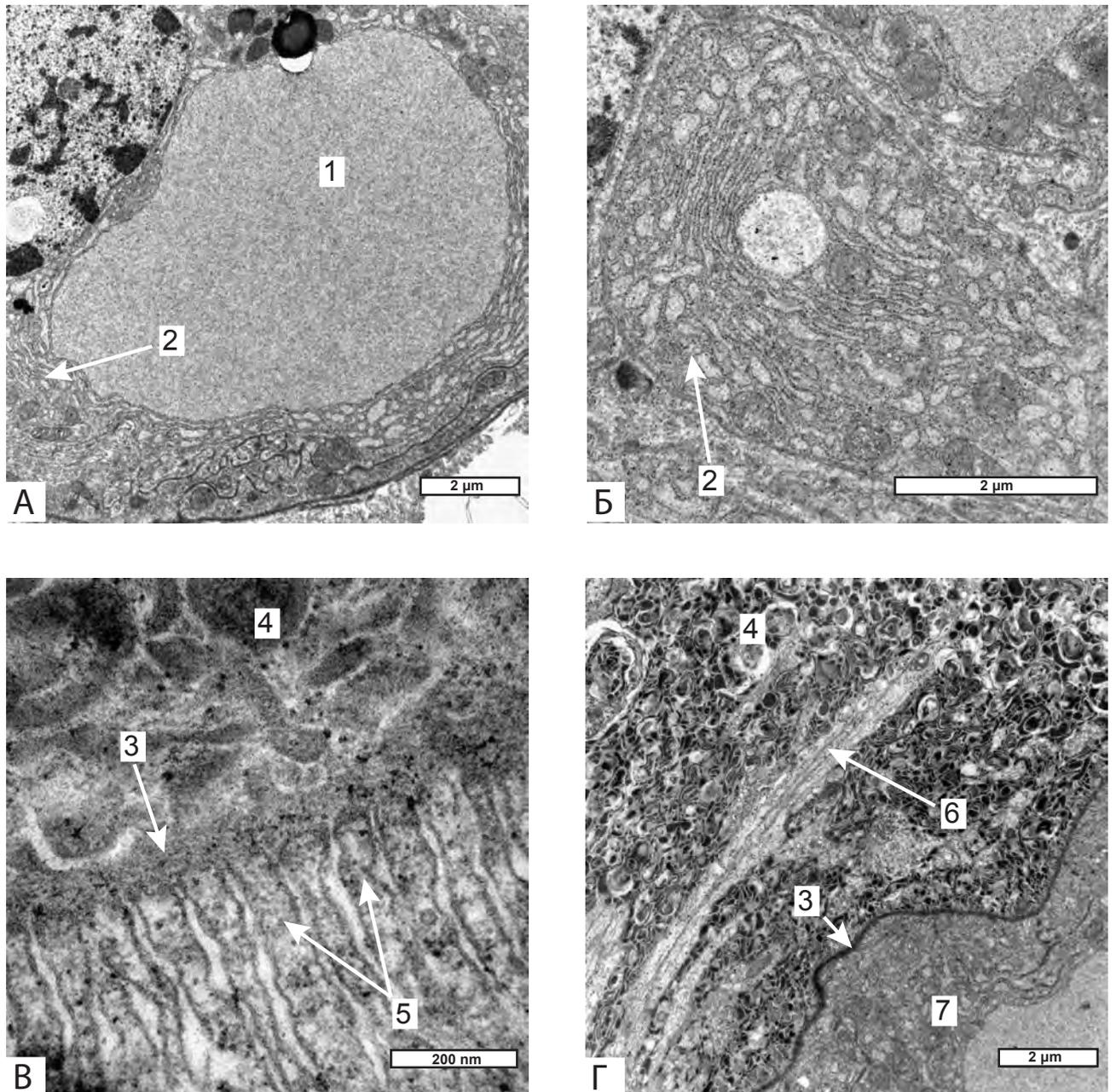


Рисунок 31.

А, Б – Вздутые цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулома в клетках бокаловидного органа *Peltogasterella gracilis*; В – Кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа *Peltogasterella gracilis*; Г – Видоизмененная нервная ткань хозяина внутри воронки бокаловидного органа.

1 — вздутые цистерны ЭПР, 2 — ЭПР, 3 — кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа, 4 — нервная ткань хозяина, 5 — микровилли гиподермальных клеток, 6 — нервное волокно хозяина, 7 — ткань бокаловидного органа.

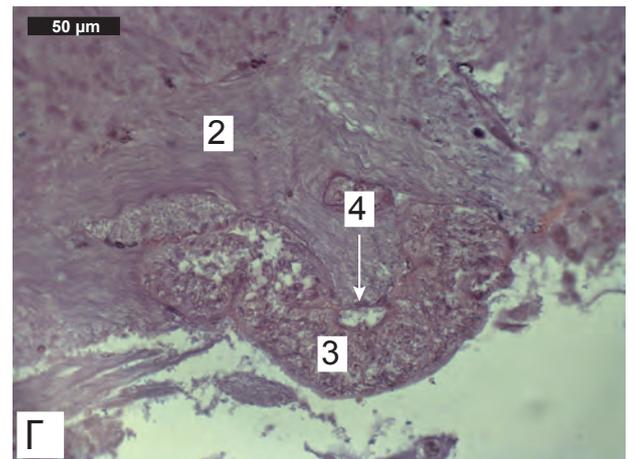
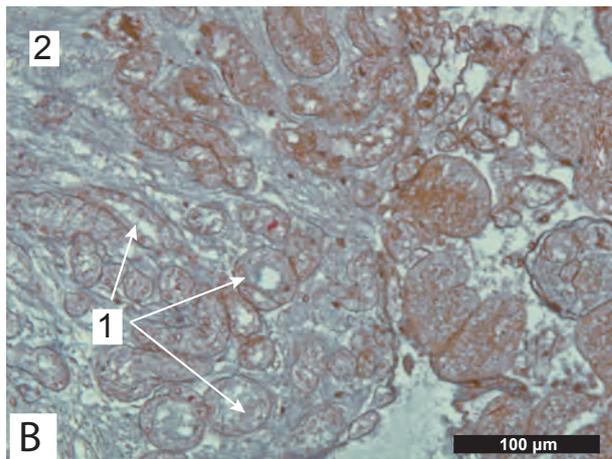
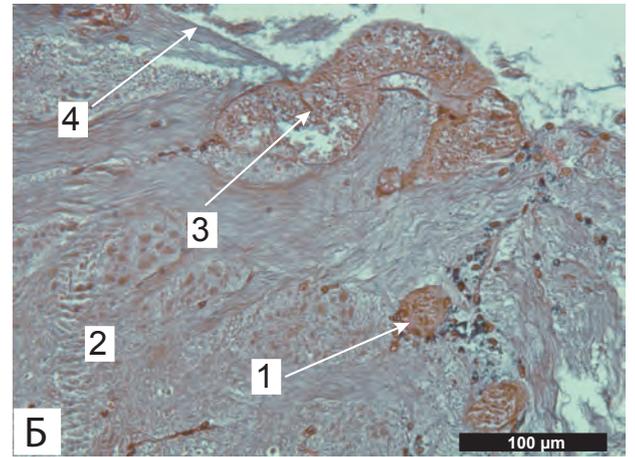
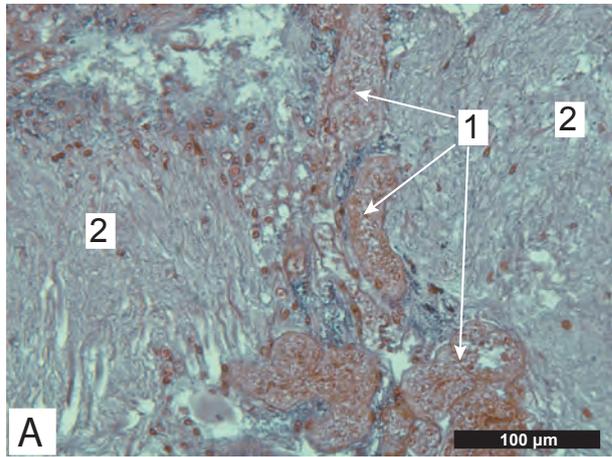


Рисунок 32.

А-Г — Столоны *Polyascus polygenea* внутри нервных ганглиев хозяина.

1 — столбы в толще нервной ткани хозяина, 2 — нервная ткань хозяина, 3 — столон проникающий под оболочку нервного ганглия, 4 — оболочка нервного ганглия.

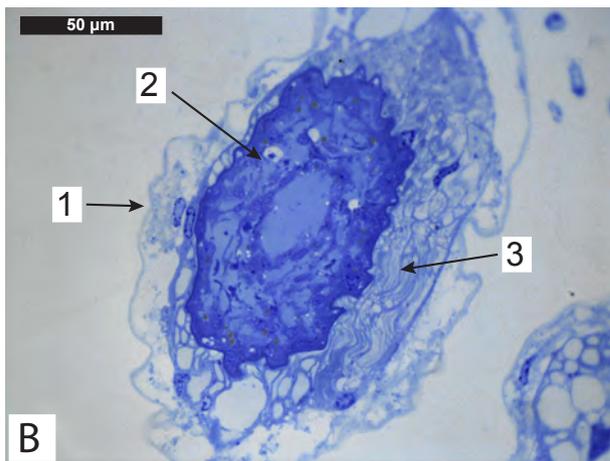
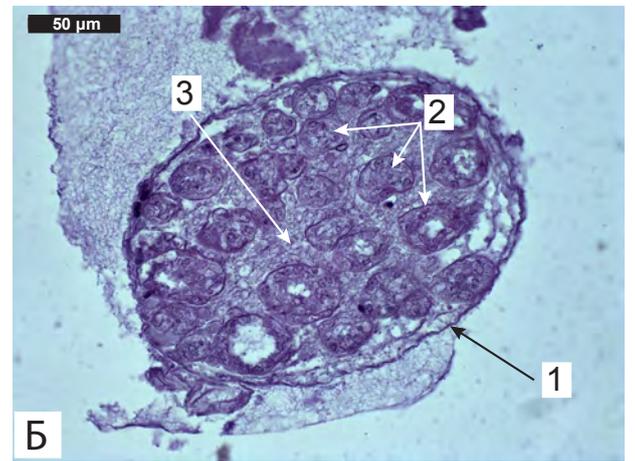


Рисунок 33.

А-Г — Столоны *Polyascus polygenea* в нервных стволах хозяина.

1 — нервный ствол, 2 — столоны паразита, 3 — нервная ткань хозяина.

проникающие в нервы и ганглии хозяина, весьма многочисленны и могут занимать значительный объем нервной ткани (Рис. 32, 33).

На гистологическом уровне столоны интерны *Polyascus polygenea*, расположенные в толще нервной ткани хозяина, не очень сильно отличаются от обычных трофических столон. Но на ультраструктурном уровне наблюдаются некоторые отличия. Кутикула, покрывающая эти столоны, двуслойная с очень тонким наружным электронно-темным слоем и более толстым электронно-светлым, гомогенным слоем. На апикальной поверхности кутикулы располагаются множественные плотно уложенные микровыросты (Рис. 34). Однако эти микровыросты совершенно не похожи на микровыросты нормальных трофических столон (Рис. 34Г), они значительно толще и короче. Электронно-светлый слой заходит внутрь каждого микровыроста (Рис. 34В).

В столонах *Polyascus polygenea*, проникающих в нервную ткань хозяина, встречаются мышечные элементы, не отличающиеся от мышечных элементов трофических столон (Рис. 35, 36).

Интересные результаты также были получены с помощью методики изготовления криосрезов ганглиев хозяина, пораженных столонами *Polyascus polygenea*, с последующим окрашиванием флуоресцентно-мечеными антителами. Было обнаружено, что вблизи столон паразита повышена концентрация некоторых нейромедиаторов, таких, как серотонин (Рис. 35А, Б, 36). Также в самих столонах часто встречаются некие везикулы, которые связываются с антителами к серотонину (Рис. 37).

Представители *Sacculina pilosella* демонстрировали сходные тенденции во взаимодействии с НС хозяина, как и представители *Polyascus polygenea*. Нервные ганглии торакального отдела брюшной нервной цепочки и нервные стволы, отходящие от них, также были поражены столонами паразита (Рис. 25Г). При этом в ганглиях хозяина встречаются два разных типа столон: (1) относительно тонкие столоны без каких-либо специализированных структур, которые в основном локализованы в нейропиле ганглия хозяина (Рис. 38), и (2) столоны, дистальные концы которых преобразованы в бокаловидные органы (Рис. 38А-В). Бокаловидные органы всегда располагаются по периферии ганглия.

Бокаловидные органы, обнаруженные у *Sacculina pilosella*, имеют ряд отличий от бокаловидных органов представителей семейства Peltogastridae. Стенка бокаловидного органа *Sacculina pilosella* сложена несколькими слоями клеток; на дне воронки располагается участок выраженного столбчатого эпителия (Рис. 38В).

Помимо описанного выше контакта у всех рассмотренных видов корнеголовых раков был обнаружен еще один сайт связи паразита с нервной системой хозяина. На гистологических срезах (*Peltogaster paguri*) хорошо видно, что в узких промежутках между столонами, а также

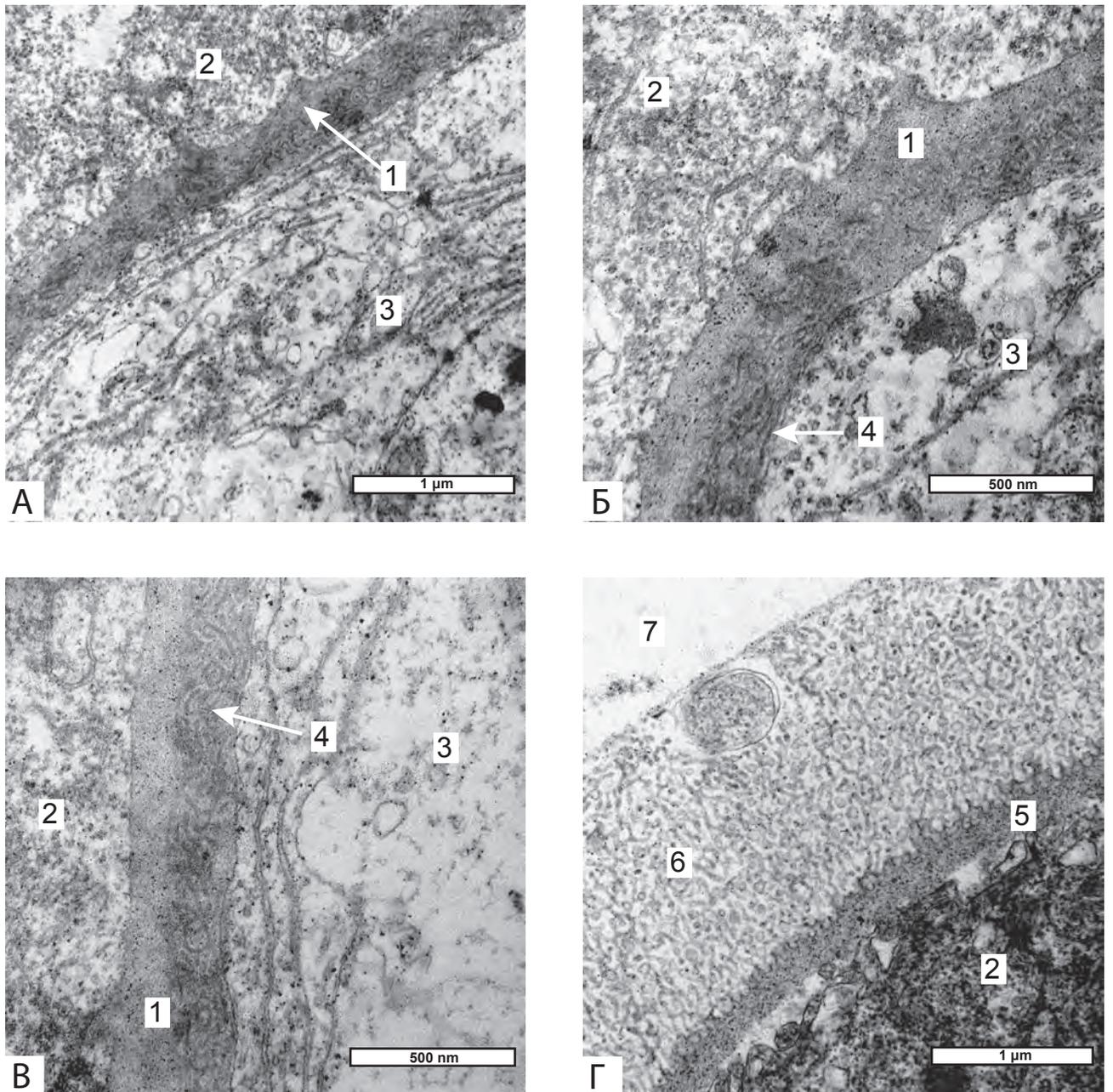


Рисунок 34.

А-В — Кутикула покрывающая столонь *Polyascus polygenea* находящиеся в толще нервной ткани хозяина;

Д — Кутикула нормального трофического столоня *Polyascus polygenea*.

1 — кутикула покрывающая столонь *Polyascus polygenea* находящиеся в толще нервной ткани, 2 — ткань паразита, 3 — нервная ткань хозяина, 4 — микровыросты кутикулы столоней ассоциированных с нервной тканью хозяина, 5 — кутикула нормального трофического столоня, 6 — микровыросты “нормальной” кутикулы, 7 — полость тела хозяина.

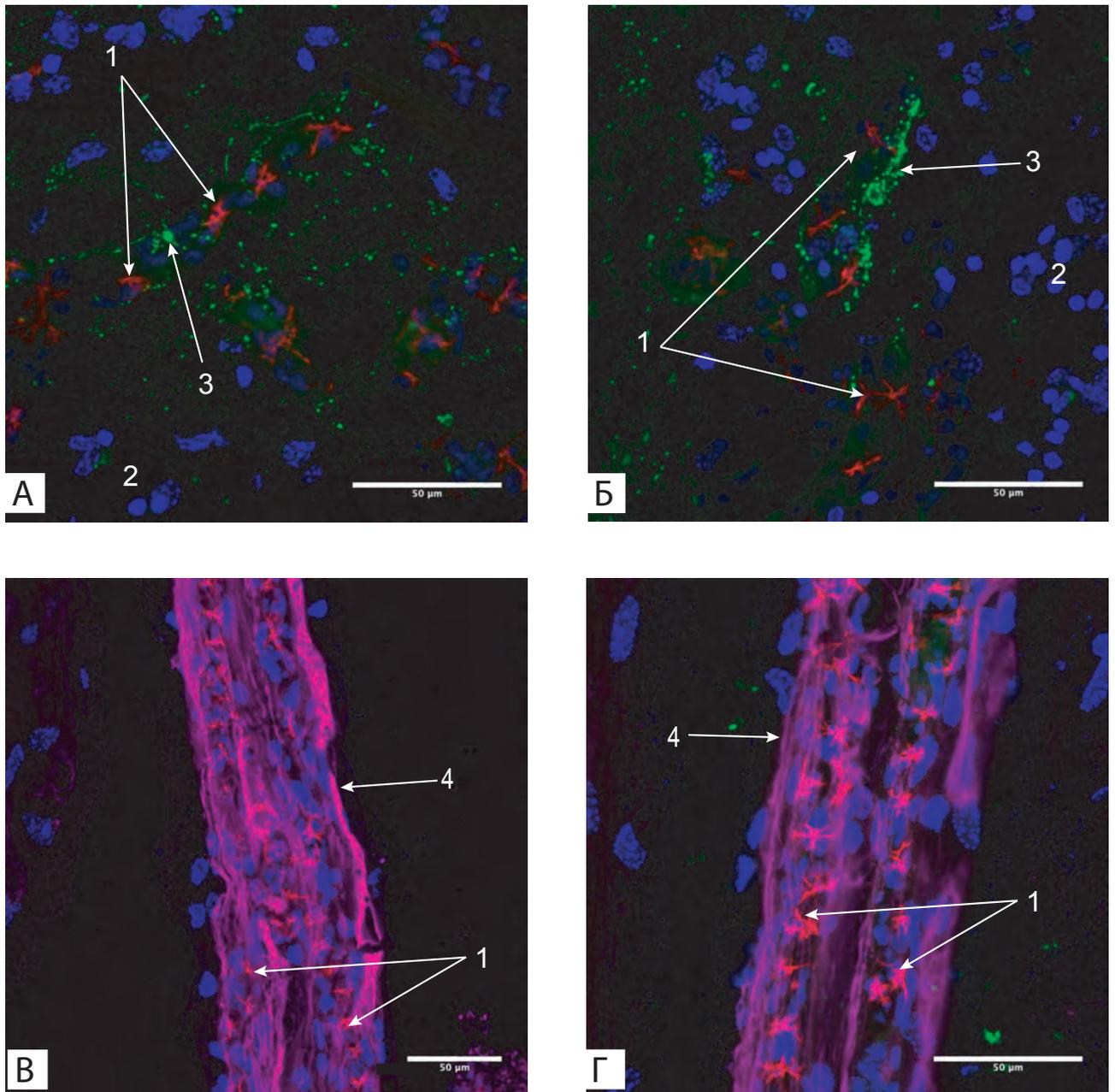


Рисунок 35.

А, Б — Криосрезы нервного ганглия *Hemigrapsus sanguineus* пораженные столонами паразита *Polyascus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание: DAPI (синий), фаллоидин (красный), 5HT (зеленый); В, Г — Нервные стволы *Hemigrapsus sanguineus* внутри которых располагаются столонны паразита *Polyascus polygenea*.

Конфокальная Z-проекция, окрашивание: DAPI (синий), фаллоидин (красный), α -тубулин (magenta).
 1 — мышечные волокна маркирующие столонны паразита, 2 — нервная ткань ганглия хозяина,
 3 — скопление серотонина, 4 — нервный ствол хозяина.

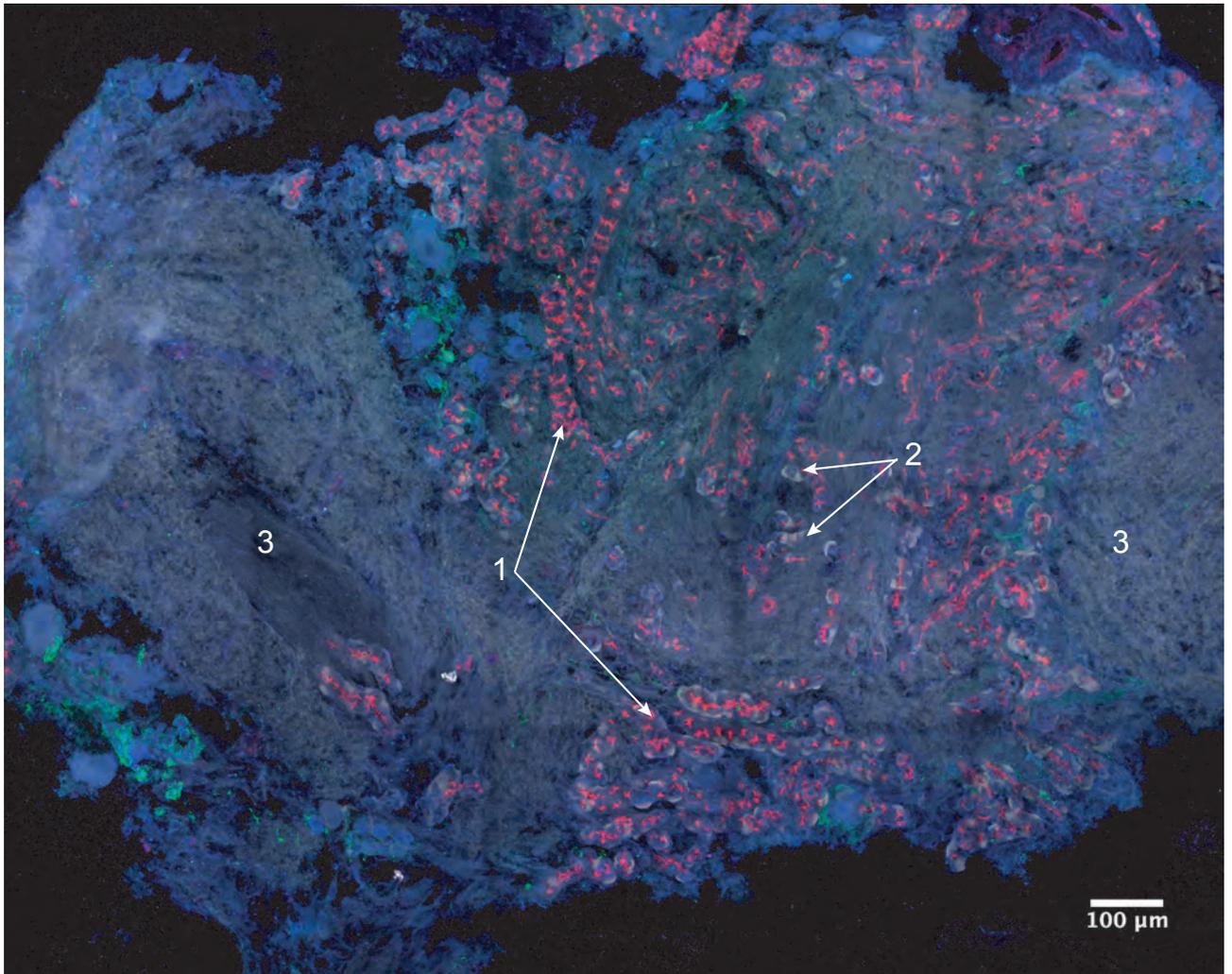


Рисунок 36.

Криосрез нервного ганглия *Hemigrapsus sanguineus* пораженного столонами паразита *Polyascus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание: фаллоидин (красный), 5HT (белый), тирозин гидролаза (зеленый), VGLUT2 (синий).

1 — мышечные волокна маркирующие столоны паразита, 2 — скопление серотонина, 3 — нервная ткань ганглия хозяина.

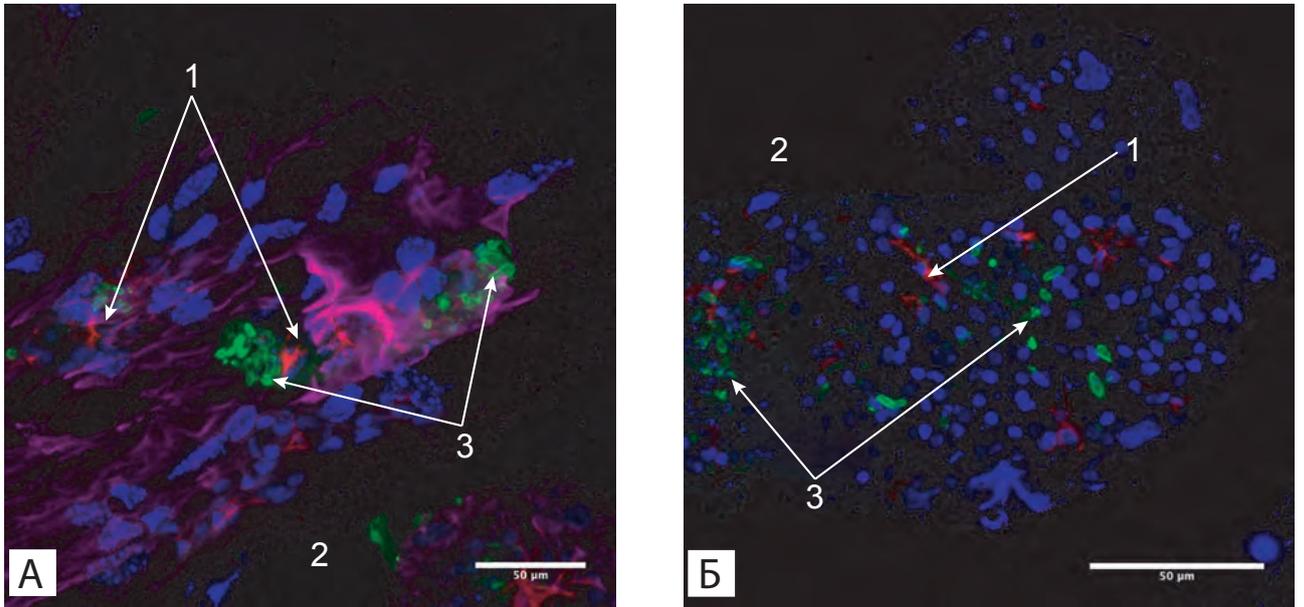


Рисунок 37.

А, Б — Криосрезы нервного ганглия *Hemigrapsus sanguineus* пораженные столонами паразита *Polyas-cus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание: DAPI (синий), фаллоидин (красный), 5HT (зеленый), α -тубулин (magenta).

1 — мышечные волокна маркирующие столонны паразита, 2 — нервная ткань ганглия хозяина, 3 — скопление серотонина в тканях паразита.

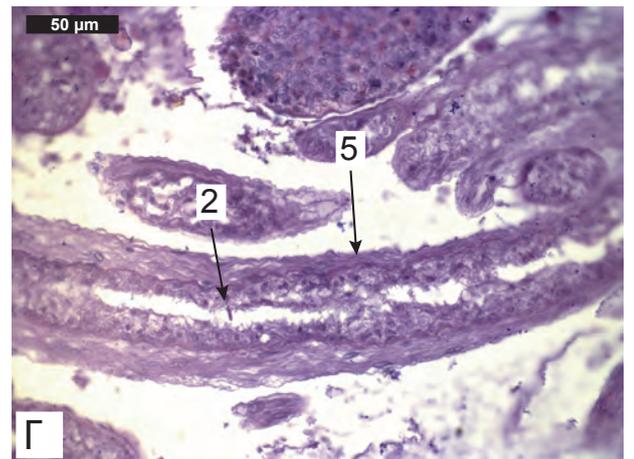
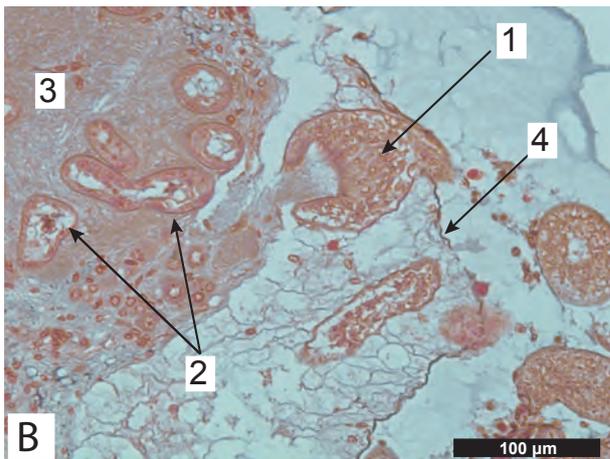
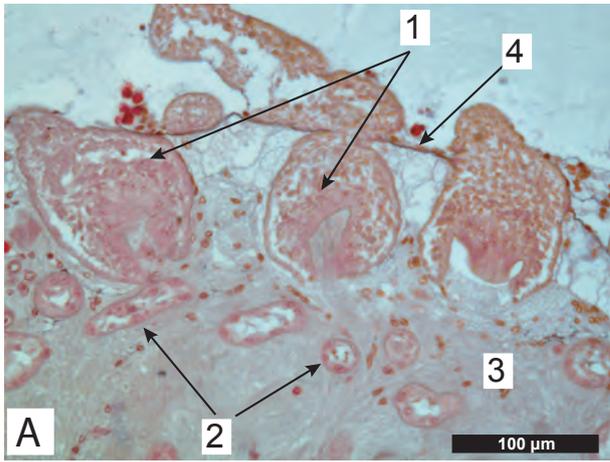


Рисунок 38.

А-В — Бокаловидные органы и столоны паразита *Sacculina pilosella* в толще нервного ганглия хозяина *Pugettia quadridens*; Г — Нервный ствол *Pugettia quadridens* со столонем *Sacculina pilosella* внутри.

1 — бокаловидные органы на периферии нервного ганглия, 2 — тонкие столоны лежащие в нейропиле хозяина, 3 — нервная ткань хозяина, 4 — оболочка ганглия, 5 — столон паразита внутри нервного ствола хозяина.

на поверхности самих столонов часто располагаются как отдельные клетки, так и целые скопления клеток хозяина (Рис. 39А-Г). В литературе упоминается, что гемоциты хозяина могут оседать на поверхность столонов паразита (Bresciani, Hoeg, 2001). Однако обнаруженные нами клеточные скопления не были похожи на отдельные амебоциты (Рис. 39Б). В составе этих скоплений можно было наблюдать несколько типов клеток. Во-первых, это клетки с длинными отростками. Иногда эти отростки, принадлежащие разным клеткам, образуют своеобразные тяжи разной толщины. Данные клетки обычно распластаны по поверхности столонов паразита, а образуемые ими тяжи, как бы оплетают их (Рис. 39Б). Во-вторых, немного в стороне от тяжей располагаются компактные группы крупных округлых клеток с зернистой цитоплазмой (Рис. 39В, Г). Такие же клетки с гранулированной цитоплазмой изредка встречаются поодиночке. Сходные результаты были получены на представителях всех обследованных видов.

Сканограммы поверхности столонов *Peltogaster paguri* выявили разнообразие клеточных элементов хозяина, приуроченных к поверхности столонов. Как и было отмечено в литературе, на поверхности паразита адгезированы немногочисленные амебоциты (Рис. 40 В). Однако они составляют лишь малую часть клеток хозяина, ассоциированных с покровами паразита. Значительно обильнее представлены многочисленные ветвящиеся тяжи разной толщины, оплетающие столоны (Рис. 40В, Г). В тесной связи с этими тяжами оказываются и компактные группы клеток (Рис. 40Б). По своим размерам и характеру расположения они похожи на группы клеток, о которых было сказано ранее (Miroliubov et al., 2020).

Компактные группы клеток с зернистой цитоплазмой, обнаруженные нами на гистологических срезах и сканограммах, видны также и на фотографиях, полученных с помощью конфокального микроскопа. Ядра этих клеток хорошо окрашиваются красителем Hoechst и DAPI и заметно отличаются от ядер паразита (Рис. 41В).

Окраска с помощью антител к α -тубулину, серотонину и FMRF-амиду показала, что клетки и отходящие от них тяжи — это элементы нервной системы хозяина (Рис. 41). Серотонин-эргические нейроны как одиночные (Рис. 41Г), так и собранные в неправильные группы (Рис. 41Г), формируют диффузную сеть, оплетающую интерну паразита.

Для выявления элементов нервной системы было произведено прижизненное окрашивание трофических столонов *Polyascus polygenea* нитратом серебра. Данная методика также выявила наличие нервного плексуса, оплетающего столоны (Рис. 40А).

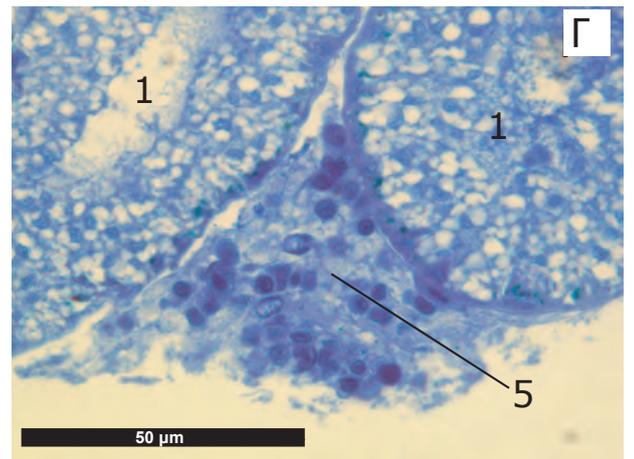
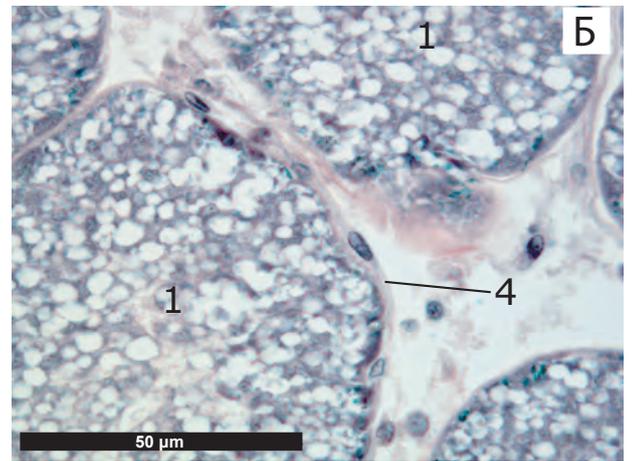
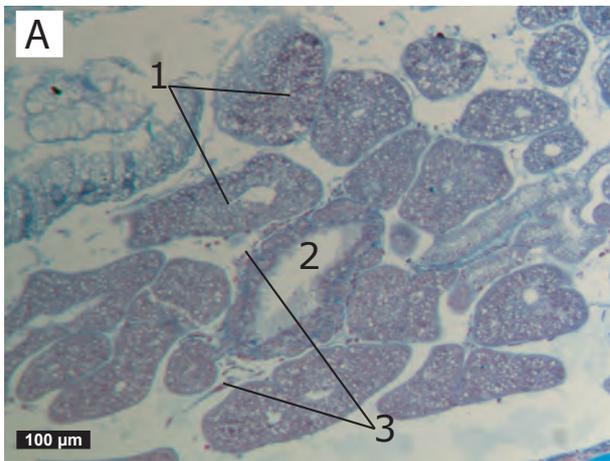


Рисунок 39.

А — Поперечный срез через главный стolon и периферические столонь *Peltogaster paguri*; Б-Г — Срез через столонь паразита *Peltogaster paguri* и оплетающую их ткань хозяина.

1 — периферические столонь, 2 — главный стolon, 3 — тяжи ткани хозяина, 4 — клетка хозяина, распластанная по поверхности столонь паразита, 5 — группы клеток ткани хозяина, 6 — клетка с гранулярной цитоплазмой.

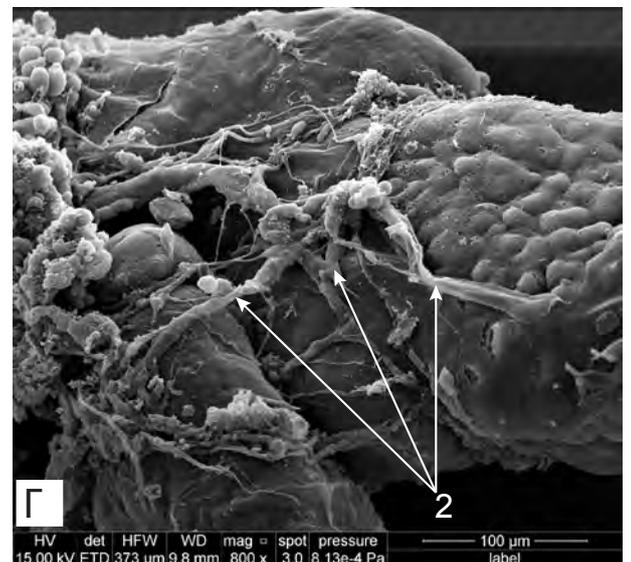
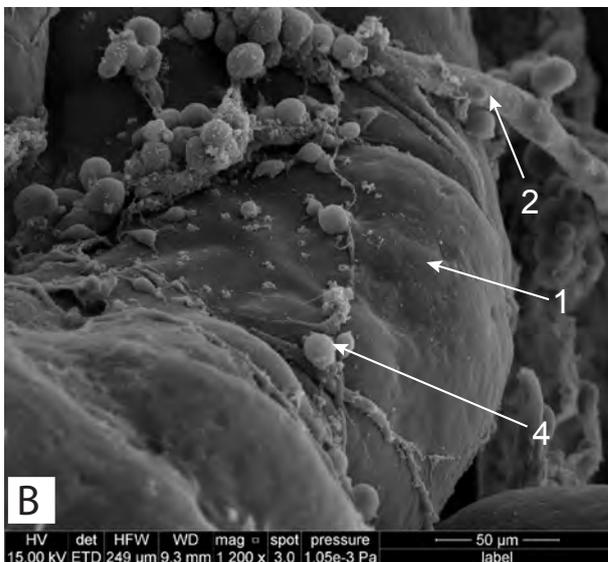
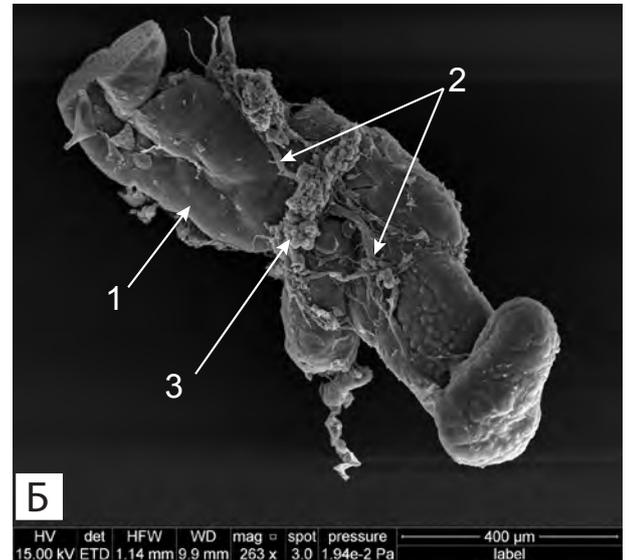


Рисунок 40.

А — Клетки на поверхности столонов *Polyascus polygenea* окрашенные нитратом серебра; Б, В, Г — тяжи из ткани хозяина оплетающие столон *Peltogaster paguri*.

1 — столон паразита, 2 — тяжи тканей хозяина, 3 — группы клеток хозяина ассоциированные с тяжами, 4 — отдельные клетки на поверхности столон.

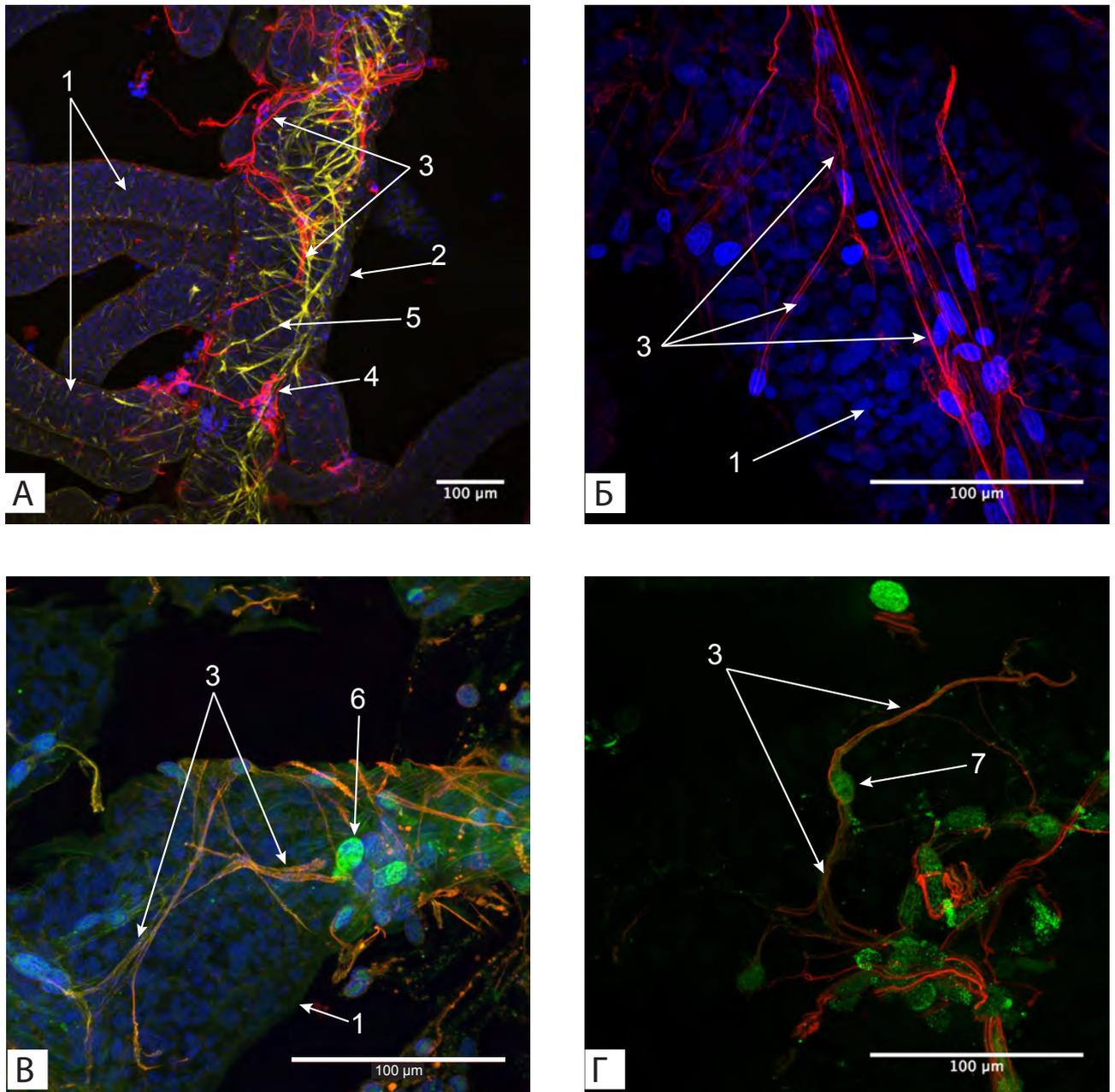


Рисунок 41.

А, Б – Главный столон и боковые выросты *Peltogaster paguri* оплетенные нервными волокнами хозяина; В – Нервные волокна хозяина на поверхности столонов *Polyascus polygenea*; Г – Нейрон хозяина на поверхности столона *Peltogaster paguri*.

Конфокальные Z-проекции, DAPI (синий), фаллоидин (желтый), 5HT/FMRF-амид (зеленый), α -тубулин (красный).

1 — столон паразита, 2 — главный столон, 3 — нервные волокна хозяина, 4 — тела клеток ассоциированные с нервными тяжами хозяина, 5 — мышечные волокна, 6 — тело нейрона окрашенное FMRF-амидом, 7 — тело нейрона окрашенное серотонином.

3.3.2 Обсуждение

Корнеголовые ракообразные известны своей способностью брать под контроль тело хозяина. Они могут изменять морфологию, метаболизм, гормональный статус, а также и поведение хозяина (Alvarez et al., 1995; Hoeg, 1995; Bresciani, Hoeg, 2001; Walker, 2001; Alvarez et al., 2002; Bortolini, Alvarez, 2008; Kristensen et al., 2012). К сожалению, до недавнего времени было неизвестно, каким образом и с помощью каких структур происходит это тесное паразит-хозяинное взаимодействие.

В ходе данной работы удалось описать два различных типа структур, вовлеченных в прямое взаимодействие корнеголовых ракообразных и нервной системы хозяев: (1) модифицированные столоны, проникающие в ганглии брюшной нервной цепочки хозяина, и (2) волокна периферической нервной системы хозяина, оплетающие трофические столоны интерны.

Ранее в литературе встречались упоминания о том, что корнеголовые ракообразные способны внедряться в нервные ганглии хозяев. Так, к примеру, С. Нильсен (Nielsen, 1970) описывал, что некоторые столоны *Peltogaster paguri* и *Peltogasterella sulcata* ассоциированы с задней частью торакального ганглия и следующих за ним первых трех абдоминальных ганглиев нервной цепочки хозяина. Столоны проникали под оболочку ганглия, и их концевые участки располагались в толще нервной ткани хозяина. На иллюстрациях, приведенных в этой работе (Nielsen, 1970, p. 26) хорошо видны структуры, похожие на обнаруженные нами бокаловидные органы, однако автор не приводит их описания и даже не упоминает о них в своей статье. Сходные структуры были также обнаружены в толще нервной ткани ганглиев крабов, зараженных представителями семейства Sacculinidae (Rubiliani, Payen, 1979; Payen et al., 1981). Но авторы описали только гистологическое строение этих органов.

Среди различных групп паразитических организмов встречается не так много примеров, когда паразит напрямую контактирует с нервной системой хозяина. Лишь некоторые ленточные черви, трематоды, нематоды и скребни на определенных стадиях их жизненного цикла вступают во взаимодействие с центральной нервной системой хозяина (Seppälä et al., 2004; Helluy, Holmes, 2005; Dezfuli et al., 2007; Shaw et al., 2008; Lafferty, Kuris, 2009; Coats, 2010; Poulin, 2010; Goodman, Johnson, 2011; Hammond-Tooke et al., 2012; Lafferty, Shaw, 2013; Adamo, 2013). При этом перечисленные выше паразиты никогда не достигают столь высокого уровня интеграции с нервной системой хозяина, как ризоцефалы.

Следует отметить, что корнеголовые ракообразные не очень сильно снижают выживаемость хозяина (Alvarez et al., 1995; Alvarez et al., 2002; Bortolini, Alvarez, 2008), хотя они могут занимать значительный объем тела хозяина (до 15–20 %) (Nagler et al., 2017) и

существенно модифицировать его строение и метаболизм. Это связано прежде всего с тем, что жить они могут очень продолжительное время, и выживание паразита напрямую зависит от выживания хозяина. Поэтому им не выгодно сильно вредить хозяину, что хорошо соотносится с концепцией оптимальной вирулентности. Скорее всего именно с этим и связан тот факт, что столоны паразита никогда не прорастают и не разрушают никаких внутренних органов хозяина; единственным исключением является центральная нервная система. Как было показано в данной работе, столоны некоторых видов корнеголовых (*Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*) могут достигать очень высокой численности и занимать значительный объем нервной ткани (Рис. 8, 9). Несмотря на такое сильное поражение нервной системы, хозяин не теряет основных жизненно важных функций. Это позволяет предположить, что паразит не нарушает нормального функционирования нервной системы, а воздействует на хозяина с помощью высокоспециализированных молекулярных механизмов. Скорее всего, именно близкое филогенетическое родство корнеголовых ракообразных с их хозяевами позволяет этим паразитам достигать такого высокого уровня интеграции с хозяином.

В ходе работы были описаны высокоспециализированные столоны, принимающие непосредственное участие во взаимодействии между паразитом и хозяином. Часто эти столоны имеют бокаловидное строение дистального конца.

Бокаловидные органы у обоих представителей сем. Peltogastridae значительно отличаются от трофических столонов как общей морфологией, тканевой организацией, так и ультраструктурой клеток. Подобные различия позволяют сделать вывод о том, что скорее всего эти органы выполняют функции, отличные от функций трофических столонов.

Наличие обширной каймы из микровиллей, которые лежат в субкутикулярном пространстве, и большое количество митохондрий указывают на высокий уровень транспортной активности клеток бокаловидного органа. Крупные поля шероховатого эндоплазматического ретикулума со вздутыми цистернами (Рис. 7) указывают на то, что и процессы синтеза идут в этих клетках крайне активно. Подобные вздутые цистерны ЭПР скорее всего являются секреторными везикулами. У *Polyascus polygenea* в столонах, располагающихся в толще нервной ткани, встречаются везикулы, окрашенные антителами к серотонину, эти везикулы по размеру и форме сходны со вздутыми цистернами ЭПР, обнаруженными нами в клетках бокаловидных органов *Peltogastrella gracilis*. Скорее всего, содержимое этих везикул (серотонин) секретируется в нервную ткань хозяина.

Можно предположить, что посредством этих специализированных столонов, располагающихся в толще нервной ткани хозяина, паразит может как секретировать различные вещества (предположительно нейромедиаторы и нейрогормоны), так и поглощать их из

нервной ткани хозяина. К сожалению, до сих пор остается неясным механизм транспорта веществ через кутикулу паразита (Bresciani, Hoeg, 2001).

Все перечисленные выше особенности столонов, находящихся в толще нервной ткани хозяина, позволяют предположить, что они в большой степени принимают участие в модификации физиологического статуса, личиночного цикла и поведения хозяина.

При этом наблюдались некоторые различия в строении этих столонов даже в пределах одного семейства. Бокаловидные органы у *Peltogaster paguri* и *Peltogasterella gracilis* различаются по размеру, некоторым деталям ультраструктуры, а также по уровню воздействия на нервную ткань хозяина. Чем обусловлены эти различия – пока не очень понятно, однако можно предположить, что эти органы все же выполняют сходную функцию.

Сформированные бокаловидные органы лежат в толще нервной ткани хозяина, однако не очень понятно, каким образом они проникают под оболочку ганглия. В ходе работы были обнаружены некоторые столоны с фолликулами на дистальном конце (Рис. 13С). Можно предположить, что клетки фолликула выделяют какие-то вещества, растворяющие оболочку ганглия и позволяющие столонам прорасти внутрь. Затем фолликул трансформируется в бокаловидный орган.

У *Sacculina pilosella* также были обнаружены бокаловидные органы, расположенные по периферии нервного ганглия именно там, где лежат тела нейронов (Рис. 14А). Несмотря на то, что бокаловидные органы у этого вида значительно отличаются по своей морфологии от бокаловидных органов представителей семейства Peltogastridae, скорее всего они выполняют сходную функцию. Однако кроме бокаловидных органов были также обнаружены столоны, располагающиеся в центральной части ганглия (в нейропиле). К сожалению, на данный момент пока нет данных, касающихся ультраструктуры этих столонов, поэтому делать какие-то выводы пока рано.

В отличие от *Sacculina pilosella*, у *Polyascus polygenea* не было обнаружено никаких структур, похожих на бокаловидные органы. Вероятно, их функцию выполняют немодифицированные столоны, располагающиеся в толще нервной ткани.

В ходе работы было также обнаружено, что трофические столоны интерны у представителей всех обследованных видов (*Peltogaster paguri*, *Peltogasterella gracilis*, *Sacculina pilosella*, *Polyascus polygenea*) оплетены сетью из тяжелей тканей хозяина. Окраска нитратом серебра и антителами к α -тубулину и нейромедиаторам выявила нервную природу этой ткани (Рис. 24, 25). Таким образом был обнаружен еще один сайт прямого контакта паразита с нервной системой хозяина (на этот раз – с периферической). Скорее всего данный контакт также принимает участие во взаимодействии паразита с хозяином. Скорее всего, функции бокаловидных органов и нервного оплетения трофических столонов различаются.

Следует отметить, что подобная реакция нервной системы на присутствие паразита не типична, вряд ли можно рассматривать этот феномен как защитную реакцию хозяина. Вероятно, паразит выделяет аналоги нейростатических факторов и нейротрофинов хозяина и таким образом стимулирует рост нейронов. В настоящее время нами уже получен дифференциальный транскриптом представителей вида *Peltogaster reticulata*, и в дальнейшем его анализ позволит выявить потенциальные белки, секретируемые в полость хозяина и привлекающие рост нервной ткани.

Литературные данные, касающиеся собственной нервной системы взрослых корнеголовых раков, крайне скудны. Нервный ганглий был описан в экстерне (Delage, 1884), однако эти сведения довольно старые и пока не подтверждены современными методиками. Какие-либо литературные данные, описывающие нервную систему паразита в интерне, полностью отсутствуют. Нам также не удалось обнаружить никаких следов нервной системы самого паразита. Все это ставит множество новых вопросов:

1. Есть ли вообще нервная система у паразитической стадии корнеголовых раков, учитывая отсутствие окраски антителами против α -тубулина, который является основным белком цитоскелета отростков нейронов.
2. Если нервная система все же имеется, то как и из каких клеток она формируется у развивающейся интерны, или же возникает только в экстерне?
3. Каким образом происходит иннервация мышечных волокон интерны?

Заключение

В проведенном исследовании нам удалось выявить ряд принципиально новых аспектов в морфофункциональной организации корнеголовых раков. Ранее интерна рассматривалась исследователями как некая однородная структура, выполняющая трофическую функцию. Нами обнаружено, что интерна представителей вида *Peltogaster raguri* устроена гораздо сложнее, чем предполагалось ранее. Она подразделена на несколько функциональных зон, различающихся по своему строению и тканевой организации. Кроме того, выяснилось, что представители этого вида потенциально способны к образованию модульного организма. Полученные результаты позволяют по-новому взглянуть на функционирование организма корнеголовых ракообразных.

Нам также удалось обнаружить и описать мышечную систему в интерне у нескольких видов корнеголовых ракообразных. В литературе какие-либо данные о строении мышечной системы в интерне отсутствовали. Более того, большинство авторов статей, касающихся морфологии этих животных, вообще игнорировали вопрос наличия каких-либо сократимых элементов в интерне. Поэтому данное исследование является первой работой с описанием мышечной системы интерны, проведенной на представителях группы корнеголовых раков.

Мы предполагаем, что мышечная система, обнаруженная в интерне у нескольких видов корнеголовых ракообразных, способствует выполнению распределительной функции. Мышцы обеспечивают перистальтику столонов и тем самым осуществляют транспорт питательных веществ в центральном канале.

Согласно данным о жизненном цикле *Rhizocephala*, мышечная система не наследуется взрослым организмом от личинки. Таким образом получается, что у этих животных мышечная система возникает дважды в течении одного онтогенеза. И если мышечная система личинки ничем принципиально не отличается от таковой у свободноживущих родственников, то архитектоника мышечной системы взрослого организма не имеет каких-либо аналогов среди известных групп *Metazoa*. Скорее всего, мышечная система взрослого организма сравнительно молодая с эволюционной точки зрения. Это может также объяснить и обнаруженные принципиальные различия в строении мышечной системы интерны у представителей разных семейств *Rhizocephala*, что указывает на высокую эволюционную пластичность этих структур.

Полученные результаты ставят множество новых вопросов и открывают поле для дальнейших исследований эволюционных тенденций в развитии мышечной системы среди всех представителей корнеголовых ракообразных.

Также в данном исследовании нам удалось обнаружить и описать морфологические структуры, участвующие в прямом контакте корнеголовых ракообразных с нервной системой хозяина. Были выявлены как столоны паразита, внедряющиеся в ганглии нервной системы хозяина, так и фрагменты периферической нервной системы хозяина, самостоятельно оплетающие трофические столоны паразита. Мы предполагаем, что все эти структуры принимают непосредственное участие в сложных паразито-хозяинных взаимодействиях. Полученные результаты открывают возможность для дальнейшего более углубленного изучения механизмов воздействия паразита на хозяина уже с применением молекулярных и биохимических методических подходов.

Выводы

1. Интерна корнеголового рака *Peltogaster paguri* обладает выраженной региональной дифференциацией тканей. В ней выделяется несколько зон, различающихся по строению и функциональной нагрузке.
2. Впервые показано, что некоторые корнеголовые раки обладают развитой мышечной системой в интерне, которая, по-видимому, обеспечивает перистальтические сокращения столонов и тем самым способствует распределению питательных веществ по телу паразита.
3. Мышечная система у разных представителей корнеголовых ракообразных устроена принципиально различно, что зависит от общей морфологии интерны:
 - 3.1. *Peltogaster paguri* (сем. Peltogastridae) имеет однонаправленную спиральную мышечную систему, располагающуюся в стенке главного столона. Концентрация мышечных элементов в главном столоне связана с тем, что он является центральным отделом интерны и в нем собирается жидкость из каналов периферических столонов.
 - 3.2. Столоны интерны *Sacculina pilosella* и *Polyascus polygenea* (сем. Sacculinidae) несут звездчатые мышечные элементы, соединенные между собой тонкими сократимыми фибриллами. В интерне этих видов отсутствуют какие-либо центральные элементы (такие, как главный столон у *P. paguri*), поэтому мышечные элементы располагаются в стенке каждого столона.
4. Впервые обнаружено два сайта прямого контакта корнеголовых ракообразных с нервной системой хозяина:
 - 4.1. Все обследованные виды корнеголовых ракообразных имеют специализированные столоны, ассоциированные с ганглиями нервной системой хозяина. Они представлены бокаловидными органами на концевых участках столонов в толще (у представителей сем. Peltogastridae – *Peltogastrella grasilis* и *Peltogaster paguri*) или по периферии (у представителей сем. Sacculinidae – *Sacculina pilosella*) нервного ганглия хозяина. У *S. pilosella*, помимо того, выявлены тонкие морфологически не модифицированные столоны в нейропиле ганглия. У *Polyascus polygenea* (сем. Sacculinidae) такие столоны во множестве пронизывают всю толщу ганглия хозяина, а бокаловидные органы отсутствуют.
 - 4.2. Трофические столоны всех обследованных видов корнеголовых ракообразных оплетены сетью из тяжей нервной ткани хозяина. Некоторые из этих нейронов окрашивались антителами против серотонина и FMRF-амида, что свидетельствует о

их функциональной активности и указывает на возможное участие в паразито-
хозяйинных взаимодействиях.

Список литературы

1. Догель, В. А. Зоология беспозвоночных 4 изд./В. А. Догель Москва, – 1947. – С. 153–156.
2. Исаева, В. В. Выявление стволовых клеток в колониальной интерне корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis* и *Sacculina polygenea* на паразитической стадии жизненного цикла / В. В. Исаева, А. И. Шукалюк, Е. А. Кизилова // Цитология. – 2003. – Т. 45, №. 8. – С. 758–763.
3. Марченков, А. В. Особенности паразитизма веслоногих и корнеголовых раков / А. В. Марченков // Паразитология. – 2001. – Т. 35, – №. 2. – С. 89–97.
4. Миролюбов, А. А. Особенности жизненного цикла *Peltogaster paguri* (Rhizocephala: Peltogastridae) / А. А. Миролюбов // Современные проблемы теоретической и морской паразитологии – 2016. сб. статей. – Севастополь, 2016. – С. 99–101.
5. Adamo, S. A. Parasites: evolution's neurobiologists / S. A. Adamo // Journal of Experimental Biology. – 2013. – Т. 216, №. 1. – С. 3–10.
6. Alvarez, F. The effects of parasitism by the barnacle *Loxothylacus panopaei* (Gissler) (Cirripedia: Rhizocephala) on growth and survival of the host crab *Rhithropanopeus harrisi* (Gould) (Brachyura: Xanthidae) / F. Alvarez, A. H. Hines, M. L. Reaka-Kudla // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 1995. – Т. 192, №. 2. – С. 221–232.
7. Alvarez, F. Osmoregulatory disturbances induced by the parasitic barnacle *Loxothylacus texanus* (Rhizocephala) in the crab *Callinectes rathbunae* (Portunidae) / F. Alvarez, G. Alcaraz, R. Robles // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 2002. – Т. 278, №. 2. – С. 135–140.
8. Alvarez, F. Anatomy of virgin and mature externae of *Loxothylacus texanus*, parasitic on the dark blue crab *Callinectes rathbunae* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae) / F. Alvarez, J. L. Bortolini, J. T. Høeg // Journal of morphology. – 2010. – Т. 271, №. 2. – С. 190–199.
9. Belgrad, B. A. Rhizocephalan infection modifies host food consumption by reducing host activity levels / B. A. Belgrad, B. D. Griffen // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 2015. – Т. 466, – С. 70–75.
10. Bishop, R. K. Morbid behaviour of the commercial sand crab, *Portunus pelagicus* (L.), parasitized by *Sacculina granifera* Boschma, 1973 (Cirripedia: Rhizocephala) / R. K. Bishop, L. R. G. Cannon // Journal of Fish Diseases. – 1979. – Т. 2, №. 2. – С. 131–144.

11. Bocquet-Védrine, J. Ultrastructure et fonction d'absorption du tégument des racines de la Sacculine (Crustacé Cirripède parasite) / J. Bocquet-Védrine, C. Chassard-Bouchaud, M. Hubert // *Biology of the Cell*. – 1977. – T. 30, – C. 165–170.
12. Bortolini, J. L. Hepatopancreas alteration of the blue crab *Callinectes sapidus* by the rhizocephalan barnacle *Loxothylacus texanus* / J. L. Bortolini, F. Alvarez // *Journal of Invertebrate Pathology*. – 2008. – T. 99, №. 3. – C. 354–356.
13. Boyko, C. B. A review of the family Lernaediscidae (Cirripedia: Rhizocephala). I. The genus *Lernaediscus* Müller, 1862: new synonymy, hosts, range extensions, and the description of a new species / C. B. Boyko, A. W. Harvey // *Journal of Crustacean Biology*. – 2000. – T. 20, №. 4. – C. 663–673.
14. Bresciani, J. Comparative ultrastructure of the root system in rhizocephalan barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) / J. Bresciani, J. T. Høeg // *Journal of Morphology*. – 2001. – T. 249, №. 1. – C. 9–42.
15. Coats, J. The consequences of parasitic infections for host behavioural correlations and repeatability / J. Coats, R. Poulin, S. Nakagawa // *Behaviour*. – 2010. – C. 367–382.
16. Collis S. A. The morphology of the naupliar stages of *Sacculina carcini* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) / S. A. Collis, G. Walker // *Acta Zoologica*. – 1994. – T. 75, №. 4. – C. 297–303.
17. Delage, Y. Évolution de la Sacculine (*Sacculina carcini* Thomps.) crustacé endoparasite de l'ordre nouveau des kentrogonides / Y. Delage // *Archives de Zoologie experimentale et generale*. – 1884. – T. 2, – C. 417–436.
18. Dezfuli, B. S. Histopathological and ultrastructural observations of metacercarial infections of *Diplostomum phoxini* (Digenea) in the brain of minnows *Phoxinus phoxinus* / B. S. Dezfuli, S. Capuano, E. Simoni, L. Giari, A. P. Shinn // *Diseases of Aquatic Organisms*. – 2007. – T. 75, №. 1. – C. 51–59.
19. Dornesco, G. T. Données cytologiques sur les “racines” de la Sacculine, crustacé parasite / G. T. Dornesco, E. Fischer-Piette // *Bull Histol Appl*. – 1931. – T. 8, – C. 213–221.
20. Glenner, H. Cypris ultrastructure, metamorphosis and sex in seven families of parasitic barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) / H. Glenner, J. T. Høeg, A. Klysner, B. B. Larsen // *Acta Zoologica*. – 1989. – T. 70, №. 4. – C. 229–242.
21. Glenner, H. Metamorphosis in the Cirripedia Rhizocephala and the homology of the kentrogon and trichogon / H. Glenner, J. T. Høeg // *Zoologica Scripta*. – 1994. – T. 23, №. 2. – C. 161–173.
22. Glenner, H. A new motile, multicellular stage involved in host invasion by parasitic barnacles (Rhizocephala) / H. Glenner, J. T. Høeg // *Nature*. – 1995. – T. 377, №. 6545. – C. 147–149.

23. Glenner, H. Invasive vermigon stage in the parasitic barnacles *Loxothylacus texanus* and *L. panopaei* (Sacculinidae): closing of the rhizocephalan life-cycle / H. Glenner, J. T. Høeg, J. J. O'Brien, T. D. Sherman // *Marine Biology*. – 2000. – T. 136, №. 2. – C. 249–257.
24. Glenner, H. Cypris metamorphosis, injection and earliest internal development of the Rhizocephalan *Loxothylacus panopaei* (Gissler). *Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae* / H. Glenner // *Journal of Morphology*. – 2001. – T. 249, №. 1. – C. 43–75.
25. Glenner, H. Phylogeny and evolution of life history strategies of the parasitic barnacles (Crustacea, Cirripedia, Rhizocephala) / H. Glenner, M. B. Hebsgaard // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2006. – T. 41, №. 3. – C. 528–538.
26. Glenner, H. The monophyletic origin of a remarkable sexual system in akentrogonid rhizocephalan parasites: a molecular and larval structural study / H. Glenner, J. T. Høeg, J. Stenderup, A. V. Rybakov // *Experimental parasitology*. – 2010. – T. 125, №. 1. – C. 3–12.
27. Goodman, B. A. Disease and the extended phenotype: parasites control host performance and survival through induced changes in body plan / B. A. Goodman, P. T. J. Johnson // *PLoS One*. – 2011. – T. 6, №. 5. – C. e20193.
28. Hammond-Tooke, C. A. Parasitism and behavioural syndromes in the fish *Gobiomorphus cotidianus* / C. A. Hammond-Tooke, S. Nakagawa, R. Poulin // *Behaviour*. – 2012. – C. 601–622.
29. Helluy, S. Parasitic manipulation: further considerations / S. Helluy, J. C. Holmes // *Behavioural Processes*. – 2005. – T. 68, №. 3. – C. 205–210.
30. Høeg, J. T. The phylogenetic position of the Rhizocephala: are they truly barnacles? / J. T. Høeg // *Acta Zoologica*. – 1992. – T. 73, №. 5. – C. 323–326.
31. Høeg, J. T. Comparative morphology and phylogeny of the family Thompsoniidae (Cirripedia, Rhizocephala, Akentrogonida), with descriptions of three new genera and seven new species / J. T. Høeg, J. Lützen // *Zoologica Scripta*. – 1993. – T. 22, №. 4. – C. 363–386.
32. Høeg, J. T. The biology and life cycle of the Rhizocephala (Cirripedia) / J. T. Høeg // *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. – 1995. – T. 75, №. 3. – C. 517–550.
33. Høeg, J. TEM studies on the lattice organs of cirripede cypris larvae (Crustacea, Thecostraca, Cirripedia) / J. Høeg, B. Hosfeld, P. G. Jensen // *Zoomorphology*. – 1998. – T. 118, №. 4. – C. 195–205.
34. Høeg, J. T. Cypris larvae in *Polysaccus mediterraneus* and *Mycetomorpha vancouverensis*: their importance in analyzing the phylogeny and sexual evolution of parasitic barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) / J. T. Høeg, A. V. Rybakov // *Israel Journal of Ecology and Evolution*. – 2007. – T. 53, №. 1. – C. 9–31.

35. Høeg, J. T. Metamorphosis in balanomorphan, pedunculated, and parasitic barnacles: a video-based analysis / J. T. Høeg, D. Maruzzo, K. Okano, H. Glenner, B. K. Chan // Integrative and Comparative Biology. – 2012. . – T. 52, №. 3. – C. 334–347.
36. Høeg, J. T. A new molecular phylogeny-based taxonomy of parasitic barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) / J. T. Høeg, C. Noever, D. A. Rees, K. A. Crandall, H. A. Glenner // Zoological Journal of the Linnean Society. – 2019.
37. Innocenti, G. Observations on the agonistic behavior of the swimming crab *Charybdis longicollis* Leene infected by the rhizocephalan barnacle *Heterosaccus dollfusi* Boschma / G. Innocenti, N. Pinter, B. S. Galil // Canadian Journal of Zoology. – 2003. – T. 81, №. 1. – C. 173–176.
38. Jespersen, A. *Thompsonia dofleinia* colonial akentrogonid rhizocephalan with dimorphic, ova- or sperm-producing, externae (Crustacea, Cirripedia) / A. Jespersen, J. Lutzen // Zoomorphology. – 1992. – T. 112, №. 2. – C. 105–116.
39. Korn, O. M. Larval development of the rhizocephalan *Sacculina polygenea* (Crustacea: Cirripedia) / O. M. Korn, A. V. Rybakov, S. D. Kashenko // Russian Journal of Marine Biology. – 2000. – T. 26, №. 5. – C. 373–377.
40. Korn, O. M. Larval development in the rhizocephalan barnacle *Sacculina pilosella* / O. M. Korn, A. V. Rybakov // Russian Journal of Marine Biology. – 2001. – T. 27, №. 3. – C. 177–179.
41. Kristensen, T. The selective advantage of host feminization: a case study of the green crab *Carcinus maenas* and the parasitic barnacle *Sacculina carcini* / T. Kristensen, A. I. Nielsen, A. I. Jørgensen, K. N. Mouritsen, H. Glenner, J. T. Christensen, J. T. Høeg // Marine Biology. – 2012. – T. 159, №. 9. – C. 2015–2023.
42. Lafferty, K. D. Parasitic castration: the evolution and ecology of body snatchers / K. D. Lafferty, A. M. Kuris // Trends in parasitology. – 2009. – T. 25, №. 12. – C. 564–572.
43. Lafferty, K. D. Comparing mechanisms of host manipulation across host and parasite taxa / K. D. Lafferty J. C. Shaw // Journal of Experimental Biology. – 2013. – T. 216, №. 1. – C. 56–66.
44. Lagersson, N. C. The ultrastructure of two types of muscle fibre cells in the cyprid of *Balanus amphitrite* (Crustacea: Cirripedia) / N. C. Lagersson // Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 2002. – T. 82, №. 4. – C. 573–578.
45. Larsen, M. H. Influence of infection by *Sacculina carcini* (Cirripedia, Rhizocephala) on consumption rate and prey size selection in the shore crab *Carcinus maenas* / M. H. Larsen, J. T. Høeg, K. N. Mouritsen // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 2013. – T. 446, – C. 209–215.

46. Lützen, J. Observations on the rhizocephalan barnacle *Sylon hippolytes* M. Sars parasitic on the prawn *Spirontocaris lilljeborgi* (Danielssen) / J. Lützen // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 1981. – T. 50, №. 2-3. – C. 231–254.
47. Lützen, J. A study of the morphology and biology of *Thompsonia littoralis* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) / J. Lützen, Å. Jespersen // Acta Zoologica. – 1992. – T. 73, №. 1. – C. 1–23.
48. Lützen, J. Morphology and biology of *Polysaccus japonicus* (Crustacea, Rhizocephala, Akentrogonida, Polysaccidae, fam. n.), a parasite of the ghost-shrimp *Callinassa japonica* / J. Lützen, T. Takahashi // Zoologica Scripta. – 1996. – T. 25, №. 2. – C. 171–181.
49. Lützen, J. Three colonial rhizocephalans from mantis shrimps and a crab in Vietnam, including *Pottsia serenei*, new species (Cirripedia: Rhizocephala: Thompsoniidae) / J. Lützen, P. ThiDu // Journal of Crustacean Biology. – 1999. – T. 19, №. 4. – C. 902–907.
50. Lützen, J. Life history of *Sacculina carcini* Thompson, 1836 (Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae) and the intermoult cycle of its host, the shore crab *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758) (Decapoda: Brachyura: Carcinidae) / J. Lützen, K. H. Jensen, H. Glenner // Journal of Crustacean Biology. – 2018. – T. 38, №. 4. – C. 413–419.
51. Miroljubov, A.A. Muscular system and some other aspects of internal organisation of Rhizocephala / A.A. Miroljubov, J.T. Høeg, A.A. Dobrovolskij // 4th International congress on Invertebrate Morphology: сб. статей. – Москва, 2017b. – C. 185.
52. Miroljubov, A.A. Muscular system in interna of *Peltogaster paguri* (Rhizocephala: Peltogastridae) / A.A. Miroljubov // Arthropod Structure & Development. – 2017a. – T. 46, №. 2. – C. 230–235.
53. Miroljubov, A.A. Muscular system in the interna of *Polyascus polygenea* and *Sacculina pilosella* (Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae) / A.A. Miroljubov, I.E. Borisenko, M.A. Nesterenko, O.M. Korn, A.D. Lianguzova, S.A. Ilyutkin, N.E. Lapshin, A.A. Dobrovolskij // Invertebrate Zoology. – 2019. – T. 16, №. 1. – C. 48–56.
54. Miroljubov A. et al. Specialized structures on the border between rhizocephalan parasites and their host's nervous system reveal potential sites for host-parasite interactions / A.A. Miroljubov, I.E. Borisenko, M.A. Nesterenko, A.D. Lianguzova, S.A. Ilyutkin, N.E. Lapshin, A.A. Dobrovolskij // Scientific Reports. – 2020. – T. 10, №. 1. – C. 1–11.
55. Mouchel-Vielh, E. Molecules and the Body Plan: TheHoxGenes of Cirripedes (Crustacea) / E. Mouchel-Vielh, C. Rigolot, J. M. Gibert, J. S. Deutsch // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 1998. – T. 9, №. 3. – C. 382-389.
56. Müller, F. Die Rhizocephalan, eine neue Gruppe schmarotzender Kruster / F. Müller // Arch Naturgesch. – 1862. – T. 28, №. 1. – C. 1–9.

57. Nagler, C. et al. The bigger, the better? Volume measurements of parasites and hosts: Parasitic barnacles (Cirripedia, Rhizocephala) and their decapod hosts / C. Nagler, M. K. Hörnig, J. T. Haug, C. Noever, J. T. Høeg, H. Glenner // *PloS One*. – 2017. – T. 12, №. 7. – C. e0179958.
58. Nielsen, S. O. The effects of the rhizocephalan parasites *Peltogaster paguri* Rathke and *Gemmosaccus sulcatus* (Lilljeborg) on five species of paguridan hosts (Crustacea Decapoda) / S. O. Nielsen // *Sarsia*. – 1970. – T. 42, №. 1. – C. 17–32.
59. Payen, G. G. Infestations expérimentales de crabes juvéniles par la sacculine. Ultrastructure des racines parasitaires en croissance et relations avec la niasse ganglionnaire ventrale de l'hôte / G. G. Payen, M. Hubert, Y. Turquier, C. Rubiliani, C. Chassard-Bouchaud // *Canadian Journal of Zoology*. – 1981. – T. 59, №. 9. – C. 1818–1826.
60. Pérez, C. Sur les racines des Rhizocéphales / C. Pérez // *Comptes Rendus du XIIe Congrès International de Zoologie*, 1937.
61. Pérez-Losada, M. Reanalysis of the relationships among the Cirripedia and the Ascothoracida and the phylogenetic position of the Facetotecta (Maxillopoda: Thecostraca) using 18S rDNA sequences / M. Pérez-Losada, J. T. Høeg, G. A. Kolbasov, K. A. Crandall // *Journal of Crustacean Biology*. – 2002. – T. 22, №. 3. – C. 661–669.
62. Pérez-Losada, M. The tempo and mode of barnacle evolution / M. Pérez-Losada, M. Harp, J. T. Høeg, Y. Achituv, D. Jones, H. Watanabe, K. A. Crandall // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2008. – T. 46, №. 1. – C. 328–346.
63. Pérez-Losada, M. Deep phylogeny and character evolution in Thecostraca (Crustacea: Maxillopoda) / M. Pérez-Losada, J. T. Høeg, K. A. Crandall // *Integrative and comparative biology*. – 2012. – T. 52, №. 3. – C. 430–442.
64. Pérez-Miguel, M. Experimental predatory behavior of the stone crab *Eriphia verrucosa* (Forskål, 1775)(Decapoda, Brachyura, Eriphiidae) / M. Pérez-Miguel, P. Drake, J. A. Cuesta // *Nauplius*. – 2017. – T. 25.
65. Poulin, R. Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions / R. Poulin // *Advances in the Study of Behavior*. – Academic Press, 2010. – T. 41, – C. 151–186.
66. Rees, D. J. On the origin of a novel parasitic-feeding mode within suspension-feeding barnacles / D. J. Rees, C. Noever, J. T. Høeg, A. Ommundsen, H. Glenner // *Current Biology*. – 2014. – T. 24, №. 12. – C. 1429–1434.
67. Reinhard, E. G. Studies on the life history and host-parasite relationship of *Peltogaster paguri* / E. G. Reinhard // *The Biological Bulletin*. – 1942. – T. 83, №. 3. – C. 401–415.

68. Robles, R. Oxygen consumption of the crab *Callinectes rathbunae* parasitized by the rhizocephalan barnacle *Loxothylacus texanus* as a function of salinity / R. Robles, F. Alvarez, G. Alcaraz // Marine Ecology Progress Series. – 2002. – T. 235, – C. 189–194.
69. Rubiliani, C. Modalités de la destruction des régions neurosécrétrices des crabes *Carcinus maenas* (L.) et *C. mediterraneus* Czerniavsky infestés par la sacculine / C. Rubiliani, G. G. Payen // General and Comparative Endocrinology. – 1979. – T. 38, №. 2. – C. 215–228.
70. Rybakov, A. V. Larval development in *Peltogasterella* studied by scanning electron microscopy (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala)/A. V. Rybakov, O. M. Korn, J. T. Høeg, D. Waloszek // Zoologischer Anzeiger. – 2002. – T. 241, №. 3. – C. 199–221.
71. Rybakov, A. V. The ultrastructure of retinacula in the Rhizocephala (Crustacea: Cirripedia) and their systematic significance / A. V. Rybakov, J. T. Høeg // Zoologischer Anzeiger. – 2002. – T. 241, №. 2. – C. 95–103.
72. Semmler, H. Immunocytochemical studies on the naupliar nervous system of *Balanus improvisus* (Crustacea, Cirripedia, Thecostraca) / H. Semmler, A. Wanninger, G. Scholtz // Arthropod structure & development. – 2008. – T. 37, №. 5. – C. 383–395.
73. Semmler, H. Preliminary results on the anatomy of the larval musculature of *Balanus improvisus* (Darwin, 1854) (Crustacea: Cirripedia: Thecostraca) using phalloidin staining in combination with confocal laser scanning microscopy / H. Semmler, J. T. Høeg, G. Scholtz, A. Wanninger // Invertebrate Reproduction & Development. – 2006. – T. 49, №. 3. – C. 207–212.
74. Semmler, H. Three-dimensional reconstruction of the naupliar musculature and a scanning electron microscopy atlas of nauplius development of *Balanus improvisus* (Crustacea: Cirripedia: Thoracica) / H. Semmler, J. T. Høeg, G. Scholtz, A. Wanninger // Arthropod structure & development. – 2009. – T. 38, №. 2. – C. 135–145.
75. Seppälä, O. Parasite-induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke–fish interaction / O. Seppälä, A. Karvonen, E. T. Valtonen // Animal Behaviour. – 2004. – T. 68, №. 2. – C. 257–263.
76. Shaw, J. C. Parasite manipulation of brain monoamines in California killifish (*Fundulus parvipinnis*) by the trematode *Euhaplorchis californiensis* / J. C. Shaw, W. J. Korzan, R. E. Carpenter, A. M. Kuris, K. D. Lafferty, C. H. Summers, Ø. Øverli // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2008. – T. 276, №. 1659. – C. 1137–1146.
77. Shirley, S. M. Hemolymph responses of Alaskan king crabs to rhizocephalan parasitism / S. M. Shirley, T. C. Shirley, T. R. Meyers // Canadian Journal of Zoology. – 1986. – T. 64, №. 8. – C. 1774–1781.

78. Shukalyuk, A. I. et al. Stem cells in the reproductive strategy of colonial rhizocephalan crustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) / A. Shukalyuk, V. Isaeva, E. Kizilova, S. Baibordin // *Invertebrate Reproduction & Development*. – 2005. – T. 48, №. 1-3. – C. 41–53.
79. Shukalyuk, A. I. Organization of interna in *Sacculina polygenea* (Crustacea: Rhizocephala) / A. I. Shukalyuk // *Russian Journal of Marine Biology*. – 2002. – T. 28, №. 5. – C. 329–335.
80. Shukalyuk, A. I. Organization of the interna of the rhizocephalan barnacle *Peltogasterella gracilis* / A. I. Shukalyuk, S. I. Baiborodin, V. V. Isaeva // *Russian Journal of Marine Biology*. – 2001. – T. 27, №. 2. – C. 113–115.
81. Spears, T. Phylogenetic study of cirripedes and selected relatives (Thecostraca) based on 18S rDNA sequence analysis / T. Spears, L. G. Abele, M. A. Applegate // *Journal of Crustacean Biology*. – 1994. – T. 14, №. 4. – C. 641–656.
82. Takahashi, T. Behavioral manipulation of the shore crab, *Hemigrapsus sanguineus* by the rhizocephalan barnacle, *Sacculina polygenea* / T. Takahashi, A. Iwashige, S. Matsuura // *Crustacean Research*. – 1997. – T. 26, – C. 153–161.
83. Toscano, B. J. Parasite modification of predator functional response / B. J. Toscano, B. Newsome, B. D. Griffen // *Oecologia*. – 2014. – T. 175, №. 1. – C. 345–352.
84. Vázquez-López, H. Affectation of swimming capacity in *Callinectes rathbunae* (Crustacea: Brachyura) Caused by *Loxothylacus texanus* (Crustacea: Rhizocephala) / H. Vázquez-López // *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*. – 2010. – T. 5, №. 2. – C. 76–80.
85. Vázquez-López, H. Observations on the behavior of the dark crab *Callinectes rathbunae* Contreras parasitized with the rhizocephalan *Loxothylacus texanus* Boschma / H. Vázquez-López, F. Alvarez, J. Franco, A. Moran, S. Cházaro // *Int. J. Zool. Res.* – 2006. – T. 2, №. 4. – C. 344–353.
86. Walker, G. Introduction to the rhizocephala (Crustacea: Cirripedia) / G. Walker // *Journal of Morphology*. – 2001. – T. 249, №. 1. – C. 1–8.
87. Walossek, D. Development of the rhizocephalan cirripede *Briarosaccus tenellus* (Maxillopoda: Thecostraca) reared in the laboratory: a scanning electron microscopy study / D. Walossek, J. T. Høeg, T. C. Shirley // *Hydrobiologia*. – 1996. – T. 328, №. 1. – C. 9–47.
88. Yamaguchi, S. Evolution of sex determination and sexually dimorphic larval sizes in parasitic barnacles / S. Yamaguchi J. T. Høeg Y. Iwasa // *Journal of Theoretical Biology*. – 2014. – T. 347, – C. 7–16.
89. Yoshida, R. A new genus and two new species of Peltogastridae (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) parasitizing hermit crabs from Okinawa Island (Ryukyu Archipelago, Japan), and their DNA-barcodes / R. Yoshida, M. Osawa, M. Hirose, E. Hirose // *Zoological Science*. – 2011. – T. 28, №. 11. – C. 853–863.

90. Zacher, L. S. A field-based study of metabolites in sacculinized king crabs *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) and *Lithodes aequispinus* Benedict, 1895 (Decapoda: Anomura: Lithodidae) / L. S. Zacher, L. Horstmann, S. M. Hardy // Journal of Crustacean Biology. – 2018. – T. 38, №. 6. – C. 794–803.