

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный университет»

На правах рукописи

Паскерова Гита Георгиевна

**Адаптации к паразитизму в базальных группах спорозоидов (Sporozoa, Apicomplexa)**

Специальность 1.5.17. Паразитология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук, профессор  
Андрей Игоревич Гранович

Санкт-Петербург

2024

## Оглавление

Введение .....	5
Актуальность темы исследования и степень ее разработанности .....	6
Цели и задачи исследования .....	7
Научная новизна исследования .....	8
Теоретическая и практическая значимость исследования .....	11
Материал и методы исследования .....	12
Вклад автора в исследования, вошедшие в диссертацию .....	35
Положения, выносимые на защиту .....	36
Степень достоверности и апробация результатов .....	37
Структура и объем диссертации .....	38
Благодарности .....	38
Основная часть .....	40
Глава 1 Принятая в диссертации система споровиков .....	40
Глава 2 Основные черты споровиков, их стратегии паразитирования и эволюционные тенденции с обозначением фундаментальных задач-вопросов, требующих разрешения .....	43
2.1 Проникновение зоита в клетку хозяина .....	46
2.2 От споровиков к афелидам .....	48
2.3 Прикрепительный аппарат трофозоитов .....	51
2.4 Пластиды базальных споровиков .....	53
2.5 Подвижность трофозоида .....	55
2.6 Фундаментальные задачи, требующие разрешения .....	57
Глава 3 Архигрегарины: стратегии паразитирования при монотипичной организации клетки .....	59
3.1 Строение трофозоида архигрегаринов на примере <i>Selenidium pygospionis</i> и <i>S. pherusaе</i> .....	60
3.2 Питание архигрегаринов .....	78
3.3 Подвижность архигрегаринов .....	79
3.4 Влияние гиперпаразитической микроспоридии <i>Metchnikovella dogieli</i> на архигрегарины <i>Selenidium pygospionis</i> .....	85
3.5 Внутриклеточное развитие архигрегаринов на примере <i>Selenidium pygospionis</i> .....	95
3.6 Эпицеллюлярное развитие архигрегарины <i>Ditrypanocystis</i> sp. из олигохеты	

<i>Enchytraeus albidus</i> .....	95
3.7 Таксономия и филогения архигрегариин .....	98
3.8 Коэволюция архигрегариин и их хозяев .....	100
Глава 4 Бластогрегарины как самостоятельная ветвь споровиков .....	101
4.1 Новые данные о строении и биологии бластогрегариин на примере <i>Siedleckia</i> cf. <i>nematoides</i> .....	103
4.2 Разнообразие бластогрегариин .....	112
4.3 Подвижность бластогрегариин .....	122
4.4 Подвижность архигрегариин и бластогрегариин .....	130
4.5 Положение бластогрегариин в системе Apicomplexa .....	130
Глава 5 Новые данные по несептированным эугрегариинам семейства Polyrhadinidae подтверждают, что эпимерит - инновация эугрегариин .....	133
5.1 <i>Polyrhabdina pygospionis</i> и <i>P.</i> cf. <i>spionis</i> – несептированные эугрегарины с эпимеритом .....	134
5.2 Влияние гиперпаразитических микроспоридий <i>Metchnikovella spiralis</i> и <i>M. incurvata</i> на эугрегариину <i>Polyrhabdina pygospionis</i> .....	154
5.3 Филогенетический анализ подтверждает валидность семейства Polyrhadinidae ...	155
5.4 Синапоморфии анкороид (Ancoroidea) .....	155
5.5 Эпимерит – синапоморфия эугрегариин .....	157
Глава 6 Подвижность грегариин как адаптация к обитанию в разных нишах в хозяине	159
6.1 Целомические эугрегарины с разными типами подвижности: <i>Urospora ovalis</i> , <i>U. travisiae</i> и <i>U. chiridotae</i> .....	159
6.2 Происхождение целомических грегариин .....	165
6.3 «Целомический» путь выхода уроспор из хозяина во внешнюю среду .....	168
6.4 Подвижность грегариин как адаптация паразитов к обитанию в определенной нише в хозяине .....	169
Глава 7 Эпицеллюлярный паразитизм среди кокцидий .....	172
7.1 Строение и стратегия прикрепления протококцидий к клетке хозяина на примере <i>Eleutheroschizon duboscqi</i> и <i>E. planoratum</i> .....	176
7.2 Филогенетическое положение <i>Eleutheroschizon duboscqi</i> and <i>E. planoratum</i> из беломорских полихет .....	185
7.3 Обоснование видов <i>Eleutheroschizon duboscqi</i> and <i>E. planoratum</i> из беломорских полихет .....	187
7.4 Сравнение эпицеллюлярной локализации <i>Eleutheroschizon</i> и других споровиков ..	188

Глава 8 Эндогенное развитие агамококцидий рода <i>Rhytidocystis</i> в полихетах .....	197
8.1 Особенности строения и локализации в тканях хозяина агамококцидий <i>Rhytidocystis</i> на примере паразитов беломорских полихет .....	198
8.2 Филогенетическое положение агамококцидий <i>Rhytidocystis dobrovolskiji</i> и <i>R. pertsovi</i> .....	210
8.3 Эндогенное развитие агамококцидий сопровождается переходом от внутриклеточного к внеклеточному паразитизму и формированием дисперсионной стадии (ооцисты) для выхода во внешнюю среду .....	211
8.4 Подвижность агамококцидий <i>Rhytidocystis</i> .....	212
Глава 9 Распространенность пластид и их роль в паразитировании споровиков .....	214
Заключение .....	222
Выводы .....	225
Список публикаций автора по теме диссертации .....	227
Список выступлений автора по теме диссертации .....	231
Список цитированной в диссертации литературы .....	234
Список иллюстративного материала .....	264

## Введение

Таксон Apicomplexa Levine, 1980 традиционно объединяет одноклеточных эукариотических организмов, для которых характерно присутствие хотя бы на одной стадии жизненного цикла органелл апикального комплекса: полярного кольца (колец), коноида, роптрий, микронем и субпелликулярных, продольно расположенных микротрубочек (Adl et al., 2019; Levine, 1970; Levine et al., 1980). Апикомплексы обладают особым типом покровов – пелликулой, как и другие представители надтаксона Alveolata Cavalier-Smith, 1991 (Adl et al., 2019; Cavalier-Smith, 1991).

До недавнего времени предполагалось, что таксон включает лишь протистов, паразитирующих в разнообразных беспозвоночных и позвоночных животных. Некоторые из этих паразитов вызывают серьезные заболевания человека. Общепризнана идея о том, что апикомплексы произошли от свободноживущих хищных жгутиконосцев (Гинецинская, Добровольский, 1978; Крылов, Добровольский, 1980; Крылов, Мыльников, 1986; Симдянов, 2007; Тихоненков и др., 2016; Фролов, 2007; Cavalier-Smith, 1993; Cox, 1994; Grassé, 1953; Kuvardina et al., 2002; Leander, Keeling, 2003, 2004; Leander et al., 2003; Siddal et al., 2001; Théodoridès, 1984; и др.). До сих пор неясно, как именно произошло становление таких хорошо адаптированных к обитанию в различных хозяевах паразитов из свободноживущих жгутиконосцев. Молекулярно-биологические работы последних лет показали, что свободноживущие хищные жгутиконосцы (кольподелиды) и фотосинтезирующие симбионты кораллов (хромериды), которые объединяются в одну кладу Chrompodellida (Janouškovec et al., 2015), оказались филогенетически близкими к апикомплексам. Хромподеллиды обладают органеллами, сходными с таковыми у представителей таксона Apicomplexa: открытый коноид, роптриеподобные структуры, пластиды (Мыльников, 1991; Мыльников и др., 2000; Brugerolle, 2002; Kuvardina et al., 2002; Leander, Keeling, 2003; Schnepf, Deichgraber, 1984). Таким образом, по мнению некоторых авторов, в том числе и автора данной диссертации, таксон Apicomplexa объединяет как паразитических протистов, объединенных в подтаксон Sporozoa Leuckart, 1879, так и свободноживущих и симбиотических жгутиконосцев в рамках подтаксона Chrompodellida Janouškovec et al., 2015 (Janouškovec et al., 2019; Simdyanov et al., 2018).

Недавняя работа по сравнению транскриптомов разных апикомплекс и им подобных организмов (Janouškovec et al., 2019) показала, что сходные по морфологии с апикомплексными два кишечных паразита: *Digyalum owenii* Koura et al., 1990 из моллюсков рода *Littorina* Férussac, 1822 и еще не идентифицированный организм из полихеты *Scoloplos armiger*, - не являются представителями таксона Apicomplexa *sensu stricto*. *Digyalum owenii* представляет

самостоятельную ветвь, базально расположенную по отношению к споровикам и хромподеллидам вместе взятым. Тогда как эндопаразит полихеты *S. armiger* является хромподеллидой. Эти факты указывают на то, что апикомплексоподобные паразиты возникали независимо несколько раз (по крайней мере, трижды) и конвергентно эволюционировали как большие трофонты – питающиеся и растущие клетки, прикрепленные к кишечнику морских беспозвоночных передним концом. Сходство морфологии апикомплексоподобных паразитов, развивающихся в сходных по морфофункциональным особенностям хозяевах, вероятно, основано на наличии общих анцестральных черт организации клетки (например, присутствие апикального комплекса органелл), которые были унаследованы от свободноживущего предка и которые послужили «предпосылками» (“preconditions” в Janouškovec, Keeling, 2016) для возникновения паразитизма.

Эволюционная история самих споровиков и филогенетические отношения представителей из различных ветвей пока остаются неясными. Общеизвестно, что становление и дивергенция споровиков случилась в морских беспозвоночных хозяевах (Cox, 1994; Grassé, 1953; Leander, 2008a; Théodoridès, 1984). Считается, что именно архигрегарины, паразитирующие, как правило, в полихетах, обладают чертами организации предполагаемых предков апикомплекс (Крылов, Добровольский, 1980; Симдянов, 2007; Cox, 1994; Leander, Keeling, 2003; Théodoridès, 1984). Помимо архигрегаринов представители других групп споровиков также могут сохранять плезиоморфные признаки. Это агамококцидии, бластогрегарины, протококцидии и несептированные эугрегарины, обитающие в морских беспозвоночных. Далее в диссертации все эти группы споровиков я буду называть «базальными», в том числе имея в виду их базальное положение в филогенетических построениях.

Главным подходом к определению анцестральных черт, характерных для ранних этапов становления споровиков, и адаптаций к паразитизму, выработанных у этих эволюционно успешных паразитических организмов, на мой взгляд, является сравнение морфологических, функциональных и молекулярно-генетических особенностей, а также деталей взаимодействия с хозяевами у архигрегаринов и представителей других базальных групп споровиков.

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности**

Данная диссертация основана на исследованиях паразитов морских беспозвоночных - представителей базальных линий Sporozoa (Apicomplexa). Следует отметить, что

паразитические апикомплексы (споровики), которые являются серьезными патогенами человека, домашних и сельскохозяйственных животных (например, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Eimeria*, *Babesia* и *Cryptosporidium*), достаточно хорошо изучены. Однако базальные группы споровиков, такие как архигрегарины, агамококцидии, бластогрегарины, протококцидии и несептированные эугрегарины, обитающие в морских беспозвоночных, напротив, изучены крайне фрагментарно и неоднородно. В литературе существуют противоречивые взгляды на макросистему Sporozoa, в частности, на состав архигрегаринов и эугрегаринов, на филогенетическое положение бластогрегаринов и на филогенетические связи низших кокцидий. Несмотря на возрастающее число описаний новых видов, работ по тонкому строению споровиков разных филогенетических ветвей до сих пор крайне мало. Не выработана единая классификация прикрепительных органелл споровиков, что приводит к хаотичному использованию терминов «мукрон» и «эпимерит» в описании и таксономии архи- и эугрегаринов. Практически отсутствуют исследования по подвижности трофозоитов споровиков разных филогенетических ветвей при одновременном огромном пуле исследований по подвижности зоитов у буквально единичных модельных объектов. Филогенетические построения в пределах Sporozoa основаны, главным образом, на анализе последовательностей гена 18S рРНК, тогда как использование одного этого маркера не позволяет получить филогенетические модели с хорошим разрешением и соответственно строить обоснованные эволюционные гипотезы. Для филогенетического анализа этой группы необходимо использовать большее число генных маркеров и привлекать более широкую выборку таксономических единиц, в том числе, из базальных линий. Очевидно, что отсутствие на сегодняшний день целостных представлений о ряде важных базальных групп Sporozoa, представители которых сохранили множество плезиоморфных признаков, существенно затрудняет трактовку ранних этапов эволюции споровиков в целом.

### **Цель и задачи исследования**

Цель исследования – выявить анцестральные черты организации и адаптации к паразитизму споровиков на основе морфологических, ультраструктурных, молекулярных данных и особенностей взаимодействия с хозяином представителей базальных групп.

Задачи для достижения цели были разделены по объектам, представляющим базальные линии споровиков:

1. Провести сравнительное исследование архигрегаринов и бластогрегаринов с привлечением оригинальных данных по организации и подвижности трофозоитов, уделив особое внимание

зоне контакта паразитов с клеткой хозяина, для определения анцестральных признаков базальных споровиков.

Объекты оригинального исследования: архигрегарины *Selenidium pygospionis*, *S. cf. spionis*, *Ditrypanocystis* sp. и бластогрегарины *Siedleckia cf. nematoides*, *Chattonaria mesnili*.

2. Провести комплексное исследование строения клетки, прикрепительной органеллы и подвижности трофозоитов несептированных эугрегарин для установления синапоморфий.

Объекты оригинального исследования: несептированные эугрегарины *Polyrhabdina pygospionis*, *P. cf. spionis*.

3. Выполнить морфологическое и молекулярно-биологическое исследование кишечных и целомических паразитов морских беспозвоночных для разработки сценария происхождения целомического паразитизма у несептированных эугрегарин.

Объекты оригинального исследования: несептированные эугрегарины *Urospora ovalis*, *U. travisiae*, *U. chiridotae*.

4. Сравнить особенности строения, развития и локализации базальных кокцидиоморф в кишечнике хозяина, используя собственный материал и данные литературы, для выявления их анцестральных признаков и адаптаций к паразитизму.

Объекты исследования: протококцидии *Eleutheroshizon duboscqi*, *E. planoratum* и агамококцидии *Rhytidocystis pertsovi*, *R. dobrovoslkiji*, *Rhytidocystis* sp. из *Scoloplos armiger*, *Rhytidocystis* sp. из *Travisia forbesii*.

5. Установить распространение и эволюционные изменения пластид у споровиков разных филогенетических линий с помощью транскриптомного анализа исследуемых объектов и привлеченных данных по другим представителям Apicomplexa.

Объекты оригинального исследования: бластогрегарина *S. cf. nematoides*, несептированная эугрегарина *P. pygospionis* и агамококцидии *Rhytidocystis pertsovi*, *Rhytidocystis* sp. из *T. forbesii*.

### Научная новизна исследования

С использованием методов световой и электронной микроскопии и молекулярной филогении проведено описание двух новых видов архигрегарин *Selenidium pygospionis* Paskerova et al., 2018 и *S. pherusaе* Paskerova et al., 2018. В ходе исследования подтверждена и дополнительно обоснована идея о морфостази́се архигрегарин. Впервые показана природа аксиального тяжа некоторых архигрегарин как серия пищеварительных вакуолей, производных мукрональной вакуоли, и обоснована его роль как гидроскелетного образования в

осуществлении подвижности клетки. Впервые описана внутриклеточная стадия развития *S. pygospionis*. Получены новые данные о географическом распространении *S. pygospionis* и встречаемости этой грегарины в двух хозяевах-полихетах (Paskerova et al., 2018). Разными методами микроскопии впервые показано эпицеллюлярное паразитирование *Ditrypanocystis* sp. в кишечнике олигохет с образованием вокруг архигрегарины паразитофорного мешка из модифицированных ресничек клеток хозяина (Butaeva et al., 2006). Впервые определены ультраструктурные особенности и филогенетическое положение *Siedleckia nematoides* Caullery et Mesnil, 1898 и *Chattonaria mesnili* Chatton et Dehorne, 1929, comb. nov. Simdyanov et al., 2018, свидетельствующие о бластогрегарилах как о самостоятельной группе споровиков с плезиоморфными чертами организации. Это привело к уточнению диагнозов класса Blastogregarinea Chatton et Villeneuve, 1936, emend. Simdyanov et al., 2018 (Sporozoa, Apicomplexa), семейства Siedleckiidae Chatton et Villeneuve, 1936, emend. Simdyanov et al., 2018, рода *Siedleckia* Caullery et Mesnil, 1898, emend. Simdyanov et al., 2018 и к выделению новых таксонов: отряд Siedleckiida Simdyanov et al., 2018, семейство Chattonariidae Simdyanov et al., 2018, род *Chattonaria* Simdyanov et al., 2018 (Simdyanov et al., 2018). С использованием оригинальных данных, полученных методами электронной микроскопии, прижизненного наблюдения и экспериментального подхода, обоснована роль субпелликулярных микротрубочек и микрофиламентов в осуществлении непрогрессивного движения клеток архигрегариин и бластогрегариин (Kováčiková et al., 2019; Valigurová et al., 2017). На основании морфологического и филогенетического анализов переописан вид несептированных эугрегариин *Polyrhabdina pygospionis* Caullery and Mesnil, 1914, emend. Paskerova et al., 2021, уточнены диагнозы рода *Polyrhabdina* Mingazzini, 1891, emend. Paskerova et al., 2021 и семейства Polyrahbdinidae Kamm, 1922, emend. Paskerova et al., 2021, организовано новое семейство Trollidiidae Paskerova et al., 2021 в пределах надсемейства Ancoroidea Simdyanov et al., 2017. Получены новые данные, обосновывающие трактовку прикрепительных органелл полирабдин как эпимерита (Paskerova et al., 2021). В ходе многолетнего мониторинга архигрегариин *Selenidium pygospionis* и эугрегариин *Polyrhabdina pygospionis*, паразитирующих в полихете *Pygospio elegans*, с использованием световой и электронной микроскопии выявлены новые виды гиперпаразитических микроспоридий - *Metchnikovella dogieli* Paskerova et al., 2016, *M. spiralis* Sokolova et al., 2014, а также уточнен диагноз для *M. incurvata* Caullery et Mesnil, 1914, emend. Sokolova et al., 2013. Оригинальные и привлеченные данные по микроспоридиям позволили автору диссертации определить признаки патогенеза у грегариин, зараженных мечниковеллами (Frolova et al., 2023; Paskerova et al., 2016; Rotari et al., 2015; Sokolova et al., 2013, 2014). Впервые определены детали тонкого строения несептированных эугрегариин *Urospora ovalis* Dogiel, 1910 и *U. travisiae* Dogiel, 1910. Молекулярно-биологическими методами

впервые показано, что эти эугрегарины совместно с другими целомическими и кишечными несептированными эугрегарином из морских беспозвоночных образуют смешанную кладу Lecudinoidea (Diakin et al., 2016; Valigurová et al., 2023). Привлечение оригинальных данных по *Urospora* позволило автору обобщить данные по подвижности целомических паразитов и поднять вопрос о роли клеточной подвижности в адаптации паразитов к существованию в определенной нише в пределах хозяина (Дякин и Паскерова, 2004; Diakin et al., 2016). Исследование морфологии гаметоцист *Urospora*, инкапсулированных в бурые тела полихеты-хозяина, позволило определить уникальные особенности организации дисперсионной и инвазионной стадий целомических паразитов и предложить пути их выхода из хозяина во внешнюю среду и передачи следующему хозяину (Valigurová et al., 2023). Методами световой и электронной микроскопии впервые показано, что для кишечных протококцидий рода *Eleutheroschizon* характерен закрытый эпицеллюлярный паразитизм – внеклеточное развитие паразита в закрытой нише (в паразитофорном мешке), образованной апикальными выростами зараженной клетки хозяина. На основе новых данных световой и электронной микроскопии и молекулярной биологии уточнен диагноз *Eleutheroschizon duboscqi* Brasil, 1906, emend. Paskerova et al., 2023 и предложен диагноз нового вида *E. planoratum* Paskerova et al., 2023. Впервые проведен сравнительный анализ строения и происхождения паразитофорной ниши вокруг *Ditrypanocystis* sp., *Eleutheroschizon* и *Cryptosporidium* (Paskerova et al., 2023; Valigurová et al., 2015). Впервые показана внутриклеточная локализация агамококцидий рода *Rhytidocystis* на ранних этапах их развития в кишечном эпителии хозяина. Впервые зарегистрирована подвижность трофозоитов *Rhytidocystis*. Даны описания двух новых видов агамококцидий *R. pertsovi* Miroljubova et al., 2020, *R. dobrovolskiji* Miroljubova et al., 2020 (Miroljubova et al., 2020). К настоящему моменту получена самая крупномасштабная филогения Apicomplexa и близкородственных протист по последовательностям 296 белков (Janouškovec et al., 2019). Методами транскриптомного анализа установлено наличие пластид у архигрегаринов, бластогрегаринов, агамококцидий и протококцидий и поднят вопрос о независимой и многократной утрате пластид у эугрегаринов (Janouškovec et al., 2019). Обобщение материала по проникновению споривиков в клетку хозяина было использовано для трактовки процессов проникновения афелидов в клетку-жертву и возникновения вокруг них паразитофорной вакуоли (Karpov, Paskerova, 2020).

## Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования заключается в следующем:

- Представленное исследование сфокусировано на представителях рано дивергировавших линий одной из наиболее практически значимых групп – Sporozoa, в которую входят паразиты человека, а также домашних и диких животных, имеющих большое хозяйственное значение.
- Анализ тонкого строения на разных стадиях развития и уточнение филогенетической позиции выбранных объектов позволяют провести таксономическую ревизию архигрегариин, эугрегариин, протококцидий, агамококцидий, бластогрегариин. Например, в общепризнанной системе эукариотических одноклеточных организмов (Adl et al., 2019) была поддержана идея о вынесении бластогрегариин в самостоятельную группу Blastogregarinea одного иерархического уровня с Coccidia и Gregarinasina (в данной диссертации – класс Blastogregarinea, класс Gregarinomorpha, класс Coccidiomorpha).
- Полученные результаты позволяют понять процесс морфо-функциональной трансформации инвазионной стадии в эндогенную стадию как результат адаптирования споровиков к существованию в среде обитания, предоставляемой организмом хозяина. На основе таких данных представления о происхождении и эволюции паразитизма среди споровиков получают новое развитие.
- Полученные данные указали на то, что среди споровиков базальных линий широко распространены пластыды, традиционно используемые как мишени для выработки медикаментов против криптоспоридиоза и кокцидиозов. Открытие данного исследования позволяет предложить новые экспериментальные модели для разработки медикаментозных средств против болезней, вызываемых споровиками.
- Полученные в ходе выполнения диссертационного исследования данные уже используются при реализации дисциплин учебных планов бакалавриата (СВ.5017, СВ.5163) и магистратуры (ВМ.5514; Гранович и др., 2021) Санкт-Петербургского государственного университета и могут быть рекомендованы к использованию в дисциплинах зоологической, паразитологической и цитологической направленности в университетах.

## Материал и методы исследования

Объектами исследований послужили паразиты различных литоральных и сублиторальных беспозвоночных, главным образом, Белого моря, а также Японского моря и французского побережья Ла-Манша: архигрегарины *Selenidium pygospionis* из полихет *Pygospio elegans* Claparède, 1863 и *Polydora glycymerica* Radashevsky, 1993 (Spionidae, Polychaeta), *S. pherusaе* из полихеты *Pherusa plumosa* (Müller, 1776) (Flabelligeridae, Polychaeta) и *Ditrypanocystis* sp. из олигохеты *Enchitreus albidus* Henle, 1837 (Clitellata, Enchytraeidae), бластогрегарины *Siedleckia* cf. *nematoides* из полихеты *Scoloplos armiger* (O.F. Müller, 1776) (Orbiniidae, Polychaeta) и *Chattonaria mesnili* из полихеты *Orbinia latreillii* (Audouin et H. Milne Edwards, 1833) (Orbiniidae, Polychaeta), несептированные эугрегарины *Polyrhabdina pygospionis* из полихеты *P. elegans*, *P.* cf. *spionis* (von Kölliker, 1845) Mingazzini, 1891 из полихеты *Malacoceros fuliginosus* (Claparède, 1868) (Spionidae, Polychaeta), *Urospora travisiae* и *U. ovalis* из полихеты *Travisia forbesii* Johnston, 1840 (Travissidae, Polychaeta), *U. chiridotae* (Dogiel, 1906) Goodrich, 1925 из голотурии *Chiridota laevis* Fabricius, 1780 (Chiridotidae, Echinodermata), протококцидии *Eleutheroschizon duboscqi* из полихеты *S. armiger*, *E. planoratum* из полихеты *Naineris quadricuspida* (Fabricius, 1780) и агамококцидии *Rhytidocystis dobrovoljskiji* Miroljubova et al., 2020, *R. pertsovi* Miroljubova et al., 2020 из полихеты *Ophelia limacina* (Rathke, 1843), *Rhytidocystis* spp. из полихет *S. armiger*, *T. forbesii* (Таблица 1).

Основные методы, которые автор использовала сама или в соавторстве в исследованиях по теме диссертации:

1) полное морфологическое и молекулярно-биологическое (т.е. получение последовательностей маркерных генов) описание паразитических протистов, приведение аргументации для обоснования новых или подтверждения валидности существующих таксонов (вид, род, семейство, класс), уточнение таксономических диагнозов;

2) световая (светлопольная, фазовый контраст, дифференциально-интерференционный контраст, флюоресцентная, конфокальная) и электронная (сканирующая, трансмиссионная) микроскопия живых и специфически фиксированных паразитических протистов, изолированных из или локализованных в составе тканей хозяина, для выявления особенностей их строения и локализации в хозяине;

3) проведение наблюдений за подвижностью изолированных паразитических протистов, а также постановка экспериментов по изменению их подвижности при обработке ясплакинолидом (цитотоксический природный реагент, индуцирующий полимеризацию актина и вызывающий стабилизацию существующих филаментов), цитохалазином Д (проницаемый

Таблица 1 - Объем оригинального материала, вошедшего в диссертацию

Объект	Место и года сбора	Сбор хозяев, изолирование паразитов для последующих анализов: количество вскрытых \ зараженных хозяев (интенсивность инвазии)	Световая микроскопия: количество просмотренных паразитов (клеток) на препаратах	Электронная микроскопия: количество исследованных паразитов (клеток) методами ТЭМ и СЭМ	Фиксации, используемые в молекулярно-филогенетических анализах: кол-во изолированных паразитов (клеток), год фиксации	Анализ / обсуждение полученных данных (оригинальные материалы в диссертации)	Публикации по материалам
<i>Selenidium pygospionis</i> из <i>Pygospio elegans</i>	Белое море, УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2002-2015, 66.3128333, 33.6285833	>302\109 (1 - 50, 100, 150 [ср. 10, мода 1, n=109] грегарин на хозяина)	>100 (прижизненные препараты), 13 (временные, окрашенные DAPI)	~20 (ТЭМ), > 30 (СЭМ)	~100, 2009 (рДНК)	+ (Рисунки 3-4; Таблица 2)	Janouškoveč et al., 2019; Paskerova et al., 2018, 2021
	Белое море, ББС МГУ, 2014-2016, 66.5533333, 33.1047167	>60\58 (исследование подвижности)	—	—	—	+ (Рисунки 6, 33В, Таблица 4)	Janouškoveč et al., 2019; Kováčiková et al., 2019

## Продолжение таблицы 1

<i>Selenidium pygospionis</i> из <i>Pygospio elegans</i>	Белое море, ББС МГУ, 2016, 66.5533333, 33.1047167	>41\40 (1 - 75 [ср. 19, мода 2, n=40] грегарин на хозяина)	~25 грегарин, зараженных <i>Metchnikovella dogieli</i> (прижизненные и временные окрашенные препараты)	—	—	+ (Рисунок 7, Таблица 5)	Paskerova et al., 2016
<i>S. pygospionis</i> из <i>Polydora glycymerica</i>	Японское море, залив Петра Великого, 42.8913889, 132.7352778	—	—	—	—	+	Paskerova et al., 2018
<i>S. pherusaе</i> из <i>Pherusa plumosa</i>	Японское море, залив Петра Великого, 42.8913889, 132.7352778	—	—	—	—	+ (Рисунок 5, Таблица 3)	Paskerova et al., 2018
<i>Ditrypanocystis</i> sp. из <i>Enchytraeus albidus</i>	Белое море, УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2001, 2004, 66.309508, 33.633532	>19\8 (в ср. по 1-2 грегарины на хозяина)	—	—	данные отсутствуют	+ (Рисунок 8)	Butaeva et al., 2006

## Продолжение таблицы 1

<i>S. cf. nematoides</i> из <i>Scoloplos armiger</i>	Белое море, УНБ «Беломорская» СПбГУ, 1999-2018, 66.3128333, 33.6285833	>410\304 (до 20 клеток на 0.01 мм <sup>2</sup> )	>100 (прижизненные), ~50 (DAPI), ~ 50 (окрашенные)	~20 (ТЭМ), > 100 (СЭМ)	~10 , 2003 (рДНК)	+ (Рисунки 10-12; Таблица 6)	Simdyanov et al., 2018; Valigurová et al., 2017
	Белое море, ББС МГУ, 2016-2017, 66.5533333, 33.1047167	>76\30 (качественные данные)	—	~50 (СЭМ)	~50, 2016 (транскриптом)		Janouškoveč et al., 2019; Simdyanov et al., 2018
	Белое море, ББС МГУ, 2014-2015, 66.5533333, 33.1047167	>93\68 (исследование подвижности)	—	—	—	—	+ (Рисунок 14, Таблица 7)
<i>Chattonaria mesnili</i> из <i>Orbinia latreillii</i>	Ла-Манш, Могерьек, 2010, 48.689722, -4.071389	—	—	—	—	+ (Рисунок 13D-E)	Simdyanov et al., 2018

## Продолжение таблицы 1

<i>Polyrhabdina rugospionis</i> из <i>P. elegans</i>	Белое море, УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2002-2018, 66.3128333, 33.6285833	>302\126 (1 – 50 [ср. 6, мода 1, n=126] грегарин на хозяина)	>100 (прижизненные)	~15 (ТЭМ), > 50 (СЭМ)	—	+ (Рисунки 16, 18, Таблица 8)	Paskerova et al., 2021
	Белое море, ББС МГУ, 2016, 66.5533333, 33.1047167	>5\5 (качественные данные)	—	—	19, 2016 (транскриптом)	+ (Рисунки 20, 33В)	Janouškoveč et al., 2019; Paskerova et al., 2021
	Белое море, Левин Наволок, 2007, 66.297967, 33.462902	51\39 (1 - 50 [ср. 10, мода 5, n=39] грегарин на хозяина); из них 2 полихеты с зараженными грегаринами	~ 10 грегарин, зараженных <i>Metchnikovella incurvata</i> (прижизненные препараты)	5 грегарин, зараженных <i>Metchnikovella spiralis</i> , и ~15 грегарин, зараженных <i>M. incurvata</i>	—	+ (Рисунок 19, Таблица 5)	Frolova et al., 2023; Paskerova et al., 2016; Rotari et al., 2015; Sokolova et al., 2013, 2014;
	Белое море, Левин Наволок, 2010-2019, 66.297967, 33.462902	>67\41 (качественные данные)					

## Продолжение таблицы 1

<i>P. cf. spionis</i> из <i>Malacoceros fuliginosus</i>	Ла-Манш, Роскофф, 2010, 48.7275333, -3.9880833	18\3 (несколько - ~50 грегариин на хозяина)	~10 (прижизненные препараты)	~ 50 (СЭМ)	данные отсутствуют	+ (Рисунок 17, Таблица 8)	Paskerova et al., 2021
<i>Urospora travisiae</i> из <i>Travisia forbesii</i>	Белое море, УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2001, 2005, 2007, 2016, 2018, 66.330284, 33.833295, 66.302105, 33.626484	>6\5 (несколько - ~50 грегариин на хозяина)	>10 (прижизненные препараты)	—	—	+ (Рисунок 21; Таблица 9)	Diakin et al., 2016
	Белое море, ББС МГУ, 2015-2017, 2019, 66.5533333, 33.1047167	>51\30 (несколько - ~50 грегариин на хозяина)	>10 (прижизненные препараты)	—	—		

## Продолжение таблицы 1

<i>U. ovalis</i> из <i>T. forbesii</i>	Белое море, УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2001, 2005, 2007, 2016, 2018, 66.330284, 33.833295, 66.302105, 33.626484	6\5 (несколько - ~50 грегариин на хозяина)	> 10 (прижизненные препараты)	2 (ТЭМ), 5 (СЭМ)	—	+ (Рисунок 21; Таблица 9)	Diakin et al., 2016
	Белое море, ББС МГУ, 2015-2017, 2019, 66.5533333, 33.1047167	>51\12 (несколько - ~50 грегариин на хозяина)	>20 (прижизненные препараты)	—	—		
Гаметоцисты <i>Urospora</i> sp. (вероятно, <i>U. travisiae</i> ) из <i>T. forbesii</i>	Белое море, ББС МГУ, 2022, 66.5533333, 33.1047167	>12\11 ( <i>U. travisiae</i> , несколько - ~50 грегариин на хозяина), \3 ( <i>U. ovalis</i> совместно с <i>U. travisiae</i> , несколько грегариин на хозяина)	>75 гаметоцист из >8 бурых тел (прижизненные препараты)	—	—	+ (Рисунок 21; Таблица 9)	Valigurová et al., 2023

## Продолжение таблицы 1

<i>U. chiridotae</i> из <i>Chiridota laevis</i>	Белое море, в окрестностях УНБ «Беломорская» СПбГУ, 1997, 2013, 2015-2017, 2019, 66.330284, 33.833295, 66.302105, 33.626484	>36\20 (несколько клеток или сизигиев на хозяина)	>20 (прижизненные препараты), 5 (DAPI)	—	данные отсутствуют	+ (Рисунок 21; Таблица 9)	Дякин, Паскерова, 2004
<i>Eleutheroschizon duboscqi</i> из <i>S. armiger</i>	Белое море, УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2015, 2018, 66.3128333, 33.6285833	>25\4 (несколько клеток-несколько десятков на хозяина)	>100 (прижизненные препараты), ~ 20 (DAPI), ~ 10 (окрашенные гистологические срезы)	~ 10 (ТЭМ), > 100 (СЭМ)	—	+ (Рисунки 23-24, 28; Таблица 10)	Janouškoveč et al., 2019; Paskerova et al., 2023; Valigurová et al., 2015
	Белое море, ББС МГУ, 2014-2017, 66.5533333, 33.1047167	>146\16 (несколько клеток-несколько десятков на хозяина)	—	~ 20 (СЭМ)	—		

## Продолжение таблицы 1

<i>E. planoratum</i> из <i>Naineris</i> <i>quadricuspida</i>	Белое море, в окрестностях УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2002- 2018, 66.326917, 33.841700	100\121 (несколько клеток-несколько десятков на хозяина)	> 100 (прижизненные)	~10 (ТЭМ), ~ 100 (СЭМ)	25, 2016 (рДНК)	+ (Рисунки 25- 27, Таблица 10)	Paskerova et al., 2023
<i>Rhytidocystis</i> <i>dobrovolskiji</i> из <i>Ophelia</i> <i>limacina</i>	Белое море, в окрестностях УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2015- 2019, 66.330284, 33.833295	>70\34 (несколько клеток-несколько десятков на хозяина)	>100 (прижизненные препараты)	10 (СЭМ)	—	+ (Рисунок 30; Таблица 11)	Miroliubova et al., 2021
<i>Rhytidocystis</i> <i>pertsovi</i> из <i>Ophelia</i> <i>limacina</i>	Белое море, ББС МГУ, 2015-2019, 2019, 66.5533333, 33.1047167	>85\70 (качественные данные)	>100 (прижизненные препараты)	5 (СЭМ)	49, 2016 (транскриптом)	+ (Рисунок 31, Таблица 11)	Janouškoveč et al., 2019; Miroliubova et al., 2021

## Продолжение таблицы 1

<i>Rhytidocystis</i> sp. из <i>S.</i> <i>armiger</i>	Белое море, в окрестностях УНБ «Беломорская» СПбГУ, 2000, 2022, 66.330284, 33.833295	данные отсутствуют	>100 (прижизненные препараты)	5 (ТЭМ)	данные отсутствуют	+ (Рисунок 32)	—
<i>Rhytidocystis</i> sp. из <i>T.</i> <i>forbesii</i>	Белое море, ББС МГУ, 2016-2019, 2022-2023, 66.5533333, 33.1047167	57\64 (качественные данные)	>100 (прижизненные препараты)	данные отсутствуют	19, 2016 (транскриптом)	+ (Рисунок 32)	Janouškoveč et al., 2019

Обозначения: ББС МГУ – Беломорская биологическая станция им. Н. А. Перцова Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова; СЭМ – сканирующая электронная микроскопия; ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия; УНБ «Беломорская» СПбГУ – Учебно-научная база «Беломорская» Санкт-Петербургского государственного университета; «+» - автор участвовала в анализе/обсуждении полученных данных; «—» – автор не участвовала в подготовке материала для соответствующих анализов.

для клеток алкалоид, ингибирующий полимеризацию актина и разрушающий существующие актиновые микрофиламенты), оризалином (гербицид, разрушающий микротрубочки и блокирующий полимеризацию новых) или колхицином (вещество растительного происхождения, ингибирующее полимеризацию микротрубочек);

4) филогенетический анализ на основе полученных непрерывных, практически полных последовательностей генов, кодирующих молекулы 18S, 5.8S, 28S рибосомных РНК, и спейсеров ITS1, ITS2 с использованием Байесовского подхода и метода максимального правдоподобия для выявления родства и филогенетического положения исследуемых паразитических апикомплексов;

5) транскриптомный анализ малого числа фиксированных паразитов (single cell transcriptomics) для выявления транскриптов белков у споровиков разных филогенетических линий.

Описание материалов и методов, которые были использованы в данной диссертации, изложены ниже и в опубликованных работах (см. список публикаций по теме диссертации).

**Сбор, содержание и вскрытие хозяев.** Места сбора литоральных и сублиторальных беспозвоночных указаны в таблице 1. Литоральные полихеты были собраны руками вместе с субстратом, в котором они живут (гниющие водоросли в штормовых выбросах, заиленный песок). Сублиторальные полихеты и голотурии были собраны с помощью драги с весельной или моторной лодок. Во всех случаях субстрат промывался морской водой через серию сит с разным диаметром ячеек (2 мм, 1 мм, 0.5 мм; Вибротехник, Россия). Промытые беспозвоночные собирались пинцетом в емкости с чистой морской водой (примерно по 10-50 полихет на 250-500 мл) и содержались до 1 месяца при температуре 4-10°C с периодической сменой морской воды. Содержание беспозвоночных в морской воде без грунта в течение некоторого времени приводит к освобождению кишечника хозяев от песка и фекальных масс. Определение собранных животных проводилось с помощью специализированных ключей (Наумов, Оленев, 1981; Цетлин, 1980).

Вскрытие беспозвоночных проводилось под бинокулярным стереомикроскопом МБС-9 или МБС-10 (ЛОМО, Россия). С помощью вручную оттянутых стеклянных пипеток обнаруженные паразиты в кишечнике или полости тела хозяев или фрагменты тканей хозяев, с заключенными в них паразитами, выбирались в солонки с фильтрованной морской водой для последующей обработки разными методами.

Проверка научных названий беспозвоночных животных и одноклеточных паразитов проводилась во Всемирном Реестре Морских Организмов (WoRMS, 2024).

**Методы световой микроскопии.** Паразиты были исследованы на давленных препаратах зараженного хозяина (целиком или только фрагмент тела, участок ткани, органа и т.д. хозяина),

на прижизненных препаратах отдельных клеток и на окрашенных препаратах с использованием широкого парка световых микроскопов: световой микроскоп МикМед-6 с цифровой камерой MC5.3 (Ломо, Россия), флюоресцентный световой микроскоп Zeiss Axio Imager.A1, связанный с цифровой камерой Axio-Cam MRc5 (Zeiss, Германия), световые микроскопы Leica DM2500, оснащенные дифференциальной интерференционно-контрастной оптикой, планахроматическими и апохроматическими объективами, а также цифровой камерой DFC 295 или DFC 420 (Leica, Германия). Все перечисленные микроскопы были также оснащены конденсором фазового контраста и соответствующими объективами.

Отдельные клетки паразитов были окрашены флюоресцентным красителем. Для этого на предметном стекле капля морской воды с паразитами была смешана с красителем DAPI (1:100; MERCK), а спустя несколько минут – с глицерином (1:1; 99,3%, НеваРеактив, Россия) и накрыта покровным стеклом. Таким образом приготовленные препараты были просмотрены под флюоресцентным микроскопом. В работе использовали набор фильтров 01 (488001-9901-000, BP 365/12, LP 397; ZEISS). Неокрашенные паразиты в предварительно отфильтрованной морской воде или в глицерине были использованы в качестве отрицательного контроля, исключая эффект автофлюоресценции (данные не представлены).

Постоянные препараты изолированных паразитов были подготовлены традиционным методом (Роскин, Левинсон, 1957): получение мазка тканей зараженного хозяина, фиксация мазка в жидкости Буэна, отмывка от фиксатора и окраска мазка гематоксилином Бемера, отмывка мазка от красителя с последующей дегидратацией и заключением в канадский бальзам.

В некоторых случаях полихеты целиком или отдельные фрагменты кишки зараженного хозяина были зафиксированы жидкостью Буэна, после отмывки и дегидратации были пропитаны смесью хлороформ-гистомикс (парафин) и в результате заключены в гистомикс- или парафиновые блоки (БиоВитрум, Россия). С помощью ротарного микротома Microm HM 360 были подготовлены серии гистологических срезов (0.1–1 mm в толщину) разной ориентации (сагиттальной, корональной). Срезы были смонтированы на предметных стеклах. После депарафинизации препараты прошли стандартную процедуру окраски гематоксилином Бемера и дегидратации с последующим заключением в канадский бальзам (Роскин, Левинсон, 1957).

Морфометрия исследуемых одноклеточных проводилась под биноклем или микроскопом (см. выше) с использованием специальных окуляр-микрометров и объект-микрометров или в программе Leica Application Suite ver. 3.4.0 (Leica Microsystems, Switzerland). У клеток/органелл были измерены минимальный и максимальный размеры (в микрометрах). В некоторых случаях были использованы статистические параметры: SE – стандартная ошибка

среднего, SD – стандартное отклонение среднего, n – выборка (количество объектов). Статистические параметры вычислялись в программе Exell (Microsoft Office).

**Методы электронной микроскопии.** Небольшие фрагменты тканей с прикрепленными или внедренными паразитами, а также отдельные, изолированные из тканей хозяина, клетки паразитов были зафиксированы по протоколу двойной фиксации: 2.5% глутаральдегид в 0,05М какодилатном буфере (2 часа при 4°C), промывка в 0,2М какодилатном буфере или морской воде (3 раза по 20 минут), 2% тетраоксид осмия на 0,05М какодилатном буфере (2 часа при 4°C), промывка в дистиллированной воде (15 мин), дегидратация образца в серии спиртов восходящей крепости (30, 50, 70; по 15 минут в каждом). Фиксирующие и промывочные растворы имели показатель кислотности (pH) 7.4 и осмотичность 720 mOsm.

Для сканирующей электронной микроскопии фиксированные образцы проходили полную дегидратацию в спиртах восходящей крепости (70, 80, 90, 100 по 20 мин) и сушились методом перехода через критическую точку углекислого газа (Leica EM CPD300 и подобные устройства), потом были покрыты тонкой пленкой (10-40 nm) золота или платины (Leica EM SCD500 и подобные устройства) при высоком давлении. Полученные образцы были просмотрены под растровым электронным микроскопом (Tescan Mira3 LMU (Брно, Чешская Республика), LEO-420 (Zeiss, Германия)).

Для трансмиссионной электронной микроскопии фиксированные образцы также проходили полную дегидратацию в спиртах восходящей крепости (70, 80, 90, 100 по 20 мин), а потом в смеси спирт-ацетон (3:1; 1:1; 1:3 по 20 мин) и чистом ацетоне (3 раза по 20 мин). Затем образцы проходили пошаговую пропитку в смеси Epon-812 (Sigma-Aldrich, США) – ацетон (3:1; 1:1; 1:3 по 20 мин) и в чистой смоле (2 раза по 2 часа) с последующей полимеризацией при 60°C в течение 24 часов. Ультратонкие срезы (60-150 nm) были получены с помощью ультратома (LKB-III (LKB, Sweden) или Leica EM UC6 (Leica Microsystems, Germany)), контрастированы уранилацетатом и цитратом свинца по стандартной методике (Reynolds, 1963) и просмотрены под электронным микроскопом (LEO-910 (Zeiss, Германия), JEM-1400, JEM-2100 (JEOL, Japan)). Полутонкие срезы (150 – 500 nm) были смонтированы на предметном стекле, окрашены толуидиновым синим по стандартной методике (Роскин, Левинсон, 1957) и просмотрены под световым микроскопом (см. выше) в светлом поле.

**Эксперименты по изучению подвижности бластогрегарин и архигрегарин.** Подвижные одноклеточные протисты (*Siedleckia cf. nematoides*, *Selenidium pygospionis*), свежееизвлеченные из кишки хозяина, были обработаны коммерческими веществами, обладающими высокой проходимостью через клеточную мембрану и влияющими на полимеризацию актина (ясплакинолид (JAS, Invitrogen, Чехия) и цитохалазин D (Invitrogen, Чехия)) или разрушающими микротрубочки (оризалин (Sigma-Aldrich, Чехия) и колхицин

(Sigma-Aldrich, Чехия)). Известно, что низкая концентрация этих веществ (ниже 5  $\mu\text{M}$ ) не оказывает заметного влияния на подвижность одноклеточных протистов (Valigurová et al., 2013). Поэтому были выбраны следующие конечные концентрации перечисленных веществ: 10 и/или 30  $\mu\text{M}$  для ясплакинолида, цитохалазина D и оризалина и 10 и/или 100  $\text{mM}$  для колхицина. Ясплакинолид, цитохалазин D и оризалин изначально растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) для приготовления исходного раствора с концентрацией 1  $\text{mM}$ , а потом разводили в фильтрованной морской воде (0,22  $\mu\text{m}$  Millipore) для получения конечных рабочих концентраций, в то время как колхицин разводили непосредственно в фильтрованной морской воде.

Эксперименты по влиянию выбранных веществ на подвижность протистов вели в эмбриологических солонках с полусферической полостью диаметром 30 мм. Контроль проводили на паразитах, содержащихся в отфильтрованной природной морской воде или в соответствующих концентрациях ДМСО в отфильтрованной морской воде (см. выше). Эмбриологические солонки с паразитами в экспериментальных и контрольных растворах хранили при температуре 10°C в течение всего периода эксперимента. Поведенческие и морфологические изменения паразитов, индуцированные применением препаратов, контролировали с помощью светового микроскопа Leica DM 2500, подключенного к цифровой камере DFC 420. Для этого небольшие кусочки тканей хозяина с прикрепленными паразитами (около 12 кусочков с 20 или более паразитами *S. cf. nematoides* в каждом эксперименте) или пул свободных клеток (100-150 *S. pygospionis* в каждом эксперименте) в растворе экспериментального вещества помещали в лунку предметных стекол и накрывали покровным стеклом. Подвижность паразитов оценивали по частоте изгибаний (биения) их клеток. В каждом случае в выборке из 6 и более случайно выбранных паразитов подсчитывалось число изгибаний (ударов) за 30 секунд. Среднее время для каждого движения паразитов рассчитывали для передней части их клетки, где возникают и развиваются волнообразные изгибания. Каждый эксперимент (влияние каждого вещества в соответствующей концентрации и контроли) имел три повторности. В конце каждого эксперимента материал был разделен на три порции и зафиксирован для сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии (см. выше) и для конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (см. ниже).

**Методы конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.** Материал экспериментов (см. выше) был зафиксирован в течение 45 мин в свежеприготовленном 4% параформальдегиде (PFA) в 0,1 М фосфатно-солевом буфере (PBS) при комнатной температуре, а затем промыт 3 раза по 15 мин в 0,1 М PBS перед дальнейшей обработкой. Паразиты, предварительно инкубированные в ясплакинолиде, были дополнительно промыты в буфере перед фиксацией, чтобы предотвратить ингибирование действия фаллоидина (см. ниже). После

фиксации все образцы были обработаны в 0,5% тритоне X-100 (Triton X-100, Sigma-Aldrich, Чехия) в течение 15 мин для изменения проницаемости мембран клеток-паразитов. Прямой метод иммунофлуоресцентного анализа был использован для выявления фибриллярного актина (F-актина) в клетках-паразитах. Для этого образцы были инкубированы в фаллоидин-тетраметилродамин В изотиоцианате (phalloidin-TRITC; Sigma-Aldrich, Чехия) в течение ночи при комнатной температуре, а затем промыты 3 раза по 10 мин в 0,1 М PBS. Непрямой метод иммунофлуоресцентного анализа также был использован для выявления актина, как в глобулярной, так и в фибриллярной формах. Для этого образцы инкубировали в течение ночи при 4 °С с моноклональными антителами класса IgG, которые были индуцированы в мышах против актина миксомицета *Dictyostelium* sp. или споровиков *Toxoplasma gondii* и *Plasmodium* sp. (специфические антитела любезно предоставлены профессором Доминик Солдати-Фавр (Dominique Soldati-Favre), Университет Женевы), или с моноклональными антителами мыши против  $\alpha$ -тубулина (1:1000; Sigma-Aldrich, Чехия) в PBS с 0,1% бычьего сывороточного альбумина (BSA). Затем образцы прошли трехкратную промывку в 0,1 М PBS в течение 10 минут и были инкубированы с конъюгированными с FITC антителами против «первых» (мышинных) антител (1:125; Sigma-Aldrich, Чешская Республика) в PBS с 1% BSA при 37 °С в течение 4 часов с последующей промывкой в PBS. Для выявления ядра в клетках-паразитах образцы окрашивали Hoechst 33342 (Molecular Probes, Чехия) в течение 1 часа, а затем промывали в 0,1 М PBS три раза по 10 мин. Окрашенные образцы были смонтированы на предметном стекле в среде VECTASHIELD Hard Set Mounting Medium (Vector Laboratories, США). Контроль иммунофлуоресцентного анализа представлял собой образцы, которые инкубировали только с «вторичными» антителами. Полученные препараты были просмотрены под микроскопом Olympus IX81 FVBF-2, оснащенный лазерным сканирующим конфокальным блоком Fluoview 500 (программное обеспечение Fluoview 3.4, Olympus, Япония) и цифровой камерой DP70. Флуоресценцию визуализировали с помощью наборов лазеров TRITC (фаллоидин/544 нм) и FITC (антиактин, анти- $\alpha$ -тубулин/457–515 нм). Микрофотографии всех образцов (конкретное окрашивание и контроль) были получены при одинаковых условиях захвата изображения (фильтры, интенсивность лазера). Некоторые микрофотографии были обработаны с помощью программного обеспечения Fiji (пакет обработки изображений на основе ImageJ, разработанный в Национальном институте здравоохранения).

**Выделение ДНК, ПЦР и секвенирование.** В таблице 1 указаны объекты, фиксации которых автор диссертации осуществила лично для последующего молекулярно-биологического анализа.

Архигрегарины, бластогрегарины, эугрегарины рода *Urospora*. Архигрегарины *Selenidium pygospionis* (около 100 клеток) из полихет *Pygospio elegans* (о. Большой Горелый, Керетский

архипелаг, Белое море), бластогрегарины *Chattonaria mesnili* (~25 экземпляров) из полихет *Orbinia latreillii* (Роскофф, Ла-Манш, Франция), эугрегарины *Urospora ovalis* (10 клеток) и *U. trivisiae* (20 клеток) из полихет *Trivisia forbesii* (ББС МГУ, Великая Салма, Белое море) после трехразовой промывки в фильтрованной (фильтр 0,2  $\mu\text{m}$  Millipore) морской воде были зафиксированы в RNAlater стабилизирующем растворе (Life Technologies, США). Экстракцию ДНК из этих образцов проводили с помощью набора Diatom DNAprep 200 (Изоген, Россия).

Архигрегарины *S. pygospionis* (~10 трофозоитов и один сизигий) из кишечника полихет *Polydora glycymerica* (залив Петра Великого, Японское море), *S. pherusaе* (~ 25 клеток) из полихеты *Pherusa plumosa* (залив Петра Великого, Японское море), бластогрегарины *S. cf. nematoides* (~ 100 экземпляров) из полихет *Scoloplos cf. armiger* (ББС МГУ, Великая Салма, Белое море) после промывки в чистой морской воде были помещены в 1.5 мл центрифужную пробирку, где были лизированы щелочью 0,25М NaOH. Полученные лизаты были непосредственно использованы в ПЦР.

Все ПЦР проводили с использованием набора Encyclo PCR (Evrogen, Россия) в общем объеме 25 мкл с использованием термоциклера DNA Engine Dyad (Bio-Rad) и по следующему протоколу: начальная денатурация при 95 °С в течение 3 мин; 40 циклов при 95°С в течение 30 сек, отжиг при 45-48°С или 50-53 °С в течение 30 сек и этап элонгации при 72 °С в течение 1,5 мин, окончательная элонгация при 72 °С в течение 10 мин (используемые праймеры см. в Diakin et al., 2016; Paskerova et al., 2018; Simdyanov et al., 2018). Продукты ПЦР ожидаемого размера выделяли в геле с помощью набора для выделения ДНК "Цитокин" ("Цитокин", Россия). Для отдельных фрагментов продукты ПЦР секвенировали прямым методом. Некоторые фрагменты были клонированы с помощью набора InsTAclone PCRCloning Kit (Fermentas, Литва), поскольку соответствующие ПЦР-продукты были неоднородными. Последовательности фрагментов были получены с помощью набора реагентов ABI PRISM BigDye Terminator v. 3.1 и анализатора ДНК Applied Biosystems 3730 для автоматического секвенирования. После сборки фрагментов считывания с помощью программы BioEdit 7.0.9.0, полученные непрерывные последовательности были депонированы в GenBank (*Selenidium pygospionis* MN061278 (Белое море), *S. pygospionis* MN061279 (Японское море), *S. pherusaе* MN061280; *Siedleckia cf. nematoides* MN061197 (УНБ «Беломорская», Белое море), *Siedleckia cf. nematoides* MN061198 (ББС МГУ, Белое море), *Chattonaria mesnili* MN061199, *Urospora ovalis* KR868712, *U. trivisiae* KR8687123) (Diakin et al., 2016; Paskerova et al., 2018; Simdyanov et al., 2018).

Непрерывная последовательность *S. pygospionis* из *P. elegans* (Белое море) включала SSU (малая субъединица или ген 18S рРНК), 5.8S, LSU (большая субъединица или ген 28S рРНК) рДНК, а также внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2 (всего 4910 позиций). Для *S. pygospionis* из *P. glycymerica* (Японское море) была получена почти полная

последовательность SSU рДНК (1 610 п.н.); она практически идентична последовательности из образца Белого моря (всего 2 замены). Непрерывная последовательность *S. pherusaе* (2551 п.н.) включала SSU, 5.8S и около 600 нуклеотидов LSU рДНК, а также внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2 (Paskerova et al., 2018).

Для бластогрегарин *S. cf. nematoides* были получены почти полные непрерывные последовательности рибосомного оперона (2004 п.н.), которые включали в себя SSU rDNA (частично) + ITS1 + 5,8SrDNA + ITS2 + LSU rDNA (частично) и бóльшей части LSU rDNA (1549 п.н.), тогда как в случае *C. mesnili* были получены почти полные последовательности SSU rDNA (частично) + ITS1 + 5,8S rDNA + ITS2 + LSU rDNA (~1600 п.н.) и бóльшей части LSU rDNA (~2 000 п.н.) (Simdyanov et al., 2018).

Для трофозоитов эугрегариин *Urospora ovalis* и *U. travisiae* были получены почти полные последовательности SSU рДНК (1603 и 1623 позиций соответственно) (Diakin et al., 2016).

Эугрегарины рода *Polyrhabdina*. Почти полный рибосомный оперон *P. pygospionis* был собран на основе транскриптомных данных, полученных примерно из 19 клеток паразита, выделенных из пяти полихет *P. elegans* (ББС МГУ, Великая Салма, Белое море) (Janouškovec et al., 2019). Собранные транскрипты с высокой степенью покрытия и соответствующие рибосомальной РНК *P. pygospionis* были идентифицированы с помощью поиска гомологии BLASTN и объединены в местах перекрытия в восемь более крупных контигов. Необработанные транскриптомные чтения, картированные на восемь контигов рРНК, были получены в Bowtie 2 (настройки по умолчанию) и использованы для расширения контигов в Consed v29 со следующими параметрами перекрестного сопоставления: -minmatch 50 -minscore 50 -penalty -9. Повторение этого процесса в нескольких итерациях позволило нам объединить и впоследствии проверить почти полную последовательность рибосомного оперона *P. pygospionis* (SSU, 5.8S, LSU рДНК и ITS1, ITS2; 5381 п.н.). Окончательная последовательность была депонирована в GenBank под номером MT214481 (Paskerova et al., 2021).

ДНК из *P. cf. spionis* (Роскофф, Ла-Манш, Франция) не была получена. С этим материалом работала только автор диссертации. Лишь небольшое число паразитов удалось изолировать из хозяев; и все изолированные клетки были использованы для электронной микроскопии (Paskerova et al., 2021).

Гаметоцисты *Urospora spp.* Гаметоцисты изолировали из бурых тел, трижды промывали фильтрованной (фильтр 0,2  $\mu\text{m}$ , Millipore) морской водой, помещали в микроцентрифужные пробирки емкостью 0,5 мл и затем фиксировали 96% этанолом. Геномную ДНК экстрагировали с использованием набора для очистки ДНК и РНК MasterPure™ Complete (Epicentre, Illumina, Мэдисон, Висконсин, США). Перед экстракцией образцы (каждый из которых содержал по одной гаметоцисте) промывали дистиллированной водой и удаляли избыток жидкости.

Образцы разводили в 300 мкл раствора для лизиса тканей и клеток. Для разрушения оболочек гаметоцист и ооцист использовали тепловой шок (3 цикла +80/95 °С, по 10 мин при каждой температуре). ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы Taq (5 ед/мкл) («ThermoFisher Scientific», США) и термоциклера Eppendorf Master EP Gradient S («Eppendorf», Гамбург, Германия) по следующему протоколу: начальная денатурация при 95 °С в течение 5 мин; 39 циклов по 95 °С в течение 45 с, +48/50 °С в течение 45 с и элонгация при 72 °С в течение 2 мин; и окончательное удлинение при 72 °С в течение 10 мин (информацию о праймерах см. в Valigurová et al., 2023). Продукты ПЦР ожидаемого размера очищали методом осаждения этанол/NaOAc. К каждому продукту ПЦР (20 мкл) добавляли 2 мкл 3М C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub> и 56 мкл 96% этанола с последующим центрифугированием при 14000 об/мин в течение 20 мин при комнатной температуре. Супернатант удаляли, осадок промывали 100 мкл 70% этанола и центрифугировали. После удаления надосадочной жидкости осадок полностью сушили на воздухе, а затем разводили в 15 мкл воды. Очищенные продукты ПЦР секвенировали с использованием тех же праймеров, что и для ПЦР, с использованием набора BigDye Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems, Фостер-Сити, США) на генетическом анализаторе Applied Biosystems® 3500xL. Полученные необработанные чтения собирали и редактировали с использованием программного обеспечения Sequencher (Gene Codes Corp., США). Полученные последовательности 28S рДНК (*Urospora ovalis*, 2899 п.н. – OR529005, *U. trivisiae*, 2929 п.н. – OR529006) были депонированы в ГенБанк, предварительно пройдя идентификацию с помощью анализа BLAST (Valigurová et al., 2023).

Протококцидии рода *Eleutheroschizon* и агамококцидии рода *Rhytidocystis*.

Фрагменты ткани хозяина с прикрепленными протококцидиями помещали в 30% спирт. Во время начальной мацерации префиксированных тканей хозяина (первые 15–20 мин) паразитов сбивали с поверхности эпителия кишечника хозяина с помощью стеклянных пипеток, оттянутых вручную. Такая предварительная обработка частично сохраняла паразитофорный мешок вокруг каждого паразита, но освобождала от ядра зараженного энтероцита. Отделённых паразитов дополнительно промывали 30%-ным спиртом и фиксировали в 96%-м спирте. Для выделения ДНК использовали следующие образцы: *E. duboscqi* – 30 клеток (ББС МГУ, 2014), и *E. planoratum* – 25 клеток (УНБ «Беломорская», 2016).

Клетки *Rhytidocystis* spp. (до 50 клеток из каждой локации), изолированные из тканей хозяина, трижды промывали фильтрованной морской водой и помещали в микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл. Образец *R. pertsovi* фиксировали 96% этанолом, образец *R. dobrovolskiji* фиксировали с помощью RNAlater (Life Technologies, США).

Выделение ДНК проводили с помощью набора NucleoSpin Tissue kit (Macherey–Nagel GmbH & Co. KG, Германия). Полногеномную амплификацию (WGA) проводили с

использованием REPLI gMidiKit (Qiagen, Великобритания). Фрагменты рДНК амплифицировали с помощью набора Encyclo PCR («Евроген», Россия) в общем объеме 20 мкл с использованием термоциклера DNA Engine Dyad («Био-Рад») и термоциклера T100 («Био-Рад»). Общая схема протокола ПЦР следующая: начальная денатурация при 95 °С в течение 2,5 мин; 40 циклов при 95 °С в течение 30 сек, +48-55 °С (в зависимости от праймеров; праймеры см. в Miroljubova et al., 2020, Paskerova et al., 2023) в течение 30 сек, 72 °С в течение 1,5 мин, и окончательное удлинение при 72 °С в течение 10 мин.

Непрерывные нуклеотидные последовательности паразитов собирали из серии перекрывающихся фрагментов, полученных с помощью ПЦР с разными парами праймеров с последующим секвенированием по Сэнгеру. Почти полные последовательности SSU, 5.8S, LSU рДНК и ITS1, ITS2 были получены для протококцидий и агамококцидий и депонированы в ГенБанк (*Eleutheroschizon duboscqi*, 5775 п.н. – OQ975294, *E. planoratum*, 5746 п.н. – OQ971405, *Rhytidocystis pertsovi*, 5281 п.н. – MT231948, *R. dobrovolskiji*, 5387 п.н. – MT231947) (Miroljubova et al., 2020, Paskerova et al., 2023).

**Филогенетический анализ. Архигрегарины.** Для филогенетического анализа было подготовлено и затем вручную скорректировано выравнивание 128 последовательностей с помощью программ MUSCLE 3.6 и BioEdit 7.0.9.0. Конечная длина выравнивания составила 1550 позиций. Выборка таксонов для выравнивания была составлена таким образом, чтобы максимально представить филогенетическое разнообразие и полноту последовательностей архигрегаринов и других споровиков. В качестве аутгрупп использовались гетероконты и ризарии.

Филогенетический анализ методом максимального правдоподобия (ML) проводился с помощью программы RAxML 7.2.8 в рамках модели GTR + Г и аппроксимации CAT (25 категорий на сайт). Процедура включала 100 альтернативных итераций ML-анализа и 1000 псевдорепликаций бутстрэппинга. Байесовский анализ (BI) проводился с помощью программы MrBayes 3.2.6 в рамках модели GTR + Г + I с восемью категориями дискретного гамма-распределения. Программа была настроена на работу со следующими параметрами: nst = 6, ngammat = 6, rates = invgamma; параметры Metropolis Coupling Markov Chains Monte Carlo (mcmc): nchains = 4, nruns = 4, temp = 0.2, ngen = 10 000 000, samplefreq = 1 000, burninfrac = 0.5 (первые 50% из 20 000 отобранных деревьев, то есть первые 5 000, отбрасывались в каждом прогоне). Расчеты бутстрэп-поддержек для полученных байесовских деревьев проводили с помощью программы RAxML 7.2.8 при тех же параметрах, что и для ML-анализа.

В данной диссертации результат филогенетического анализа представлен на рисунке 9. На этом рисунке приведено не всё филогенетическое дерево, а лишь его фрагмент, имеющий

непосредственное отношение к объектам исследования. Результаты филогенетического анализа в полном виде представлены в Paskerova et al., 2018.

Бластогрегарины. Для филогенетического анализа были подготовлены три выравнивания: SSU rDNA (110 последовательностей, 1550 позиций), LSU rDNA (54 последовательности, 2913 сайтов) и рибосомальный оперон (54 конкатенированные последовательности SSU, 5.8S, и LSU rDNA, 4618 позиций). Подготовка выравниваний шла аналогично, как и для анализа в случае архигрегаринов (см. выше).

Филогенетический анализ методом максимального правдоподобия (ML) проводился с помощью программы RAxML 7.2.8 в рамках модели GTR +  $\Gamma$  и аппроксимации CAT (25 категорий на сайт). Процедура включала 100 независимых запусков ML-анализа и 1000 реплик многопараметрического бутстрэпа. Байесовский анализ (BI) проводился с помощью программы MrBayes 3.2.6 в рамках модели GTR +  $\Gamma$  + I с восемью категориями дискретного гамма-распределения. Программа была настроена на работу со следующими параметрами:  $nst = 6$ ,  $ngammacat = 8$ ,  $rates = invgamma$ ,  $covarion = yes$ ; parameters of Metropolis Coupling Markov Chains Monte Carlo (mcmc):  $nchains = 4$ ,  $nruns = 4$ ,  $temp = 0.2$ ,  $ngen = 7\,000\,000$ ,  $sample-freq = 1,000$ ,  $burninfrac = 0.5$  (первые 50% из 7 000 отобранных деревьев, то есть первые 3 500, отбрасывались в каждом прогоне). Расчеты бутстрэп-поддержек для полученных байесовских деревьев проводили с помощью программы RAxML 7.2.8 при тех же параметрах, что и для ML-анализа.

В диссертации представлены только филогенетические построения на основе последовательностей LSU рДНК и SSU +5.8S + LSU рДНК (Рисунок 15). Результаты филогенетического анализа в полном виде представлены в Simdyanov et al., 2018.

Эугрегарины рода *Polyrhabdina*. Для филогенетического анализа был подготовлен таксономически сбалансированный набор данных по SSU рДНК (94 таксономические единицы). Подготовка выравниваний шла аналогично, как и для анализа в случае архигрегаринов (см. выше).

Филогенетический анализ методом максимального правдоподобия (ML) проводился с помощью программы IQ-TREE 2.1.2 с использованием непараметрического бутстрэпа (-b 1000) и сверхбыстрой бутстрэп-аппроксимации (UFBoot, bb 1000) с использованием научного портала CIPRES. Анализ байесовского подхода (BI) проводился с помощью MrBayes 3.2.6, PhyloBayes и Phycas 2.2. Эволюционные модели для ML и байесовского анализа были выбраны с помощью ModelFinder: модель GTR+F+I+G8. Были использованы следующие параметры Metropolis Coupled Markov Chain Monte Carlo (mcmc):  $nchains = 8$ ,  $nruns = 2$ ,  $temp = 0.025$ ,  $ngen = 5\,000\,000$ , частота дискретизации  $D = 1\,000$ ,  $burninfrac = 0.5$ . Значения поддержки ML были присвоены

байесовскому дереву SSU рДНК с использованием 1000 непараметрических деревьев начальной загрузки из анализа ML с помощью опции поддержки IQ-TREE 2.1.2.

В данной диссертации результат филогенетического анализа на основе последовательностей SSU рДНК представлен на рисунке 20. Результаты филогенетического анализа в полном виде отражены в Paskerova et al., 2021.

Эугрегарины рода *Urospora*. В диссертации не представлены филогенетические построения, опубликованные в Diakin et al., 2016. Однако представлены филогенетические деревья, подготовленные к более поздним публикациям (Paskerova et al., 2018, 2021; Valigurová et al., 2023) и в которых были использованы полученные последовательности эугрегаринов рода *Urospora*, – рисунки 9 (*U. travisiae*), 20 (*U. ovalis*) и 22 (*U. travisiae*, *U. ovalis*).

Гаметоцисты *Urospora* spp. Филогенетический анализ проводился на двух наборах данных последовательностей: выравнивание SSU рДНК (1366 позиций) и конкатенированное выравнивание SSU + LSU рДНК (3300 п.н.). Филогенетический анализ SSU рДНК был ограничен последовательностями группы Lecudinoidea (25 таксономических единиц), тогда как анализ по SSU + LSU рДНК включал 47 последовательностей, представляющие основные линии споровиков и родственных таксонов.

Последовательности в обоих наборах данных были выровнены в программе MAFFT v. 7 с использованием стратегии «Q-INS-i». Выравнивания настраивались вручную в BioEdit, а пробелы, плохо выровненные области и гипервариабельные сайты удалялись с помощью GBlocks v. 0.91b. Филогенетический анализ проводился с использованием методов максимального правдоподобия (ML) и байесовского подхода. Наиболее подходящие модели эволюции замещения были определены с помощью ModelFinder на основе Байесовского информационного критерия (BIC): модель GTR + F + I + G была выбрана для набора данных SSU рДНК, а модель GTR + F + I + G была выбрана для набора данных SSU + LSU рДНК. ML-анализ проводился с использованием программы IQ-TREE, реализованной в W-IQ-TREE. Узловую поддержку оценивали с помощью 1000 сверхбыстрых бутстрэп-псевдореplikатов. Байесовский интерференционный анализ проводился с использованием программы MrBayes 3.2.6. Два запуска четырех цепей MCMC (Markov Chain Monte Carlo) выполнялись одновременно в течение 7 000 000 поколений, при этом образцы деревьев отбирались каждые 1000 поколений. Для каждого прогона первые 25% деревьев отбрасывались на каждом этапе прогона, а по оставшимся деревьям определялись PP (апостериорные вероятности). Все деревья были визуализированы с помощью FigTree ver. 1.4.4.

В диссертации представлено только филогенетическое построение на основе последовательностей SSU + LSU рДНК – Рисунок 22. На рисунке 22 приведено не всё филогенетическое дерево, а лишь его фрагмент, имеющий непосредственное отношение к

объектам исследования. Результаты филогенетического анализа в полном виде представлены в Valigurová et al., 2023.

Протококцидии рода *Eleutheroschizon*.

Три набора выравниваний последовательностей рДНК (SSU, 5.8S и LSU) разных альвеолат были созданы в MUSCLE3.6 с параметрами по умолчанию, а затем вручную скорректированы и объединены с помощью BioEdit 7.0.9.0. Набор данных для филогенетического анализа был разработан с целью демонстрации филогенетического разнообразия кокцидиоморф. Набор данных включал 37 таксономических единиц, представленных конкатенированными последовательностями SSU, 5.8S и LSU рДНК (4527 позиций). Отсутствующие данные по 5.8S и LSU рДНК у некоторых таксонов были заменены на «N».

Анализ байесовского подхода был выполнен с помощью MrBayes 3.2.7 с использованием ресурсов веб-сервера CIPRES. Анализ проводился по модели GTR+G+I с 4 рейтинговыми категориями. Коэффициент нагрева цепи (temp) был установлен равным 0,2. Анализ был проведен с использованием четырех независимых запусков MCMC (Markov Chain Monte Carlo), и дерево консенсуса было построено с 50% отбрасыванием после 10 миллионов поколений. Анализ ML был выполнен с помощью IQ-TREE 2.1.2 с использованием модели GTR+I+G4+F и 1000 непараметрических псевдорепликатов быстрой начальной загрузки для оценки поддержки ветвей.

В данной диссертации результат филогенетического анализа на основе конкатенированных последовательностей SSU + 5.8S + LSU рДНК представлен на рисунке 27. Результаты филогенетического анализа в полном виде представлены в Paskerova et al., 2023.

Агамококцидии рода *Rhytidocystis*.

Выравнивание конкатенированных последовательностей SSU, 5.8S и LSU рДНК (99 последовательностей, 4517 сайтов) было подготовлено для филогенетического анализа. Выборка таксонов была разработана с целью демонстрации максимального филогенетического разнообразия споровиков и полноты последовательностей в выравниваниях путем преимущественного отбора таксонов, имеющих последовательности как SSU рДНК, так и LSU рДНК. Отсутствующие нуклеотидные сайты 5.8S и LSU рДНК были отмечены как «N» в объединенном наборе данных. Выравнивания рДНК были созданы в MUSCLE 3.661 с параметрами по умолчанию, а затем вручную скорректированы и объединены с помощью BioEdit 7.0.9.062; столбцы, содержащие мало нуклеотидов или гипервариабельные области, удаляли. В качестве аутгрупп были использованы страменопилы и ризарии (см. Miroljubova et al., 2020).

Анализ максимального правдоподобия проводился с использованием RAxML 8.2.963 в рамках модели GTR +  $\Gamma$  и приближения CAT (25 категорий на сайт). Процедура включала 100 альтернативных запусков ML-анализа и 1000 повторов многопараметрического бутстрэпа. Проценты начальной загрузки были объединены в деревьях (как ML, так и BI) с помощью одной и той же программы. Анализ байесовского подхода проводился в MrBayes 3.2.664 по модели GTR +  $\Gamma$  + I с 12 дискретными категориями гамма-распределения. Использовались следующие параметры:  $nst = 6$ ,  $ngammacat = 8$ , тарифы =  $invgamma$ ; параметры цепей Маркова Metropolis Coupling Monte Carlo (mcmc):  $nruns = 2$ ,  $nchains = 4$ ,  $temp = 0,2$ ,  $ngen = 10\ 000\ 000$ ,  $samplefreq = 1\ 000$ ,  $burninfrac = 0,5$ . (см. Mioliubova et al., 2020).

В данной диссертации результат филогенетического анализа положения агамококцидий среди споровиков не представлен. В полном виде полученные результаты представлены в Mioliubova et al., 2020. Некоторые исследованные агамококцидии были использованы в транскриптомном анализе (см. ниже).

**Получение транскриптома и филогенетический анализ по белковым последовательностям.** Сбор материала происходил на Беломорской биологической станции МГУ в августе 2016 г. Клетки паразитов (Таблица 1) изолировали из тканей хозяина с помощью вручную оттянутой стеклянной микропипетки (для отделения клеток элеутерошизона использовали 30% этанол, см. выше), промывали 1–4 раза чистой морской водой и переносили в чистую пробирку в конечном объеме 2–5 мкл морской воды (при необходимости лишняя морская вода была удалена после непродолжительного центрифугирования). Для лизиса клеток в пробирку с паразитами добавляли 100 мкл буфера (из набора для выделения тотальной РНК RNAqueous-Micro; Ambion/Thermo-Fisher) и хранили при температуре 80°C в течение нескольких недель. Тотальную РНК экстрагировали из образцов с помощью набора RNAqueous-Micro (Ambion/Thermo-Fisher) в соответствии с инструкциями производителя, но без этапа гидролиза ДНКазой I. РНК подвергали обратной транскрипции с использованием набора SMART-Seq v4 Ultra Low Input RNA Kit (Takara), 20-30 циклов амплификации. Индексированные библиотеки TruSeq были созданы в Edinburgh Genomics и секвенированы как парные чтения по 150 п.н. на двух мультиплексированных дорожках на машине Illumina HiSeq 4000. Демультимплексированные считывания обрабатывались программой Cutadapt v1.8.3 для удаления нуклеотидов низкого качества (настройка  $-q\ 20$ ), хвостов полиА, адаптеров SMARTer и остатков штрих-кодов Illumina (на 3'-концах более коротких фрагментов последовательностей). Считывания с минимальной длиной в 100 нуклеотидов были собраны в Trinity v2.4.0 с использованием настроек по умолчанию. Считывания необработанных последовательностей и наши сборки последовательностей были депонированы в биопроектах NCBI: PRJNA557242 и PRJNA556465 (Janouškovec et al., 2019).

Был создан набор выравниваний по 296 последовательностям белков (детали см. в Janouškovec et al., 2019). Окончательные наборы данных по 296 последовательностям белков были перестроены с помощью алгоритма localpair в MAFFT, обрезаны с использованием настроек `-b 4 g 0,4` в BMGE и объединены в Scafos v1.25. На последнем этапе последовательности, полученные из разных штаммов одного и того же вида (например, были обнаружены два варианта в транскриптомах *Siedleckia* cf. *nematoides*, которые, возможно, происходят от двух криптических видов), были объединены в единые операционные таксономические единицы. Последовательности некоторых представителей (например, группа Actinocerphaloidea) были объединены. Все указанное выше позволило получить основную филогенетическую матрицу с 50 видами, 99908 позициями и 10,6% недостающих данных. Окончательная матрица была проанализирована в IQ-TREE с использованием модели LG+I+G4+F, а лучшее дерево было выбрано в качестве направляющего дерева при более тщательном анализе с помощью модели LG+G4+F+C60+PMSF; были рассчитана 1000 UFBoot2 и 100 непараметрических бутстрэпов. Основная филогенетическая матрица также была проанализирована с помощью 10 независимых запусков PhyloBayes (либо стандартная версия 4.1c, либо версия MPI 1.7b) с моделью GTR+CAT и удаленными константными сайтами (настройка `-dc`). Каждая цепочка выполнялась в течение 1000 циклов, из которых первоначальные 250 были отброшены, а оставшиеся (10 x 750) были объединены для вычисления консенсусного дерева ( $\text{maxdiff} = 0,23$ ,  $\text{mendiff} = 0,00057$ ).

Результат филогенетического анализа на основе 296 последовательностей белков представлен на рисунке 33А. Некоторые фотографии изученных паразитов на рисунке 33Б были сделаны автором диссертации с помощью микроскопов Leica DM 2500, оснащенных DIC-оптикой и цифровой камерой (Leica, Германия) на ББС МГУ и УНБ «Беломорская» СПбГУ.

### **Вклад автора в исследования, вошедшие в диссертацию**

В данной диссертации используются результаты научных исследований, выполненных автором диссертации лично и в соавторстве. В таблице 1 приведен объем оригинального материала, который был получен лично автором диссертации.

Автор диссертации внесла непосредственный вклад в: планирование исследований, сбор и идентификацию хозяев, вскрытие хозяев, изолирование паразитических протист из тканей хозяев, фиксирование изолированных объектов для дальнейшего изучения методами световой, флуоресцентной и электронной (трансмиссионной, растровой) микроскопии и методами

молекулярной биологии. Автор лично проводила весь комплекс исследований апикомплекс на светооптическом и электронно-микроскопическом уровнях (от фиксирования материала до получения изображений) и интерпретировала полученные данные. Автор диссертации сама не выделяла ДНК и не получала транскрипты из изолированных и специфически фиксированных паразитов. Однако автор участвовала в обработке данных молекулярно-филогенетических и транскриптомных анализов, в обсуждении и корректировке условий для построения филогенетических гипотез. Кроме того, автор диссертации участвовала в интерпретации иммуно-цитологического материала, задокументированного при помощи конфокальной микроскопии. Во всех случаях автор участвовала в подготовке полученных материалов к публикации. Микрофотографии и схемы, полученные и подготовленные автором лично, указаны в таблице 1. В разделе «Материалы и методы исследования» автор дает описание использованных в диссертационном исследовании методов, а в разделе «Основная часть» при изложении результатов автор указывает на конкретные свои достижения в тех или иных исследованиях.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. В базальных группах споровиков доминирует открытый эпицеллюлярный паразитизм, что позволяет рассматривать его как анцестральную форму взаимоотношений между паразитами и их хозяевами.
2. Появление прикрепительной органеллы и сохранение клеточной подвижности на стадии трофозоида рассматриваются как адаптации споровиков базальных групп к открытому эпицеллюлярному паразитизму в кишечнике хозяина.
3. Закрытый эпицеллюлярный паразитизм возникал вторично и независимо в эволюции споровиков разных линий; в каждом случае этот тип паразитизма можно рассматривать как более специализированный по сравнению с открытым эпицеллюлярным паразитизмом.
4. Внутриклеточная стадия у споровиков базальных линий может присутствовать кратковременно на начальном этапе их эндогенного развития; такой тип паразито-хозяинных отношений является анцестральным для споровиков в целом.
5. Пластиды широко распространены у споровиков базальных групп и имеют общее происхождение; у эугрегариин наблюдается неоднократное исчезновение пластид в связи с их более глубокой адаптацией к внеклеточному паразитизму.

## Степень достоверности и апробация результатов

По теме диссертации автор опубликовала 19 статей (см. список публикаций по теме диссертации) в журналах, рекомендованных ВАК РФ (индексируются в библиографических базах WoS (в том числе WoSCC), SCOPUS, РИНЦ). В 9-ти статьях я выступала как основной автор (первый, второй корреспондирующий и последний автор). Во всех случаях автор участвовала в подготовке полученных материалов к публикации и в написании текста.

Основные результаты и выводы моей диссертации были доложены на различных мероприятиях (см. список выступлений по теме диссертации): на Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 140-летию со дня рождения Н.М.Книповича (2002, Мурманск), на конференциях «Молодые биологи Санкт-Петербурга – 300-летию города» (2003, Санкт-Петербург), «Проблемы современной паразитологии» (2003, Петрозаводск), на сессиях Учебно-научной базы «Беломорская» (Морской биологической станции) СПбГУ (2003, 2004, 2006, 2007, 2008, 2017, Санкт-Петербург), на семинаре стипендиатов программы ДААД «Михаил Ломоносов» (2006, Москва), на IV Всероссийской конференции по теоретической и морской паразитологии (2007, Калининград), на секциях 5-го (2007, Санкт-Петербург) и 6-го (2011, Берлин) Европейского конгресса по протистологии, на выступлениях 10-го (2008, Париж) и 12-го (2016, Турку) Европейского Мультиколлоквиума по паразитологии, на 1-ом Азиатском конгрессе по протистологии (2011, Чеджу), на устных презентациях 10-х Чешско-Словенских дней паразитологии Масарикова университета (2012, Брно), 43-х дней по протозологии им. Отто Йировец (2013, Ческе Будеёвице) и в 4-ой встрече паразитологов «Паразиты в сердце Европы» (2014, Стара Лесна), на конференции «Студенты в полярных исследованиях» (2015, Брно), в докладах 49-го (2014, Санкт-Петербург) и 53-го (2018, Остенде) Европейского симпозиума по морской биологии, в презентациях 15-го Международного конгресса протистологии (2017, Прага), на выступлении в рамках 67-х Чтений, посвященных памяти члена-корреспондента Академии наук СССР, профессора В.А. Догеля (2022, Санкт-Петербург), на выступлениях на 14-ой Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря» (2022, Санкт-Петербург), на 8-ой Всероссийской конференции с международным участием «Школа по теоретической и морской паразитологии» (2022, Севастополь) и Всероссийской конференции «Морская биология в 21 веке: биология развития, молекулярная и клеточная биология, биотехнология морских организмов (памяти академика Владимира Леонидовича Касьянова)» (2023, Владивосток), а также на семинарах кафедры зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета (2007, 2018, 2022, Санкт-Петербург) и на

семинаре Лаборатории по изучению паразитических червей и протистов Зоологического института РАН (2024, Санкт-Петербург).

### **Структура и объём диссертации**

Работа состоит из введения, девяти глав основной части, заключения, выводов, списков публикаций и выступлений автора по теме диссертации, списка цитированной литературы, а также перечня таблиц и иллюстраций (всего 267 страниц). Основная часть изложена на 181 страницах и содержит 34 рисунка и 11 таблиц. Список цитированной литературы включает 363 наименований, из которых 27 на русском языке, и 336 – на иностранных.

### **Благодарности**

Автор благодарен родным, друзьям и коллегам, оказавшим поддержку и помощь в работе над диссертацией. Я благодарю научного руководителя Андрея Игоревича Грановича за критические замечания и ценные советы по работе. Особая признательность - моему учителю Андрею Александровичу Добровольскому (28.05.1939 – 16.07.2019) за привитую любовь к одноклеточным организмам и за инициацию моей работы и неизменный интерес к ней.

Исследования диссертации были поддержаны следующими фондами: ДААД (2005-2006, Германия), ЕСО-NET (2009-2010, Франция), РФФИ (проекты № 09-04-01682, 15-04-08870, 18-04-00324, 18-04-01359), РФФИ (проекты № 18-14-00123, 22-24-00427), а также Санкт-Петербургским государственным университетом (проекты 1.42.514.2013, 1.42.1277.2014, 1.42.1493.2015, 1.42.1099.2016, 1.42.723.2017, 1.42.739.2017) и Техническим университетом Дрездена (2005, 2006, 2009, персональные проекты). Часть исследований была выполнена в Ресурсных центрах (Культивирование микроорганизмов, Развитие молекулярных и клеточных технологий, Обсерватория экологической безопасности) Санкт-Петербургского государственного университета (СПбГУ); Технического университета Дрездена (ТУД) и Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова (ИЭФБ). Автор выражает признательность сотрудникам этих научных центров за помощь в работе; особая признательность профессору Рудольфу Энтцероту и Маркусу Гюнтеру (ТУД), Максиму

Германовичу Воробьеву (СПбГУ), Владимиру Михайловичу Семенову и Татьяне Александровне Харкевич (ИЭФБ).

Я искренне благодарю коллектив учебно-научной базы «Беломорская» СПбГУ и Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова за создание условий сбора и обработки материала и за неизменную доброжелательность. Неоценимую помощь в сборе материала оказали Ольга Николаевна Котенко и Сергей Викторович Багров (СПбГУ).

## Основная часть

### Глава 1 Принятая в диссертации система споровиков

Название группы Apicomplexa было введено Норманом Левином (Levine, 1970) как попытка улучшить более раннее название Sporozoa, предложенное Рудольфом Лейкартом (Rudolf Leuckart) в 1879 году для кокцидий и грегариин. По мнению некоторых авторов, название «спорозоа» кажется неудачным, потому что в слово входит корень «спора». Термин «спора» используется не только зоологами-протистологами, но и ботаниками в отношении низших и высших растений. Кроме того, не у всех споровиков есть спора (дисперсионная стадия для передачи паразита новому хозяину через внешнюю среду) в жизненном цикле. Название Apicomplexa, по задумке Левина, должно было объединить «настоящих» споровиков, а именно грегариин, кокцидий, гемоспоридий, и, чуть позже, пироплазмид, по особенностям тонкого строения. На тот момент жизненные циклы у многих представителей были изучены фрагментарно, а молекулярно-филогенетических данных не было вовсе (Levine et al., 1980). Более того, Левин расширил границы таксона Apicomplexa. Он объединил под этим таксоном перкинсид (Perkinsea Levine, 1978), паразитических жгутиковых протистов, и собственно споровиков, оставив за последними название Sporozoa Leuckart, 1879 (Levine et al., 1980). Стоит отметить, что название «Apicomplexa» хорошо подходило к объединенным организмам, так как оно снимало проблемы, связанные со жгутиконосцами, которые имеют некоторые органеллы апикального комплекса, однако, в их жизненном цикле нет стадии подобной споре споровиков (Adl et al., 2012; Corliss, 1984). Необходимо добавить, что такой подход поддерживался далеко не всеми исследователями (Крылов, Добровольский, 1980; Corliss, 1984; Сох, 1994, 2002; Vivier, 1982). Чуть позже перкинсиды были вынесены из апикомплекса как ранняя ветвь динофлагеллят (Goggin, Barker, 1993; Kuvardina et al., 2002; Perkins et al., 2000). Это привело к тому, что названия таксонов Apicomplexa и Sporozoa снова стали синонимами, где Apicomplexa является младшим синонимом.

В данной диссертации используется система, в которой Apicomplexa представляет собой надтаксон с двумя таксонами: Chrompodellida Janoušková et al., 2015, включающий в себя близкородственных свободноживущих хищных жгутиконосцев (кольподелид) и фотосинтезирующих симбионтов кораллов (хромерид), и Sporozoa (младший синоним Sporozoasida Levine, 1980). В терминах классической таксономии, клада Apicomplexa получает статус типа, тогда как Sporozoa - подтипа (Simdyanov et al., 2018). Ниже приведена

макросистема подтипа Sporozoa, принятая в данной диссертации. Жирным шрифтом выделены таксоны, представители которых были использованы в исследованиях, вошедших в мою диссертацию.

Тип Apicomplexa Levine, 1970, emend. Simdyanov et al., 2018

Подтип Sporozoa Leuckart, 1879 (Syn. Sporozoasida Levine, 1985), emend. Simdyanov et al., 2018

Класс Blastogregarinea Chatton et Villeneuve, 1936, emend. Simdyanov et al., 2018

**Отряд Siedleckiida Simdyanov et al., 2018**

Класс Gregarinomorpha Dufour, 1828, emend. Simdyanov et al., 2017

**Отряд Archigregarinida Grassé, 1953, emend. Dobrovolsky, 1980**

**Отряд Eugregarinida Léger, 1900, emend. Simdyanov et al., 2017 \***

Класс Coccidiomorpha Doflein, 1901, emend. Krylov, 1980

**Отряд Agamococcidiida (Levine, 1979) emend. Mioliubova et al., 2020 \*\***

Отряд Corallicolida Kwong et al., 2021 \*\*

Отряд Pseudoklossiida Mioliubova et al., 2020 \*\*

«Aggregatiida» \*\*

Подкласс Coccidia Leuckart, 1879

Отряд Adeleida Léger, 1911 \*\*\*

**Отряд Protococcidiida Kheisin, 1956 \*\*\*\***

Отряд Eimeriida Léger, 1911

Подкласс Nematozoa Vivier, 1982

Отряд Haemosporidida Danilevsky, 1885

Отряд Piroplasmida Wenyon, 1926

Отряд Nephromycidida Cavalier-Smith, 1993

Insertae sedis: *Cryptosporidium* Tyzzer, 1910 \*\*\*\*\*

\* Отряд Neogregarinida Grassé, 1953, emend. Dobrovolsky, 1980 объединен с отрядом Eugregarinida. По молекулярно-филогенетическим работам неогрегарины являются полифилетической группой, представители которой произошли от разных эугрегаринов семейства Actinocerphalidae, паразитов насекомых (Adl et al., 2019; Simdyanov et al., 2017).

\*\* По молекулярно-филогенетическим данным агамококцидии *Rhytidocystis* Hennegu, 1907 и псевдоклосииды *Pseudoklossia* Léger, Duboscq, 1915 и *Margolisiella* Desser, Bower, 1997 образуют сестринскую группу к остальным кокцидиям, пироплазмам и кровяным споровикам (Janouškovec et al., 2019; Mathur et al., 2021; Mioliubova et al., 2020), поэтому некоторыми исследователями объединяются в таксон (надотряд в оригинале) Eococcidia Mioliubova et al., 2020 или в совокупности с *Aggregata* Frenzel, 1885 и *Merocystis* Dakin, 1911 (семейство Aggregatidae Labbé, 1899, вынесены из Eimeriida) в таксон (класс в оригинале)

Marosporida Mathur et al., 2021. Коралликолиды (включая *Gemmocystis cylindricus* Upton, Peters, 1986) были вынесены из агамококцидий на основе молекулярно-биологических данных по генным и пластидным маркерам и морфологии в самостоятельный таксон ранга отряда (Kwong et al., 2021). Исследования морских кокцидиоморф продолжаются, и таксономическое положение этих групп может быть снова изменено.

\*\*\* С использованием недавно полученных транскриптомных данных по двум представителям группы (*Klossia helicina* Schneider, 1875, *Legerella nova* Mesnil, 1900) был проведен масштабный филогеномный анализ споровиков, который показал, что аделеидные кокцидии (в оригинале - Adeleorina) формируют самостоятельную кладу, занимающую сестринское положение к кладе, образованной кокцидиями, протококцидиями, гемоспоридиями и нефромицидами (Na et al., 2024). Полученный результат показывает, что аделеидные кокцидии (паразиты беспозвоночных и позвоночных животных) не являются настоящими кокцидиями, а, по мнению авторов, рано отделились от кокцидиоморф и прошли самостоятельный путь эволюции от внеклеточного паразитизма к внутриклеточному, от кишечного паразитизма к тканевому и кровяному, от моноксенного жизненного цикла к гетероксенному. Необходимо дальнейшее изучение аделеидных кокцидий для более точного понимания эволюции и разнообразия этой группы.

\*\*\*\* По данным независимых мультигенных филогенетических анализов (Janouškovec et al., 2019; Mathur et al., 2021; Na et al., 2024; Paskerova et al., 2023) протококцидии *Eleutheroschizon* Brasil, 1906 образуют сестринскую линию к представителям отряда Eimeriida (*Eimeria*, *Toxoplasma*).

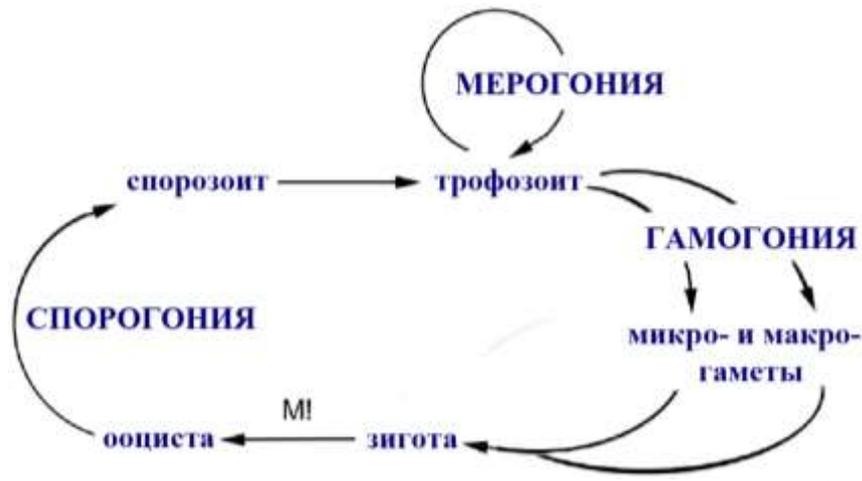
\*\*\*\*\* В разных молекулярно-филогенетических работах *Cryptosporidium* spp., паразиты позвоночных животных, демонстрируют филогенетическую близость к грегаринам, паразитам беспозвоночных животных, а также могут занимать сестринское положение к тканевым кокцидиям, к малярийным плазмодиям или даже по отношению ко всем споровикам сразу (Barta, Thompson, 2006; Carreno et al., 1999; Cavalier-Smith, 2014; Paskerova et al., 2018; Rueckert et al., 2018; Rueckert, Horak, 2017; Wakeman, Horiguchi, 2017; Zhu et al., 2000). Очевидно, что их филогенетическое положение на сегодняшний день не разрешено. Некоторые авторы объединяют грегарин и *Cryptosporidium* spp. в один таксон – Cryptogregarinorida Cavalier-Smith, 2014, emend. Adl et al., 2019 (Adl et al., 2019; Cavalier-Smith, 2014; Ryan et al., 2016). На мой взгляд, это объединение преждевременное и в данной работе не поддерживается. Для установления истинного положения криптоспоридий среди споровиков требуется крупномасштабный филогенетический анализ с привлечением морфо-функциональных и молекулярно-биологических данных по большому числу таксономических единиц из разных групп/филогенетических клад.

## **Глава 2 Основные черты споровиков, их стратегии паразитирования и эволюционные тенденции с обозначением фундаментальных задач-вопросов, требующих разрешения**

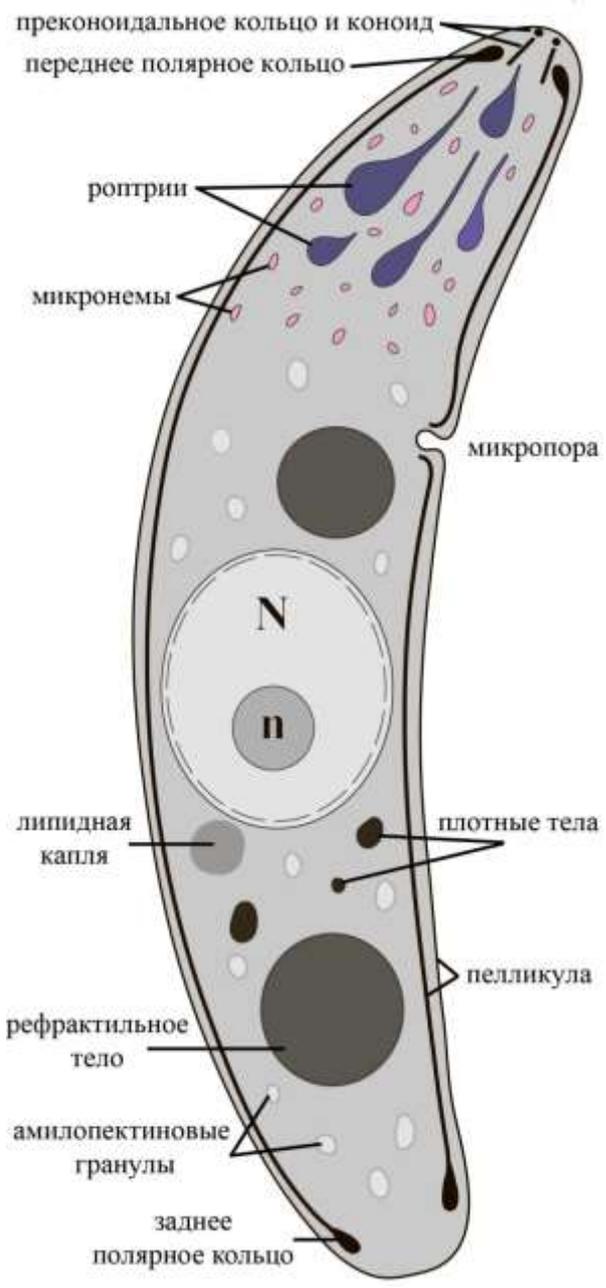
Споровики выработали различные адаптации для внедрения в хозяина и выживания в нем. Для споровиков характерен сложный жизненный цикл с чередованием нескольких стадий, как правило, в одном хозяине (Рисунок 1). Спорозоит – инвазионная стадия, единообразно организованная у всех споровиков. Трофозоит – растущий паразит, расположенный в характерном месте (полость или ткань органа) хозяина. Гамонт – зрелый трофозоит, способный к образованию гамет. В данной диссертации понятие «гамонт» используется для разных этапов созревания трофозоида у споровиков различных линий. Например, у бластогрегариин и протококцидий - для трофозоитов, у которых образовались генеративные ядра; у архигрегариин и эугрегариин - для трофозоитов, объединенных в сизигии; у эпицеллюлярных эугрегариин - для трофозоитов, оторвавшихся от тканей хозяина. В жизненном цикле последовательно сменяются фазы размножения паразита в хозяине: гаметогония (формирование и слияние гамет по типу сингамии) и спорогония (редукционное и митотические деления ядра зиготы и образование гаплоидных спорозоитов под общей оболочкой - ооцистой). Жизненный цикл может быть усложнен еще одной фазой - мерогонией - бесполом размножением трофозоитов (меронтов), приводящим к формированию мерозоитов для аутоинвазии хозяина.

Хотя бы на стадии зоита (спорозоит, мерозоит) споровики обладают пелликулой, характерной для альвеолят (*Alveolata*) и включающей в себя плазмалемму и уплощенные кортикальные альвеолы (внутренний мембранный комплекс), и апикальным комплексом органелл (Рисунок 1; Adl et al., 2019; Cavalier-Smith, 1991; Desportes, Schrével, 2013; Grassé, 1953). Внутренний мембранный комплекс пелликулы прерывается лишь в специализированных участках клетки (апикальный и задний концы зоитов с формированием переднего и заднего полярных колец, микропоры, органеллы прикрепления трофозоитов), а также может вторично утрачиваться на определенных этапах развития протистов (меронт, гамонт, гаметоциста). Микропоры образуются как инвагинация плазмалеммы с формированием вокруг устья воротничковой структуры за счет модифицированного внутреннего мембранного комплекса (Scholtyseck, 1979). Точная функция микропор, хотя и часто обсуждается, остается до конца неясной. Предполагается, что они представляют собой сайты покровов, через которые питательные вещества поступают в цитоплазму клетки (Chobotar, Scholtyseck, 1982; Scholtyseck, 1973; Scholtyseck, Mehlhorn, 1970; Vivier et al., 1970), и/или являются сайтами для выброса слизи, необходимой при движении паразита (Desportes, Schrével, 2013; Philippe, Schrével, 1982; Valigurová et al., 2013; Vegni Talluri, Dallai, 1983).

A



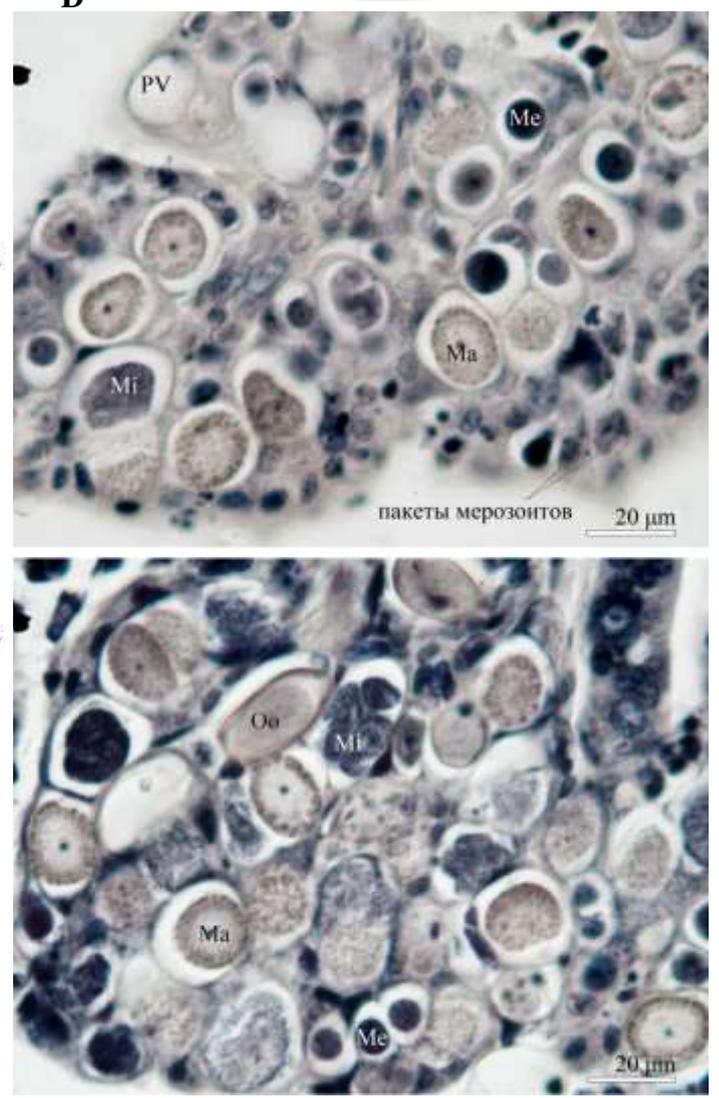
B



C



D



## Рисунок 1 - Жизненный цикл, организация зоита и пелликулы споровиков

**А.** Обобщенная схема жизненного цикла споровиков. **В.** Схема организации зоита на примере спорозоита кокцидий рода *Eimeria* (по Scholtyseck, 1979 с изменениями). **С.** Схема строения пелликулы и микропоры (МР) (поперечный и продольный срезы) споровиков (по Scholtyseck, 1979 с изменениями). Пелликула образована наружной мембраной (ОМ) и внутренним мембранным комплексом (ИМС). Под пелликулой располагается слой продольно ориентированных микротрубочек (МТ). Обратите внимание на утолщение внутреннего мембранного комплекса в районе устья микропоры и стенки микропорального впячивания плазмалеммы. **Д.** Гомоксенный жизненный цикл *Eimeria* sp. представлен на микрофотографиях гистологических срезов кишечника кролика, интенсивно зараженного паразитом (из коллекции препаратов кафедры зоологии беспозвоночных СПбГУ, окраска гематоксилином Гейденгайна). **Обозначения:** ИМС, внутренний мембранный комплекс пелликулы; Ма, макрогамонт; Ме, меронт; М<sub>1</sub>, лопастной микрогамонт; МР, микропора; МТ, микротрубочка; М!, редукционное деление (мейоз); N, ядро; n, ядрышко; Оо, ооциста; ОМ, наружная мембрана (плазмалемма) пелликулы; РV, паразитофорная вакуоль.

Для зоитов споровиков (Рисунок 1В) характерна выраженная полярность клетки, при которой передний конец структурно и функционально связан с органеллами апикального комплекса. Секреты этих органелл участвуют в подвижности зоитов, в процессе их проникновения в ткань/клетку хозяина, организации паразитофорной вакуоли и внутривакуолярного пространства при внутриклеточной локализации, а также при выходе из клетки хозяина (Dubremetz et al., 1998; Fréнал et al., 2017; Keeley, Soldati, 2004; Opitz, Soldati, 2002; Sibley, 2004; Soldati et al., 2004; и др.). У одних споровиков в ходе их развития органеллы апикального комплекса (весь или частичный набор) начинают также принимать участие в процессе питания путем мизоцитоза, высасывания цитоплазмы клетки хозяина, наподобие того, как это делают хищные кольподеллиды (Simdyanov, Kuvardina, 2007; Leander, 2008a). Тогда как у других споровиков органеллы апикального комплекса исчезают после окончательной локализации паразита в хозяине. Задний конец зоитов — цитологически и молекулярно сложно организованный полюс клетки, расположенный за задним полярным кольцом — принято в литературе называть «базальным комплексом». Как показали исследования последних лет, базальный комплекс также участвует во многих процессах паразита: в подвижности, в проникновении в ткань/клетку хозяина, в организации паразитофорной вакуоли и ее внутривакуолярного пространства при внутриклеточной локализации, а также при делении (Fréнал et al., 2020; Morano, Dvorin, 2021; Roumégous et al., 2022).

Споровики демонстрируют две основные эволюционные стратегии паразитирования: 1) внутриклеточный паразитизм, при котором паразит после внедрения в хозяина утрачивает клеточную полярность и подвижность; 2) внеклеточный паразитизм, при котором паразит сохраняет полярность клетки, модифицирует аппарат прикрепления к клетке хозяина и механизм подвижности (Крылов, Добровольский, 1980; Valigurová et al., 2015). Единожды или независимо несколько раз возникли эти два способа паразитизма, а также встречаются ли иные способы взаимоотношений паразита и хозяина – вопросы современных исследований паразитических апикомплексов.

## 2.1 Проникновение зоита в клетку хозяина

На сегодняшний день накоплено довольно много данных о механизме проникновения споровиков в клетку хозяина. Однако эти данные, главным образом, получены при работе лишь с несколькими модельными объектами – внутриклеточными паразитами из гемоспоридий (*Plasmodium*), пироплазмид (*Babesia*, *Theileria*), кокцидий (*Toxoplasma*, *Eimeria*) и криптоспоридий на определенном этапе их жизненного цикла (спорозоит и/или мерозоит) (Fréchal et al., 2017; Heintzelman, 2015; Shaw, 2003; Sibley, 2004; и др.). Проникновение зоита в клетку хозяина представляет собой многоэтапный процесс: поиск и распознавание необходимой клетки хозяина (мишени); прикрепление к клетке-мишени и проникновение в клетку-мишень с формированием вокруг себя паразитофорной вакуоли. Каждый этап сопровождается своими молекулярными событиями, сопряженными с секрецией и выбросом определенных веществ органеллами апикального комплекса (Fréchal et al., 2017; Shaw, 2003; Sibley, 2004). Более того, в каждом этапе участвует цитоскелет и кальций-зависимые пути метаболизма паразита (Dobrowolski, Sibley, 1996; Lovett, Sibley, 2003; Lovett et al., 2002). Внедрение споровиков в клетку хозяина отличается комплексом физиологических процессов на молекулярном уровне от проникновения других эукариотических одноклеточных паразитов, а также от проникновения бактерий и вирусов (Sibley, 2004). В среднем за 15-20 секунд споровик полностью проникает в клетку хозяина. Это происходит примерно в 5 раз быстрее фагоцитоза (Fréchal et al., 2017; Sibley, 2004).

Процессы поиска клетки-мишени и проникновения в нее обычно возможны при сохранении подвижности зоитов. Скольжение обеспечивается поверхностными адгезивными белками, связанными с актин-миозиновым моторным аппаратом (глизеосома) в кортексе паразита. Разрушение компонентов пелликулы приводит к потере подвижности зоита, что

подтверждает, что архитектура пелликулы играет важную структурную роль в скольжении клетки (Dubremetz et al., 1998; Frénal et al., 2017; Keeley, Soldati, 2004; Opitz, Soldati, 2002; Sibley, 2004; Soldati et al., 2004; и др.). Поверхностные адгезиновые белки (AMAs, apical membrane antigens; TRAPs, thrombospondin-related anonymous proteins; MICs, microneme proteins) встраиваются в плазмалемму в результате экзоцитоза микронем в зоне апекса зоита, формируют контакт посредством актин-связывающих белков (GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ARP, actin-related proteins; aldolase) с актиновой фибриллой, образующейся в пелликулярном пространстве между плазмалеммой и внутренним мембранным комплексом, и протягиваются актин-миозиновым моторным комплексом к заднему концу, где располагаются протеазные комплексы, сбрасывающие адгезины с поверхности паразита. Поверхностные адгезины образуют контакт с клеткой хозяина или с другим субстратом. Таким образом, при протягивании их назад возникает сила, толкающая паразита вперед; зоит начинает скользить. Позади двигающегося вперед зоита остается след из сброшенных адгезивных белков (Boucher, Bosch, 2015; Frénal et al., 2017; Heintzelman, 2015; Shaw, 2003; Sibley, 2004; и др.).

Механизм скольжения зоита, который основан на образовании временных актиновых филаментов и их фиксации к внутреннему мембранному комплексу, требует стабильной субпелликулярной сети микротрубочек. В связи с этим, цитоскелетные структуры споровиков имеют ряд особенностей. Субпелликулярные микротрубочки необычайно стабильны и выдерживают высокое давление, холод и детергенты, в то время как актиновые филаменты (F-актин) чрезвычайно непостоянны, и актин присутствует преимущественно в глобулярной форме (Heintzelman, Mateer, 2008; Morrissette, 2002). Микрофиламенты споровиков обычно можно наблюдать только после обработки реагентами, стабилизирующими F-актин, такими как, например, ясплакинолид (Valigurová et al., 2017).

Среди различных семейств адгезивных белков выделяются апикальные мембранные антигены (AMAs, apical membrane antigens). Они образуют связь с белками роптрий (RONs, rhoptry neck proteins), которые встраиваются в мембрану клетки хозяина в месте проникновения зоита. Белковый комплекс AMA-RON с участием других белков хозяина и самого паразита образуют подвижное соединение (moving junction). В этом месте происходит перестройка мембраны и ее инвагинация внутрь цитоплазмы клетки хозяина. Паразит протискивается через образованный сайт проникновения в ограниченное мембраной пространство, которое замыкается за ним и становится паразитофорной вакуолью (Frénal et al., 2017, 2020; Heintzelman, 2015; Lamarque et al., 2014; Sibley, 2004). Предполагается, что в процессах замыкания паразитофорной вакуоли и мембраны инвазированной клетки хозяина играет роль базальный комплекс зоита (Gubbels et al., 2022).

Криптоспоридии не обладают AMA и RON белками и не внедряются в клетку кишечного эпителия хозяина. Однако на стадии спорозойта они прикрепляются к апикальной части энтероцита и инициируют образование вокруг себя паразитофорного мешка за счет слияния выростов зараженной клетки (Valigurová et al., 2008a). Известны некоторые детали процесса формирования выростов клетки хозяина (Chen et al., 2004, 2005; Elliott, Clark, 2000; Hashim et al., 2006; Perkins et al., 1999). Показано, что в нем участвуют аквапорин 1 (AQP1) и натрий-зависимый транспортер глюкозы (SGLT1) клетки хозяина. Эти два транспортера располагаются в мембране энтероцита в зоне контакта с паразитом и в мембране паразитофорного мешка, образованного вокруг паразита. Во время проникновения в клетку хозяина паразит индуцирует их работу, что обеспечивает поступление глюкозы и воды в клетку хозяина. Это, в свою очередь, приводит к увеличению объема апикальной части клетки хозяина и к образованию выростов, которые обрастают и, в конечном счете, инкапсулируют паразита. Функциональное ингибирование этих транспортеров останавливает процесс инкапсуляции, и, напротив, переэкспрессия аквапорина приводит к интенсификации процесса формирования паразитофорного мешка. С увеличением объема клетки хозяина и, как следствие, с формированием клеточных выростов связан и процесс полимеризации актина. Актиновые филаменты собираются и связываются в сеть, которая располагается под зоной контакта паразита с энтероцитом и в самих выростах клетки хозяина, обрастающих паразита (Borowski et al., 2008). Показано, что фосфорилирование тирозинкиназы в мембране клетки хозяина – необходимая предпосылка для полимеризации актина. Этот процесс включается в первые 30 секунд после инокуляции спорозойтов в культуру клеток-мишеней (Borowski et al., 2008; Forney et al., 1999). Продемонстрировано, что моноклональные антитела к криптоспоридиям садятся на мембрану паразитофорного мешка. Это подтверждает, что мембрана этого образования несет белки двойного происхождения: от хозяина и от паразита (Bonnin et al., 1995; McDonald et al., 1995; O'Hara et al., 2004).

Как модифицируется строение зойта, меняется его подвижность и в какие взаимоотношения он вступает с клеткой хозяина при развитии в трофозойт у представителей разных филогенетических линий – важная фундаментальная задача современных исследований.

## **2.2 От споровиков к афелидам**

Обобщение материала по проникновению споровиков в клетку хозяина может помочь в понимании того, как другие одноклеточные организмы заражают клетку хозяина. Изложенное в

этом разделе обобщение я использовала в статье-мнении по биологии афелид, опубликованной в соавторстве (Karov, Paskerova, 2020).

Внутриклеточные паразиты наряду с чертами, характерными для всех паразитических организмов (возложение на хозяина взаимоотношений с внешней средой, метаболическое взаимодействие с организмом хозяина, антагонистические отношения с ним, усложнение жизненного цикла, и т.д.), обладают оригинальными способами внедрения в клетку хозяина. Известны следующие способы проникновения: 1) инъекция инвазионного начала через выворачивающуюся трубку споры микроспоридий (возможно, один из самых древних способов внедрения в клетку хозяина); 2) инвагинация плазмалеммы клетки хозяина под влиянием паразита (например, споровики); 3) использование пищеварительной вакуоли, образовавшейся при фагоцитозе паразита клеткой хозяина (например, лейшмании).

В литературе по афелидам (*Aphelida*, *Opisthosporidia*) и розеллам (*Rozella*, *Opisthosporidia*) – необычным протистам, филогенетически близким к микроспоридиям и развивающимся, главным образом, в клетках водорослей и зооспоровых грибов, – имеются противоречивые наблюдения по расположению их трофонта (питающейся стадии) в клетке хозяина. Для этих организмов характерен следующий жизненный цикл. Зооспоры садятся на поверхность хозяина и инцистируются. Цисты образуют трубку проникновения, через которую в клетку хозяина проталкивается амeboидный зародыш за счет быстрого развития задней вакуоли в цисте. Оказавшись внутри клетки хозяина, протист начинает поглощать цитоплазму хозяина путем фагоцитоза и расти подобно амebe. Наконец, трофонт полностью замещает цитоплазму клетки хозяина и превращается в многоядерный плазмодий. Плазмодий распадается на споры (одножгутивые или амeboидные с развитым или редуцированным жгутиком), которые покидают оболочку хозяина.

Существует мнение, что афелиды, на самом деле, проникают в пространство между клеточной стенкой и плазмалеммой клетки хозяина и поглощают цитоплазму зараженной клетки через фагоцитоз «снаружи». Представители рода *Rozella*, напротив, фагоцитируют цитоплазму клетки хозяина «изнутри» (Тимофеев и др., 2020; Powell, Letcher, 2019). Поэтому возникла необходимость прокомментировать взаимодействие трофонтов розеллид и афелид с их хозяевами, в частности прояснить некоторые моменты на основе более глубокого анализа поведения трофонтов у афелид, в сравнении с имеющимися знаниями по проникновению в клетку хозяина микроспоридий и споровиков.

В случае трофонтов розеллид были выявлены вариации в количестве мембран, граничащих с цитоплазмой паразитоида и хозяина. Трофонт внутри хозяина всегда ограничен собственной плазмалеммой, но хозяин может образовать дополнительные 1-2 мембраны вокруг паразитоида. На ранних этапах развития паразитоид окружен лишь одной мембраной –

производной плазмалеммы клетки хозяина. Это свидетельствует в пользу того, что при проникновении в клетку-жертву розеллиды не нарушают целостность плазмалеммы хозяина, а, скорее, вызывают ее инвагинацию, и, как следствие, оказываются в паразитофорной вакуоли внутри цитоплазмы клетки хозяина. На более поздних этапах развития эта первичная паразитофорная вакуоль разрушается и может быть замещена новыми мембранными структурами (одной или двумя), но уже не являющимися производными наружной мембраны, а, скорее, производными гладкого и/или шероховатого эндоплазматического ретикулума клетки хозяина (Held, 1973; Letcher et al., 2017; Powell, 1984; Powell, Letcher, 2019; Powell et al., 2017).

У микроспоридий, ближайших родственников *Rozella*, при срабатывании экструзионного аппарата споры полярная трубка оказывается вывернутой наружу. Ее дистальный конец взаимодействует с клеткой хозяина, образуя контакт с ее плазмалеммой (так называемый «инвазионный синапс»). В области взаимодействия либо полярная трубка может вводить спороплазму сквозь плазмалемму в цитоплазму клетки хозяина, либо сама спороплазма может взаимодействовать с плазмалеммой клетки хозяина, вызывая инвагинацию плазмалеммы или индуцируя фагоцитоз у клетки хозяина. Первый вариант взаимодействия паразита с клеткой хозяина приводит к тому, что микроспоридия изначально оказывается прямо в цитоплазме клетки хозяина. Тогда как второй вариант должен приводить к формированию вакуоли (фагасомной или иной по природе) на основе плазмалеммы клетки хозяина вокруг проникшего паразита (Cali et al., 2017; Nan et al., 2020). Действительно, микроспоридии могут развиваться в непосредственном контакте с цитоплазмой клетки-хозяина или быть изолированными от чужеродной цитоплазмы мембранами, которые формируются либо самим паразитом, либо его хозяином, либо паразитом и хозяином обоюдно. Такие различия в развитии микроспоридий в клетке-хозяине известны даже у близкородственных паразитов (Исси, 1986; Cali et al., 2017; Sokolova et al., 2013, 2014). Как уже было сказано выше, количество и происхождение мембран в зоне взаимодействия паразита и его хозяина существенно различаются и у близкородственных видов розеллид.

В работах с применением электронной микроскопии было показано, что афелиды в клетке хозяина окружены, помимо собственной плазмалеммы, одной мембраной, которая появляется с момента проникновения паразитоида. То есть афелиды также лежат в паразитофорной вакуоли внутри цитоплазмы клетки-жертвы. Лишь на поздних стадиях развития трофонта, когда он превращается в многоядерный плазмодий и полностью вытесняет/поглощает цитоплазму клетки хозяина, паразитофорная вакуоль вокруг него разрушается (Karpov et al., 2014, 2017, 2020). В некоторых работах пойман момент проникновения афелид в клетку хозяина, при котором плазмалемма хозяина, инвагинирующая перед проникающим паразитом, имеет разрыв

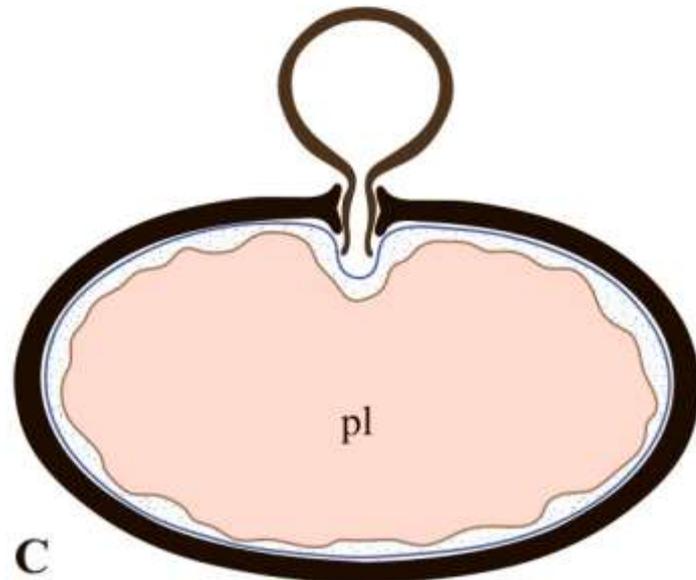
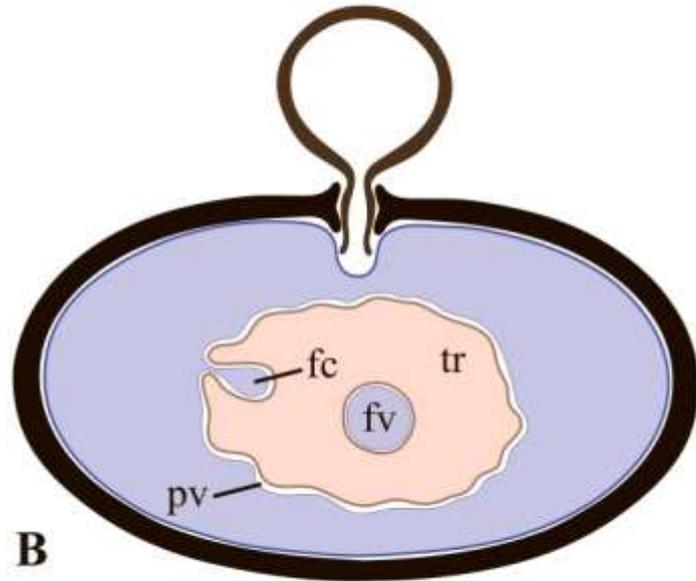
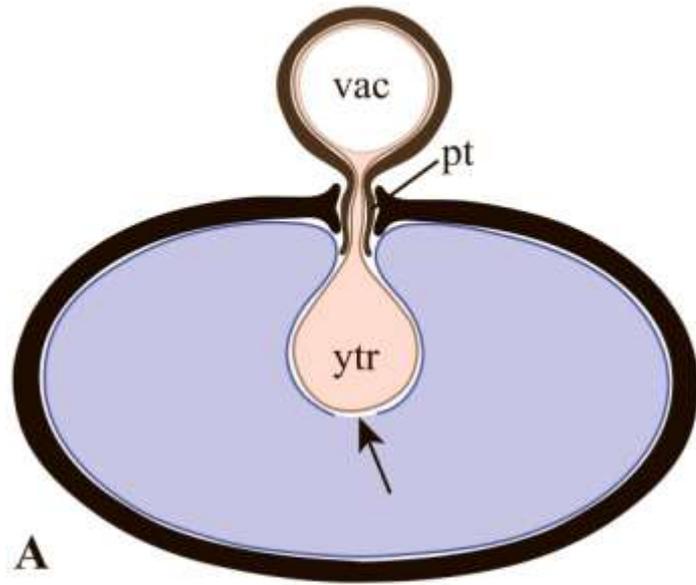
(Karpov, Paskerova, 2020; Schnepf et al., 1971). Такие наблюдения указывают на то, что при быстром проникновении паразитоида в клетку хозяина может возникнуть разрыв плазмалеммы, которая потом репарируется хозяином или замещается его эндомембранами (Рисунок 2). Это хорошо согласуется с наблюдаемыми процессами при проникновении некоторых споровиков.

Зоиты споровиков, как было сказано в предыдущей главе, проникают в клетку хозяина, вызывая у последней инвагинацию плазмалеммы (Bisio, Soldati-Favre, 2019; Burrell et al., 2020; Frénel et al., 2017). Сам процесс инвазии протекает очень быстро: он может занимать 5–10 секунд для спорозоитов *Eimeria* spp. и *Toxoplasma gondii* (Chobotar et al., 1993; Nichols, O'Connor, 1981). В ряде случаев возможно прерывание плазмалеммы клетки хозяина в результате быстрой инвазии споровика (например, *Eimeria* spp.) с последующим образованием вокруг паразита новой, возникшей в результате репарации или замещения, паразитофорной вакуоли (Burrell et al., 2020; Scholtyseck, 1975, 1979).

Изложенные здесь примеры указывают на то, что временный и локальный разрыв плазмалеммы клетки хозяина может происходить при проникновении разных внутриклеточных паразитов: у микроспоридий и споровиков, а также у розеллид и их близких родственников – афелид. Нарушение целостности мембраны паразитофорной вакуоли может быть восстановлено либо самим паразитом (в случае споровиков), либо хозяином (в случае заражения *Rozella* spp.), либо и паразитом, и хозяином (микроспоридии) (Karpov, Paskerova, 2020).

### 2.3 Прикрепительный аппарат трофозоитов

В литературе был поднят вопрос о необходимости ввести классификацию прикрепительных органелл у споровиков на основе их происхождения, организации и участия в транспорте веществ из хозяина в паразита. Была предложена гипотеза о разном происхождении и строении прикрепительных органелл грегариин: мукрона у архигрегариин и эпимерита у эугрегариин (Simdyanov et al., 2017). Обобщая данные литературы (Baudoin, 1969; Desportes, 1969; Desportes, Schrével, 2013; Devauchelle, 1968; Hildebrand, 1976; Kováčiková et al., 2017; Ormierès, 1977; Ormierès, Daumal, 1970; Ouassi, Porchet-Hennerè, 1978; Paskerova et al., 2018, 2021; Schrével, Vivier, 1966; Schrével et al., 2016; Simdyanov, Kuvardina, 2007; Simdyanov et al., 2017, 2018; Tronchin, Schrével, 1977; Valigurová, 2012; Valigurová, Koudela, 2005, 2008; Valigurová et al., 2007, 2008, 2009), можно заключить, что степень развития прикрепительного аппарата у трофозоитов споровиков зависит от способа их локализации в хозяине и от их



**Рисунок 2 - Интерпретация образования паразитофорной вакуоли при быстром проникновении паразитоида в клетку-жертву на примере взаимодействия *Aphelidium* (*Aphelida*, *Opisthosporidia*) и зеленой водоросли**

**А.** Первые секунды после продвижения молодого трофонта (utr) по трубке проникновения (pt) благодаря развитию задней вакуоли (vac), инвагинации и прорыва (стрелка) наружной мембраны клетки хозяина. **В.** Амебoidalный трофонт (tr) в восстановленной паразитофорной вакуоли (pv) поглощает цитоплазму клетки хозяина, формируя фагоцитарную чашечку (fc), а затем фагоцитарную вакуоль (fv). **С.** Многоядерный плазмодиум (pl) почти полностью вытеснил цитоплазму хозяина и лежит в аморфном матриксе, окруженном плазмалеммой клетки хозяина.

Хозяин: стенка клетки – черный цвет, цитоплазма – голубой цвет, плазмалемма – синий цвет, аморфный матрикс – голубые точки. Паразитоид: стенка цисты – коричневый цвет, цитоплазма – розовый цвет, плазмалемма – темный розовый цвет. Масштаб не соблюден.

эволюционной истории: внутритканевая или внутриклеточная локализация без развития прикрепительного аппарата (нет выраженной полярности клетки) или с редуцированным аппаратом (агамококцидии, кокцидии, некоторые несептированные эугрегарины, неогрегарины); прикрепление к клетке(ам) хозяина за счет мукрона, развивающегося на основе апикального конца зоита, часто сохраняющего органеллы апикального комплекса и принимающего непосредственное участие в мизоцитозе (архигрегарины); прикрепление к клетке(ам) хозяина за счет прикрепительной органеллы (эпимерит) разной степени сложности строения, которая возникает впереди апикального конца зоита, не обладает органеллами апикального комплекса и, возможно, участвует в трансмембранном транспорте веществ (несептированные и септированные эугрегарины); формирование прикрепительного аппарата за счет модификации переднего отдела трофозоида, например, протомерита (некоторые септированные грегарины). Исследование различных способов контакта споривиков с клеткой хозяина позволит лучше понять становление и эволюцию паразитизма в этой группе.

## **2.4 Пластиды базальных споривиков**

У некоторых архигрегаринов и агамококцидий были обнаружены органеллы с 4-мя наружными мембранами и электронно-плотными телами или ламеллярными структурами внутри (Leander, Ramey, 2006; Schrével et al., 2016), морфологически сходные с апикопластами,

зарегистрированными у таких внутриклеточных споровиков как *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Eimeria*, *Babesia*, *Theileria* (Lim, McFadden, 2010; Tomova et al., 2006, 2009), но достоверно отсутствующими у *Cryptosporidium parvum* и у септированной эугрегарины *Gregarina niphandrodes* (Huang et al., 2004b; Toso, Omoto, 2007). Апикопласт по происхождению считается производной хлоропласта красной одноклеточной водоросли, заимствованной в результате вторичного эндосимбиогенеза предком апикомплекс. Эта органелла обладает экстремально редуцированным геномом, у которого нет никаких генов, отвечающих за фотосинтез. Однако в его геноме присутствуют гены биосинтеза (FAS II) изопреноидов и жирных кислот. Экспериментальные работы показали, что разрушение пластиды вызывает гибель паразита. Считается, что производство жирных кислот необходимо для паразита, чтобы создать паразитофорную вакуоль и производить необходимые вещества при внутриклеточном паразитизме споровиков (Fichera, Roos, 1997; Funes et al., 2007; Gleeson, 2000; He et al., 2001; Janouškovec et al., 2010; Jomaa et al., 1999; Lim, McFadden, 2010; McFadden, 2011; Moore et al., 2008; Waller et al., 1998).

От каких именно одноклеточных организмов мог произойти этот пластидный эндосимбионт было показано при исследовании пластид двух фотосинтезирующих родственников споровиков — *Chromera velia* Moore et al., 2008 и *Vitrella brassicaformis* Oborník et al., 2012 (Janouškovec et al., 2010; Moore et al., 2008; Oborník et al., 2012). Пластиды этих одноклеточных также окружены четырьмя мембранами, и у них есть особенности общие с пластидами споровиков и пластидами пигментированных перидинином динофлагеллят, что указывает на их общее происхождение (Janouškovec et al., 2010). *Chromera* и *Vitrella* вместе с гетеротрофными кольподеллидами *Alphamonas edax*, *Voromonas pontica* и «*Colpodella*» *angusta*, которые также сохраняют нефотосинтетические пластиды, принадлежат к монофилетической группе, называемой хромподеллидами (Gile, Slamovits, 2014; Janouškovec et al., 2015). Отсутствие пластид в некоторых группах споровиков используется как свидетельство в пользу альтернативной гипотезы о независимом происхождении пластид у апикомплекс, динофлагеллят и хромподеллид (Bodył, 2005; Bodył et al., 2009). Изучение встречаемости пластид среди апикомплекс и их близких родственников, а также особенности пластидного метаболизма могут пролить свет на происхождение паразитизма среди этих одноклеточных.

## 2.5 Подвижность трофозои́та

Внеклеточный паразитизм, хоть и встречается среди кокцидиоморф (*Coccidiomorpha*), например, у протококцидий и агамококцидий, в большинстве случаев характерен для грегариин (*Gregarinomorpha*). Грегарины паразитируют в различных наземных и водных беспозвоночных (аннелиды, турбеллярии, артроподы, иглокожие, урохордаты) и занимают различные биотопы в пределах хозяина: кишечная трубка и ее производные (мальпигиевые сосуды артропод, водное легкое голотурий), полость тела и репродуктивные и иные органы. На стадии трофозои́та эти споровики демонстрируют большое разнообразие форм и типов подвижности клетки, которые часто коррелируют с локализацией паразита в пределах хозяина. Обитающие в кишке хозяина грегарины обычно имеют либо червеобразную форму и способны извиваться всем телом (архигрегарины), либо вытянутую форму и способны к скольжению без изменения формы клетки (большинство эугрегариин). Паразиты из полости тела, тканей или репродуктивных органов хозяина имеют овальную или округлую форму (моноцистиды и некоторые уроспори́ды) или даже древовидную форму (*Pterospora* spp.). Как правило, такие грегарины демонстрируют метаболизирующую (или перистальтическую) подвижность клетки, а некоторые из них, напротив, неподвижные вовсе (Дякин, Паскерова, 2004; Фролов, 1991; Coulon, Jangoux, 1987; Desportes, Schrével, 2013; Diakin et al., 2016; Dyakin, Simdyanov, 2005; Landers, Gunderson, 1986; Levine, 1977; MacMillan, 1973; Miles, 1968; Perkins et al., 2000; Schrével, 1964, 1971a, b).

Точный механизм подвижности трофозои́тов грегариин остается неизвестным. Лишь у небольшого числа видов архигрегариин и эугрегариин были исследованы подвижность клетки и предположительно связанные с ней внутриклеточные структуры (Baines, King, 1989; Chen, Fan-Chiang, 2001; Ghazali, Schrével, 1983; Ghazali et al., 1989; Heintzelman, 2004; Heintzelman, Mateer, 2008; Hildebrand, 1980; Mackenzie, Walker, 1983; Mellor, Stebbings, 1980; Miles, 1966; Walker et al., 1984; Schrével et al., 1974, 1983; Stebbings et al., 1974; Valigurová, 2012; Valigurová et al., 2009, 2013). Эти исследования указывают на то, что локомоция грегариин отличается от субстрат-зависимого скольжения, наблюдаемого у зоитов споровиков. Было показано, что для зоитов споровиков не характерно иметь стабильные микрофиламенты, хорошо выявляемые методами (иммуно)окрашивания. Однако у трофозои́тов грегариин мечение фаллоидином выявило наличие F-актина даже без применения реагентов, стабилизирующих филаменты. Выявление фибриллярного актина хорошо согласуется с гипотезой, что движение трофозои́тов базальных споровиков обусловлено работой цитоскелета, связанного с пелликулой и/или лежащего в более глубоких слоях цитоплазмы в виде продольных и кольцевых мионем (Beams

et al., 1959; Crawley, 1905; Fowell, 1936b; Heintzelman, 2004; Hildebrand, 1980; Miles, 1966; Warner, 1968).

Скольжение характерно для трофозоитов большинства эугрегарин. Эту подвижность можно наблюдать у неприкрепленных (свободных) эугрегарин, контактирующих с субстратом. Они скользят поступательно вперед (прогрессивная подвижность) передним концом клетки, обычно без каких-либо изменений в форме их тела. Когда эугрегарины прикреплены к тканям хозяина, то лишь только приповерхностные токи окружающей их внутренней среды хозяина могут быть видны вокруг паразита. Как правило, токи среды проходят от переднего к заднему концу паразита. Очевидно, что, даже будучи прикрепленными, трофозоиты эугрегарин сами создают токи жидкости вокруг себя. Можно предположить, что такое перемещение наружной среды идет постоянно вокруг паразита. Необходимо добавить, что непосредственный контакт трофозоида эугрегарины с твердым субстратом не является необходимым условием для скольжения. Так, гамонты *Gregarina* spp. способны флотировать в жидкой среде со скоростью превышающей таковую при скольжении вдоль твердого субстрата (Diakin et al., 2016; Valigurová et al., 2013).

Наиболее вероятно, скольжение трофозоитов эугрегарин определяется строением их пелликулы. Пелликула образует продольные гребни с набором цитоскелетных структур в их вершине: апикальные арки или RDS (rippled dense structures) между плазмалеммой и внутренним мембранным комплексом; 12-нм филаменты (или апикальные филаменты), лежащие под внутренним мембранным комплексом; внутренняя ламина (базальная «мембрана», электронно-плотный слой из плотно упакованных тонких фибрилл), которая подстилает внутренний мембранный комплекс и может образовывать связки в основании каждого гребня, обособляя цитоплазму гребня от основной клеточной цитоплазмы (Desportes, Schrével, 2013; Heller, Weise, 1973; Hildebrand, 1980; Lucarotti, 2000; MacMillan, 1973; Philippe et al., 1982; Sanders, Poinar, 1973; Sathananthan, 1977; Schrével et al., 1983; Tronchin, Schrével, 1977; Vávra, 1969; Vávra, Small, 1969; Vivier, 1968; Vivier et al., 1970; Walsh, Callaway, 1969). Считается, что именно такие, специфически организованные, эпицитарные гребни участвуют в создании силы, проталкивающей эугрегарину вперед. Предполагается, что эпицитарные гребни могут ундулировать в горизонтальной (вдоль гребня) и вертикальной (в вершине гребня) плоскостях. Можно предположить, что подвижность эпицитарных гребней зависит от полимеризованной формы актина (F-актин), локализованного в пелликуле гребней. Множественная экскреция слизи, секретлируемой в цитоплазме, также участвует в скольжении эугрегарин. При интенсификации выброса слизи происходит увеличение скорости скольжения трофозоида эугрегарины. Возможно, слизь необходима для снижения силы трения,

возникающей при перемещении паразита в водной среде (Симдянов, 2007; Diakin et al., 2016; King, 1981, 1988; Mackenzie, Walker, 1983; Valigurová et al., 2013; Vávra, Small, 1969).

Различные модификации эпицита отмечены у трофозоитов эугрегариин семейств Monocystidae и Urosporidae, которые паразитируют в целоме, водных легких и семенных пузырьках различных кольчатых червей и иглокожих (Дякин, Паскерова, 2004; Фролов, 1991; Dyakin, Simdyanov, 2005; Landers, 1991, 2001; Landers, Gunderson, 1986; Landers, Leander, 2005; MacMillan, 1973; Miles, 1968; Vinckier, 1969; Vinckier, Vivier, 1968). Этим эугрегариинам, как правило, свойственна метаболизирующая подвижность, при которой периодически меняется форма клетки. Изменение формы может быть вызвано волнообразным сокращением или изгибанием всей клетки или только ее участка(ов). Как правило, такая подвижность клетки не приводит к прогрессивному перемещению паразита в пространстве. Предполагается, что метаболизм трофозоитов эугрегариин обеспечивается субпелликулярным цитоскелетом, природа которого (только микрофибриллы или в сочетании с микротрубочками) остается не до конца известной (Diakin et al., 2016; MacMillan, 1973; Warner, 1968). Именно таким эугрегариинам необходимо уделить пристальное внимание для установления происхождения паразитизма в целоме хозяина и корреляции между строением кортекса и тем или иным типом клеточной подвижности.

## 2.6 Фундаментальные задачи, требующие разрешения

Сказанное выше выявляет до сих пор неразрешенную проблему разнообразия стратегий паразитирования у споровиков разных филогенетических ветвей. Стратегия паразитирования определяется набором адаптаций к существованию в хозяине: варианты превращения спорозоида в трофозоит, способы контакта трофозоида с клеткой/тканями хозяина, механизм подвижности трофозоида, а также наличие у него пластиды и особенности ее метаболизма. Для решения этой проблемы исследователям нужно решить следующие, тесно связанные между собой задачи:

1. Определить разнообразие способов контакта паразита с клеткой или тканью хозяина у споровиков разных филогенетических ветвей.
2. Классифицировать прикрепительные органеллы споровиков на основе происхождения, строения и функции.
3. Установить корреляцию между строением кортекса и присущим типом клеточной подвижности у споровиков с различными вариантами локализации в хозяине.

4. Выявить встречаемость пластид и разнообразие их метаболических путей у споровиков разных эволюционных линий.

5. Определить филогенетические отношения между базальными линиями споровиков.

Данная диссертация направлена на решение некоторых из этих задач на примере представителей базальных филогенетических линий споровиков: архигрегариин, бластогрегариин, несептированных эугрегариин, агамококцидий и протококцидий.

### Глава 3 Архигрегарины: стратегии паразитирования при монотипичной организации клетки

Архигрегарины (Archigregarinida Grassé, 1953) паразитируют в морских беспозвоночных, главным образом, в полихетах. Общеизвестно, что архигрегарины сохранили множество плезиоморфных признаков, унаследованных от наиболее близкого предка всех апикомплексов (Cavalier-Smith, Chao, 2004; Cox, 1994; Desportes, Schrével, 2013; Grassé, 1953; Leander, 2008a; Leander, Keeling, 2003). Результаты молекулярной филогении, основанной на анализе последовательностей рДНК, согласуются с гипотезой, что архигрегарины являются группой, от которой, наиболее вероятно, произошли другие грегарины (Cavalier-Smith, 2014; Cavalier-Smith, Chao, 2004; Grassé, 1953; Lax et al., 2024; Paskerova et al., 2018; Rueckert, Horák, 2017; Rueckert, Leander, 2009a; Schrével et al., 2016; Wakeman, Horiguchi, 2017; Wakeman, Leander, 2012, 2013; Wakeman et al., 2014).

Мерогония имеет место в жизненном цикле некоторых архигрегаринов (Adl et al., 2012; Desportes, Schrével, 2013; Grassé, 1953). Норман Левин (Levine, 1971b, 1985) и его последователи (Perkins et al., 2000) придавали большое значение присутствию/отсутствию мерогонии в жизненном цикле архигрегаринов и перенесли виды без мерогонии в группу эугрегаринов (Eugregarinida Léger, 1900). Напротив, Жозеф Шревель с соавторами не считали наличие или отсутствие мерогонии важной характеристикой для классификации архигрегаринов (Desportes, Schrével, 2013; Schrével, 1970, 1971a, b; Schrével et al., 2016). Последнюю точку зрения разделяли также и другие исследователи (Крылов, Добровольский, 1980; Kuvardina, Simdyanov, 2002; Leander, 2006, 2007; Rueckert, Horák, 2017; Rueckert, Leander, 2009a; Simdyanov, Kuvardina, 2007). Следует добавить, что доказать отсутствие мерогонии в жизненном цикле грегаринов довольно трудно. И в этом случае, таксономия группы и выбор таксономически важных признаков должны базироваться на особенностях морфологии, которые можно рутинно определить у трофозоитов с помощью стандартных методов световой и электронной микроскопии.

На сегодняшний день известно более 80 видов архигрегаринов. Большинство из них относятся к роду *Selenidium* (Desportes, Schrével, 2013; Lax et al., 2024; Levine, 1971b; Paskerova et al., 2018; Rueckert, Horák, 2017; Rueckert, Leander, 2009a; Wakeman, Horiguchi, 2017; Wakeman, Leander, 2012, 2013; Wakeman et al., 2014). Опубликованные данные молекулярной филогении неоднократно демонстрируют гетерогенность рода *Selenidium*, представители которого, тем не менее, обладают сходными морфологическими признаками. Такой морфологический консерватизм получил название «морфостазис» (Leander, Keeling, 2003). Это

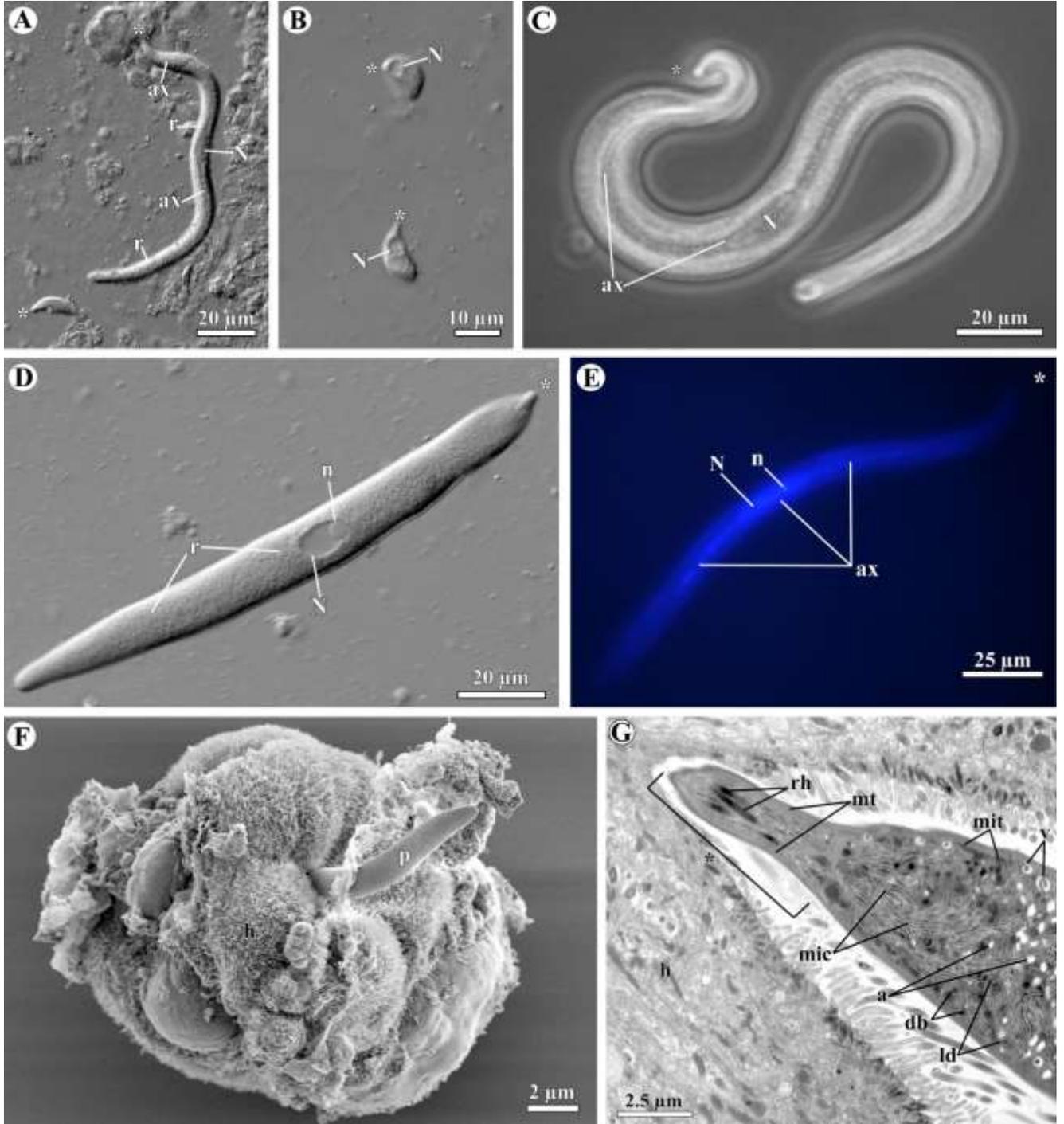
явление, при котором набор признаков, типичных для инвазивной стадии (зоитов), присущ апикомplexам на протяжении почти всего жизненного цикла: и на стадии зоита, и на стадии трофозои́та. По образному выражению профессора Ж. Шревели, трофозоиты архигрегари́н - это «гипертрофированно развитые зоиты» (Schrével, 1971a).

Совместно с моими коллегами я провела исследование двух новых видов архигрегари́н: *Selenidium pygospionis*, паразит кишки полихет *Pygospio elegans* из Белого моря и *Polydora glycymerica* из Японского моря, и *S. pherusaе*, кишечный паразит полихеты *Pherusa plumosa* из Японского моря (Paskerova et al., 2018). Мой вклад в исследование двух новых архигрегари́н заключается в исследовании морфологии *S. pygospionis* и в обобщении данных, полученных моими коллегами по морфологии *S. pherusaе* и филогенетическому положению двух новых видов (Таблица 1). Кроме того я участвовала в изоляции и фиксации необычных архигрегари́н *Ditrypanocystis* sp. из олигохет *Enchytraeus albidus* (Таблица 1) и в последующем анализе морфологии этого паразита и его взаимоотношений с хозяином по электронограммам, полученным моими соавторами (Butaeva et al., 2006). Результаты этих исследований подтверждают и дополняют некоторыми деталями выше сказанное об архигрегари́нах, а также позволяют предложить для них разные стратегии паразитирования.

### 3.1 Строение трофозои́та архигрегари́н на примере *Selenidium pygospionis* и *S. pherusaе*

Строение трофозои́тов *S. pygospionis* и *S. pherusaе* укладывается в общее представление об этой стадии у архигрегари́н. Это сравнительно большие клетки, которые сохраняют организацию зоита, а их передний конец превращен в мукрон (Schrével, 1968; Schrével et al., 2016; Simdyanov, Kuvardina, 2007; Wakeman, Horiguchi, 2017; Wakeman et al., 2014). Мукрон обладает набором органелл апикального комплекса и участвует в мизоцитозе цитоплазмы клетки хозяина. Покровы архигрегари́н представлены трехмембранной пелликулой. Пелликула подстлана продольно ориентированными микротрубочками, организованными в один или несколько слоев, прерывающихся в районе микропор (Рисунки 3-5). Ниже приведены некоторые детали строения и биологии этих паразитов (полное описание см. в Paskerova et al., 2018). Диагностические признаки, по которым исследуемые виды отличаются от других селенидиумов, представлены в таблицах 2 и 3.

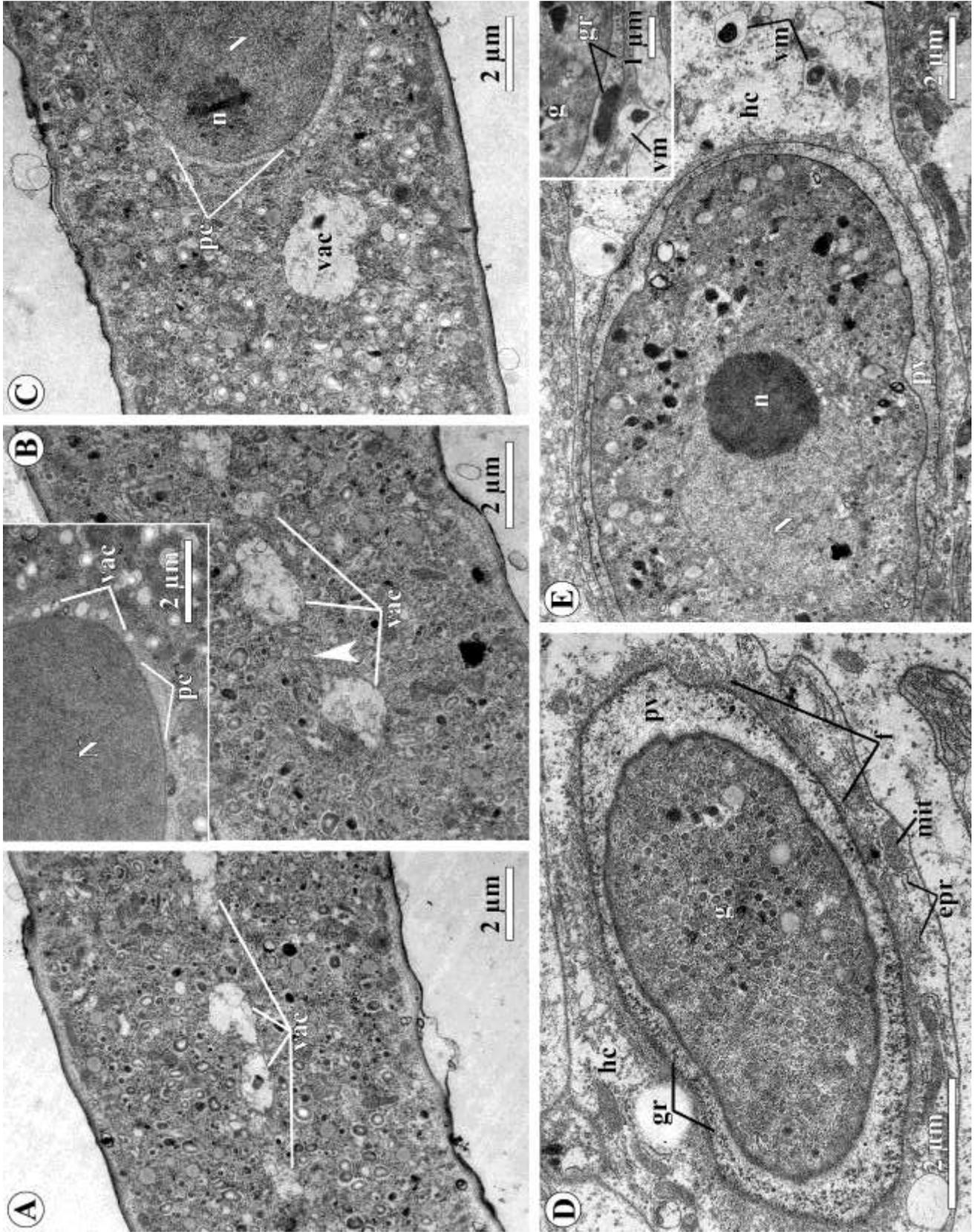
Трофозои́ты *S. pygospionis* закрепляются в ткани хозяина своим передним концом. Паразиты легко отделяются от кишечного эпителия при вскрытии хозяев. Самые мелкие трофозои́ты, предположительно молодые трофозои́ты вскоре после их превращения из зоитов



**Рисунок 3 - Морфология архигрегарины *Selenidium pygospionis*. Световая (А, В, D – дифференциально-интерференционный контраст, С – фазовый контраст, Е – флюоресцентная микроскопия) и электронная (F - сканирующая, G - трансмиссионная) микроскопия**

**А.** Молодой неприкрепленный и развитый прикрепленный трофозоиты. **В.** Молодые неприкрепленные трофозоиты. **С – D.** Крупные трофозоиты, лежащие на узкой стороне (С) и широкой стороне (D) уплощенного тела. **Е.** Крупный трофозоит со светящимися (благодаря накопленному красителю DAPI) пищеварительными вакуолями вдоль аксиального тяжа и вокруг ядра. **Ф.** Трофозоит, прикрепленный к кишечному эпителию хозяина. Поверхность паразита несет продольные борозды. **Г.** Детали строения переднего конца прикрепленного трофозоита.

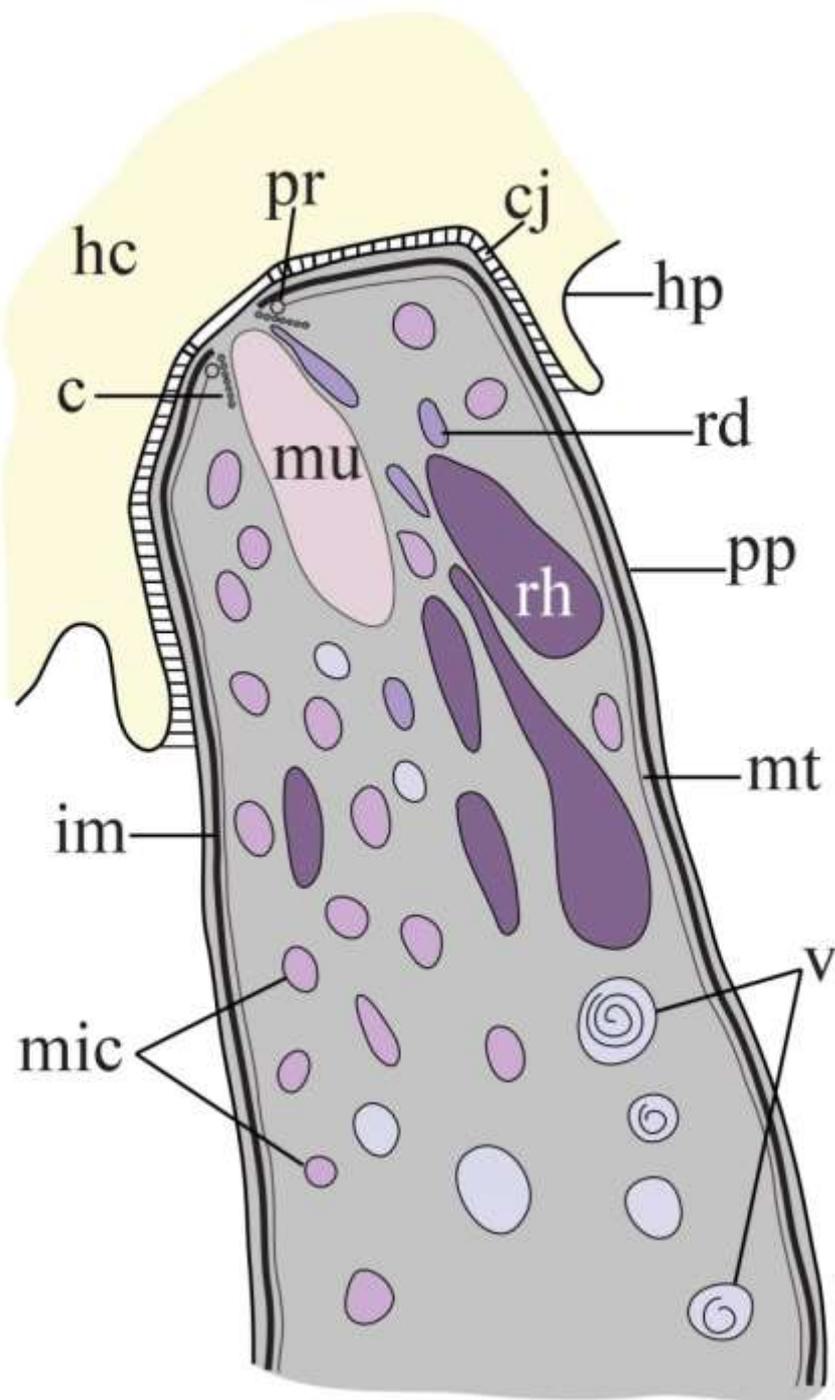
**Обозначения:** \*, передний конец (микрон); а, амилопектиновые гранулы; ах, аксиальный тяж; db, плотные тела; h, кишечный эпителий хозяина; ld, липидные включения; mic, микронемы; mit, митохондрии; mt, субпелликулярные микротрубочки; N, ядро; n, ядрышко; p, паразит; r, радиальные нити аксиального тяжа; rh, роптрия; v, вакуоли.



**Рисунок 4 - Тонкое строение архигрегарины *Selenidium pygospionis*: организация цитоплазмы, внутриклеточная стадия. Трансмиссионная электронная микроскопия**

**А – С.** Продольные срезы трофозоитов в районе ядра. Обратите внимание на серию пищеварительных вакуолей (vac) разного размера вдоль продольной оси и вокруг ядра (N) клетки. **Вставка в В.** Электронносветлая зона (pc) вокруг ядра (N) с мелкими вакуолями (vac). **Д-Е.** Поверхностный (D) и продольный (E) срезы через паразита (g), локализованного в паразитофорной вакуоли (pv) в пределах энтероцита хозяина (hc). **Вставка в Е.** Скопление электронно-плотных гранул (gr) в паразитофорной вакуоли и везикула с миелиноподобной структурой (vm) в цитоплазме хозяина (hc).

**Обозначения:** стрелка, мембранный туннель между двумя вакуолями; ерг, мембраны ЭПР клетки хозяина; f, фибриллы; g, архигрегарины; gr, электронно-плотные гранулы; hc, клетка хозяина; mit, митохондрии клетки хозяина; N, ядро; n, ядрышко; pc, электронносветлая цитоплазма; pv, паразитофорная вакуоль; vac, вакуоли; vm, везикула с миелиноподобной структурой.



**Рисунок 5 - Схема строения переднего конца архигрегарины, прикрепленной к кишечному эпителию хозяина, на примере *Selenidium pherusaе* (масштаб не соблюден)**

**Обозначения:** с, коноид; сj, септатный контакт между клеткой хозяина и паразитом; hc, клетка хозяина; hp, плазмалемма клетки хозяина; im, внутренний мембранный комплекс пеликулы; mic, микронемы; mt, слой субпелликулярных микротрубочек; mu, мукрональная вакуоль; pp, плазмалемма паразита; pr, полярное кольцо; rh, роптрия; rd, участок протока роптрии; v, вакуоль.

(скорее всего, спорозоитов), имеют веретенообразную форму с заостренным передним концом и закругленным задним концом. Их длина варьирует от 15 до 23  $\mu\text{m}$ , а ширина от 6 до 7  $\mu\text{m}$  в средней части клетки. В передней половине клетки располагается округлое ядро. Паразиты могут слегка изгибаться в одной плоскости, но не скользят. Хорошо развитые трофозоиты являются удлинёнными, червеобразными и слегка уплощенными протистами. Их длина варьирует от 34 до 288  $\mu\text{m}$ ; их максимальная ширина (4–25  $\mu\text{m}$ ) приходится на середину клетки, где находится овальное ядро. Ядро вытянуто вдоль продольной оси клетки. Сферическое ядрышко обычно располагается у переднего полюса ядра. Передний конец паразитов крючковидный, загнутый в срединной плоскости в сторону одной из уплощенных сторон клетки. Мукрон куполообразный с гладкой поверхностью. У некоторых особей в центре вершины мукрона имеется небольшая ямка. В мукроне располагаются коноид, роптрии и микронемы. Задний конец трофозоитов закруглен. На всей поверхности архигрегариин имеется 22–30, обычно 28, широких и невысоких складок, разделенных бороздами. На дне борозд располагаются многочисленные микропоры; их края слегка приподняты над поверхностью клетки. Развитые трофозоиты имеют аксиальный тяж оптически отличной цитоплазмы от основной массы и простирающийся от переднего конца к заднему концу с образованием расширения вокруг ядра. Многочисленные тонкие радиальные нити отходят от аксиального тяжа к периферии клетки. Аксиальный тяж особенно хорошо просматривается под световым микроскопом у трофозоитов, лежащих на одной из узких сторон. Как прикрепленные, так и неприкрепленные клетки активно изгибаются в срединной плоскости. Свободные архигрегарины обычно изгибаются на одной из своих узких сторон, совершая ненаправленное (непоступательное) перемещение вдоль субстрата. Средние по размерам трофозоиты обычно образуют 1–2 изгиба вдоль клетки, а крупные – 2–4. Изгибание клетки всегда начинается с закручивания крючковидного переднего конца (Рисунок 3; см. также видео S1 в Paskerova et al., 2018). Фиксированные архигрегарины обычно сохраняют изгибы тела, обусловленные их подвижностью. На внутренней поверхности каждого изгиба появляются небольшие поперечные компрессионные складки пелликулы. Трофозоиты *S. pygospionis* не способны к сокращению клетки вдоль продольной оси. Гамонты этого вида образуют каудальные сизигии, т.е. партнеры объединяются задними концами. Гамонты в сизигиях продолжают изгибаться, но асинхронно по отношению друг к другу (см. видео S2 в Paskerova et al., 2018). Сизигии выносятся с фекалиями хозяина во внешнюю среду, где, по всей видимости, проходят дальнейшие процессы гамето- и спорогонии.

Цитоплазма трофозоитов *S. pygospionis* нечетко дифференцирована на две области: эктоплазму и эндоплазму. Первая представляет собой узкую субкортикальную область, содержащую субпелликулярные микротрубочки, многочисленные митохондрии под ними и

везикулы, расположенные в районе микропор и содержащие свернутые множественные мембранные профили или электронно-плотный материал. Эндоплазма, остальная часть цитоплазмы, содержит крупное ядро, многочисленные гранулы амилопектина и липидные капли, небольшое число электронно-плотных телец и митохондрий. Органеллы и включения распределены в эндоплазме неравномерно. Вокруг ядра, вдоль оси клетки и перпендикулярно ей видны узкие электронно-светлые пространства без каких-либо видимых органелл. Кроме того, вдоль оси клетки впереди и позади ядра в эндоплазме располагается ряд вакуолей разного размера. Некоторые из них связаны друг с другом мембранными туннелями. Содержимое этих вакуолей, в основном, электронно-прозрачное с небольшим количеством рыхлого фибриллярного материала. Мелкие вакуоли аналогичного вида окружают ядро вместе с электронно-прозрачным участком цитоплазмы (Рисунок 4). Я предполагаю, что аксиальный тяж *S. pygospionis*, хорошо заметный у живых архигрегариин под световым микроскопом, представляет собой систему вакуолей, возникающих в мукроне при мизоцитозе и транспортирующих питательные вещества от переднего конца к заднему вдоль оси клетки. Следует отметить, что многочисленные вакуоли вокруг ядра обнаружены и в цитоплазме *S. pendula* (Schrével, 1970, 1971a). Эта архигрегариина может иметь систему пищеварительных вакуолей схожую с таковой у *S. pygospionis*.

В своем исследовании я показала, что некоторые архигрегарины *S. pygospionis* были глубоко внедрены в кишечный эпителий, почти достигая его базальной пластинки. Кроме того, мелкие одиночные трофозоиты (до 40  $\mu\text{m}$  в длину) были обнаружены лежащими внутри клетки хозяина в пределах паразитофорной вакуоли. Организация этих особей в целом идентична таковой у внеклеточных трофозоитов. Содержимое паразитофорной вакуоли электронно-прозрачное и заполнено фибриллярным материалом и электронно-плотными гранулами. Плотность расположения гранул возрастает к периферии паразитофорной вакуоли вплоть до образования скопления электронно-плотных гранул вблизи мембраны паразитофорной вакуоли. Сами паразитофорные вакуоли снаружи окружены электронно-плотным фибриллярным материалом, мембранами эндоплазматического ретикула, многочисленными митохондриями и цитоплазматическими везикулами с мультимембранными включениями, тогда как остальная часть цитоплазмы хозяина остается электронно-прозрачной с редкими органеллами и везикулами (Рисунок 4).

Трофозоиты *S. pherusaе* прикрепляются к кишечному эпителию хозяина передним концом, но их легко отделить от ткани во время вскрытия хозяина. Трофозоиты удлинённые, червеобразные, 38–269  $\mu\text{m}$  в длину и 10–18  $\mu\text{m}$  в ширину. Передний конец сужен и слегка усечен (Рисунок 5), а задний обычно закруглен у крупных особей или заострен у мелких трофозоитов. Шаровидное ядро (11–12  $\mu\text{m}$ ) располагается в задней половине трофозоида, в

наиболее широкой части клетки. Ядро содержит одно ядрышко, 3–5  $\mu\text{m}$  в диаметре. У трофозоитов нет ни продольных пелликулярных борозд (складок) на поверхности, ни аксиального тяжа в цитоплазме. Как прикрепленные, так и неприкрепленные архигрегарины демонстрируют изгибательную подвижность всей клеткой, обычно по одному изгибу клетки за раз. При изгибе на внутренней поверхности изогнутой части клетки формируются компрессионные поперечные складки поверхности, видимые даже в световой микроскоп. Некоторые фиксированные грегарины были слегка спирально скручены вдоль продольной оси клетки.

Покровы *S. pherusae* имеют типичное для архигрегариин строение — трехмембранная пелликула. На поверхности клеток встречаются редкие микропоры типичного строения. Субпелликулярные микротрубочки организованы в один ряд. Усеченный и асимметричный мукрон паразита образует протяженную (длиной до 4  $\mu\text{m}$ ) зону контакта с клеткой хозяина. Зона контакта мембран двух клеток представляет собой щель шириной 10–30 нм, организованной по типу септированных межклеточных контактов. Мукрон содержит полярное кольцо, коноид, несколько роптрий и микронем. Коноид представляет собой усеченный полый конус, состоящий из 6–7 спирально расположенных микротрубочек. Внутренний мембранный комплекс пелликулы завершается возле полярного кольца вблизи апикального конца коноида. К базальной части коноида примыкает объемная мукрональная вакуоль неправильной формы. Мукрональная вакуоль заполнена гетерогенным материалом и пузырьками с электронно-прозрачным содержимым. Мукрональная вакуоль окружена несколькими роптриями и многочисленными микронемами. Протоки роптрий проходят сквозь коноид, вплотную прилегая к мукрональной вакуоли, и доходят до апикального полюса паразита. Содержимое протоков менее электронно-плотное, чем в самих роптриях. В цитоплазме передней трети паразита присутствуют многочисленные микронемы и несколько везикул с электронно-плотным материалом внутри мультимембранных профилей. Как и у *S. pygospionis*, у трофозоитов *S. pherusae* нет явной дифференциации цитоплазмы на экто- и эндоплазму. В отличие от *S. pygospionis*, у *S. pherusae* количество митохондрий под субпелликулярными микротрубочками значительно меньше (Рисунок 5).

Таблица 2 - Диагностические признаки архигрегариин из полихет семейства Spionidae

Виды	<i>Selenidium pendula</i> * Giard, 1884, типовой вид	<i>Selenidium spionis</i> (Kolliker, 1845) Ray, 1930	<i>Selenidium intraepitheliale</i> Reichenow, 1932	<i>Selenidium foliatum</i> Ray, 1930	<i>Selenocystis foliata</i> (Ray, 1930) Dibb, 1938, type species	<i>Selenidium cruzi</i> de Faria, da Cunha and da Fonseca, 1917
Синонимы			<i>Selenidioides intraepitheliale</i> (Reichenow, 1932) Levine, 1971	Синонимы (?), <i>Selenocystis foliata</i>		
		Синонимы (?), <i>Selenidium spionis</i>				
Хозяин (хозяева) (=синоним)	<i>Scoelepis (Scoelepis) squamata</i> (O.F. Müller, 1806) (= <i>Nerine cirratulus</i> )	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) (= <i>Scoelepis fuliginosa</i> )	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) (= <i>Scoelepis fuliginosa</i> )	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) (= <i>Scoelepis fuliginosa</i> )	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) (= <i>Scoelepis fuliginosa</i> )	<i>Dipolydora socialis</i> (Schmarda, 1861)
Типовое место находки	Вимрё, Ла-Манш, Восточная Атлантика	Плимут, Ла-Манш, Восточная Атлантика	Хельголанд, Ла-Манш, Восточная Атлантика	Плимут, Ла-Манш, Восточная Атлантика	Плимут, Ла-Манш, Восточная Атлантика	Рио-де-Жанейро, Западная Атлантика
Локализация в хозяине	кишка	кишка	кишка	кишка	кишка	кишка
Экстенсивность, интенсивность инвазии	100%, средняя	97%, высокая	—, высокая	70%, высокая	88%, —	—

## Продолжение таблицы 2

Форма трофозоитов	червеобразная, серповидная	червеобразная, слегка уплощенная	червеобразная, слегка уплощенная	листовидная, уплощенная, полиморфные	листовидная со срединным гребнем в передней половине	червеобразная, слегка уплощенная
Аксиальный тяж	присутствует	присутствует	—	—	—	—
Трофозоиты: длина x ширина (мин - макс, $\mu\text{m}$ )	150 – 180 x 30 – 40 или 147 – 260 x 12 – 48	30 – 300 x 25 – 50	до 200 в длину, —	30 – 250 x 10 – 30	30 – 250 x 12 – 25	100 – 160 x 15 – 26
Число продольных складок или борозд	20 – 30 или 30 - 34 в целом	24 – 30 или 20 в целом	24 – 30 в целом	16 – 24 в целом	16 – 24 в целом	8 на уплощенной стороне
Мукрон / передний конец	шаровидный, без борозд, с вакуолью внутри	широкий с ложкообразным углублением с одной стороны	—	широкий с конусообразным углублением с одной стороны	широкий с конусообразным углублением с одной стороны	заостренный, короткий
Задний конец	заостренный	заостренный	—	закругленный	закругленный	заострен
Форма и размеры ядра (мин – макс, $\mu\text{m}$ )	овальное, 36 x 15 или 16 – 28 x 7 – 22	овальное, —	—	овальное, —	овальное, 8 x 5	овальное, —
Расположение и ориентация ядра	передняя треть или половина, продольно	—, продольно	—	середина, продольно	середина, продольно	—, продольно
Ядрышко: форма, размеры и положение в ядре	сферическое, x 12 $\mu\text{m}$ , —	сферическое, x 5 $\mu\text{m}$ , у переднего полюса	—	сферическое, —, у переднего полюса	сферическое, —, у одного из полюсов	—
Мерогония	отсутствует	отсутствует	—	отсутствует	отсутствует	—
Сизигий	каудальный	каудальный	—	каудальный	каудальный	—

## Продолжение таблицы 2

Подвижность трофозоитов	маятникообразное покачивание	изгибание	—	S-образное изгибание или спиральное скручивание	S-образное изгибание или спиральное скручивание	—
Характерные особенности	спорозоит с 3 - 7 бороздами на поверхности	внутриклеточные крупные трофозоиты	внутриклеточные крупные трофозоиты	внутриклеточные трофозоиты, 24 x 6 $\mu$ m	гаметоциты прикреплены к эпителию хозяина ножкообразной органеллой (?)	—
Последовательности ДНК	SSU рДНК	—	—	—	—	—
Источники	Brasil, 1909; Giard, 1884; Rueckert, Horák, 2017; Schrével, 1966, 1970, 1971a, 1971b ; Schrével et al., 2016	Caullery, Mesnil, 1899, 1901; von Kölliker, 1845, 1849; Mingazzini, 1891; Ray, 1930; Schrével, 1970	Levine, 1971b ; Reichenow, 1932	Caullery, Mesnil, 1899, 1901; Mackinnon, Hawes, 1961; Ray 1930	Desportes, Schrével 2013 ; Dibb, 1938 ; Levine, 1971b; Schrével, 1970	Faria et al., 1917; Levine, 1971b

Продолжение таблицы 2

Виды	<i>Selenidium martinensis</i> Levine, 1971	<i>Selenidium polydoraе</i> Ganapati, 1946	<i>Selenidium spinosis</i> Ganapati, 1946	<i>Selenidium boccardiellae</i> * Wakeman and Leander, 2012	<i>Selenidium axiferens</i> Fowell, 1936	<i>Selenidium pygospionis</i> * Paskerova et al., 2018
Синонимы					<i>Selenidioides axiferens</i> (Fowell, 1936) Levine, 1971	
Хозяин (хозяева) (=синоним)	<i>Spio martinensis</i> Mesnil, 1896	<i>Polydora ciliata</i> (Johnston, 1838)	<i>Prionospio cirrifera</i> Wirén, 1883	<i>Boccardiella ligerica</i> (Ferrognière, 1898)	<i>Dipolydora flava</i> (Claparède, 1870) ( <i>Polydora flava</i> Claparède, 1870)	<i>Pygospio elegans</i> Claparède, 1863; <i>Polydora glycymerica</i> Radashevsky, 1993
Типовое место находки	Ла-Манш, Восточная Атлантика	Адьяр, Ченнаи (Мадрас), Индийский океан	Адьяр, Ченнаи (Мадрас), Индийский океан	Огден-Пойнт, Британская Колумбия, Восточная Пацифика	Плимут, Ла- Манш, Восточная Атлантика	Большой Горелый, Кандалакшский залив, Белое море ( <i>P. elegans</i> ); Залив Петра Великого, Японское море ( <i>P. glycymerica</i> )
Локализация в хозяине	кишка	кишка	задняя кишка	кишка	кишка	кишка
Экстенсивность, интенсивность инвазии	—	—	низкая, —	—	60%, —	36%, 1-50 паразитов на хозяина, иногда до 150 ( <i>P. elegans</i> )
Форма трофозоитов	червеобразная, слегка уплощенная	червеобразная	червеобразная	червеобразная, слегка уплощенная	червеобразная	червеобразная, слегка уплощенная

Продолжение таблицы 2

Аксиальный тяж	—	отсутствует	—	—	присутствует	присутствует
Трофозоиты: длина x ширина (мин – макс (ср. ± SEM, n - выборка), μm)	200 – 300 x 15 – 20	100 – 150 x 8 – 12	60 – 80 x 10 – 12	87 – 250 x 10 – 12	155 – 300 x 14 – 31	34 – 288 x 4 – 25 (144 ± 44 x 12 ± 2,6, n=76)
Число продольных складок или борозд	15 – 50 в целом	6 на одной стороне	10 в целом	10-12 и 1 выраженная на одной из сторон	30 – 45 в целом	24 – 28 в целом
Мукрон / передний конец	заостренный с конической структурой внутри	маленький, подобный бугорку	тупо округлый с неглубоким присосковидным углублением	куполообразная, оканчивается заметным бугорком, без борозд	шишковидный, с небольшим гиалиновым бугорком, вытягивающийся	куполообразная, без складок, на крючкообразном переднем конце, загнутом на уплощенную сторону
Задний конец	заострен	закругленный	резко сужающийся		закругленный (по рисункам)	закругленный
Форма и размеры ядра (мин – макс (ср. ± SEM, n - выборка), μm)	овальное, 15 x 10	овальное, —	округлое, —,	овальное, 10–12 x 4- 6	овальное, —	овальное, 6 – 22 x 6 – 11 (17 ± 5,6 x 8 ± 0,7)
Расположение и ориентация ядра	—, продольно	—, продольно	—	середина или передняя половина, продольно	—, продольно	середина, продольно
Ядрышко: форма, размеры и положение в ядре	сферическое, x 3 μm, у переднего полюса	—, у одного из полюсов	сферическое, —, —	—	бобовидное, —, у одного из полюсов	сферическое, x 3.1-6.3 μm, у переднего полюса
Мерогония	—	отсутствует	—	—	присутствует	отсутствует

## Продолжение таблицы 2

Сизигий	каудальный	«конец к концу» (каудальный?)	—	—	каудальный	каудальный
Подвижность трофозоитов	—	змеевидная	—	нематодоподобное скручивание	—	нематодоподобное изгибание со скручиванием переднего конца
Характерные особенности	—	—	—	непрозрачно-серебристые под световым микроскопом	изменчивая форма клетки, непостоянное соотношение длины - ширины	внутриклеточные трофозоиты, до 40 мкм в длину
Последовательность ДНК	—	—	—	SSU рДНК	—	SSU+5.8S+LSU рДНК
Источники	Caullery, Mesnil 1899, 1900; Levine, 1971b	Ganapati, 1946	Ganapati, 1946	Wakeman, Leander, 2012	Caullery, Mesnil, 1899; Fowell, 1936a; Levine, 1971b; Schrével, 1971b	Paskerova et al., 2018; оригинальные данные (морфометрия)

Обозначения: «—», нет данных; «?», противоречивое или расплывчатое описание; «\*», исследованы под электронным микроскопом.

Лиловым цветом выделен тот вид, который был изучен и описан при участии автора диссертации.

Таблица 3 - Диагностические признаки *Selenidium* spp. из полихет семейства Flabelligeridae

Виды	<i>Selenidium pennatum</i> * Simdyanov, 1992	<i>Selenidium flabelligerae</i> Bogolepova, 1953	<i>Selenidium productum</i> Tuzet & Ormières, 1958	<i>Selenidium curvicollum</i> Bogolepova, 1953	<i>Selenidium pherusaе</i> * Paskerova et al., 2018
Хозяин (=синоним)	<i>Flabelligera affinis</i> M. Sars, 1829	<i>Flabelligera</i> sp.	<i>Flabelligera diplochaitus</i> (Otto, 1820) (= <i>Flabelligera diplochaitos</i> )	<i>Pherusa plumosa</i> (Müller, 1776) (= <i>Stylarioides plumosus</i> )	<i>Pherusa plumosa</i> (Müller, 1776)
Типовое место находки	Пролив Великая Салма, Кандалакшский залив, Белое море	Залив Петра Великого, Японское море	Залив То, Средиземное море	Залив Петра Великого, Японское море	Залив Петра Великого, Японское море
Локализация в хозяине	средняя кишка	кишка	кишка	кишка	средняя кишка
Экстенсивность, интенсивность инвазии	13 из 19 полихет, десятки на одного хозяина	высокая, —	—	единичная встречаемость, —	высокая, высокая в некоторых хозяевах
Форма трофозоитов	удлиненные, слегка уплощенные, с двумя боковыми ребрами; треугольные с закругленными углами в поперечном сечении	удлиненные, лентовидные	продолговатые, листовидные, уплощенные	короткие и широкие	червеобразные
Аксиальный тяж	отсутствует	—	—	—	отсутствует
Трофозоиты: длина х ширина (мин – макс (ср. ± SEM, n - выборка), μm)	160 х 36	15-210 в длину	150 – 420 в длину	38-70 х 10-20	38 - 269 х 10-18 (143 ± 72 х 15 ± 2,8, n = 6)

Продолжение таблицы 3

Количество продольных складок или борозд	отсутствуют	6-7 на одну сторону	12 в целом	13-15 на одну сторону	отсутствуют
Мукрон / передний конец	заостренный	длинный (10 $\mu\text{m}$ ), тонкий хоботкообразный с утолщенной базальной частью	закругленный	большой, изогнутый, похожий на хоботок	короткий, усеченный
Задний конец	закругленный	pointed in small trophozoites, rounded in large trophozoites	заостренный	закругленный	заостренный у маленьких, округленный у больших трофозоитов
Форма и размеры ядра (мин – макс (ср. $\pm$ SEM, n - выборка), $\mu\text{m}$ )	сферическое, 14-26	овальное, 10-15 x 5-6	сферическое или эллипсоидное, —	неправильное сферическое, x 6	сферическое, x 11 – 21 (16, 5 $\pm$ 4,8, n = 2)
Положение и ориентация ядра	середина	середина, продольно	середина, поперечно или продольно	середина	задняя половина
Ядрышко(и): количество, форма, размеры (x ср. $\pm$ SEM, n - выборка), $\mu\text{m}$ ) и положение в ядре	1, сферическое, —, эксцентрично	1, сферическое, —, у переднего полюса	1, —	—	1, x 4 $\pm$ 1,2 (n = 2), у переднего полюса
Мерогония	—	—	отсутствует	—	—
Сизигии	каудальные, 208 - 230x 29 - 33 $\mu\text{m}$	каудальные, 185-200 x 50-57 $\mu\text{m}$	каудальные, 300 – 450 в длину	—	—
Подвижность трофозоитов	изгибание у молодых трофозоитов	—	маятникообразное покачивание	—	изгибание

## Продолжение таблицы 3

Характерные особенности, комментарии	отсутствие кортикальных борозд; коноид и роптрии долгое время сохраняются у гамонтов в сизигии	—	деление ядра у гамонтов в сизигиях до формирования гамонтоцисты, 6 хромосом	возможно, только молодые грегарины были исследованы	—
Последовательность ДНК	—	—	—	—	SSU рДНК
Источники	Симдянов, 1992; Castellon, Gracia 1988; Kuvardina, Simdyanov 2002	Боголепова, 1953	Tuzet, Ormieres, 1958, 1965	Боголепова, 1953	Paskerova et al., 2018; оригинальные данные (морфометрия)

Обозначения: «—», нет данных; «\*», исследованы с помощью электронной микроскопии. Лиловым цветом выделен тот вид, который был изучен и описан при участии автора диссертации.

### 3.2 Питание архигрегариин

Мизоцитоз архигрегариин осуществляется через мукрон. В мукроне располагаются коноид, роптрии, микронемы. У архигрегариин дополнительно появляется мукрональная вакуоль (или передняя вакуоль), которая может быть связана посредством мембранных туннелей с серией вакуолей вдоль оси клетки, как это было показано у *S. pendula* (Desportes, Schrével, 2013; Schrével, 1968, 1970, 1971a, b; Schrével et al., 2016; Simdyanov, Kuvardina, 2007; Wakeman, Horiguchi, 2017; Wakeman et al., 2014). Полученные мной данные показали, что серия вакуолей видна у *S. pygospionis* даже под световым микроскопом как аксиальный тяж, тянущийся от переднего конца к заднему концу и заключающий ядро внутри себя. Кроме того, в цитоплазме исследованной архигрегарины наблюдается гетерогенность распределения органелл: выделяются узкие электронно-светлые участки, лишенные видимых органелл. Это позволило мне предположить присутствие микрофиламентов в таких участках, наподобие тех, что были показаны вокруг ядра у *S. pendula* и *S. hollandei* (Schrével, 1971a). Как следствие, я предполагаю, что серия вакуолей является системой пищеварительных вакуолей, которые формируются в мукроне в процессе мизоцитоза и которые благодаря микрофиламентам в цитоплазме транспортируют питательные вещества от переднего конца к заднему (Рисунки 3-4; Paskerova et al., 2018).

Вероятно, питание архигрегариин происходит не только на переднем конце (через мукрон), но и по всей поверхности тела через микропоры, расположенные на дне борозд и связанные с цитоплазматическими везикулами (Desportes and Schrével, 2013; Paskerova et al., 2018). Разнообразные пузырьки, содержащие свернутые множественные мембранные профили или электронно-плотный материал, описывались не только мной, но и другими авторами в субкортикальном слое различных архигрегариин (Paskerova et al., 2018; Schrével, 1971a; Schrével et al., 2016; Wakeman, Horiguchi, 2017). Предполагается, что эти структуры могут быть вовлечены в какие-то процессы питания через поверхность клетки наряду с микропорами (Wakeman, Horiguchi, 2017). Я полагаю, что эти везикулы могут участвовать не в эндоцитозе, а, напротив, в экзоцитозе, а именно в выбросе метаболитов, слизи, а также в доставке материала для строительства или репарации трехмембранной пелликулы (Рисунки 3-4; Paskerova et al., 2018).

### 3.3 Подвижность архигрегариин

Архигрегарины демонстрируют различные типы подвижности: изгибание, скручивание, перекачивание и покачивание. Некоторые из них могут также сокращаться. Перечисленные варианты подвижности архигрегариин не относятся к прогрессивной локомоции, т.е. не способствуют направленному перемещению клетки (Fowell, 1936a, b; Gunderson, Small, 1986; Leander, 2007, 2008b; Mellor, Stebbings, 1980; Schrével, 1971a, b; Schrével et al., 1974, 2016; Stebbings et al., 1974; Wakeman et al., 2014). По моему мнению, характер подвижности архигрегариин может отражать структуру и динамику подвижности цитоскелета этих паразитов (Paskerova et al., 2018). Для *Selenidium pygospionis*, *S. pherusaе*, *S. pendula*, которые изгибаются лишь в одной плоскости и никогда не сокращаются, я предложила термин «нематодоподобное изгибание» (nematode-like bending) (Paskerova et al., 2018). При этой подвижности противоположные стороны клетки (уплощенные поверхности у *S. pygospionis* и боковые стороны у *S. pherusaе*) работают антагонистически друг к другу в той части клетки, где формируется изгиб. Изгибы клетки всегда формируются в одной плоскости. Такая подвижность контрастирует с изгибанием клетки у других архигрегариин, например, *S. hollandei*, *S. sabellariae*, у которых изгибы формируются в различных плоскостях клетки (Desportes, Schrével, 2013; Rueckert, Horák, 2017; Schrével, 1967, 1970). Нематодоподобное изгибание является хорошим подтверждением гипотезы подвижности селенидиумов, которая постулирует, что трехмембранная пелликула и продольные микротрубочки выполняют одновременно опорную функцию и функцию генерирования клеточной подвижности. Следует добавить, что аксиальный тяж архигрегариин также может быть вовлечен в клеточную подвижность в качестве гидроскелетного элемента, который помогает совершать возвратные движения без лишних затрат энергии. Последнее соответствует концепции статомотора (Fowell, 1936b), предложенной именно для архигрегариин.

Я была привлечена к экспериментальной работе по исследованию участия цитоскелетных элементов в подвижности трофозоитов *S. pygospionis* (Kováčiková et al., 2019). Мой вклад в эту работу заключался в сборе полихет, их вскрытии, изолировании селенидиумов, в аликвотировании реагентов и проведении экспериментов по влиянию реагентов на подвижность селенидиумов с последующей фиксацией архигрегариин (Таблицы 1, 4). Я лично не проводила иммуноцитологические и электронномикроскопические исследования зафиксированных архигрегариин в конце каждого эксперимента, а лишь анализировала данные, полученные моими коллегами в ходе таких работ.

**Таблица 4 - Влияние реагентов, модифицирующих или разрушающих актиновые филаменты и микротрубочки в клетке, на подвижность живых архигрегарины *Selenidium pygospionis*, изолированных из полихеты *Pygospio elegans***

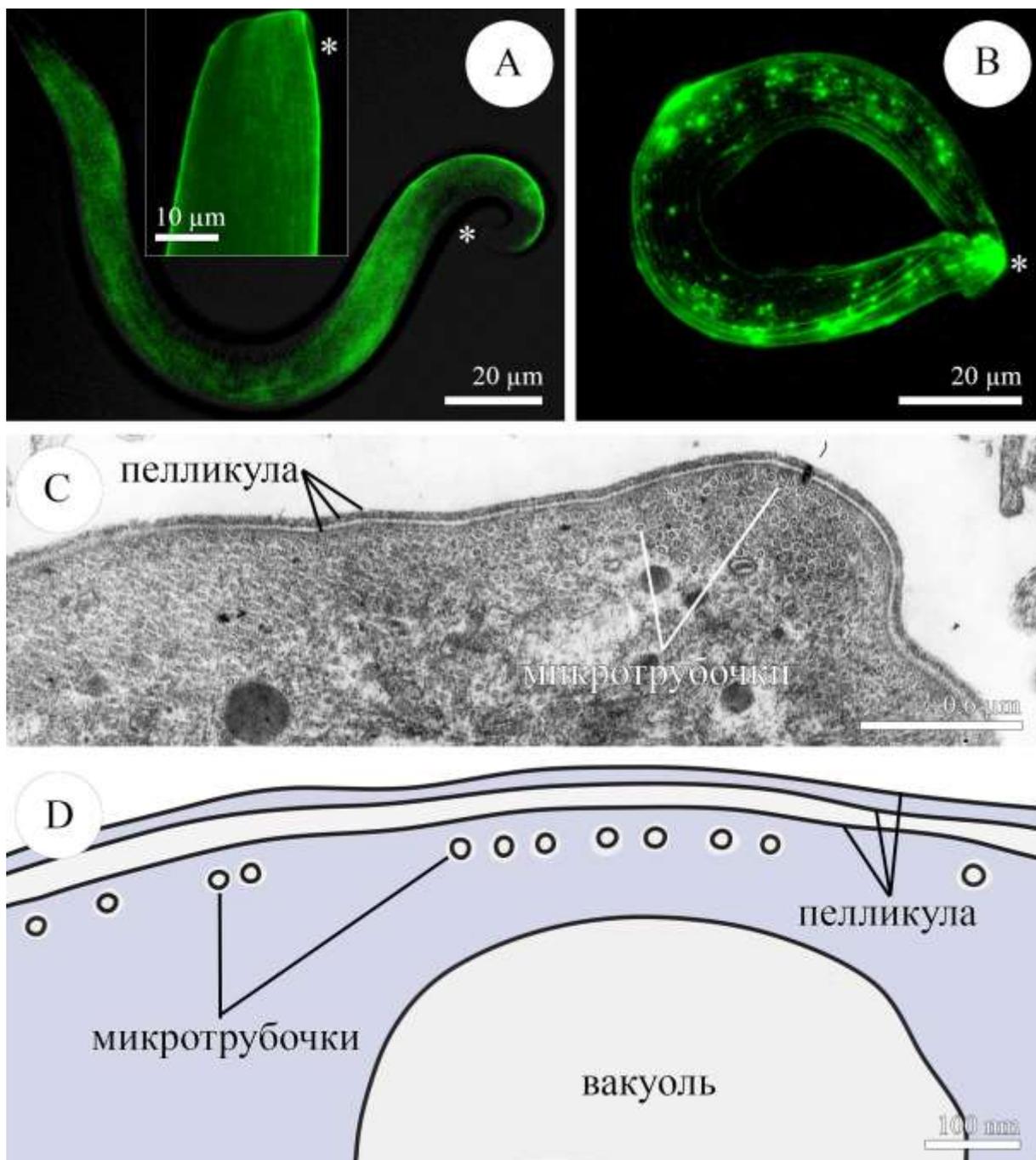
Изменения / время после применения реагента	Реагенты (концентрация)			
	Оризалин (10 $\mu$ M)	Колхицин (100 mM)	Ясплакинолид (30 $\mu$ M)	Цитохалазин Д (30 $\mu$ M)
Изначальное увеличение скорости изгибания (по сравнению с контролем <sup>o</sup> )	$\leq 30$ мин *0,38 $\pm$ 0,06 **2,63 $\pm$ 1,03	$\leq 10$ мин *0,37 $\pm$ 0,02 **2,7 $\pm$ 0,21	$\geq 5$ мин *0,38 $\pm$ 0,08 **2,6 $\pm$ 1,61	--
Уменьшение скорости подвижности до нормального, регулярного изгибания	$\geq 40$ мин *0,33 $\pm$ 0,08 **3,19 $\pm$ 1,02	--	$\geq 90$ мин *0,29 $\pm$ 0,05 **3,53 $\pm$ 0,72	$\leq 120$ мин *0,31 $\pm$ 0,06 **3,35 $\pm$ 0,65
Дальнейшее уменьшение частоты изгибания из стороны в сторону	$\geq 160$ мин *0,19 $\pm$ 0,01 **5,24 $\pm$ 0,12	$\geq 15$ мин *0,25 $\pm$ 0,06 **4,03 $\pm$ 1,32	$\geq 150$ мин *0,20 $\pm$ 0,08 **5,18 $\pm$ 0,49	$\geq 150$ мин #Все еще регулярная подвижность *0,24 $\pm$ 0,03 **4,09 $\pm$ 0,5
Снижение скорости, ригидность задней трети клетки	--	$\leq 30$ мин	--	--
Снижение скорости, ригидность задней половины клетки	--	$\geq 40$ мин	--	--
Полное прекращение подвижности	$\geq 780$ мин	$\geq 90$ мин	$\geq 540$ мин	$\geq 540$ мин <sup>o</sup> подавленная моторика
Восстановление подвижности у большинства архигрегарины после промывки в морской воде	$\geq 5$ мин	$\geq 10$ мин	$\geq 10$ мин	$\geq 10$ мин
Число микротрубочек в субпелликулярном слое на 1 $\mu$ m (среднее $\pm$ SE). Контроль = 26,6 $\pm$ 0,4.	14,9 $\pm$ 1,3	23,1 $\pm$ 1,2	22,6 $\pm$ 0,8	24,6 $\pm$ 0,9
Расстояние между двумя соседними субпелликулярными микротрубочками (среднее $\pm$ SE, nm). Контроль = 38 $\pm$ 0,3.	77,5 $\pm$ 5,3	42,5 $\pm$ 1	45,8 $\pm$ 0,7	43,1 $\pm$ 0,6
Расстояние между внутренним мембранным комплексом и подлежащими микротрубочками (среднее $\pm$ SE, nm). Контроль = 19,3 $\pm$ 0,1.	14,4 $\pm$ 0,3	18,7 $\pm$ 0,3	19,6 $\pm$ 0,3	16,5 $\pm$ 0,4

Обозначения: «<sup>o</sup>», контроль - архигрегарины в морской воде, демонстрирующие изгибательную подвижность клетки за весь период эксперимента (более 9 часов) с частотой биения 0,35  $\pm$  0,04 ударов в секунду и временным интервалом между двумя биениями 2,87  $\pm$  0,33 секунд; « $\leq$ », изменения, появляющиеся в указанный временной период; « $\geq$ », изменения, появляющиеся после указанного временного периода; «\*», частота изгибания (изгибы/сек, среднее  $\pm$  SE); «\*\*», временной интервал от изгибания к изгибанию (время между двумя изгибаниями в секундах, среднее  $\pm$  SE); «--», нет явных изменений в характере подвижности; «#», наблюдение, отличающиеся от других в экспериментах с разными реагентами.

Отделенные от ткани хозяина архигрегарины *S. pygospionis* совершают регулярные изгибы или нематодоподобные непрогрессивные движения телом. Волна изгиба начинается у крючковидного апикального конца архигрегарины и распространяется назад вдоль всей клетки. В зависимости от размера трофозойта можно наблюдать от одного до четырех изгибов (биений), распространяющихся вдоль клетки одновременно. Частота возникновений биений у свободных паразитов составляет в среднем  $0,35 \pm 0,04$  ударов в секунду (среднее время между двумя биениями клетки —  $2,87 \pm 0,33$  секунд).

Экспериментально было установлено влияние субпелликулярных микротрубочек на подвижность *S. pygospionis* после инкубации паразитов с антимиотическими агентами в различных концентрациях: 10  $\mu\text{M}$  оризалина (действующего посредством разрушения существующих микротрубочек и блокирования полимеризации новых) и 100  $\mu\text{M}$  колхицина (ингибирующего полимеризацию микротрубочек путем конформационных изменений через комплекс тубулин-колхицин). Оризалин в концентрации 10  $\mu\text{M}$  вызывал некоторое увеличение скорости движения впервые 30 минут после применения препарата, затем моторика архигрегаринов постепенно возвращалась к норме. Дополнительное снижение скорости и изменения в характере моторики произошли в течение 160 минут после начала эксперимента. Экспериментальные исследования прекращали через 13 часов, когда большинство обработанных препаратом паразитов *S. pygospionis* переставали двигаться (Таблица 4). Колхицин в концентрации 100  $\mu\text{M}$  вызывал лишь кратковременное начальное увеличение скорости моторики. Затем последовало замедление движений и проявление ригидности клетки паразитов, начиная с заднего конца и распространяясь к апикальному концу. Можно было наблюдать промежуточное состояние обработанных архигрегаринов, когда задняя половина клетки уже была неподвижна, и только передняя часть совершала изгибы из стороны в сторону. Ригидность, прогрессирующая к переднему концу, вызывала полное прекращение подвижности у паразитов через 90 мин после начала эксперимента (Таблица 4).

Архигрегарины, обработанные оризалином в концентрации 10  $\mu\text{M}$ , демонстрировали небольшие изменения в организации пелликулы: исчезли отдельные микротрубочки в субпелликулярном слое (Рисунок 6). Число микротрубочек у обработанных паразитов снизилось почти вдвое (Таблица 4). Расстояние между двумя соседними субпелликулярными микротрубочками увеличилось в среднем в два раза, а расстояние между внутренним мембранным комплексом и подлежащими микротрубочками, наоборот, несколько сократилось. Обработка архигрегаринов колхицином в концентрации 100  $\mu\text{M}$  также привела к исчезновению отдельных микротрубочек в субпелликулярном слое и незначительному изменению морфометрических параметров в расположении и распределении микротрубочек под внутренним мембранным комплексом (Таблица 4).



**Рисунок 6 - Кортикальный цитоскелет архигрегарины *Selenidium pygospionis* в контроле и после обработки оризалином. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (А-В), трансмиссионная электронная микроскопия (С)**

**А.** Локализация  $\alpha$ -тубулина в кортикальной области архигрегарины (контроль) и его организация в ряды, соответствующие расположению субпелликулярных микротрубочек. На вставке подробно показана организация  $\alpha$ -тубулина на переднем конце архигрегарины. Окраска: вторичные антитела, конъюгированные с ФИТЦ (флуоресцеин изотиоцианат). **В.** Организация  $\alpha$ -тубулина после обработки архигрегарины оризалином в концентрации 10  $\mu\text{M}$  в течение 13 часов. Обратите внимание на скопления  $\alpha$ -тубулина в кортикальной области и уменьшение числа рядов, соответствующих расположению субпелликулярных микротрубочек. Окраска: вторичные антитела, конъюгированные с ФИТЦ. **С.** Организация субкортикального цитоскелета у архигрегарины (контроль). Косой срез через передний конец трофозоида. **Д.** Схема организации субкортикального цитоскелета у архигрегаринов, обработанных оризалином в концентрации 10  $\mu\text{M}$  в течение 13 часов. Обратите внимание на отсутствие некоторых субпелликулярных микротрубочек в кортикальном слое. Масштаб не соблюден. Обозначения: \*, передний конец архигрегарины.

Изменения в расположении субпелликулярных микротрубочек у обработанных в ходе эксперимента архигрегаринов были подтверждены под конфокальным лазерным сканирующим микроскопом в образцах, окрашенных антителами, распознающими  $\alpha$ -тубулин. У контрольных архигрегаринов, содержащихся в ходе эксперимента в фильтрованной морской воде без добавления реагентов,  $\alpha$ -тубулин располагался тонкими продольными линиями внутри кортикальной области, образуя отчетливый непрерывный слой, соответствующий расположению субпелликулярных микротрубочек. После обработки оризалином субпелликулярные микротрубочки деградировали, а в эктоплазме образовывались кластеры  $\alpha$ -тубулина (Рисунок 6). Менее интенсивное повреждение микротрубочек было зарегистрировано в клетках, обработанных колхицином: параллельные продольные линии в кортикальной области все еще хорошо сохранялись, а образование кластеров  $\alpha$ -тубулина было менее очевидным (Kováčiková et al., 2019).

Коммерческие реагенты, влияющие на полимеризацию актина: ясплакинолид (индуцирует полимеризацию актина и стабилизирует существующие филаменты) и цитохалазин D (вызывает разрушение актиновых филаментов и ингибирует полимеризацию актина), – были применены в эксперименте для определения роли актиновых филаментов в подвижности архигрегаринов. Архигрегарины, обработанные ясплакинолидом в концентрации 30  $\mu\text{M}$ , демонстрировали регулярные движения с небольшим увеличением скорости в течение первых

минут после применения препарата. После этого скорость их моторики постепенно снизилась до нормальной и продолжала снижаться с одновременным изменением характера подвижности (наклоны из стороны в сторону) до полной остановки после длительного инкубирования в течение нескольких часов (Таблица 4). Напротив, обработка паразитов цитохалазином D в концентрации 30  $\mu\text{M}$  не вызывала каких-либо видимых изменений в характере их регулярных движений, хотя скорость их подвижности в ходе эксперимента снижалась постепенно, что под конец наблюдений некоторые архигрегарины были полностью обездвижены (Таблица 4).

Никаких существенных изменений в организации пелликулы архигрегарины, обработанные ясплакинолидом и цитохалазином D, не демонстрировали. Лишь незначительные изменения в морфометрических параметрах расположения субпелликулярных микротрубочках были зарегистрированы (Таблица 4).

Изменения в организации актина у архигрегаринов после обработки ясплакинолидом и цитохалазином D анализировали с использованием прямого и непрямого (иммуно)флуоресцентного мечения (Kováčiková et al., 2019). У контрольных архигрегаринов непрямо-иммунофлуоресцентное окрашивание выявило накопление актина в продольных линиях, копирующих рисунок пелликулярных складок, а окрашивание фаллоидином выявило равномерное распределение фибриллярного актина (F-актина) по всей цитоплазме клетки. Окрашивание фаллоидином архигрегаринов *S. pygospionis*, подвергшихся воздействию ясплакинолидом, выявило увеличение сигнала флуоресценции, что указывает на количественное увеличение актиновых филаментов в клетках протист. Актин, интенсивно окрашенный антителами, накапливался в линиях, соответствующих продольным пелликулярным складкам. Накопление актина наблюдалось также вдоль продольной оси клетки от середины переднего конца к заднему концу с образованием кольца вокруг ядра (соответствует расположению аксиального тяжа). Напротив, флуоресцентный сигнал актина, меченного у архигрегаринов после обработки цитохалазином D, был очень слабым и не имел специфической организации (Kováčiková et al., 2019).

Суммируя данные экспериментальных наблюдений, актин-модифицирующие вещества вызывали редуцию скорости движения (цитохалазин D) или полностью блокировали подвижность (ясплакинолид) архигрегаринов *S. pygospionis*. Вещества, разрушающие или модифицирующие микротрубочки (оризалин и колхицин), оказывали еще более заметное влияние на подвижность клеток, выражающееся в изначальном увеличении, а потом уменьшении скорости изгибания клетки по сравнению с контролем и, наконец, в полном обездвиживании архигрегаринов (Таблица 4). При этом методами электронной микроскопии и иммунофлуоресцентного окрашивания было показано частичное разрушение или полное

исчезновение отдельных микротрубочек в пелликуле и формирование скопления  $\alpha$ -тубулина в цитоплазме архигрегариин (Рисунок 6).

Скольжение микротрубочек, обеспечиваемое ассоциированными с микротрубочками молекулярными моторами (МАР), такими как кинезины и динеины, сравнимое с системой, работающей в аксонеме жгутика, было предложено в качестве механизма изгибания тела у *Selenidium* (Mellor, Stebbings, 1980; Stebbings et al., 1974). Каждая микротрубочка окружена электронно-прозрачным участком цитоплазмы, вероятно, играющим важную роль в скольжении микротрубочек (Leander, 2007; Mellor, Stebbings, 1980; Stebbings et al., 1974). Было замечено, что активно подвижные селенидиумы содержат большее количество субпелликулярных микротрубочек по сравнению с мало активными видами (Schrével, 1971b; Simdyanov, Kuvardina, 2007). Кроме того, обнаружена положительная корреляция у архигрегариин между активностью подвижности и количеством митохондрий, расположенных под субпелликулярными микротрубочками (Leander, 2006; Mellor, Stebbings, 1980; Schrével, 1971b). Чем более активны архигрегарины, тем большее число митохондрий можно ожидать у них в субкортикальной зоне цитоплазмы. Митохондрии обеспечивают химическую энергию АТФ для активности МАР. Было также высказано предположение, что скорость передвижения видов *Selenidium* связана с наличием кислорода в их среде обитания (Schrével, 1971a).

Проведенные наблюдения за экспериментально обработанными архигрегариинами *S. pygospionis* подтверждают, что именно субпелликулярные микротрубочки, связанные между собой и с пелликулой связками (вероятно, актиновые филаменты участвуют в создании таких связок совместно с какими-то белковыми факторами), генерируют подвижность трофозоитов (Kováčiková et al., 2019; см. также раздел 4.3). Следует добавить, что изгибательная подвижность трофозоитов архигрегариин отличается от субстрат-зависимого скольжения зоитов *Toxoplasma* и *Plasmodium* (Frénel et al., 2017; Håkansson et al., 1999; Münter et al., 2009). Таким образом, несмотря на сохранение плана строения зоита, у трофозоида архигрегариин преобладает иной механизм клеточной подвижности.

### **3.4 Влияние гиперпаразитической микроспоридии *Metchnikovella dogieli* на архигрегариину *Selenidium pygospionis***

Наблюдая за живыми архигрегариинами *S. pygospionis* под микроскопом, моя коллега Магдалена Ковачикова (Magdaléna Kováčiková) обратила мое внимание на некоторые экземпляры, которые были деформированы и содержали что-то инородное в цитоплазме

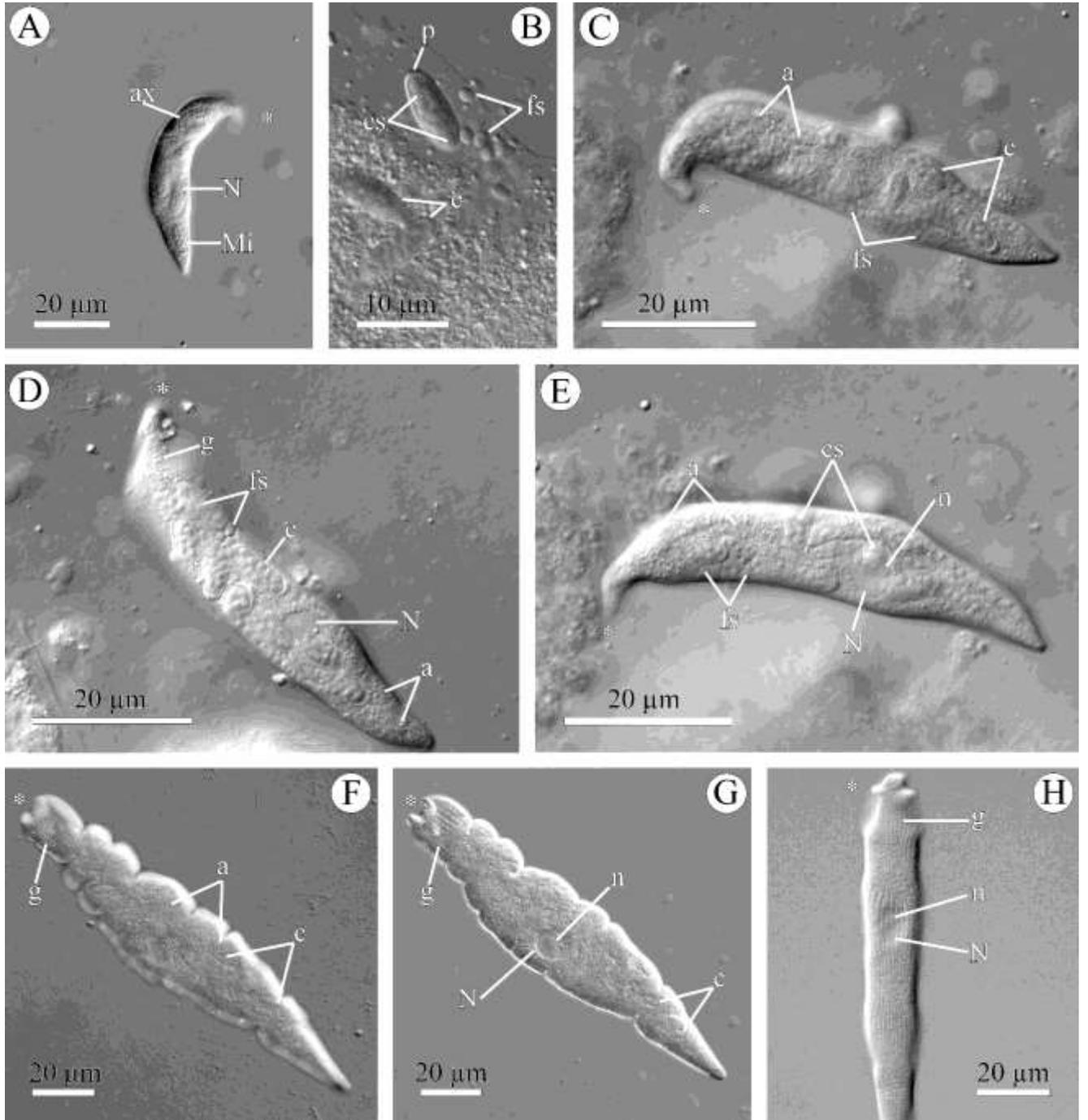
(Таблица 1). При небольшом прижатии этих архигрегариин покровным стеклом на временных препаратах, я обнаружила внутри их цитоплазмы цисты и свободные споры микроспоридии, явно относящейся к семейству *Metchnikovellidae*, для представителей которого характерны два типа спорогонии в жизненном цикле. Других стадий развития, кроме цист и спор, обнаружено не было (Рисунок 7). По морфологии цист обнаруженный паразит был отнесен к роду *Metchnikovella* (Таблица 5).

Мечниковеллы образуют цисты овальной, цилиндрической или веретеновидной формы с закругленными толстыми концами, так называемыми полярными пробками или крышечками. Длина цист не превышает десятикратной ширины (Исси, 1986; Caullery, Mesnil, 1914b, 1919; Larsson, 2014). У мечниковелл большинства описанных видов длина цист менее 20 мкм, а число связанных с цистами спор колеблется от 8 до 16, редко больше. У одних видов на цисту приходится постоянное число спор, у других – переменное. Большинство представителей рода *Metchnikovella* паразитируют в эугрегариинах родов *Lecudina*, *Polyrhabdina* и архигрегариинах рода *Selenidium*, как правило, населяющих кишечник различных полихет (Таблица 5). По морфологии цисты и количеству спор в цисте обнаруженный в архигрегариине *S. pygospionis* гиперпаразит отличался от всех известных мечниковелл, что позволило мне и моим соавторам описать его как новый вид микроспоридий *Metchnikovella dogieli* (Paskerova et al., 2016). Филогенетическое родство этого гиперпаразита с другими мечниковеллами было подтверждено позже (Nassonova et al., 2021). Диагностические признаки *M. dogieli* представлены в таблице 5.

Зная строение интактных (незараженных) селенидиумов я получила возможность выявить влияние мечниковеллы на своего хозяина. Ниже изложенный материал вошел в публикацию – обзор по мечниковеллидам, выполненный совместно с моими коллегами (Frolova et al., 2023).

По моим наблюдениям, зараженные микроспоридией селенидиумы обычно шире и короче незараженных. Контуров инфицированных клеток становятся неровными, а продольные борозды, обычно хорошо выраженные у незараженных клеток, “разглаживаются” под давлением массы из спор и цист гиперпаразита, развивающегося прямо в цитоплазме хозяина. Передний конец (мукрон) селенидиума может сохранить свою обычную крючковидную форму и может даже нести продольные борозды, еще сохранившиеся здесь. Ядро архигрегарины деформируется, так как в него со всех сторон вдавливаются цисты и споры гиперпаразита. Оно может быть смещено к периферии зараженной клетки. Как правило, аксиальный тяж становится неразличимым, а если различим, то извитым (Рисунок 7).

Интенсивно зараженные архигрегарины теряют гибкость. Они не способны совершать крутые изгибы телом, а могут лишь слабо покачиваться из стороны в сторону. Можно предположить, что интенсивное развитие гиперпаразита в цитоплазме селенидиума вызывает



**Рисунок 7 - Влияние гиперпаразитической микроспоридии *Metchnikovella dogieli* на архигрегарины *Selenidium pygospionis*. Световая микроскопия (дифференциально-интерференционный контраст)**

**А, С-Е.** Подвижная архигрегарины, интенсивно зараженная микроспоридией, на малом (А) и большом увеличении (С-Е) и с разных боковых сторон. Обратите внимание, что уплощение клетки не выражено. **В.** Цисты (с) и свободные споры (fs) микроспоридии, выдавленные из цитоплазмы архигрегарины на А, С-Е. **F-G.** Архигрегарины с уплощенной стороны и со средней интенсивностью заражения микроспоридией. F, G – разные фокусы. **Н.** Незараженная архигрегарины с уплощенной стороны, пытающаяся совершать изгибательное движение в узком пространстве между покровным и предметным стеклами временного препарата.

**Обозначения:** \*, передний конец; а, включения цитоплазмы (например, амилопектиновые гранулы); ах, аксиальный тяж; с, циста; cs, споры в цистах; fs, свободные споры; g, продольная борозда; Мi, микроспоридия; N, ядро; n, ядрышко; p, полярная пробка.

изменения или даже разрушения в субкортикальных структурах, а, возможно, и в аксиальном тяже, подобно тем изменениям, которые наблюдаются при обработке интактных клеток тубулин- или актин-модифицирующими веществами (см. выше). Только передний конец, в котором еще сохранились субкортикальные структуры и, как следствие, выражены продольные борозды, демонстрирует способность сворачиваться в срединной плоскости (Рисунок 7). Следует добавить, что в другой грегарины-микроспоридия системе, а именно *S. pygospionis* – *M. dobrovolskiji* (Таблица 5), наблюдается тенденция к сохранению формы и подвижности у архигрегарины, даже если в ней развивается большое количество цист и спор мечниковеллы (Frolova et al., 2023). Расселительные и инвазионные стадии *M. dobrovolskiji* развиваются в паразитофорных вакуолях, что, возможно, защищает архигрегарины от серьезного разрушения ее субпелликулярного цитоскелета под влиянием гиперпаразита.

Мои наблюдения за подвижностью и состоянием цитоплазмы зараженных мечниковеллами селенидиумов косвенно подтверждают роль кортикального скелета (микротрубочки с микрофиламентами) и аксиального тяжа в подвижности архигрегаринов.

Цитоплазма незараженных селенидиумов плотная и равномерно насыщенная гранулами включений (как правило, амилопектина), достаточно хорошо заметными под световым микроскопом. У зараженных мечниковеллами архигрегаринов количество и плотность расположения таких гранул заметно снижаются (Рисунок 7). Я предполагаю, что метаболическая активность зараженного хозяина направлена не на накопление запасных веществ, а на развитие его гиперпаразита (Frolova et al., 2023).

Таблица 5 - Диагностические признаки микроспоридий рода *Metchnikovella*

<i>Metchnikovella</i> spp.	Хозяин (синоним)	Суперхозяин (синоним)	Преспорогонияльные стадии	Свободные споры	Цисты	Типовое место вида	Источники
<i>M. berliozii</i> <sup>1</sup> Arvy, 1952	<i>Lecudina francianum</i> Arvy, 1952 (= <i>L. franciana</i> Arvy, 1952; <i>Selenidium francianum</i> Arvy, 1952?)	<i>Phascolion (Phascolion) strombus strombus</i> (Montagu, 1804)	—	—	10-12 x 3-5 μm, 16 спор (3x1 μm)	Динар, Северо-Восточная Атлантика	Arvy, 1952; Vivier, 1975
<i>M. brasili</i> <sup>1</sup> Caullery et Mesnil, 1919	<i>Polyrhabdina brasili</i> Caullery & Mesnil, 1914	<i>Spio martinensis</i> Mesnil, 1896	однойдерные клетки в группе (?)	—	яйцевидные, 10 x 5 μm, около 12 спор	Анс Сен-Мартен, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1919
<i>M. claparedei</i> <sup>2</sup> Caullery et Mesnil, 1919 <sup>2</sup>	<i>Lecudina</i> sp. (?)	<i>Phyllodoce</i> sp. (?)	—	—	вытянутые, изогнутые, с утолщением в середине	Гебридские острова, Северо-Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1914b, 1919; Claparède, 1861; Vivier, 1975

## Продолжение таблицы 5

<i>M. dobrovolskiji</i> * Frolova et al., 2022	<i>Selenidium pygospionis</i> Paskerova et al., 2018	<i>Pygospio elegans</i> (= <i>P. seticornis</i> ) Claparède, 1863	—	овальные, 1,2–3,1×1,1–1,7 μm, по несколько штук в одной паразитофорной вакуоли	овальные, яйцевидные, иногда неправильной формы, 5,6 – 9,2 x 3,3–5 μm, 1 полярная пробка, до 12 овальных спор (1,3–2,4 × 0,9–1,6 μm), каждая циста в отдельной паразитофорной вакуоли	Бухта Круглая, губа Чупа, Кандалакшский залив, Белое море	Frolova et al., 2022, 2023a,b
<i>M. dogieli</i> * Paskerova et al., 2016	<i>Selenidium pygospionis</i> Paskerova et al., 2018	<i>Pygospio elegans</i> (= <i>P. seticornis</i> ) Claparède, 1863	—	овальные или яйцевидные, с небольшим возвышением на боку, 2.2–3.3 x 1.3–3.7 μm	овальные, иногда слегка изогнутые, с 1 полярной пробкой, 9.5–34 x 4.8–9.2 μm, 7 -18 овальных спор (2.2–3.0 x 1.4–2.9 μm) в 2-3 ряда	Великая Салма, Кандалакшский залив, Белое море	Frolova et al., 2023a,b; Nasonova et al., 2021; Paskerova et al., 2016, 2018
<i>M. hessei</i> <sup>3</sup> Mesnil, 1915	<i>Monocystis mitis</i> Leidy, 1882	<i>Fridericia polychaeta</i> Bretscher, 1900 (Olygochaeta, Annelida)	однойдерные клетки, многоядерные плазмодии	—	изогнутые, банановидные, 10-12 x 3-4 μm, около 12 спор в 2 ряда	Монтесо, Верхняя Сона, Франция	Hesse, 1909; Mesnil, 1915; Vivier, 1975
<i>M. hovassei</i> <sup>1</sup> Vivier, 1965	<i>Lecudina pellucida</i> (von Kölliker, 1848) Mingazzini, 1891	<i>Perinereis cultrifera</i> (Grube, 1840)	однойдерные клетки, многоядерные плазмодии	форма слегка приплюснутой юлы, 1,75 x 1,25 μm	овальные, 10 x 4 μm, 1 полярная пробка, около 10 спор (округлые или овальные, x 1,5 μm) в 2 ряда	Залив То, Средиземное море	Vivier, 1965, 1975; Vivier et Schrével, 1973

## Продолжение таблицы 5

<i>M. incurvata</i> * Caullery et Mesnil, 1914	<i>Polyrhabdina pygospionis</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Pygospio elegans</i> (= <i>P. seticornis</i> ) Claparède, 1863	цепочка одно- и многоядерных клеток	овальные или яйцевидные, $3,7 \pm 0,4 \times 1,8 \pm 0,2 \mu\text{m}$	вытянутые, слегка изогнутые, 22-27 x 4-5 $\mu\text{m}$ , 2 полярные пробки, до 16 спор (овальные или яйцевидные, $3,6 \pm 0,3 \times 1,8 \pm 0,1 \mu\text{m}$ )	Анс Сен-Мартен, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1914, 1919; Frolova et al., 2023a,b; Galindo et al., 2018 ; Sokolova et al., 2013;
<i>M. legeri</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Sycia inopinata</i> Léger, 1892	<i>Cirriformia tentaculata</i> (= <i>Audouinia tentaculata</i> ) (Montagu, 1808)	—	—	веретеновидные, слегка изогнутые, 20-30 x 5,5-7 $\mu\text{m}$ , 2 полярные пробки, 32 споры в 2-3 или больше рядов	Остров Бель-иль, Северо-Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1914, 1919; Léger, 1892
<i>M. martojai</i> <sup>3</sup> Corbel, 1967	<i>Gregarina cousinae</i> Corbel, 1966	<i>Gryllus assimilis</i> Fabricius, 1775 (Orthoptera, Insecta)	—	—	яйцевидные, до 50 $\mu\text{m}$ , похожи на цисты <i>M. oviformis</i> , до 10 сферических спор, x 2-3 $\mu\text{m}$	—	Corbel, 1967; Vivier, 1975
<i>M. mesnili</i> <sup>1</sup> (Dogiel, 1922)	<i>Selenidium</i> sp.	<i>Travisia forbesii</i> Johnston, 1840	—	округлые	округлые с короткой тонкой шейей, 1 полярная пробка, 8-12 спор	Екатерининская Гавань, Кольский залив, Баренцево море	Dogiel, 1922; Vivier, 1975
<i>M. minima</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Selenidium cirratuli</i> Lankester, 1866 ( <i>Ditrypanocystis cirratuli</i> ?)	<i>Cirriformia</i> (former <i>Audouinia</i> ) sp. ( <i>C. tentaculata</i> ?)	—	—	цилиндрические, толстостенные, 8,7 x 4,3 $\mu\text{m}$ , около 20 спор в 3 ряда	Остров Бель-иль, Северо-Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1914, 1919; Léger, 1892; Vivier, 1975

## Продолжение таблицы 5

<i>M. nereidis</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Lecudina</i> sp. ( <i>L. pellucida</i> ?)	<i>Platynereis dumerilii</i> (Audouin & Milne Edwards, 1833)	—	—	веретеновидные, слегка изогнутые, 10-12 x 4 μm, 2 полярные пробки, 8 спор в 2 ряда	Кап де ла Аг, Ла-Манш, Северо- Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1914, 1919; Vivier, 1975
<i>M. oviformis</i> <sup>1</sup> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Polyrhabina pygospionis</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Pygospio elegans</i> (= <i>P. seticornis</i> ) Claparède, 1863	—	—	яйцевидные, 14 x 6,5 μm, нет полярных пробок, 8 спор	Анс Сен- Мартен, Ла- Манш, Северо- Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1914, 1919
<i>M. polydorae</i> Reichenow, 1932	<i>Selenidium</i> sp. ( <i>S. cruzi</i> ?)	<i>Polydora</i> sp.	—	—	10-14 x 3 μm, одна полярная пробка (?), 12-16 спор	Хельголанд, Северное море	Reichenow, 1932; Vivier, 1975
<i>M. schereshevskaiiae</i> (former <i>Microsporidyopsis nereidis</i> ) <sup>1</sup> Scherechevsky, 1924	<i>Lecudina</i> sp.	<i>Nereis splendida</i> Grube, 1840 (= <i>N. parallelogramma</i> ) <sup>4</sup>	—	—	продолговатые, с одним продольным швом (?) и одной пробкой, 8-10 x 3.5-4 μm, 8-12 спор (круглые или овальные, x 1.6 μm) в 2-3 ряда	Триест, Адриатика, Средиземное море	Шерешевская, 1924; Stubblefield, 1955; Vivier, 1975
<i>M. selenidii</i> Averinzew, 1908	<i>Selenidium</i> sp.	<i>Ophelia limacina</i> (Rathke, 1843)	нитевидные плазмодии с большим количеством ядер в 1-2 ряда	эллипсоидные, <= 2 μm,	цилиндрические, изогнутые, с закругленными концами, одна пробка (?), 16 x 5- 8 μm, 14-20 спор в 2 ряда	Екатерининская Гавань, Кольский залив, Баренцево море	Аверинцев, 1908; Caullery, Mesnil, 1919; Rotari et al, 2015

## Продолжение таблицы 5

<i>M. sp.</i> (? = <i>M. spionis</i> Caullery et Mesnil, 1897)	<i>Polyrhabdina spionis</i> var. <i>bifurcata</i> Mackinnon and Ray, 1931 (= <i>P. bifurcata</i> (Mackinnon and Ray, 1931) Reichenow, 1932)	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) (= <i>Scolecopsis fuliginosa</i> (Claparède, 1868))	многоядерные гифообразные плазмодии (Fig. 5-7, pl. 20)	овальные (Fig. 5-7, pl. 20)	похожи на цисты <i>M. spionis</i> , но крупнее, около 16 спор в 2 ряда	Плимут, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Mackinnon, Ray, 1931; Reichenow, 1932
<i>M. spionis</i> Caullery et Mesnil, 1897, type species	<i>Polyrhabdina brasili</i> Caullery & Mesnil, 1914	<i>Spio martinensis</i> Mesnil, 1896	—	округлые (?)	продолговатые со вздутой средней частью, две длинные и толстые пробки, 20-40 x 4 µm, около 16 спор (x 2.5 µm) в 2 ряда	Бэ д'Экалгрэн, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Caullery, Mesnil, 1897a, 1919
<b><i>M. spiralis</i> * Sokolova et al., 2014</b>	<i>Polyrhabdina pygospionis</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Pygospio elegans</i> (= <i>P. seticornis</i> ) Claparède, 1863	1-, 2- и 4-ядерные клетки	округлая или овальная, слегка угловатая в верхней части полярной, 2,0–3,2×1,3–1,9 µm (фиксированный материал), 2,5–3,5 × 2,1–2,3 µm (живой материал), несколько спор в одной паразитофорной вакуоли	овальные, 10,0-13,5 x 3,5-5,3 µm (фиксированный материал), 10,3–16,5 x 5,4–7,1 µm (живой материал), спиральный шнур вокруг (около 50 оборотов), 1 полярное утолщение, 8 спор в 2 ряда (бочонкообразные, 3,3-4,4 x 2,3-2,8 µm (фиксированный материал), 2,4–3,5 × 2,4–2,9 (живой материал)), каждая циста в отдельной паразитофорной вакуоли	Левин Наволок, Губа Чупа, Кандалакшский залив, Белое море	Frolova et al., 2021, 2023a,b; Sokolova et al., 2014

## Продолжение таблицы 5

<b><i>M. wohlfarthi</i></b> <sup>1</sup> <b>Hildebrand &amp; Vivier, 1971</b>	<i>Lecudina tuzetae</i>	<i>Hediste diversicolor</i> (O.F. Müller, 1776) (= <i>Nereis diversicolor</i> )	многоядерные плазмодии	яйцевидные, 1,7-3,0 x 0,9-1,9 µm	бутылковидные, короткие и массивные, с круглым и коническим концами, одна пробка (?) на круглом конце, 10×5 µm, 8-12 спор в 2-3 ряда	Пети-Фор-Филипп, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Hildebrand, 1974; Hildebrand, Vivier, 1971; Vivier, 1975
--	-------------------------	---	------------------------	----------------------------------	--	--	--

Обозначения: «—», нет данных; “?”, данные противоречивы и требуют уточнения; «\*», есть молекулярно-биологические данные. Виды, название которых выделено жирным шрифтом, были изучены с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. Цветом выделены те виды, которые были описаны (лиловый) или переописаны (зеленый) при участии автора диссертации.

Сноски:

<sup>1</sup> В ревизии мечниковеллид Р. Ларссона (Larsson, 2014) обозначенные виды отнесены к роду *Caulleryetta* Dogiel, 1922. Представители рода *Caulleryetta* характеризуются цистами с одной полярной крышечкой. Этот род не был признан валидным (Schrével, Desportes, 2013; Vivier, 1975; Frolova et al., 2023b).

<sup>2</sup> Ларссон (Larsson, 2014) относит обозначенный вид к роду *Amphiamblys* в виду нечеткого первоописания (Caullery, Mesnil, 1914, 1919).

<sup>3</sup> Мечниковеллиды, изолированные из пресноводных и наземных беспозвоночных и требующих особого внимания для установления их таксономического статуса.

### 3.5 Внутриклеточное развитие архигрегариин на примере *Selenidium pygospionis*

При исследовании методами электронной микроскопии локализации архигрегарины *S. pygospionis* в кишке хозяина полихеты *Pygospio elegans* я и моя коллега Т.С. Миролюбова (Paskerova et al., 2018) обнаружили молодого трофозоида, локализованного целиком в вакуоли внутри энтероцита (Рисунок 4). В литературе есть упоминания о внутриклеточной локализации молодых трофозоитов и у других архигрегариин: *Selenidium spionis*, *S. mesnili*, *S. foliatum* и *S. cauleryi* (Ray, 1930). Внутриклеточная локализация, по моему мнению, может иметь место на начальной стадии развития трофозоида у некоторых архигрегариин. По мере роста трофозоида клетка хозяина разрушается, и грегарина становится внеклеточной. Встречающихся иногда внутритканевых трофозоитов архигрегариин (Caullery, Mesnil, 1899, 1901; Ray, 1930), скорее, можно отнести к аномально локализованным, когда спорозоит оказался достаточно глубоко погруженным в стенку кишки хозяина (Paskerova et al., 2018).

Установленное явление кратковременного внутриклеточного паразитирования у некоторых архигрегариин позволяет предположить происхождение внутриклеточных тканевых споровиков (Coccidiomorpha) от подобных архигрегариин.

### 3.6 Эпицеллюлярное развитие архигрегарины *Ditrypanocystis* sp. из олигохеты *Enchytraeus albidus*

Среди архигрегариин есть представители с более необычной локализацией трофозоитов в хозяине. В олигохете *Enchytraeus albidus* Henle, 1837 встречаются архигрегарины *Ditrypanocystis* sp., прикрепленные к кишечному эпителию хозяина. Я участвовала в сборе хозяев, изоляции и фиксации паразитов, как свободных, так и прикрепленных к тканям хозяина, и в последующем анализе светооптических и электронномикроскопических данных по морфологии исследуемого дитрипаноцистиса (Butaeva et al., 2006).

Электронномикроскопическое исследование показало, что исследуемый паразит является трофозоитом, около 30-40  $\mu\text{m}$  в длину и 20  $\mu\text{m}$  в ширину, с одним ядром и крупным ядрышком внутри. Паразит обладает трехмембранной пелликулой, подостланной слоем субпелликулярных, продольно ориентированных микротрубочек. Первая половина поверхности паразита несет невысокие (до 0,4  $\mu\text{m}$ ) продольные гребни в количестве 26 штук. Цитоплазма каждого гребня усилена пучком из 10 микротрубочек и скоплением микрофиламентов,

расположенных продольно. Пелликула в гребнях дополнительно армирована электронноплотным слоем между плазмалеммой и внутренним мембранным комплексом. Помимо названных складок выделяются несколько крупных (более высоких и широких) продольных выростов клетки, не имеющих четкой формы на поперечном срезе, и цитоплазма которых усилена лишь микрофиламентами.

Передний конец прикрепленного *Ditrypanocystis* sp. погружен между микроворсинками и ресничками кишечного эпителия хозяина и формирует выросты (лопасти), которые контактируют с апикальной поверхностью сразу нескольких энтероцитов. В цитоплазме переднего конца обнаружены роптрии и микронемы с содержимым разной электронной плотности, а также редкие митохондрии. Между паразитом и энтероцитами сохраняется узкое пространство, заполненное мембранными структурами. Эти структуры формируют каналы и везикулы различной конфигурации. Сами энтероциты хозяина демонстрируют высокую транспортную активность, т.к. большое количество вакуолей обнаружено в их цитоплазме. Источник формирования каналов и везикул в зоне контакта двух клеток не ясен. Можно предположить, что реснички и микровилли энтероцитов, модифицированные под влиянием секретов паразита, участвуют в формировании этого необычно организованного межклеточного пространства. Кроме того, реснички энтероцитов, располагающихся вне зоны контакта паразита и клеток хозяина, имеют тенденцию к слиянию друг с другом с одновременной разборкой аксонем. Так формируется многослойная мембранная капсула вокруг паразита, прикрепленного к кишечному эпителию хозяина (Butaeva et al., 2006).

Полученные данные позволяют предположить, что *Ditrypanocystis* sp. является эпицеллюлярным паразитом, который прикрепляется к апикальной поверхности энтероцитов хозяина с помощью микрона и инициирует формирование вокруг себя мультимембранного паразитофорного мешка за счет модифицированных ресничек клеток хозяина (Рисунок 8).

Следует отметить, что принадлежность паразита из кишечника олигохеты *E. albidus* к роду *Ditrypanocystis* установлено исключительно по морфологическому сходству с ранее описанным видом *D. cirratuli* (Burt et al., 1963; Butaeva et al., 2006; Cox, 1965; Macgregor, Thomasson, 1965). Основная черта представителей этого рода – наличие на поверхности клетки чередующихся продольных борозд и складок, среди которых две складки значительно крупнее других и называются «ундулирующими мембранами» (Burt et al., 1963). На сегодняшний день молекулярные свидетельства, уточняющие филогенетическое положение дитрипаноцистисов среди архигрегариин, отсутствуют.



### 3.7 Таксономия и филогения архигрегариин

Норман Левин (Levine, 1971b) разделил центральный род архигрегариин *Selenidium* на два рода. Для грегариин с мерогонией в жизненном цикле он организовал род *Selenidioides* среди архигрегариин, тогда как оставшиеся селенидиумы, у которых не была обнаружена мерогония в жизненном цикле, были перенесены в отряд Eugregarinida в составе обновленного рода *Selenidium*. Данные по тонкому строению архигрегариин и эугрегариин, известные к тому времени (MacGregor, Thomasson, 1965; Schrével, 1966, 1970, 1971a, b; Vávra, 1969; Vivier, Schrével, 1964, 1966; Vivier et al., 1970), были, по мнению Левина, недостаточными для разделения этих двух групп, поэтому признак «присутствие или отсутствие мерогонии» был положен в основу его классификации. Классификация Левина стала популярной и используется до сих пор в разных обзорных работах и базах данных (Perkins et al., 2000; WoRMS, 2024). Доступные на сегодняшний день молекулярно-филогенетические свидетельства по рДНК (Rueckert, Horák, 2017; Rueckert, Leander, 2009a; Schrével et al., 2016; Wakeman, Horiguchi, 2017; Wakeman, Leander, 2012, 2013; Wakeman et al., 2014) и результаты моего исследования (Рисунок 9; Paskerova et al., 2018) указывают на то, что архигрегарины разделяются на четыре филогенетические линии. В недавнем мультигенном (190 генов) филогенетическом анализе архигрегариин это разделение получило сильную поддержку (Lax et al., 2024). Такое филогенетическое разделение не соответствует таксономическому разделению по Левину. Так, типовой вид рода *Selenidium* (*S. pendula*), не имеющий мерогонии в жизненном цикле, принадлежит к кладе, в которой разместились некоторые виды рода *Selenidioides* (*S. mesnili* и *S. hollandei*), обладающие мерогонией в жизненном цикле. Таким образом, подход Нормана Левина к таксономии архигрегариин на основе жизненного цикла оказывается неадекватным, а собственно сам род *Selenidioides* должен быть упразднен. Внутреннюю таксономию архигрегариин следует разрешать с использованием большого числа филогенетических маркеров с привлечением данных по тонкой морфологии (Paskerova et al., 2018).

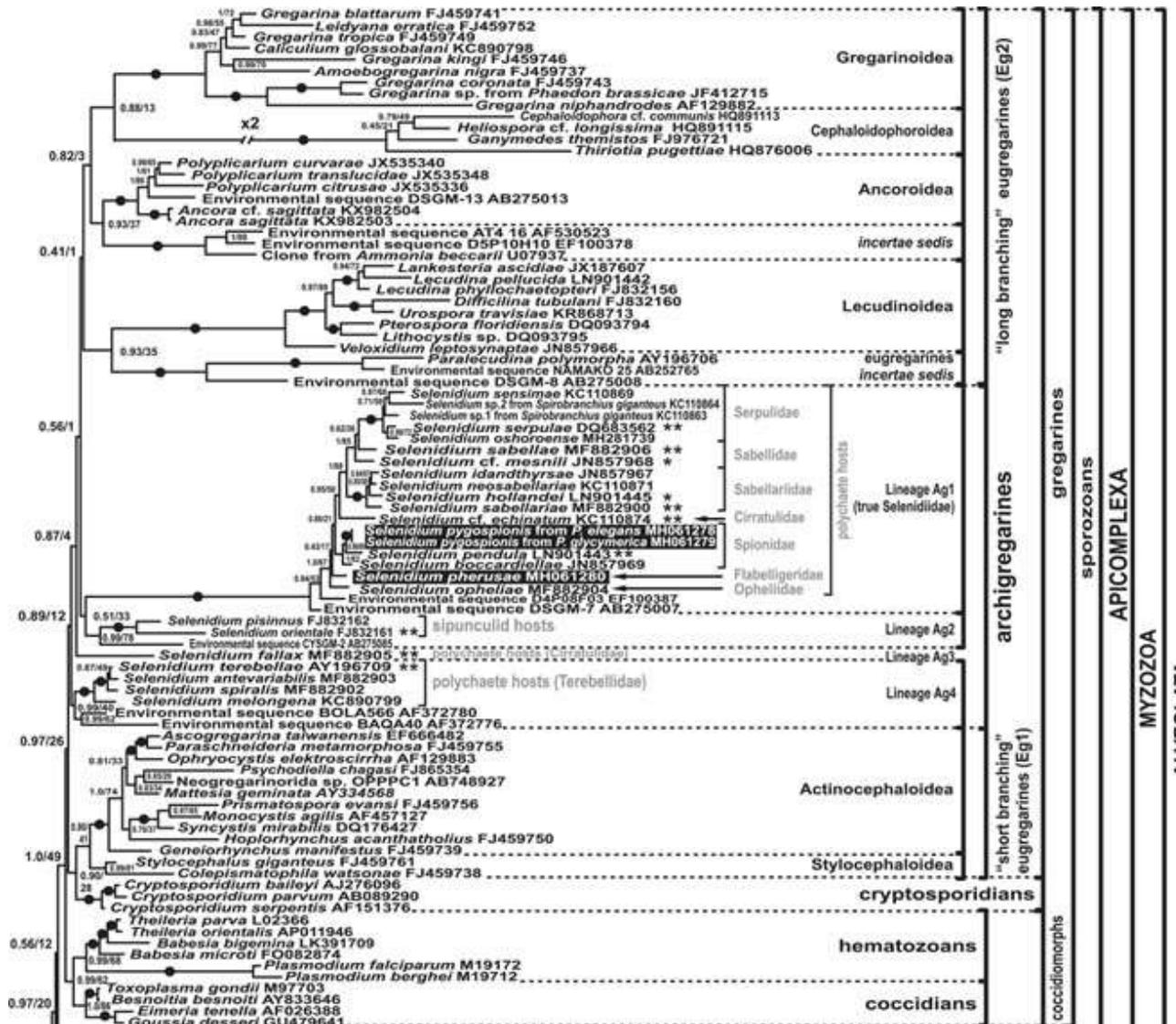


Рисунок 9 - Фрагмент филогенетического построения по методу Байеса, полученного на основе 128 последовательностей гена 18S рРНК (1550 п.н.) альвеолят в рамках модели GTR +  $\Gamma$  + I (по Paskerova et al., 2018 с изменениями)

Числа в узлах представляют апостериорные вероятности (числитель) и коэффициенты максимального правдоподобия в процентах (знаменатель). Черные точки на ветвях соответствуют значениям поддержек равным или более 0,95 и 90% соответственно. Последовательности *Selenidium pygospionis* из двух хозяев и *S. pherusae* выделены черным. Одиночные звездочки указывают на «*Selenidioides*» spp. и двойные звездочки – на «*Selenidium*» spp. как предложено в системе архигрегариин Н. Левина (Levine, 1971). Информация о таксономической принадлежности хозяина выделена серым цветом.

### 3.8 Коэволюция архигрегаринов и их хозяев

Молекулярно филогенетические исследования неоднократно демонстрировали согласование филогений архигрегаринов и их хозяев: близкородственные архигрегарины паразитируют в близкородственных хозяевах (Рисунок 9; Desportes, Schrével, 2013; Lax et al., 2024; Paskerova et al., 2018; Rueckert, Horák, 2017; Schrével et al., 2016; Wakeman, Leander, 2013).

Такие наблюдения, вероятно, указывают на коэволюцию паразитов и их хозяев. Здесь следует упомянуть интересный факт гостальной радиации для одного вида паразита, который был выявлен мной и моими коллегами в ходе морфологического и молекулярно-биологического анализа архигрегаринов из полихет, собранных в географически удаленных местах. Архигрегарины *Selenidium pygospionis* встречается как в кишке полихет *Pygospio elegans* (Spionidae), собранных на литорали Белого моря, так и в кишечнике полихет *Polydora glycymerica* (Spionidae), сверлящих раковину двустворок *Glycymeris yessoensis*, живущих в сублиторали Японского моря (Paskerova et al., 2018).

Недавно методами молекулярной биологии было показано (Hiillos et al., 2021), что полихеты *P. elegans* с побережья Северного моря в Дании также бывают зараженными архигрегарины *S. pygospionis*. Более того, я предполагаю, что *Selenidium* sp. из полихет *P. elegans* (ранее *P. seticornis*), собранных возле Плимута, Ла-Манш (Caullery, Mesnil, 1899; Reichenow, 1932), может также являться *S. pygospionis*.

Все эти наблюдения в совокупности указывают на то, что географическое распространение архигрегаринов может быть широким, а принцип систематики «новый хозяин - новый вид», часто используемый для грегаринов (Levine, 1971b), должен применяться для архигрегаринов, а может быть и для всех грегаринов, с осторожностью (Paskerova et al., 2018).

#### Глава 4 Бластогрегарины как самостоятельная ветвь споровиков

Бластогрегарины до недавнего времени не имели определенного таксономического положения среди Apicomplexa, и их филогенетические связи с другими споровиками были не ясны (Крылов, Добровольский, 1980; Adl et al., 2012; Levine et al., 1980). Эта группа состояла из паразитов единственного рода *Siedleckia* Caullery, Mesnil, 1898; все представители – кишечные паразиты полихет семейства Orbiniidae Hartman, 1942. Типовой вид *S. nematoides*, является кишечным паразитом литоральной полихеты *Scoloplos armiger* (Caullery, Mesnil, 1898; Chatton, Dehorne, 1929; Chatton, Villeneuve, 1936a).

Главные особенности бластогрегарин заключаются в эпицеллюлярном паразитировании на эпителиальных клетках кишечника полихет, многоядерности и изгибательной подвижности их трофозоитов. Эти особенности, за исключением многоядерности, также присущи архигрегаринам (Schrével, Desportes, 2013). Бластогрегарины обладают способностью производить округлые почки на заднем конце, которые последовательно отшнуровываются от клетки паразита и превращаются в гаметоциты (Chatton, Dehorne, 1929; Chatton, Villeneuve, 1936a). Именно эта особенность послужила основой для названия этих паразитов - бластогрегарины, т.е. почкующиеся грегарины (Chatton, Villeneuve, 1936a).

Расшифровка жизненного цикла бластогрегарин была предложена Шаттоном с соавторами на основе светооптических наблюдений за *S. mesnili* и *S. caulleryi* (Chatton, Dehorne, 1929; Chatton, Villeneuve, 1936a). Одноядерный спорозоит прикрепляется к апикальной поверхности клетки хозяина, растет преимущественно в длину, число ядер увеличивается. Ядра различаются по размерам и расположению в клетках двух типов. Формы с монорядным расположением ядер считаются макрогамонтами. У таких форм на заднем конце клетки ядра становятся более крупными и отстоящими друг от друга на большем расстоянии. Формирующиеся почки на заднем конце таких паразитов содержат по одному ядру. Почки превращаются в макрогаметы. Паразиты с многорядным расположением ядер, размер которых уменьшается к заднему концу клетки, являются микрогамонтами. Микрогамонты производят многоядерные почки, которые, по Шаттону и Вилленеву, соответствуют микрогаметоцитам, которые, в свою очередь, производят микрогаметы (Chatton, Villeneuve, 1936a). Шаттон с соавторами наблюдали в содержимом кишки хозяина стадии, которые они интерпретировали как копулирующие гаметы и зигота. Ооцисты, обнаруженные в фекальных массах хозяина, обладали 10-16 банановидными спорозоидами и эксцентрично расположенным остаточным

телом (Chatton, Dehorne, 1929; Chatton, Villeneuve, 1936a). Предложенная схема жизненного цикла бластогрегарин требовала доказательств на современном уровне.

Шаттон и Виленев (Chatton, Villeneuve, 1936a, b) предположили, что эволюционно бластогрегарины ближе к кокцидиям, чем к грегаринам, т.к. в их жизненном цикле отсутствуют стадии сизигия и гаметоциты и присутствует анизогамия, при которой макрогаметы разительно отличаются от микрогамет по морфологии и размерам. Однако такое родство бластогрегарин с кокцидиями вызывало сомнение у других исследователей. Как правило, макрогамонты кокцидий целиком превращаются в макрогаметы, а микрогамонты расходуется на формирование большого числа микрогамет. Напротив, макро- и микрогамонты бластогрегарин в течение своей жизни последовательно отпочковывают гаметоциты, которые дают начало гаметам: макрогаметам и микрогаметам соответственно. Ооциста кокцидий, как правило, сложная, включает в себя дополнительные компартменты (спороцисты), содержащие спорозоиты. В. А. Догель (Догель, 1910) предполагал, что бластогрегарины являются аберрантными грегаринами. Другие исследователи считали бластогрегарин группой неясного положения среди споровиков (Léger, 1909; Léger, Duboscq, 1910) или вообще неродственной споровикам (Caullery, Mesnil, 1899). Шаттон и Виленев в более поздней работе (Chatton, Villeneuve, 1936b) заключили, что постоянная многоядерность клетки серьезно отличает бластогрегарин от других споровиков и заслуживает того, чтобы считать бластогрегарин самостоятельной группой такого же таксономического ранга, как у грегарин и кокцидий. Грассе (Grassé, 1953a) предложил включить бластогрегарин в класс Gregarinomorpha. Крылов и Добровольский (1980) рассматривали бластогрегарин как группу неясного положения в типе Sporozoa. Пуйторак и соавторы (de Puytorac et al., 1987) переработали идеи предшественников и предложили считать бластогрегарин самостоятельным классом Blastogregarinea наравне с таковыми грегарин, кокцидий и гемоспориций. И, наконец, Левин и его последователи отнесли бластогрегарин к отряду Eugregarinorida по формальному признаку отсутствия мерогонии в их жизненном цикле (Levine, 1985; Perkins et al., 2000). Таким образом, назрела необходимость прояснить филогенетическое положение бластогрегарин.

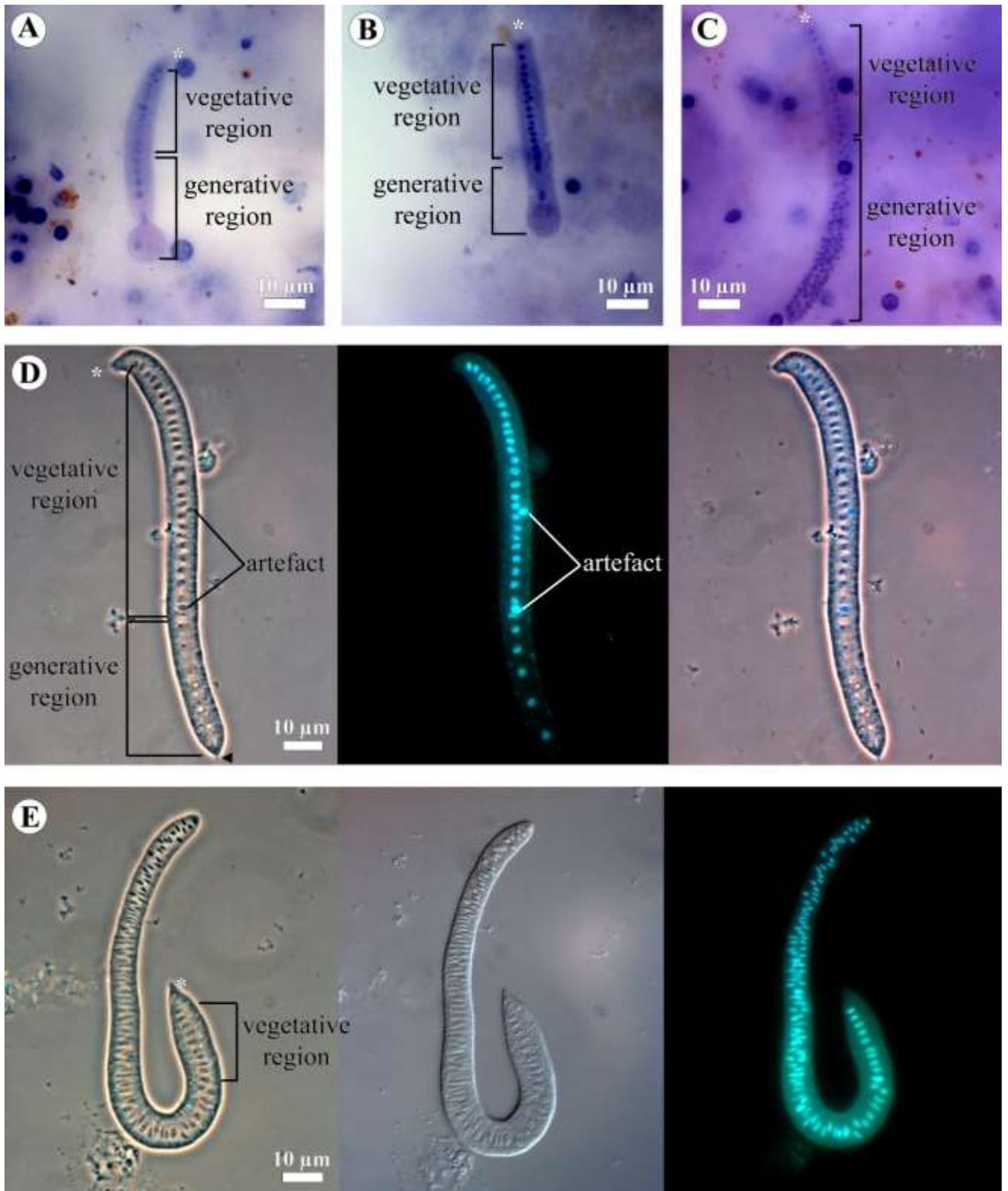
В этой главе я использую данные, как собственные, так и полученные в ходе совместной работы (Таблица 1; Simdyanov et al., 2018; Valigurová et al., 2017), по морфологии и биологии бластогрегарины *S. cf. nematoides*, позволяющие определить филогенетическое положение и таксономический статус бластогрегарин среди Apicomplexa.

#### 4.1 Новые данные о строении и биологии бластогрегариин на примере *Siedleckia cf. nematoides*

Бластогрегарины *S. cf. nematoides* - длинные, уплощенные клетки с заостренным передним и закругленным задним концами, способные к активному изгибанию и скручиванию всем телом. Я впервые показала, что гладкие покровы *S. cf. nematoides* представлены трехмембранной пелликулой с хорошо развитым гликокаликсом над и слоем продольно расположенных микротрубочек под ней. Микропоры располагаются в два продольных ряда по бокам бластогрегарины. Тело бластогрегариин можно подразделить на три отдела, морфологически хорошо отличимых: мукрональный, вегетативный и генеративный. Мукрональный отдел характеризуется наличием органелл апикального комплекса и мукрональной вакуоли. Второй отдел определяется обилием цистерн ЭПР и линейно расположенными ядрами. Третий отдел по расположению прогамных ядер отличается у макрогамонтов и микрогамонтов: один ряд крупных, широко расставленных ядер у макрогамонтов; несколько рядов мелких, неправильной формы ядер у микрогамонтов (Рисунки 10-12). Мой соавтор Т.Г. Симдянов показал на электроннограммах, что каждое прогамное ядро микрогамонта имеет по две связанные друг с другом кинетосомы – это основа будущей двужгутиковой гаметы (см. рисунок 6 в Simdyanov et al., 2018). Все это хорошо укладывается в схему жизненного цикла бластогрегариин, ранее предложенную французскими авторами, по которой гаметоциты отпочковываются на заднем конце паразитов.

Следует добавить, что на прижизненных препаратах можно наблюдать аномальное почкование паразитов. Так можно увидеть формирование нескольких вздутий (почек) на конце паразита, поочередно «сбрасывающихся» клеткой. Эти вздутия липкие и неподвижные, со временем они деградируют. Подобные наблюдения описывал и В.А.Догель (1910), который считал почкование бластогрегариин патологией. Задний конец клетки паразита, скорее всего, претерпевает перестройку пелликулы и подлежащего цитоскелета для последующего отделения макро- или микрогаметоцитов от основного тела гамонта. Такие перестройки проявляются в повышенной липкости поверхности и в утрате подвижности отпочковывающегося участка клетки. Бластогрегарины как бы отшнуровывают и сбрасывают измененные участки тела, судьба которых может быть различной. В условиях прижизненного препарата, они, как правило, разрушаются.

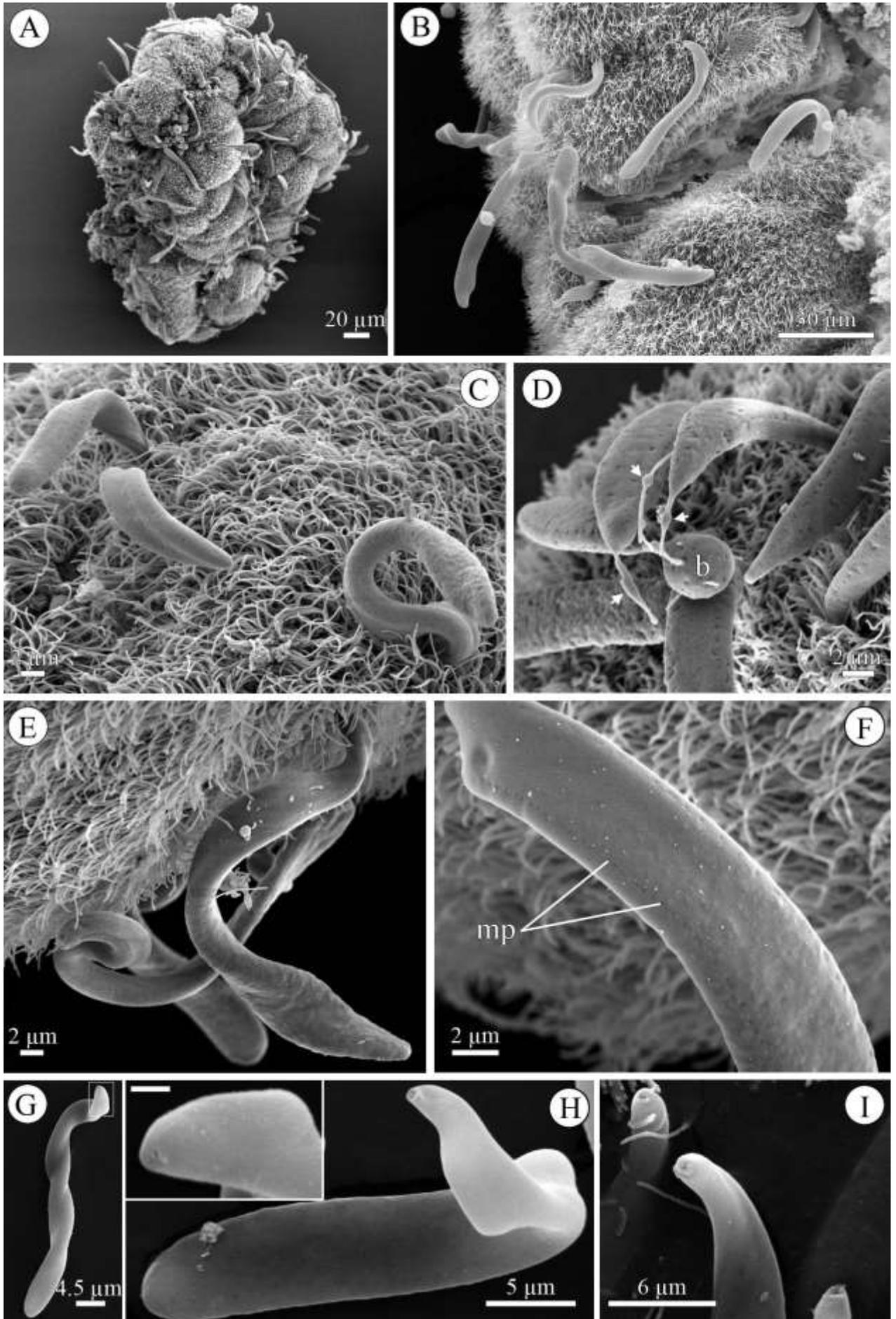
Электронномикроскопическое исследование показало (Рис. 10-13А, В, С; дополнительно см. рис. 2-6 в Simdyanov et al., 2018), что паразит *S. cf. nematoides* прикрепляется к кишечному



**Рисунок 10 - Морфология бластогегарины *Siedleckia* cf. *nematoides*. Световая микроскопия**

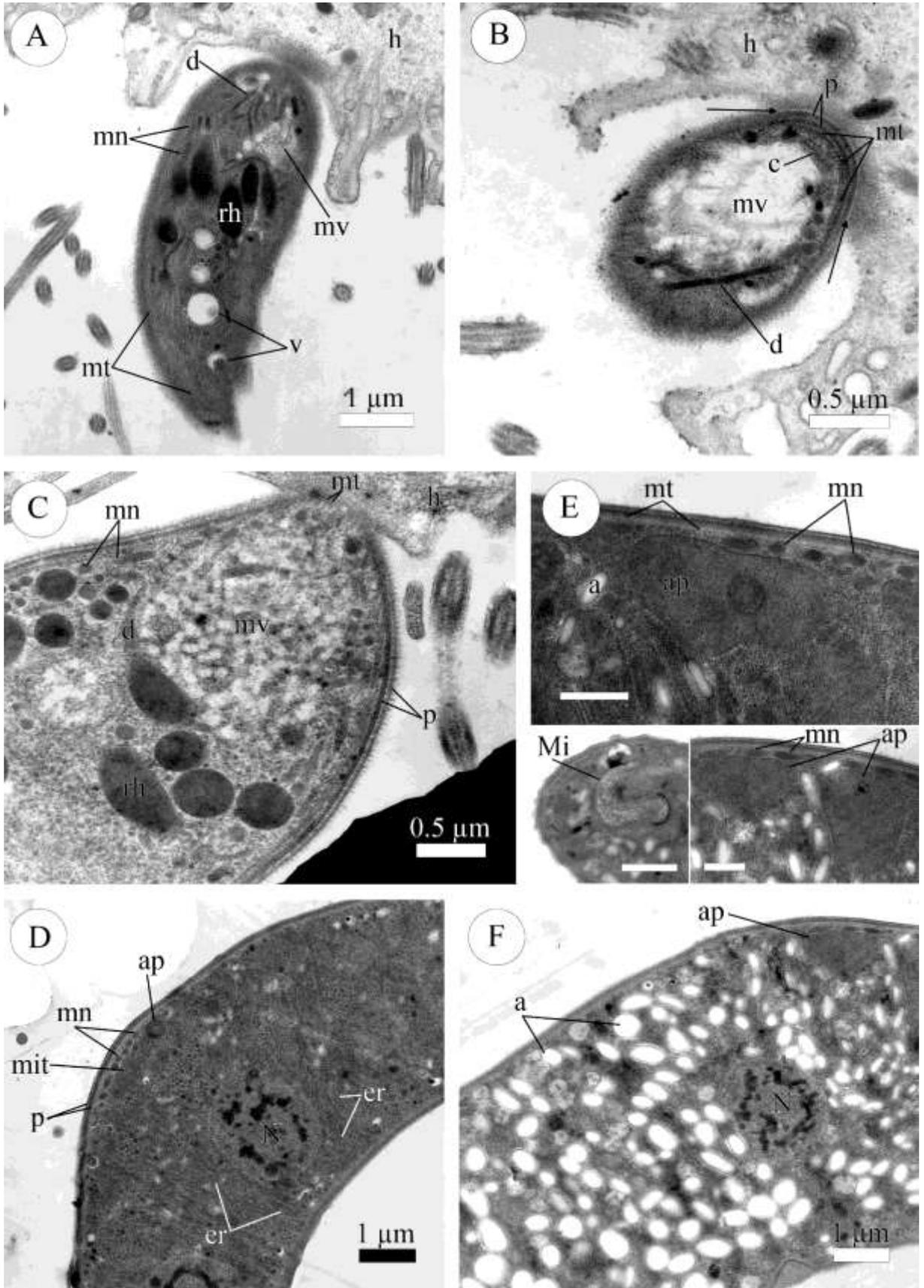
**А-В.** Меромакрогамонты. Обратите внимание на формирование почки (макрогаметы) на А. Мазок, светлое поле, окраска гематоксилином Бейера. **С.** Меромикрогамонт. Мазок, светлое поле, окраска гематоксилином Бейера. **Д.** Меромакрогамонт с однорядным расположением ядер. Обратите внимание на светящиеся мелкие органеллы, предположительно митохондрии и/или пластиды, по периферии клетки. Постоянный препарат, фазовый контраст; флуоресценция, окраска DAPI; комбинирование фазового контраста и флуоресценции. **Е.** Меромикрогамонт с многорядным расположением ядер. Постоянный препарат, фазовый контраст; дифференциально-интерференционный контраст; флуоресценция, окраска DAPI.

**Обозначения:** \*, передний конец (мукрон); головка черной стрелки, перетяжка после отпочковывания макрогаметы; artefact, артефакт на поверхности меромакрогамонта; generative region, район генеративных ядер; vegetative region, район вегетативных ядер.



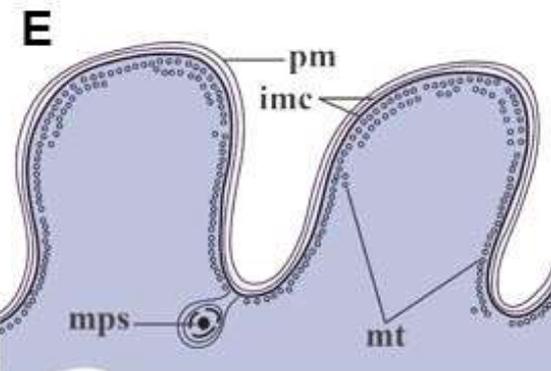
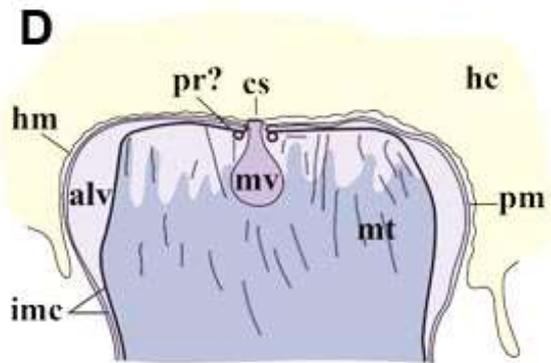
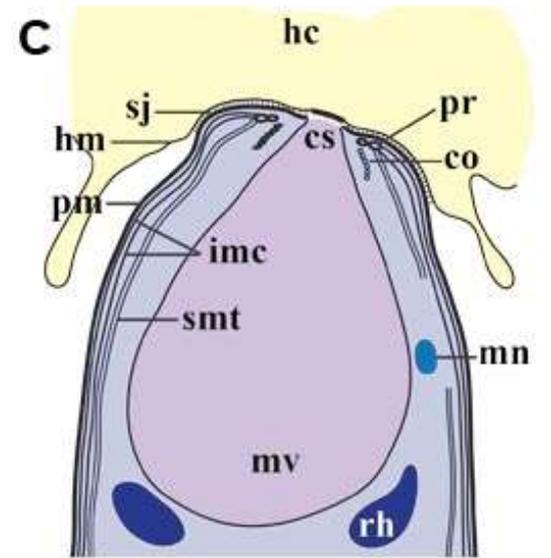
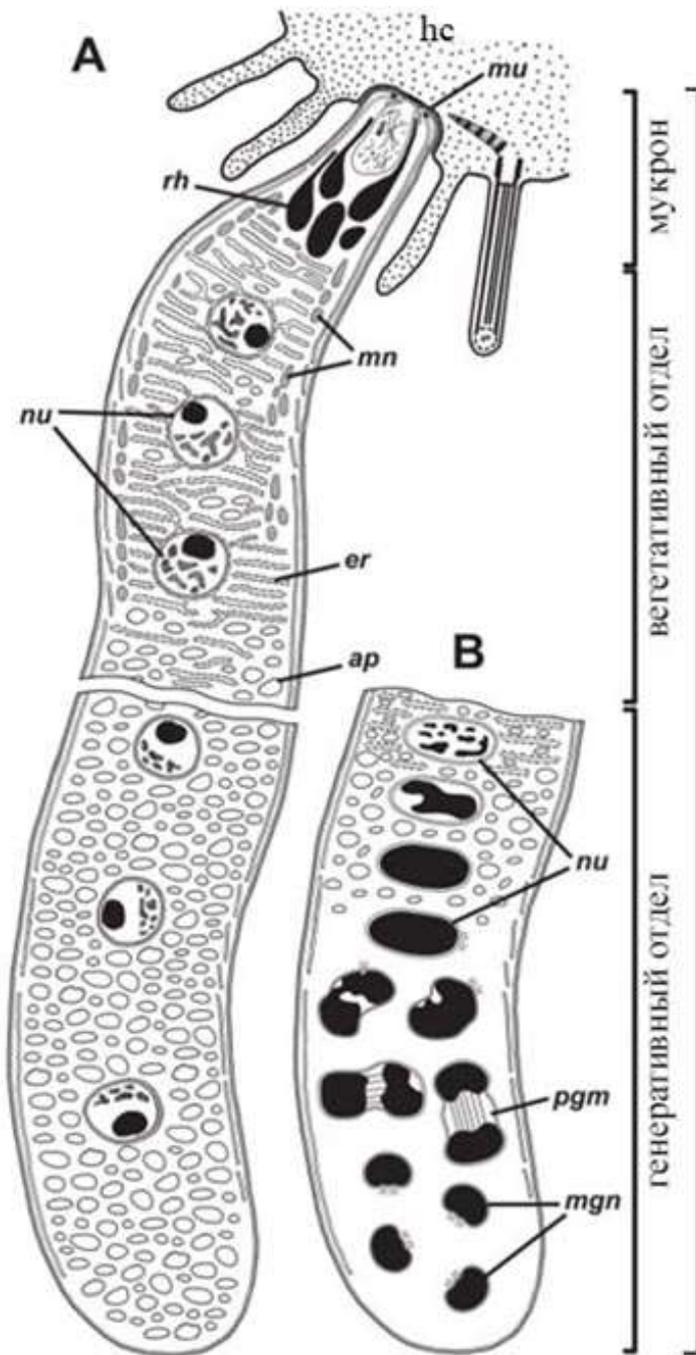
**Рисунок 11 - Морфология бластогегарины *Siedleckia cf. nematoides*. Сканирующая электронная микроскопия**

**А-В.** Кусочки эпителия кишки хозяина с прикрепленными бластогегаринами. Обратите внимание, что бластогегарины слегка уплощены. **С-Д.** Прикрепленные к кишечному эпителию хозяина бластогегарины при большом увеличении. **С** – молодые бластогегарины с закругленным задним концом. **Д** – бластогегарины в процессе формирования почек (**b**) на заднем конце клетки. Обратите внимание на оттянутый задний конец (белая стрелка) у клеток, прошедших почкообразование. **Е-Ф.** Микропоры (**mp**) расположены в два ряда по бокам бластогегарины. **Г.** Открепившийся от ткани хозяина мерогамонт. Мукрон (питающий отдел клетки) выделен белым прямоугольником. Обратите внимание на скручивание клетки вдоль продольной оси. **Н.** Мерогамонт, искусственно отделенный от ткани хозяина. Обратите внимание на ямку на вершине мукрона – предполагаемую мукрональную вакуоль. **Вставка в Н.** Мукрон бластогегарины на **Г** при большом увеличении, расположен по горизонтали. Обратите внимание на две небольшие ямки на вершине мукрона – вероятно, протоки роптрий. Шкала: 1  $\mu\text{m}$ . **И.** Мукрон у трех бластогегарин, искусственно отделенных от ткани хозяина. **Обозначения:** белая стрелка, перетяжка на заднем конце паразита, образующаяся в результате почкообразования; **b**, почка; **mp**, микропора.



**Рисунок 12 - Строение бластогрегарины *Siedleckia cf. nematoides*. Трансмиссионная электронная микроскопия**

**А - С.** Тангентальные срезы через мукрон бластогрегарин, прикрепленных к кишечному эпителию хозяина. А, С – срезы через роптрии (rh), В – срез через мукрональную вакуоль (mv) и основание коноида (с). Обратите внимание на зону контакта (стрелка) между бластогрегариной и клеткой хозяина (h) на В. **Д.** Продольный срез через вегетативный отдел клетки. **Е.** Детали строения бластогрегарины в зоне перехода от вегетативного отдела к генеративному: апикопласт-подобная органелла (ар) и микронемы (mn) на периферии клетки (вверху; шкала 0,5  $\mu\text{m}$ ); микроспоридия (Mi) на стадии формирования споры (внизу слева; шкала 1  $\mu\text{m}$ ) в цитоплазме бластогрегарины; две апикопласт-подобные органеллы (ар) и микронемы (mn) на периферии клетки (внизу справа; шкала 0,5  $\mu\text{m}$ ). Обратите внимание, что апикопласт-подобная органелла представляет собой округлую четырехмембранную структуру в гомогенном матриксе крупной, неправильной формы везикулы. **Ф.** Продольный срез через генеративный отдел меромакрогамонта. **Обозначения:** а, амилопектин; ар, апикопласт-подобная органелла в цистерне ЭПР; с, основание коноида, косо срезанного; d, проток роптрии; er, эндоплазматический ретикулум; h, клетка хозяина; Mi, микроспоридия; mit, митохондрия; mt, продольные субпелликулярные микротрубочки; mn, микронемы; mv, мукрональная вакуоль; N, ядро; p, пелликула; rh, роптрия; v, везикулы.



### Рисунок 13 - Схема организации бластогрегарин (масштаб не соблюден)

**А-В.** Схемы организации общего строения меромакрогамонта (А) и генеративного отдела меромикрогамонта (В) на примере *Siedleckia cf. nematoides* (по Simdyanov et al., 2018 с изменениями). Отделы клетки бластогрегарин: мукрон или питающий отдел, вегетативный отдел, генеративный отдел. **С.** *Siedleckia cf. nematoides*: схема организации мукрона и кортекса (продольный срез). **Д-Е.** *Chattonaria mesnili*: схемы организации мукрона (Е, продольный срез) и кортекса (F, поперечный срез).

**Обозначения:** alv, альвеола между цитомембранами внутреннего мембранного комплекса пелликулы (у *C. mesnili*); ap, амилопектиновая гранула; co, коноид; cs, цитостом; er, эндоплазматический ретикулум; hc, энтероцит (клетка хозяина) с микровиллями и ресничками на апикальной поверхности; hm, плазматическая мембрана клетки хозяина; imc, внутренний мембранный комплекс пелликулы; mgn, генеративные ядра, каждое с двумя кинетосомами; mn, микронема; mt, микротрубочки; mv, мукрональная вакуоль; mu, мукрон; nu, вегетативные ядра; rgm, прогамное деление (митоз) ядра меромикрогамонта; pm, плазматическая мембрана паразита; pr, полярное кольцо (у *C. mesnili* под вопросом); rh, роптрия; sj, септированный клеточный контакт между паразитом и клеткой хозяина (у *S. cf. nematoides*); smt, субпелликулярные микротрубочки.

эпителию хозяина передним концом, организованным по типу мукрона архигрегарин. Мукрон вложен в инвагинацию на апикальной поверхности энтероцита и содержит коноид, мукрональную вакуоль, роптрии и микронемы. Электроннограммы Т.Г.Симдянова дополнили, что в самой вершине мукрона располагаются два тесно расположенных полярных кольца, одно (внутреннее) вложено в другое (наружное). От наружного полярного кольца отходят субпелликулярные микротрубочки, расположенные под пелликулой вдоль всей клетки. Коноид расположен в вершине мукрона под полярными кольцами и, очевидно, связан с внутренним полярным кольцом своей вершиной. Объемная мукрональная вакуоль с волокнистым содержимым располагается под коноидом. Ее широкий проток проходит сквозь коноид и открывается в просвет между паразитом и клеткой хозяина. Несколько крупных роптрий располагаются вокруг мукрональной вакуоли и под ней. Их протоки проходят сквозь коноид и, вероятно, также способны открываться в просвет между двумя контактирующими клетками. В мукроне много микронем вокруг мукрональной вакуоли. Позади мукрональной вакуоли микронемы располагаются более упорядочно и по периферии клетки. Мукрон покрыт трехмембранной пелликулой за исключением зоны, расположенной над коноидом, где сохраняется лишь наружная мембрана паразита и где открываются проток мукрональной вакуоли и протоки роптрий — цитостом. В совокупности весь этот комплекс органелл служит

для питания паразита путем мизоцитоза. Цитостом открывается в узкое пространство между паразитом и энтероцитом хозяина, организованное наподобие септатного контакта двух клеток. Мембрана клетки хозяина напротив цитостома паразита всегда усилена сплошным электронно-плотным материалом (Рисунок 13А-С).

В ходе транскриптомного анализа (см. главу 9) было дополнительно установлено, что у бластогрегарин есть пластиды (Janouškovec et al., 2019). На рисунке 12D-F отмечены структуры, которые могут считаться кандидатами в пластиды: округлые, 4х-мембранные структуры в везикуле неправильной формы. Согласно работам Ц. Томовой и соавторов (Tomova et al., 2006, 2009), апикопласты тканевых кокцидий (*Toxoplasma*, *Sarcocystis*) располагаются в контакте с эндоплазматическим ретикуломом. Найденные мной структуры у бластогрегарин, вероятно, соответствуют пластиде в обособленном участке эндоплазматического ретикула.

Бластогрегарины могут быть заражены какими-то микроспоридиями, филогенетически близкими к представителям семейства *Metchnikovellidae* (Михайлов и др., 2021). По моим предварительным данным, развитие гиперпаразитов идет непосредственно в цитоплазме бластогрегарин без образования паразитофорной вакуоли (Рисунок 12Е).

По полученным моими коллегами данным, идентичность последовательностей SSU рДНК между молекулярными пробами *S. cf. nematoides*, изолированных из полихет *S. armiger*, собранных на песчанно-илистой литорали в двух точках Белого моря (в районе ББС МГУ и УНБ «Беломорская» СПбГУ, расстояние между точками сбора около или более 60 км по воде), составляла 93,7%. Никаких морфологических отличий у бластогрегарин в пределах каждой локации и из разных мест сбора я и мои коллеги не обнаружили (Simdyanov et al., 2018). Несмотря на то, что в литературе существует представление о комплексе сублиторальных видов *S. cf. armiger* (Bleidorn et al., 2006), мы все-таки полагаем, что работали с одним видом литоральной полихеты – *Scoloplos armiger* (O.F. Müller, 1776). Все сказанное заставляет нас предполагать существование двух видов-близнецов бластогрегарин в одном хозяине.

## 4.2 Разнообразие бластогрегарин

Я приняла участие в анализе морфологических и филогенетических данных, полученных моими коллегами, по *S. mesnili* Chatton et Dehorne, 1929, паразита кишки полихеты *Orbinia latreillii*, собранных на литорали Ла-Манша. Обнаруженный комплекс морфологических и молекулярно-биологических признаков существенно отличает *S. mesnili* от *S. cf. nematoides* (Рисунок 13, Таблица 6). Это позволило обосновать выделение нового рода *Chattonaria*

Таблица 6 - Диагностические признаки бластогрегариин

Характеристики / бластогрегарины	<i>Siedleckia nematoides</i> Caullery et Mesnil, 1898, типовой вид	<i>Siedleckia cf. nematoides*</i> Caullery et Mesnil, 1898, emend. Simdyanov et al., 2018	<i>Siedleckia</i> sp.	<i>Siedleckia</i> sp.	<i>Siedleckia leitoscoloplosis</i> Lax, Park, Keeling, 2024
Синонимы				<i>Siedleckia nematoides</i> Caullery et Mesnil, 1898	
Хозяин (синонимы)	<i>Scoloplos armiger</i> (Müller, 1776) ( <i>Scoloplos mülleri</i> (Caullery et Mesnil, 1898), <i>Aricia muelleri</i> Rathke, 1843)	<i>Scoloplos armiger</i> (Müller, 1776)	<i>Phylo norvegica</i> (M. Sars in G.O. Sars, 1872) ( <i>Aricia norvegica</i> M. Sars in G.O. Sars, 1872)	<i>Orbinia latreillii</i> (Audouin & H. Milne Edwards, 1833) ( <i>Aricia latreillii</i> Audouin & Milne Edwards, 1833)	<i>Leitoscoloplos pugettensis</i> (Pettibone, 1957)
Типовое место обнаружения	бухта Сан Мартен на мысе Ла Аг и город Вимрë, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	пролив Великая Салма (ББС МГУ) и о.Большой Горелый (УНБ «Беломорская» СПбГУ), Кандалакшский залив, Белое море	Тронхейм, Норвежское море, Северная Арктика	бухта Терренé, залив Морлé, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Залив Гиацинт, остров Квадра, Британская Колумбия, Северо-Западная Пацифика
Локализация в хозяине	кишка, железистый отдел, прикреплены к энтероцитам или свободные	средняя кишка, прикреплены к ресничным эпителиальным клеткам или свободные	кишечник	ресничные клетки первой половины кишечника; прикреплены заостренным передним концом	кишечник
Экстенсивность, интенсивность инвазии	100%, высокая	100%, до 20 на 0.01 mm <sup>2</sup> (в некоторых участках кишечника)	—	—	—

## Продолжение таблицы 6

Трофозоит: форма клетки; ядерный аппарат	с одного конца; с одним или 2-3 ядрами в один ряд (молодые), несколько ядер в один ряд (растущие), ядра в один ряд ( $x2-3 \mu\text{m}$ ) в проксимальной части и в несколько рядов ( $x1-1,3 \mu\text{m}$ ) в дистальной части (зрелые)	вытянутый, уплощенный, многоядерный с выраженной полярностью (три функциональных отдела клетки: мукрональный, вегетативный и генеративный); ядра овальные (вытянуты поперечно), расположены в один продольный ряд в вегетативном отделе микро- и макрогамонтов, крупные, округлые в один ряд в генеративном отделе макрогамонта и мелкие, неправильной формы случайно в несколько рядов в генеративном отделе микрогамонта	однойдерный, червеобразный, с заостренным, обособленным передним концом, подвижный (молодой, спорозоит?); червеобразный, уплощенный; заостренный, многоядерный	червеобразный, уплощенный; заостренный с одного конца, многоядерные (в один ряд или несколько рядов)	червеобразный, прозрачный, многоядерный (в один ряд)
Трофозоит: длина x ширина (мин – макс (ср. $\pm$ SE, n - выборка), $\mu\text{m}$ ); ядра (мин – макс (ср. $\pm$ SE, n - выборка), )	12–15 x 3–4 (однойдерные), 8 - 150 в длину (многоядерные) $\mu\text{m}$	5–200 x 3–17 ( $70 \pm 19,6 \times 9 \pm 1,6$ , n = 139), толщина $x1-3$ (n = 139) (многоядерные); ядра микрогамонтов в вегетативном отделе $0,5-1,8 \times 1,1-2,2$ ( $1,1 \pm 0,2 \times 1,5 \pm 0,2$ , n=56) и в генеративном отделе $0,5-1,1 \times 0,7-1,4$ ( $0,7 \pm 0,1 \times 0,9 \pm 0,2$ , n=58), ядра макрогамонтов в вегетативном отделе $0,5-1,3 \times 0,7-2,2$ ( $0,9 \pm 0,1 \times 1,3 \pm 0,3$ , n=60) и в генеративном отделе $0,5-1,6 \times 1,1-2,9$ ( $1,1 \pm 0,1 \times 1,7 \pm 0,4$ , n=32)	—	—	70–84 x 7,5–8

Продолжение таблицы 6

Продольные борозды на поверхности клетки	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют	отсутствуют
Передний конец, прикрепительный аппарат	заостренный, оптически светлый	мукрон (несет коноид, мукрональную вакуоль, роптрии, микронемы) заостренный, вложен в небольшое углубление клетки хозяина	заостренный	заостренный, оптически светлый	булавовидный, большая мукрональная вакуоль с гранулярным содержимым
Задний конец	широкий, уплощенный, закругленный, отшнуровывает сферические почки	закругленный	закругленный, отшнуровывает сферические почки	широкий, уплощенный, отшнуровывает сферические почки	
Подвижность мерогамонтов	изгибание, скручивание в спираль	изгибание и скручивание	изгибание, скручивание в спираль	—	изгибание, скручивание
Ооциста	—	—	—	—	—
Последовательности ДНК (точки сбора)	—	SSU rDNA + ITS1 + 5.8S rDNA + ITS2 + LSU rDNA (ББС МГУ); частично SSU rDNA (УНБ «Беломорская»)	—	—	SSU rDNA
Примечания	—	комплекс видов-двойников в одном хозяине; встречаются зараженные мечниковеллидами	образование одноядерной почки на боковой поверхности гамонта (?)	—	—
Источники	Caullery, Mesnil, 1898, 1899	Михайлов и др., 2021; Simdyanov et al., 2018; Valigurová et al., 2017; оригинальные данные (морфометрия)	Догель, 1910; Chatton, Dehorne, 1929	Chatton, Dehorne, 1929	Lax et al., 2024

Продолжение таблицы 6

Характеристики / бластогрегарины	<i>Chattonaria mesnili</i> (Chatton, Dehorhn, 1929)	<i>Chattonaria mesnili*</i> (Chatton, Dehorhn, 1929), comb. nov., emend. Simdyanov et al., 2018	<i>Chattonaria caulleryi</i> (Chatton, Villeneuve, 1936), comb. nov.	<i>Chattonaria dogieli</i> (Dogiel, 1910), comb. nov.
Синонимы	<i>Siedleckia mesnili</i> Chatton, Dehorhn, 1929		<i>Siedleckia caulleryi</i> Chatton, Villeneuve, 1936	<i>Siedleckia dogieli</i> (Dogiel, 1910) Chatton, Dehorhn, 1929, nomen nudum
Хозяин (синонимы)	<i>Orbinia latreillii</i> (Audouin & H. Milne Edwards, 1833) ( <i>Aricia</i> <i>latreillii</i> Audouin & Milne Edwards, 1833)	<i>Orbinia latreillii</i> (Audouin & H. Milne Edwards, 1833) ( <i>Aricia</i> <i>latreillii</i> Audouin & Milne Edwards, 1833)	<i>Protoaricia oerstedii</i> (Claparède, 1864) ( <i>Aricia oerstedii</i> Claparède, 1864; <i>Theostoma oerstedii</i> (Claparède, 1864))	<i>Phylo foetida</i> (Claparède, 1868) ( <i>Aricia foetida</i> (Claparède, 1868))
Типовое место обнаружения	бухта Терренé, залив Морлэ, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Могерьек, Ла-Манш, Северо- Восточная Атлантика	Бухта Дё То, Средиземное море	Неаполь, Средиземное море
Локализация в хозяине	железистые клетки слепых отростков желудка; прикреплены с помощью «эпимерита», вложенного в клетку хозяина	железистые клетки желудка	кишечник	кишечник
Экстенсивность; интенсивность инвазии	—	67% (8 из 12 полихет); несколько – 30-40 клеток на хозяина	—	—

## Продолжение таблицы 6

Трофозоит: форма клетки; ядерный аппарат	червеобразный, округлый в сечении, с дифференцированным передним концом; ядра (x4-5 $\mu\text{m}$ ) располагаются в один ряд в первой половине тела и в несколько рядов или в один ряд в остальной части (зрелые микро- и макрогамонты),	вытянутый, округлый в сечении, с выраженной полярностью (три функциональных отдела клетки: мукрональный, вегетативный и генеративный), многоядерный; ядра овальные (вытянуты поперечно), расположены в один продольный ряд в вегетативном отделе микро- и макрогамонтов, крупные, округлые в один ряд в генеративном отделе макрогамонта и мелкие, неправильной формы рандомно в несколько рядов в генеративном отделе микрогамонта	червеобразный, уплощенный, многоядерный (в один ряд у макро-, или в несколько рядов у микрогамонтов в дистальном отделе)	червеобразный, округлый в сечении, многоядерный, с дифференцированным передним концом
Трофозоит: длина x ширина (макс x мин (ср., n - выборка), $\mu\text{m}$ ); ядра: (макс x мин), $\mu\text{m}$	15 в длину (три ядра; молодые), до 200 x 12 (многоядерные, зрелые)	48,8-220 x 7,6-13 (97,4 x 9,1, n = 8) (многоядерные); ядра в проксимальной части вегетативного отдела 1,5 x 1,0 у микро- и макрогамонтов, в дистальной части вегетативного отдела 2,0 x 1,5 и в генеративном отделе 1,7 x 1,2 макрогамонтов, в генеративном отделе ~ 0,6 у микрогамонтов	—	—
Продольные борозды на поверхности клетки	15 (молодые гамонты), 40-50 (зрелые гамонты), истончаются на заднем конце	28 – 34 (n=2), начинаются за мукроном, истончаются на заднем конце; складки поверхности тела между бороздами около 1,1 $\mu\text{m}$ в высоту и 0,9 $\mu\text{m}$ в ширину в основании (в середине клетки)	присутствуют	присутствуют

## Продолжение таблицы 6

Передний конец, прикрепительный аппарат	тонкий полусферический купол, вдавленный в клетку хозяина	модифицированный мукрон (нет коноида) - притупленный, по периферии несет отростки, направленные назад, заякоренен в клетке хозяина	—	притуплен, по периферии несет венчик из раздвоенных крючьев, которые сжимают выступающую часть эпителиальной клетки кишечника
Задний конец	округлый, лишенный борозд, отшнуровывает сферические почки	закругленный, лишенный борозд	закругленный, лишенный борозд, отшнуровывает сферические почки	закругленный (по рисункам)
Подвижность мерогамонтов	—	медленные и периодические сгибательные движения	—	сокращения, сгибания и скручивания в спираль
Ооциста	—	—	округлая, с тонкой оболочкой и 10-16 спорозонтами банановой формы с субполярным расположением ядер, остаточное тело у полюса	—
Последовательности ДНК	—	SSU рДНК, ITS1, 5.8S рДНК, ITS2 и часть LSU рДНК	—	—
Примечания	очень нежные, быстро разрушаются в морской воде	—	—	гаметоциты нерегулярного размера, с непостоянным числом ядер; паразит в морской воде неустойчив
Источники	Chatton, Dehorne, 1929	Simdyanov et al., 2018	Chatton, Villeneuve, 1936a	Догель, 1910; Chatton, Dehorne, 1929

Обозначения: '—', нет данных; '\*', исследованы методами электронной микроскопии. Цветом выделены те виды, которые были переописаны при участии автора диссертации.

Simdyanov et al., 2018 в пределах нового семейства Chattonariidae Simdyanov et al., 2018 для этого паразита (Simdyanov et al., 2018).

Бластогрегарина *C. mesnili* (Chatton et Dehorne, 1929), emend. Simdyanov et al., 2018 обладает длинным, округлым в сечении телом с глубокими продольными бороздами на поверхности. Поверхность паразитов между бороздами организована в виде складок с плоскими вершинами. Непосредственно под трехмембранной пелликулой располагаются многочисленные продольные субпелликулярные микротрубочки с регулярным распределением и расположением: в два слоя в вершинах складок и в один слой на их боковых сторонах и между ними. Типичные микропоры не обнаружены, однако, присутствуют микропороподобные структуры, прерывающие внутренний мембранный комплекс пелликулы и слой субпелликулярных микротрубочек. С микропороподобными структурами связаны мультимембранные везикулы. По аналогии с морфологией *S. nematoides*, клетка *C. mesnili* подразделена на три отдела: мукрональный, вегетативный с линейно расположенными ядрами и генеративный с развивающимися ядрами будущих гамет. Генеративное ядро микрогамонтов ассоциировано с двумя кинетосомами. В сравнении с прикрепительной органеллой *S. cf. nematoides* мукрон *C. mesnili* крупнее. Его апикальная поверхность плоская, обрамлена по периферии выростами, направленными кзади. Плоская вершина мукрона выстлана трехмембранной пелликулой, которую подстилает слой фибрилл. В мукроне нет коноида, но есть мукрональная вакуоль, проток которой открывается в цитостоме, расположенный в центре плоской поверхности мукрона. Внутренний мембранный комплекс и фибриллярный слой прерываются в районе цитостома. Вокруг цитостома располагается кольцевая, электронно-плотная структура – вероятно, полярное кольцо. Продольные микротрубочки отходят прямо от субпелликулярного фибриллярного слоя. В мукроне были обнаружены мукронемоподобные тела, но нет выраженных роптрий. Вместо роптрий встречаются электронно-плотные глобулы без протоков. Мукрон плотно контактирует с клеткой хозяина, сохраняя лишь небольшой просвет без выраженных септ. Плазмалемма клетки хозяина более электронно-плотная в участке, смотрящем в сторону цитостома паразита (Рисунок 13D-E, Таблицы 1, 6; Simdyanov et al., 2018).

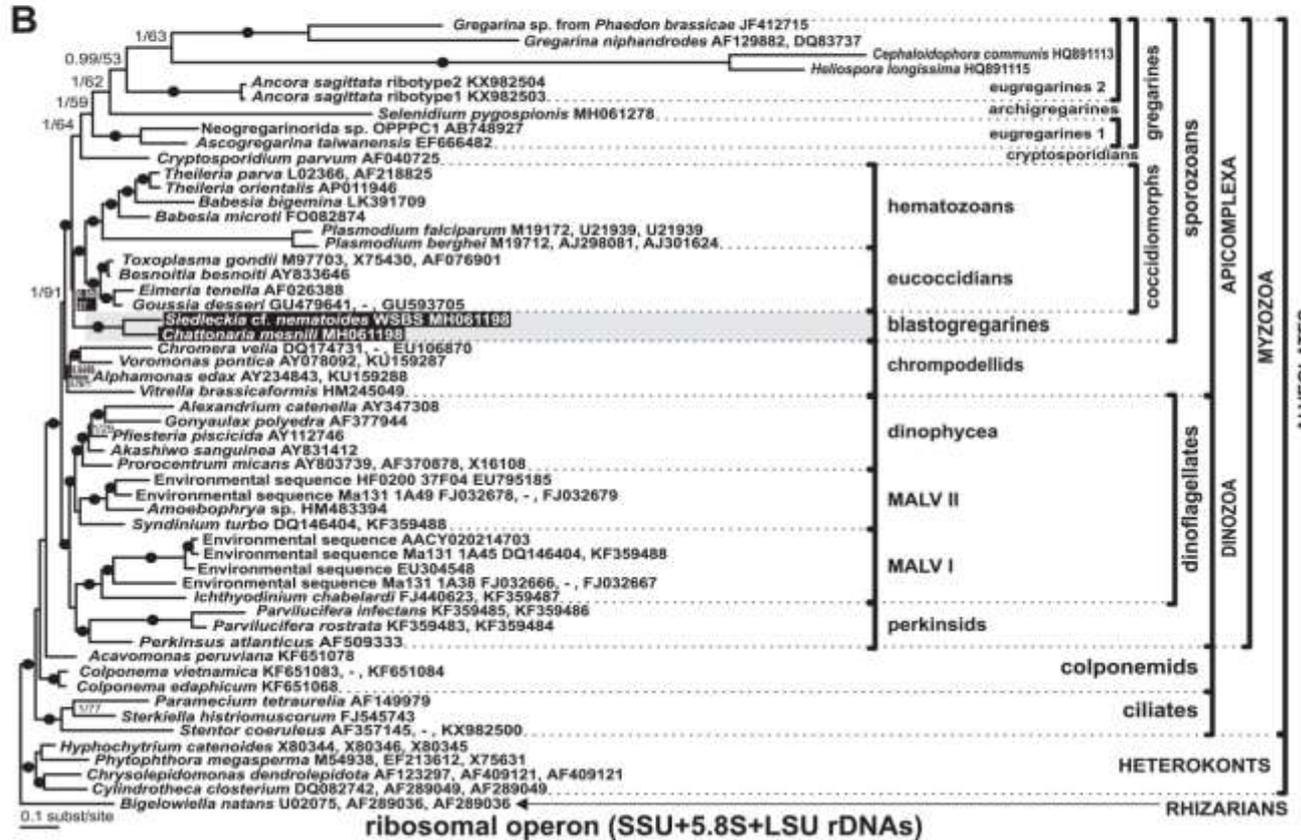
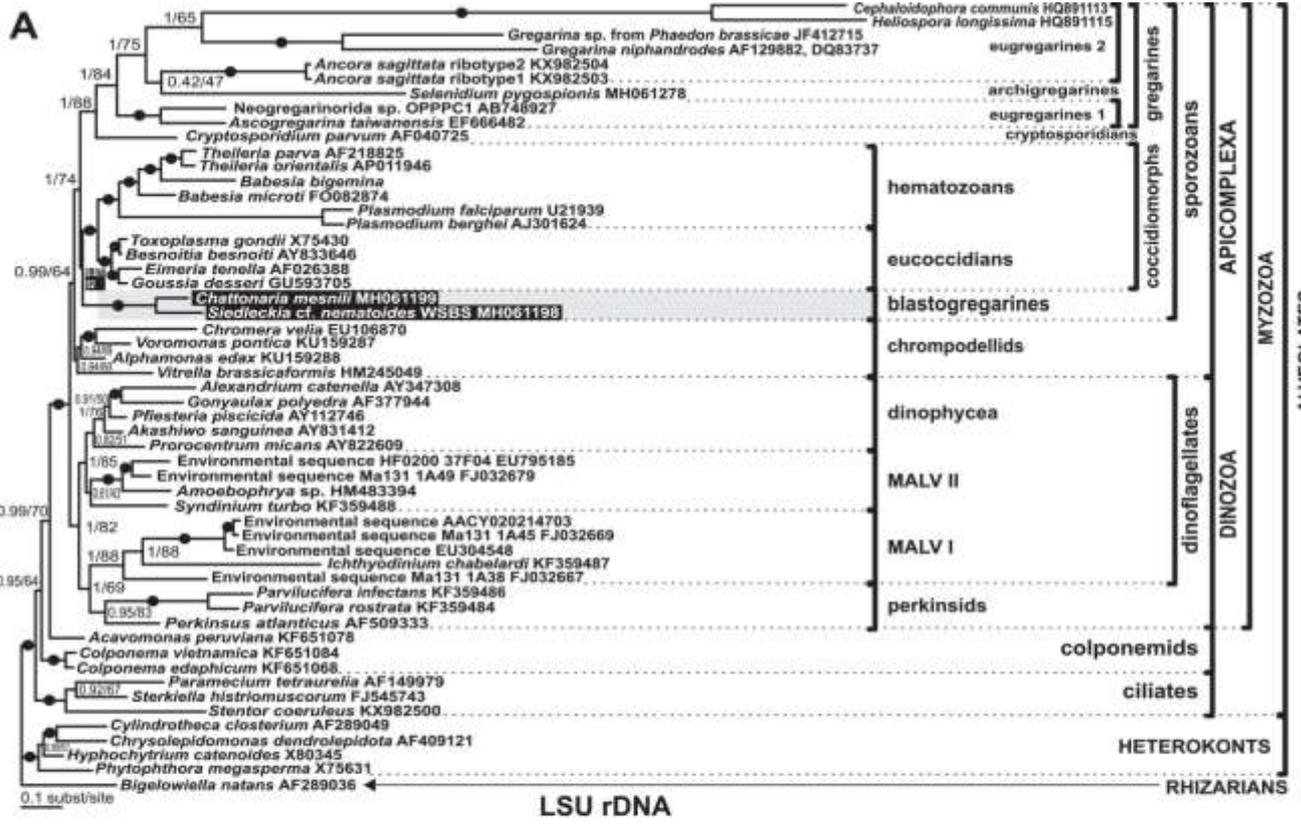
Таким образом, прикрепительный аппарат *C. mesnili* – модифицированный мукрон, одни органеллы которого утрачиваются (коноид), другие частично редуцируются (возможно, роптрии), модифицируются (предположительно, полярное кольцо, которое не имеет связи с субпелликулярными микротрубочками) или появляются (фибрилярный слой). Изменяется организация межклеточного контакта между паразитом и клеткой хозяина. Выросты мукрона, образованные за счет расширенного альвеолярного пространства пелликулы, позволяют

увеличить площадь контакта *C. mesnili* с клеткой хозяина, что, вероятно, помогает усилить эффективность прикрепления паразита к ткани хозяина.

Модифицированный мукрон бластогрегарин может считаться апоморфным признаком, который отделяет род *Chattonaria* от рода *Siedleckia* (Simdyanov et al., 2018). Следует еще добавить, что продольная исчерченность поверхности тела бластогрегарин также является, с большой долей вероятности, определительным признаком рода *Chattonaria*. В данной диссертации бластогрегарины *S. caulleryi* и *S. dogieli*, обладающие продольной исчерченностью поверхности их тела, представлены в новой комбинации - как представители рода *Chattonaria* (Таблица 6).

Молекулярно-филогенетический анализ, проведенный моими коллегами, показал, что идентичность последовательностей SSU рДНК двух видов-близнецов *S. cf. nematoides* и пробы из обедненных кислородом отложений на литорали Гренландии (D3P05D06; Stoeck et al. 2007), составляли около 90%, тогда как между *C. mesnili* и двумя последовательностями *S. cf. nematoides* – 82,8 и 83,9% (Simdyanov et al., 2018). Филогенетическое построение, полученное на основе последовательностей SSU рДНК 110 таксонов (1550 сайтов) (рис. 10 в Simdyanov et al., 2018), показало группирование трех последовательностей бластогрегарин вместе с последовательностью D3P05D06 в общую кладу с полной поддержкой (PP (апостериорные вероятности в байесовском анализе) = 1,0, BP (коэффициенты максимального правдоподобия (ML) в процентах) = 90%). Эта кладу бластогрегарин располагалась между двумя линиями архигрегарин, но все поддержки узлов в этой области дерева были чрезвычайно низкими (Simdyanov et al., 2018). Напротив, в филогенетическом построении на основе последовательностей только LSU рДНК (Рисунок 14А) бластогрегарины не проявляли сродства к грегаринам, а образовали сестринскую ветвь к кладу кокцидиоморф (эукокцидии + гематозои), хотя и с низкой поддержкой (PP=0,67 и BP=52%). Построение с использованием последовательностей почти полного рибосомального оперона ДНК (контенированные SSU, 5.8S и LSU рДНК; Рисунок 14В) также показало сестринское родство бластогрегарин и кокцидиоморф, хотя и с еще меньшей поддержкой (PP = 0,50, BP = 37%).

Очевидно, что на сегодняшний день разнообразие бластогрегарин не раскрыто полностью. На это указывают молекулярные данные, свидетельствующие о существовании скрытых видов-двойников в беломорском литоральном сколопLOSE. В литературе также есть упоминания о бластогрегарилах, морфологически сходных с *S. nematoides*, но паразитирующих не в сколопLOSEх, а других полихетах семейства Orbiniidae (Таблица 6; Догель, 1910; Chatton, Dehorne, 1929; Lax et al., 2024). Последовательность SSU рДНК, полученная из обедненных кислородом отложений на литорали Гренландии (Stoeck et al., 2007), тесно связана с обеими последовательностями *S. cf. nematoides*, полученными в ходе работы моих коллег (Simdyanov et



**Рисунок 14 - Байесовское построение филогенетического древа альвеолят, полученное на основе последовательностей рДНК 54 таксономических единиц в рамках модели GTR + Г + I и аппроксимации CAT (по Simdyanov et al., 2018 с изменениями)**

**А.** Последовательности гена 28S рРНК (LSU rDNA, ген большой субъединицы рибосом, 2912 п.н.). **В.** Конкатенированные последовательности генов 18S, 5.8S и 28S рРНК (SSU + 5.8 + LSU rDNA, рибосомный оперон, 4618 п.н.). Числа в узлах указывают апостериорные вероятности (числитель) и коэффициенты максимального правдоподобия в процентах (знаменатель). Черные точки на ветвях соответствуют значениям поддержек равным или более 0,95 и 90% соответственно. Клада бластогрегарин выделена серым. Впервые полученные последовательности *Siedleckia* cf. *nematoides* and *Chattonaria mesnili* выделены черным. Идентификационные номера (ГенБанк) последовательностей генов расположены в следующем порядке: 18S, 5.8S («-» – если отсутствует), 28S рРНК.

al., 2018). Безусловно, исследование разнообразия бластогрегарин и их специфичности к хозяину остается актуальным до сих пор.

### 4.3 Подвижность бластогрегарин

Я участвовала в экспериментальном исследовании подвижности бластогрегарин *S.* cf. *nematoides* (Valigurová et al., 2017). Мой вклад в эту работу заключался в сборе полихет, их вскрытии, изолировании бластогрегарин, в аликвотировании реагентов и проведении экспериментов по влиянию реагентов на подвижность паразитов с последующей фиксацией архигрегарин (Таблицы 1, 7). Я лично не проводила иммуноцитологические и электронномикроскопические исследования зафиксированных бластогрегарин в конце каждого эксперимента, а лишь анализировала данные, полученные моими коллегами в ходе таких работ.

Полученные результаты показали, что червеобразные и слегка уплощенные *S.* cf. *nematoides* двигаются независимо от субстрата и без явных признаков скользящего движения. У прикрепленных к ткани хозяина форм доминирует изгибательная подвижность, но также присутствует маятникообразное покачивание (наиболее характерно для молодых) и скручивание в спираль всего тела. В случае изгибательной подвижности изгибы клетки появляются в проксимальной области клетки (сразу за местом прикрепления) и распространяются к дистальному концу, при этом последняя треть клетки обычно имеет ограниченную подвижность. Отделившиеся от ткани хозяина особи либо демонстрировали

такие же движения, либо просто наклонялись из стороны в сторону, при этом движение начиналось в переднем отделе клетки (Valigurová et al., 2017).

Несмотря на присутствие таких структур как пелликула, субпелликулярные микротрубочки, микронемы, гликокаликс, а также актиновые филаменты, механизм подвижности бластогрегариин отличается от механизма скольжения зоитов по концепции глидеосомы. Экспериментальная работа с использованием веществ, которые индуцируют (ясплакинолид) или блокируют (цитохалазин Д, оризалин, колхицин) сборку филаментов и микротрубочек, указала на существенную роль актина и тубулина в подвижности сидлекий (Valigurová et al., 2017). Результаты по изменению скорости и характера подвижности паразитов, обработанных реактивами, вызывающими изменения в цитоскелете клетки, представлены в таблице 7.

Все наблюдения за влиянием реагентов на подвижность бластогрегариин проводились на паразитах, прикрепленных к ткани хозяина, а также на клетках, которые спонтанно отделились в ходе каждого эксперимента. Бластогрегарины выживали при чрезвычайно высоких дозах всех использованных реагентов и проявляли признаки подвижности в течение следующих нескольких часов после начала эксперимента (до 2 часов в 10 мМ колхицине, до 1 часа в 100 мМ колхицине, до 8 часов в 10 мМ оризалине, 7 часов в 30 мМ оризалине, 8 часов в 10 мМ ясплакинолиде, 6 часов в 30 мМ ясплакинолиде, 8 часов в 30 мМ цитохалазине D и более 9 часов в 10 мМ цитохалазине D). После тщательного промывания и возвращения обработанных паразитов в чистую морскую воду у большинства из них восстановилась нормальная подвижность в течение 10 - 120 мин (Таблица 7; Valigurová et al., 2017).

Обработка паразитов колхицином и оризалином показала постепенное разрушение микротрубочек. Чем выше была концентрация реагента, и чем длинее был инкубационный период, тем меньшее число микротрубочек приходилось на 1 мкм субпелликулярного слоя (Таблица 7). По сравнению с оризалином колхицин оказался более эффективным, поскольку однозначно вызывал разрушение более половины микротрубочек ( $11,6 \pm 1,4$  против контрольного состояния  $28,3 \pm 1,9$ ) за значительно более короткий период времени. Разрушение микротрубочек влияло на характер подвижности, а также приводило к потере подвижности паразитами. Обработанные реагентами бластогрегарины демонстрировали нерегулярные, спазматические движения (в основном переворачивались из стороны в сторону). Их тела казались более жесткими, с некоторыми ограничениями в подвижности. Те паразиты, которые имели большие размеры (т.е. более зрелые гамонты), чаще оказывались спирально закрученными. Во всех экспериментах с колхицином и оризалином никаких признаков внешнего повреждения или разрушения паразитов не наблюдалось. В ходе экспериментов с

Таблица 7 - Влияние реагентов, модифицирующих или разрушающих актиновые филаменты и микротрубочки в клетке, на подвижность живых *Siedleckia cf. nematoides*, паразитов полихеты *Scoloplos armiger*

Изменения / Время действия реагента	Реагент / концентрация							
	Колхицин		Оризалин		Ясплакинолид		Цитохалазин Д	
	10 mM	100 mM	10 μM	30 μM	10 μM	30 μM	10 μM	30 μM
Увеличение скорости изгибания (по сравнению с контролем <sup>o</sup> )	≤ 10 мин	≤ 10 мин	≤ 20 мин	≤ 20 мин	≥ 5 мин	≥ 5 мин	≥ 30 мин	≥ 20 мин
	*0,55 ± 0,03 **1,86 ± 0,11	*0,56 ± 0,01 **1,78 ± 0,04	*0,57 ± 0,03 **1,77 ± 0,10	*0,59 ± 0,09 **1,85 ± 0,33	*0,59 ± 0,04 **1,70 ± 0,09	*0,54 ± 0,04 **1,99 ± 0,12	*0,61 ± 0,05 **1,68 ± 0,11	*0,59 ± 0,05 **1,79 ± 0,13
Маятникообразное движение	+ ≥ 10 мин	+ ≥ 10 мин	+ ≥ 20 мин	+ ≥ 20 мин	--	--	--	--
Снижение скорости движения	≤ 20 мин	≤ 15 мин	≥ 60 мин	≥ 45 мин	≥ 60 мин	≥ 30 мин	≥ 60 мин	≥ 120 мин
	Δ	Δ	*0,40 ± 0,05 **2,53 ± 0,32	*0,39 ± 0,04 **2,64 ± 0,28	*0,41 ± 0,02 **2,51 ± 0,12	*0,49 ± 0,06 **2,42 ± 0,24	*0,43 ± 0,03 **2,42 ± 0,20	*0,47 ± 0,04 **2,33 ± 0,23
Прогрессивное снижение скорости движения	≥ 30 мин	≥ 20 мин	≥ 120 мин	≥ 60 мин	≥ 120 мин	≥ 60 мин	≥ 300 мин	≥ 240 мин
	*0,23 ± 0,03 **4,88 ± 0,65	*0,21 ± 0,02 **5,15 ± 0,46	*0,18 ± 0,02 **5,92 ± 0,60	*0,22 ± 0,04 **5,29 ± 0,69	*0,35 ± 0,04 **3,51 ± 0,72	*0,35 ± 0,04 **3,38 ± 0,61	*0,27 ± 0,05 **5,19 ± 0,82	*0,22 ± 0,01 **4,75 ± 0,27
Изгибательная подвижность	--	--	+	+ только на переднем конце	+	+ из стороны в сторону	+	+ из стороны в сторону
Очевидная ригидность клетки	+	+	+	+	--	--	--	--
Полная остановка движения	≤ 120 мин	≤ 60 мин	≤ 480 мин	≤ 420 мин	≤ 480 мин	≤ 360 мин	≥ 540 мин	≤ 480 мин

## Продолжение таблицы 7

Восстановление подвижности у большинства клеток после промывки в морской воде	$\leq 120$ мин	$\leq 90$ мин	$\geq 60$ мин					
Число микротрубочек в субпелликулярном слое на $1 \mu\text{м}$ (среднее $\pm$ SE). Контроль = $28.3 \pm 1.9$ .	$22,02 \pm 1,9$	$11,6 \pm 1,4$	$25,8 \pm 1,3$	$20,6 \pm 0,9$	= контроль	= контроль	= контроль	= контроль
Расстояние между слоями субпелликулярных микротрубочек (среднее $\pm$ SE, nm). Контроль = $44.8 \pm 0.8$ .	= контроль	= контроль	= контроль	= контроль	$35,4 \pm 0,4$	$32,5 \pm 0,2$	$38,1 \pm 1,3$	$34,3 \pm 1,1$
Расстояние между внутренним мембранным комплексом и подлежащими микротрубочками (среднее $\pm$ SE, nm). Контроль = $36.3 \pm 0.2$ .	= контроль	= контроль	= контроль	= контроль	$22,5 \pm 0,3$	$23,7 \pm 0,2$	$23,0 \pm 0,5$	$25,3 \pm 0,3$

Обозначения: «<sup>o</sup>», контроль - бластогегарины в морской воде, демонстрирующие изгибательную подвижность клетки за весь период эксперимента (более 9 часов) с частотой биения  $0,51 \pm 0,02$  ударов в секунду и временным интервалом между двумя биениями  $2,18 \pm 0,13$  секунд; «+», есть изменения в характере подвижности; « $\leq$ », изменения, появляющиеся в указанный временной период; « $\geq$ », изменения, появляющиеся после указанного временного периода; «\*», частота изгибания (изгибы/сек, среднее  $\pm$  SE); «\*\*», временной интервал от изгибания к изгибанию (время между двумя изгибаниями в секундах, среднее  $\pm$  SE); «--», нет явных изменений в характере подвижности; « $\Delta$ » - нет измерений из-за высокой вариабельности выборки.

высокими дозами оризалина бластогрегарины часто отделялись от тканей хозяина (Таблица 7; Valigurová et al., 2017).

При инкубации с реагентами, влияющими на полимеризацию актина, скорость движения паразита возрастала в первое время, после чего интенсивность подвижности постепенно снижалась до нуля (Таблица 7). Движения бластогрегарин были спазматическими и нерегулярными; паразиты сгибались из стороны в сторону, а полностью обездвиженные паразиты имели скрученные тела. Ультраструктурные наблюдения паразитов после применения агентов деполимеризации актина выявили лишь умеренные изменения в сокращении и конденсации нитевидных структур вокруг субпелликулярных микротрубочек. Локализация этих структур соответствует сшивающим белковым комплексам, состоящим из белков, встроенных в ИМС, и сети вокруг субпелликулярных микротрубочек, которые, по-видимому, закрепляют микротрубочки на внутренней цитомембране. Кроме того, расстояние между внутренним мембранным комплексом и внешним непрерывным слоем субпелликулярных микротрубочек было также уменьшено (Таблица 7; Valigurová et al., 2017).

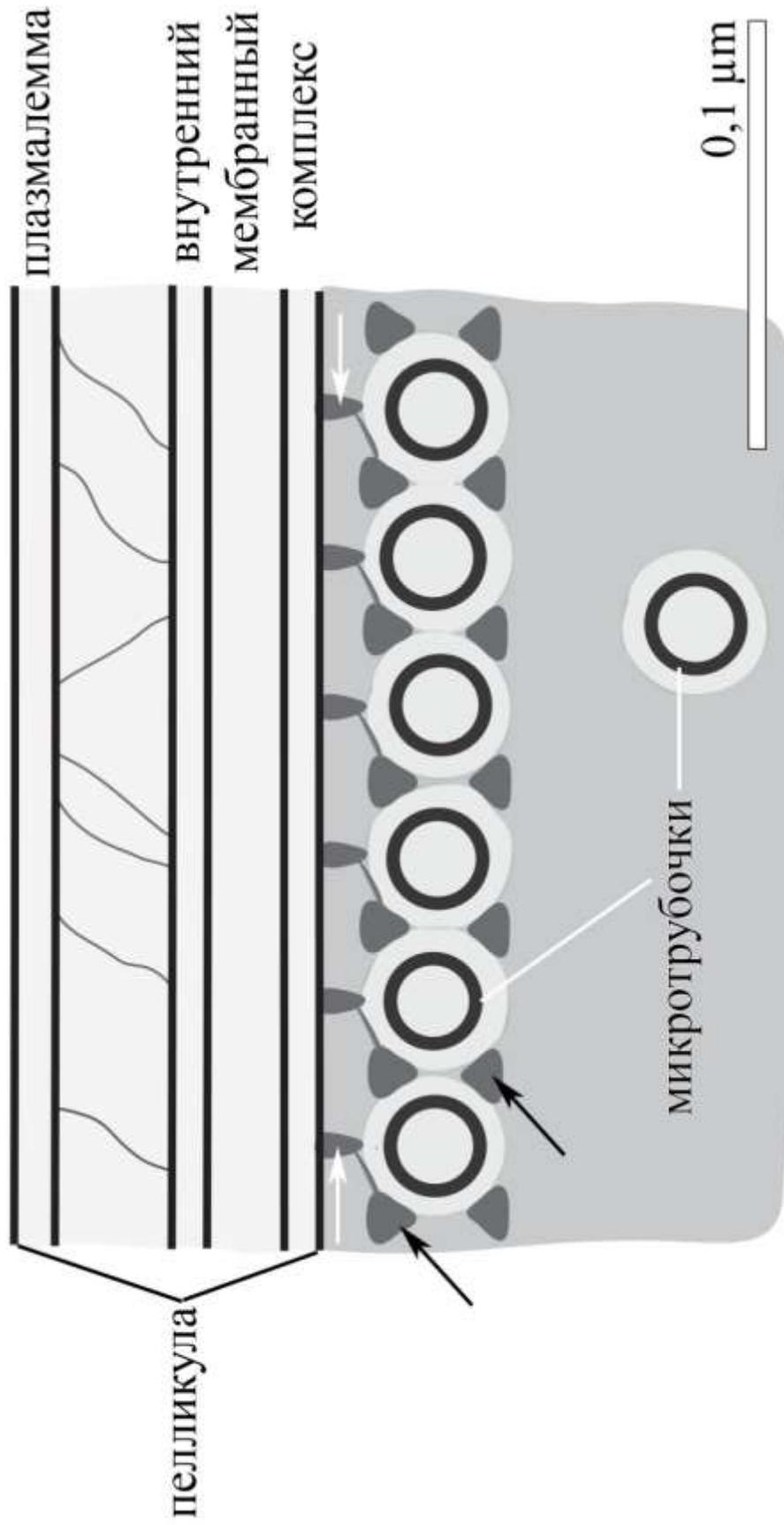
Мои коллеги использовали мечение флуоресцентными белками для визуализации расположения микротрубочек и микрофиламентов до и после обработки бластогрегарин *S. cf. nematoides* реагентами – модуляторами цитоскелета (детали см. в разделе «Материал и методы исследования» и в Valigurová et al., 2017). У интактных бластогрегарин белки миозина и  $\alpha$ -тубулина демонстрировали совместную локализацию по периферии клетки паразитов, как молодых, так и зрелых, с постепенным увеличением интенсивности мечения по направлению к задней области бластогрегарин. При этом в первой половине клетки бластогрегарин молекулы  $\alpha$ -тубулина были расположены в виде едва видимых крошечных продольных линий, соответствующих субпелликулярным микротрубочкам, тогда как в задней половине – неоднородно распределены по периферии.

Инкубация с реактивами, разрушающими микротрубочки, приводила к общему снижению флуоресцентного сигнала мечения  $\alpha$ -тубулина. Инкубация с колхицином низкой концентрации (10 mM) приводила к более диффузному характеру мечения  $\alpha$ -тубулина, что было особенно заметно в каудальной области прикрепленных паразитов. При высокой концентрации колхицина (100 mM) локализация  $\alpha$ -тубулина была ограничена только каудальной областью. Аналогичным образом, паразиты, обработанные оризалином (10 и 30  $\mu$ M), показали менее интенсивное окрашивание  $\alpha$ -тубулина по сравнению с необработанными; снижение интенсивности положительно коррелировало с повышением концентрации агентов (Valigurová et al., 2017).

Мечение фаллоидином подтвердило наличие F-актина в кортексе и в цитоплазме бластогрегарины, при этом более интенсивное окрашивание было выявлено в передней

половине клетки, тогда как в каудальном отделе паразита F-актин имел более выраженный характер окрашивания пятнами и волокнами. Паразиты, меченные специфическими антителами против актина, как в глобулярной, так и в фибриллярной формах, демонстрировали очаговое накопление актина. Актин был распределен почти однородно у молодых паразитов, тогда как в зрелых гамонтах он преимущественно накапливался в их средней части. Иммунолокализация актина отличалась от прямого мечения F-актина фаллоидином тем, что антитела не связывались с периферией клетки, соответствующей пелликуле. Обработка ясплакинолидом (10  $\mu\text{M}$ ) привела к более интенсивному иммуномечению актина с очевидным пятнистым характером распространения, особенно в каудальных областях паразитов. При этом окрашивание фаллоидином F-актина у обработанных паразитов не показало или показало лишь незначительное увеличение сигнала флуоресценции по сравнению с контрольными образцами. Инкубация бластогрегарин с ясплакинолидом высокой концентрации (30  $\mu\text{M}$ ) вызывала лучшую стабилизацию актиновых филаментов, что привело к усилению сигнала флуоресценции при мечении фаллоидином. Эти паразиты также продемонстрировали сильную иммуномаркировку актина, распределенного внутри всей клетки и часто с большим насыщением в апикальной области паразита. Паразиты, обработанные цитохалазином D разной концентрации, демонстрировали низкую интенсивность окрашивания или почти полное отсутствие маркировки F-актина, тем не менее, сигнал мечения актина антителами существенно не менялся.

Как показала конфокальная лазерная микроскопия бластогрегарин, инкубированных с реагентами-модуляторами цитоскелета в соответствующей концентрации и прошедших обработку для иммунофлуоресцентного анализа, большая часть актина *S. cf. nematoides* стабилизирована в полимеризованной (F-) форме и, по-видимому, расположена под внутренним мембранным комплексом. Согласно дополнительным данным электронной микроскопии (Valigurová et al., 2017), субпелликулярные микротрубочки связаны с внутренним мембранным комплексом пелликулы нитевидными структурами. На продольных срезах через субпелликулярный слой микротрубочек эти нитевидные структуры были намотаны вокруг каждой микротрубочки. На поперечных срезах через субпелликулярные микротрубочки эти структуры читались как комплекс частиц (мелкая и две крупные) вокруг каждой микротрубочки. Маленькая частица ( $8,9 \pm 0,6$  нм) была встроена во внутренний мембранный комплекс и, скорее всего, служила якорем для нижележащей микротрубочки. Одна из крупных частиц ( $19,4 \pm 1,2$  нм) соединяла между собой мелкую частицу и электроннопрозрачный «чехлик» вокруг микротрубочки. Вторая крупная частица располагалась по диагонали к первой под микротрубочкой (Рисунок 15). Эти нитевидные структуры реагировали на обработку ясплакинолидом и цитохалазином D, что приводило к изменению расстояния между соседними



### **Рисунок 15 - Схема организация пелликулы и субпелликулярных микротрубочек у *Siedleckia nematoides***

**Обозначения:** белая стрелка указывает на белковый комплекс, встроенный во внутреннюю цитомембрану мембранного комплекса пелликулы и образующий связку с подлежащей субпелликулярной микротрубочкой; черные стрелки указывают на нитевидные структуры, спирально уложенные вокруг каждой микротрубочки (на поперечном срезе читаются как крупные частицы, расположенные по диагонали относительно друг друга). Обратите внимание, что вокруг каждой микротрубочки образуется «чехлик» - электронносветлое пространство цитоплазмы, с которым и взаимодействуют нитевидные структуры. Между плазмалеммой и внутренним мембранным комплексом располагаются филаментозные структуры.

микротрубочками и между внутренним мембранным комплексом и микротрубочками (Таблица 7). Наблюдения в совокупности позволяют нам предположить, что эти нитевидные связки могут быть актиновой природы. Если аксонемоподобный механизм скольжения микротрубочек применим для подвижности *S. cf. nematoides*, то, возможно, этот предполагаемый актиновый цитоскелет связан с субпелликулярными микротрубочками по их длине, располагая их в цитоплазме непосредственно под пелликулой. Актиновые филаменты могут регулировать синхронное изгибание микротрубочек в разных областях клетки и, таким образом, генерировать типичную волнообразную изгибательную подвижность *S. cf. nematoides*. Следует добавить, что в заднем конце интактных бластогрегарин наблюдается нерегулярное распределение  $\alpha$ -тубулина и F-актина, что указывает на перестройку цитоскелета в этой области. Задний конец ригидный, неподвижный, и зачастую даже обладает большой адгезивной способностью (приклеивается к предметному стеклу на препаратах). Изменения пелликулы и субпелликулярного цитоскелета заднего конца бластогрегарин, наиболее вероятно, необходимы для процесса почкования – образования гаметоцитов.

В целом, наши экспериментальные данные позволяют предположить, что подвижность бластогрегарин основана на механизме подвижности субпелликулярных микротрубочек, связанных между собой и с пелликулой опосредованно через филаменты (вероятно, актиновой природы), относительно друг друга.

#### 4.4 Подвижность архигрегариин и бластогрегариин

Обобщая данные по подвижности, я пришла к выводу, что у бластогрегариин и архигрегариин на стадии трофозоида, по сравнению со спорозоитом, используется иной механизм клеточной подвижности. Это особенно важно отметить при сходстве организации этих двух стадий у названных споровиков. Трофозоиды бластогрегариин и архигрегариин сохраняют компоненты глидеосомы, присущие спорозоитам: трехмембранная пелликула, актин в фибриллярной и гранулярной формах и миозин располагаются в кортексе паразитов, субпелликулярные микротрубочки присутствуют в большом числе и располагаются в один или в несколько слоев (самый наружный – непрерывный слой, подлежащие слои могут быть прерывающимися), имеется большое количество микронем и хорошо выраженный гликокаликс, в котором могут быть локализованы адгезины. При трансформации спорозоида в трофозоид у бластогрегариин и архигрегариин происходит замещение субстрат-зависимого скольжения на субстрат-независимое изгибание всей клеткой. Направленное движение спорозоида вперед замещается непрогрессивной подвижностью трофозоида.

Трофозоиды бластогрегариин и архигрегариин, как правило, сохраняют органеллы, характерные для спорозоитов: микронемы и роптрии. Эти органеллы продолжают функционировать для создания зоны контакта между поверхностями клетки хозяина и прикрепительной органеллы паразита, чтобы обеспечить питание последнего путем мизоцитоза. Сама же клетка этих споровиков выполняет разнообразные движения для постоянной смены жидкости окружающей среды вокруг себя.

#### 4.5 Положение бластогрегариин в системе Apicomplexa

При рассмотрении общей морфологии, тонкого строения и биологии бластогрегариин, становится ясно, что они обладают признаками, характерными как для грегариин (*Gregarinomorpha*), так и для кокцидий (*Coccidiomorpha*).

С одной стороны, бластогрегариин демонстрируют серьезное морфологическое сходство с архигрегариинами. Это согласуется с гипотезой, основанной на филогенетическом анализе последовательностей гена 18S рРНК, которая позиционирует бластогрегариин среди архигрегариин (см. рис. 10 в Simdyanov et al., 2018). Добавлю, что независимо проведенные крупномасштабные (многомаркерные) филогенетические анализы неоднократно подтверждали

сестринское родство архигрегариин и бластогрегариин (Janouškovec et al., 2019; Lax et al., 2024). Действительно, и бластогрегарины, и архигрегарины обладают либо гладкой поверхностью, либо бороздами и складками на своей поверхности. У них есть субпелликулярные микротрубочки, расположенные в один ряд или несколько рядов под пелликулой. Для тех и других характерна клеточная изгибательная подвижность. Они обладают мукроном с органеллами апикального комплекса, который не исчезает на ранних этапах развития трофозоиота из спорозоиота, а, напротив, существует длительное время. Мукрон для них служит органом прикрепления к эпителиальным клеткам хозяина, и здесь идет подсасывание цитоплазмы клетки хозяина и межклеточного вещества в зоне контакта двух клеток, т.е. мизоцитоз. Кроме того, для бластогрегариин и архигрегариин характерны ооцисты без спороцист, когда спорозоиоты свободно лежат в ооцисте. Несмотря на перечисленные сходства в строении, есть и некоторые отличия бластогрегариин от архигрегариин. У бластогрегариин мощно развит ЭПР, который, вероятно, берет на себя транспортную функцию вместо пищеварительных вакуолей, наблюдаемых у архигрегариин. Возможно, ЭПР служит и для производства мембран, необходимых для формирования почек на заднем конце трофозоиотов.

С другой стороны, бластогрегарины разделяют особенности кокцидиоморф, что согласуется с топологией филогенетических деревьев, построенных на основе последовательностей LSU рДНК и рибосомного оперона (конкатенированные последовательности SSU, 5.8S и LSU рДНК) (Рисунок 15). В своем жизненном цикле бластогрегарины не имеют стадии сизигия с последующим превращением в гаметоцисту. Стадия гаметоцисты встречается только у архи- и эугрегариин, и, как считается, представляет собой синапоморфию грегариин в целом (Фролов, 1991; Simdyanov et al., 2017). Наши наблюдения двух кинетосом возле прогамных ядер микрогамонтов (Simdyanov et al., 2018) может служить свидетельством в пользу того, что у бластогрегариин формируются двужгутиковые гаметы, что типично для большинства кокцидий (Бейер, 2007), тогда как грегарины, как правило, образуют одножгутиковые или безжгутиковые гаметы (Симдянов, 2007). Согласно наблюдениям Шаттона и его соавторов (Chatton, Villeneuve, 1936a; Chatton, Dehorne, 1929) очевидны различия между крупной и неподвижной макрогаметой и мелкими, подвижными (теперь знаем, двужгутиковыми) микрогаметами, т.е. оогамия присуща бластогрегариинам, как и многим кокцидиям, в отличие от большинства грегариин. Многоядерность бластогрегариин во втором отделе тела может быть рассмотрена как мерогония с отложенным во времени цитокинезом. Почки, образующиеся на заднем конце, могут представлять собой гаметоциты. Макрогаметоцит непосредственно превращается в макрогамету, тогда как микрогаметоцит дает начало нескольким микрогаметам.

Вместе с соавторами (Simdyanov et al., 2018) я предлагаю использовать термин «мерогамонт» для обозначения трофозоитов бластогрегарин. Мерогамонты бластогрегарин разделены на три отдела, различающиеся по функциям: мукрон или питающий отдел, который оснащен органеллами апикального комплекса и осуществляет мизоцитоз; мерогональный или вегетативный отдел, где идет умножение числа вегетативных ядер; и, наконец, генеративный отдел, где образуются ядра будущих гамет.

Суммируя все сказанное, бластогрегарины должны рассматриваться как самостоятельная группа сравнительно рано дивергировавших споровиков с плезиоморфными чертами, присущими как кокцидиоморфам, так и архи- и эугрегаринам. С точки зрения классической таксономии эта группа заслуживает ранг класса в подтипе Sporozoa типа Apicomplexa (Simdyanov et al., 2018). Поэтому предлагается следующая классификация этих паразитов: класс Blastogregarinea, подтип Sporozoa, тип Apicomplexa. Класс включает единственный отряд Siedleckiida, к которому относятся два семейства: Siedleckiidae и Chattonariidae. Представители этих семейств различаются в строении прикрепительного аппарата (Simdyanov et al., 2018). Предложенная идея о независимом таксономическом положении бластогрегарин уже использована в последней безранговой системе апикомплекса (Adl et al., 2019). Согласно принятой в данной диссертации системе, класс Blastogregarinea занимает положение наравне с классами Coccidiomorpha и Gregarinomorpha.

Проведенные исследования позволяют сделать еще одно заключение методического характера. Ген 18S рРНК не является подходящим маркером для анализа «глубокого ветвления» филогенетических построений для апикомплекса. Значительно более перспективными являются анализ на основе последовательности гена 28S рРНК и мультигенный анализ (Janouškovec et al., 2019; Lax et al., 2024; Simdyanov et al., 2018). Именно они закладывают основу для построения более точных филогенетических гипотез, описывающих эволюционную историю группы.

## Глава 5 Новые данные по несептированным эугрегаридам семейства Polytrhabdinidae подтверждают, что эпимерит - инновация эугрегаринов

Трофозоиты большинства эугрегаринов представляют собой гетерополярную клетку, на переднем конце которой формируется прикрепительная органелла, часто хорошо выраженная и отделенная от остального тела перетяжкой. Само тело эугрегаринов может быть подразделено поперечными перегородками (септами) на два или больше отделов (компарментов), хорошо заметных в световой микроскоп. Снаружи клетки граница между отделами видна как узкий и неглубокий перехват, а внутри клетки – как септа из микрофибрилл цитоскелета. Подразделенные септами на компарменты эугрегарины называются «септированными», неподделенные – «несептированными». Наиболее распространенный вариант септированной эугрегарины – трицистидная клетка, у которой тело за прикрепительной органеллой подразделено на протомерит и более крупный, ядросодержащий дейтомерит (Симдянов, 2007; Desportes, Schrével, 2013). Архигрегарины и многие морские эугрегарины имеют несептированные клетки.

Прикрепительные органеллы эугрегаринов традиционно классифицировались как «мукрон» или «эпимерит» в зависимости от организации их клетки: несептированная или септированная соответственно (Levine, 1971a). Анализируя опубликованные данные по организации, функции и судьбе прикрепительного аппарата в ходе развития архигрегаринов, несептированных и септированных эугрегаринов, а также привлекая собственный материал по несептированной эугрегарины *Ancora sagittata* (Leuckart, 1860) Labbé, 1899, Симдянов и соавторы (Simdyanov et al., 2017) предложили использовать термин «мукрон» для обозначения прикрепительных органелл архигрегаринов, а термин «эпимерит» для обозначения прикрепительных органелл всех эугрегаринов. Согласно этой гипотезе, округлый или присоскообразный мукрон представляет собой гипертрофированно развитый передний конец спорозоитов архигрегаринов. Он участвует в питании архигрегарины путем мизоцитоза благодаря органеллам апикального комплекса. Мукрон сохраняется у трофозоитов и гамонтов. Следует добавить, что данные по строению бластогрегаринов (см. выше) хорошо согласуются с предложенной гипотезой: бластогрегарины, которые разделяют многие плезиоморфные черты организации архигрегаринов, обладают прикрепительной органеллой, сходной по строению и функциям с мукроном (Simdyanov et al., 2018).

Напротив, эпимерит – прикрепительная органелла эугрегаринов, которая различается по форме и размерам и формируется *de novo* на переднем конце трофозоида в ходе его трансформации из спорозоида, сопровождаемой редукцией органелл апикального комплекса.

Эпимерит обычно вложен во впячивание на апикальной поверхности клетки хозяина, а в его основании имеется круговая щель, в которую защепляется небольшая часть апикальной поверхности клетки хозяина. Эпимерит покрыт лишь плазмалеммой, т.к. внутренний мембранный комплекс завершается в его основании под круговой щелью. Мембраны эпимерита и клетки хозяина образуют плотный контакт на всем протяжении зоны их взаимодействия. Прикрепительная органелла эугрегарин, вероятно, участвует в межмембранном транспорте веществ. Когда трофозоит превращается в гамонт и открепляется от ткани хозяина, эпимерит обычно утрачивается.

Для подтверждения гипотезы о том, что эпимерит – синапоморфия эугрегарин, я совместно с моими коллегами провела исследование тонкого строения прикрепительной органеллы у несептированной эугрегарины *Polyrhabdina pygospionis*, кишечного паразита полихеты *Pygospio elegans*, сравнила внешнюю морфологию изученного вида с таковой *Polyrhabdina* cf. *spionis*, изолированного из полихет *Malacoceros fuliginosus*, и проанализировала филогенетическое положение *P. pygospionis* среди других несептированных эугрегарин на основе последовательностей генов рибосомального оперона (SSU, 5.8S и LSU рДНК) (Paskerova et al., 2021).

Мой интерес к этим грегаринам был вызван тем, что род *Polyrhabdina* Mingazzini, 1891 отождествлялся с семейством Lecudinidae Kamm, 1922 (Clopton, 2000; Ganapati, 1946; Grassé, 1953; Levine, 1971a, 1977a; Reichenow, 1929; Rueckert et al., 2018) или с семейством Polyrhabdinidae Kamm, 1922 (Desportes, Schrével, 2013; Kamm, 1922) в зависимости от мнения авторов на природу организации клетки и прикрепительной органеллы полирабдин. Одни авторы считали полирабдин несептированными эугрегаринами с мукроном, тогда как другие – септированной грегариной с эпимеритом.

### **5.1 *Polyrhabdina pygospionis* и *P. cf. spionis* – несептированные эугрегарины с эпимеритом**

По моим светооптическим наблюдениям и результатам электронной микроскопии, *P. pygospionis* и *P. cf. spionis* не обладают септами, а их прикрепительная органелла организована подобно эпимериту других ранее изученных несептированных и септированных эугрегарин (Simdyanov et al., 2017). Эпимерит у *Polyrhabdina* spp. представляет собой округлую органеллу, выступающую за пределы переднего конца трофозоида. В основании эпимерита формируется воротничок – круговая базальная складка, обращенная к заднему концу грегарины. Эпимерит вложен во впячивание апикальной поверхности энтероцита хозяина так, что только воротничок

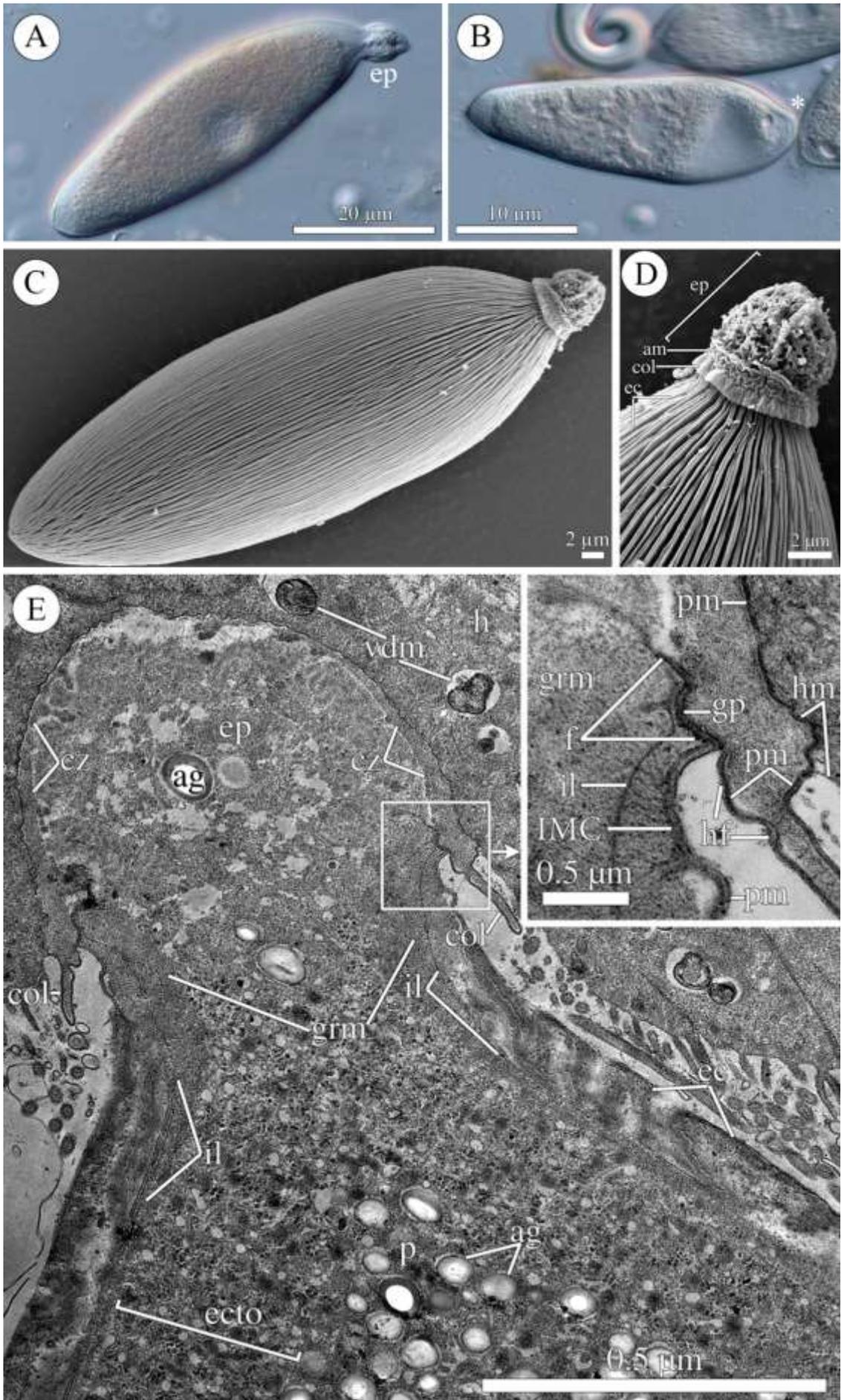
располагается снаружи, возвышаясь над апикальной поверхностью клетки хозяина (Рисунки 16-18; Paskerova et al., 2021).

С помощью методов трансмиссионной электронной микроскопии была исследована только эугрегарина *P. rugospionis*. Эпимерит и воротничок этого паразита покрыты лишь плазмалеммой. В основании воротничка располагается круговая щель, под которой внутренний мембранный комплекс пелликулы полирабдины завершается. Клетка хозяина дополнительно обрастает воротничок эпимерита за счет апикальной круговой складки, дистальный край которой защепляется круговой щелью в основании эпимерита эугрегарины. В зоне взаимодействия мембран двух клеток формируется плотный контакт. У полирабдин под эпимеритом располагается особая зона гранулированной цитоплазмы с короткими фибриллами неизвестной природы. При откреплении гамонтов полирабдин от ткани хозяина эпимерит отрывается, а образовавшаяся «ранка» на теле грегарины затягивается пелликулой и закупоривается гранулированной цитоплазмой (Рисунки 16, 18; Paskerova et al., 2021).

Кортекс *P. rugospionis* представлен продольно расположенными эпицитарными гребнями. Они покрыты трехмембранной пелликулой, состоящей из плазматической мембраны и внутреннего мембранного комплекса. Пелликула снаружи покрыта тонким слоем гликокаликса, тогда как изнутри выстлана электронноплотным фибриллярным слоем – внутренней ламиной. Внутренняя ламина образует дополнительные петли под дном борозд между эпицитарными гребнями, однако не формирует связки в основании каждого гребня, что способствует свободному сообщению цитоплазмы гребней и цитоплазмы основной части клетки. В вершинах гребней находятся 10-12 апикальных арок, расположенных между плазматической мембраной и внутренним мембранным комплексом, а также 10-12 апикальных филаментов под внутренним мембранным комплексом. Микропоры типичного для споровиков строения располагаются на латеральных стенках эпицитарных гребней (Рисунки 16, 19; Paskerova et al., 2021).

Стоит добавить любопытный факт, что для несептированной эугрегарины *Polyrhabdina rugospionis* характерно скольжение вперед и назад без изменения формы и разворота клетки (см. пункт 6.4).

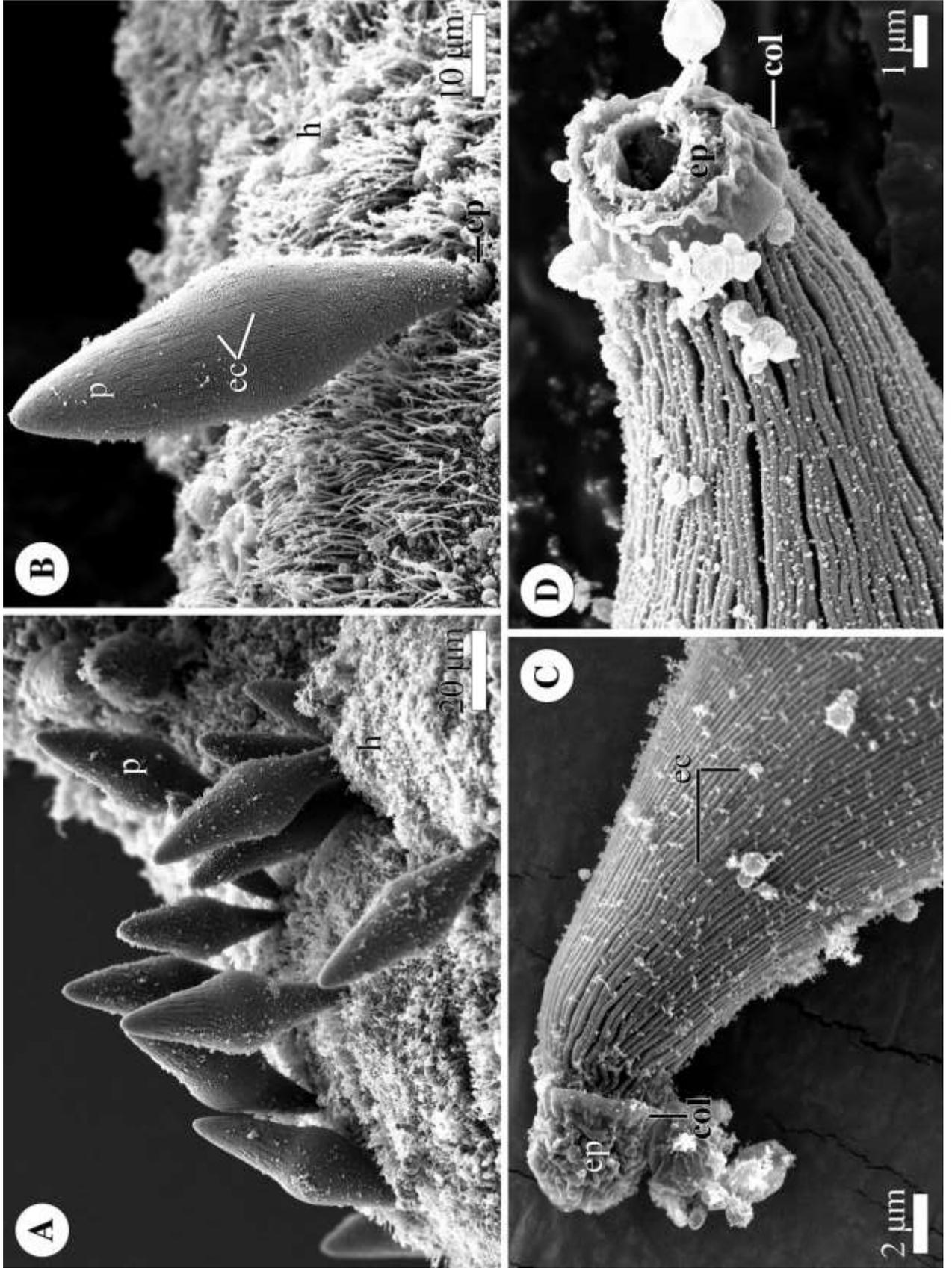
Род *Polyrhabdina* Mingazzini, 1891 был основан для *Gregarina spionis* Kölliker, 1848 – грегарины, паразитирующей в кишечнике полихеты *Scolecipis fuliginosa* (Claparède, 1868) (ныне *Malacoceros fuliginosus*). Позднее этот род был размещен либо в составе семейства Lecudinidae Kamm, 1922 (Clopton, 2000; Ganapati, 1946; Grassé, 1953; Levine, 1971a, 1977a; Reichenow, 1929; Rueckert et al., 2018), либо в составе семейства Polyrhabdinidae Kamm, 1922 (Desportes, Schrével, 2013; Kamm, 1922) в зависимости от мнения авторов на природу клеточной организации полирабдин и их прикрепительной органеллы.



**Рисунок 16 - Морфология несептированной эугрегарины *Polyrhabdina pygospionis*. Световая (А-В - дифференциально-интерференционный контраст) и электронная (С-Д - сканирующая, Е -трансмиссионная) микроскопия**

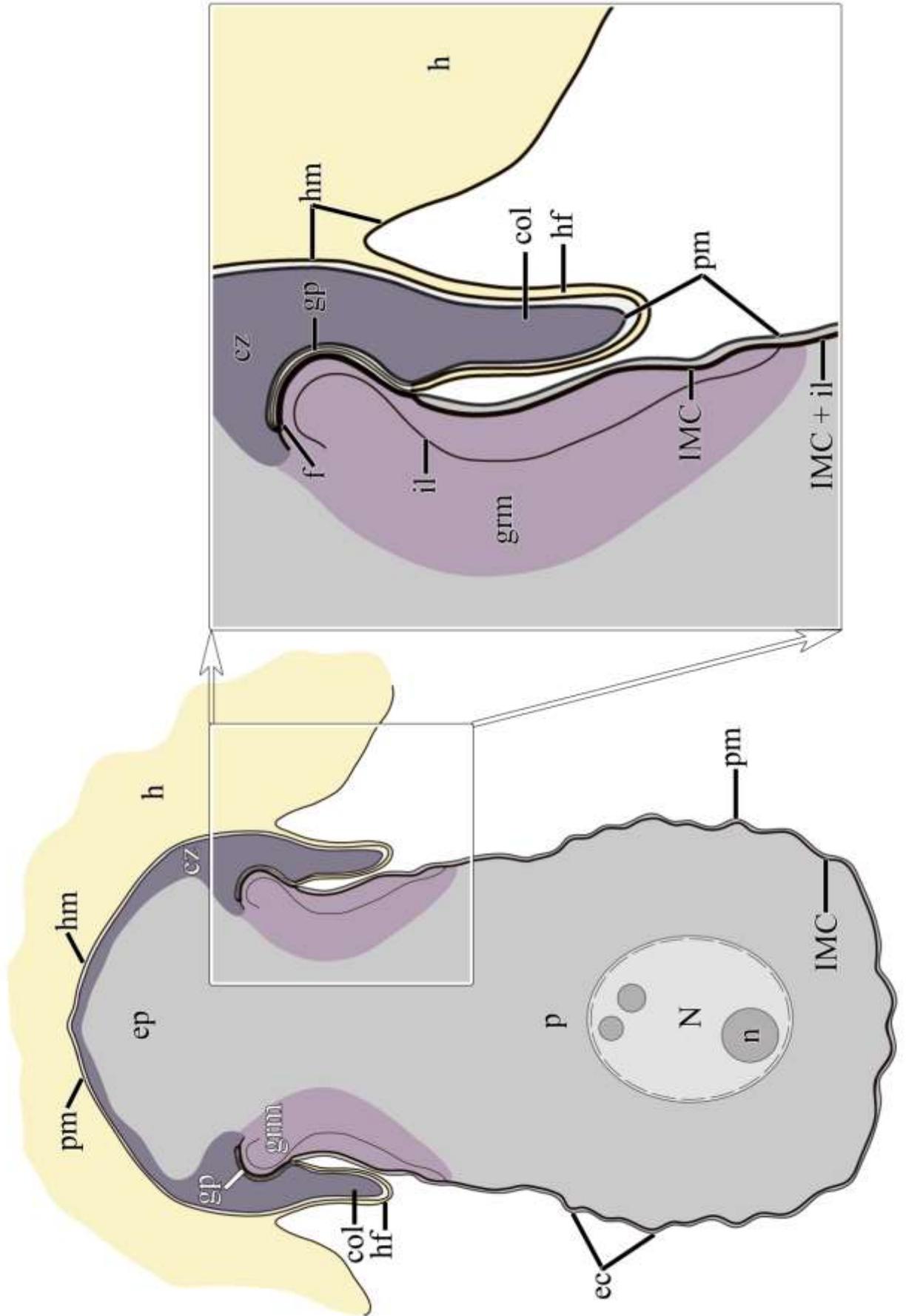
**А.** Неприкрепленная эугрегарина с эпимеритом. **В.** Открепившаяся эугрегарина, утратившая эпимерит. **С - Д.** Эугрегарина с эпимеритом, механически отделенная от кишечного эпителия хозяина в ходе пробоподготовки. **С.** Общий вид. **Д.** Фрагмент С на большом увеличении. **Е.** Продольный срез через эпимерит эугрегарины, прикрепленной к кишечному эпителию хозяина. **Вставка.** Фрагмент Е на большом увеличении.

**Обозначения:** \*, передний конец паразита, утратившего эпимерит; ag, амилопектиновые гранулы; am, поврежденная мембрана апикальной поверхности эпимерита; col, воротничок эпимерита; cz, кортикальная зона эпимерита; ec, эпицитарные гребни; ecto, эктоцит; ep, эпимерит; f, фибриллярный слой; gm, гранулярный материал цитоплазмы; gr, круговая щель в основании эпимерита; h, клетка хозяина; hf, кольцевая складка клетки хозяина; hm, плазматическая мембрана клетки хозяина; il, внутренняя ламина; ИМС, внутренний мембранный комплекс; p, паразит; pm, плазматическая мембрана паразита; vdm, везикулы с гетерогенным содержимым в цитоплазме энтероцита хозяина.



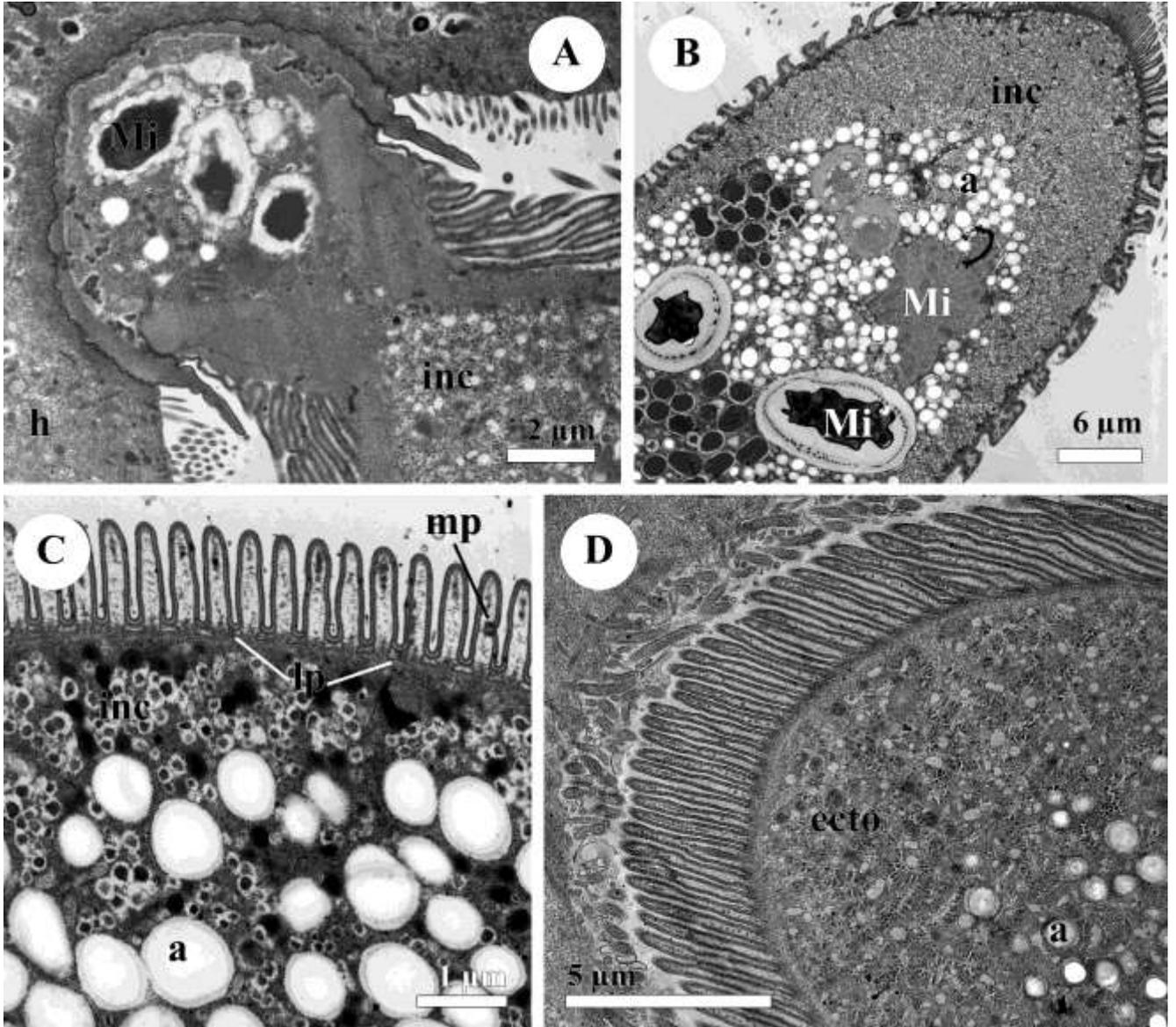
**Рисунок 17 - Морфология несептированной эугрегарины *Polyrhabdina* cf. *spionis*. Сканирующая электронная микроскопия**

**А.** Участок кишки полихеты (h) *Malacoceros fuliginosus* с прикрепленными трофозоидами (p). **В.** Прикрепленный к кишечному эпителию (h) трофозоид (p), у которого хорошо видны эпицитарные гребни (ec) и эпилерит (ep). **С.** Детали трофозоида, открепившегося от кишечного эпителия хозяина, с сохранившимся эпилеритом. Обратите внимание, что продольные эпицитарные гребни (ec) выходят из-под воротничка (col) у основания шаровидного эпилерита (ep). **Д.** Детали трофозоида, механически отделенного от кишечного эпителия хозяина. Апоикальная часть эпилерита (ep), внедренная в клетку-хозяина, была отломана, а воротничок (col) в основании эпилерита сохранился.



**Рисунок 18 - Схема организации трофозоида несептированной эугрегарины рода *Polyrhabdina* (на примере *P. rugospionis*), прикрепленной к кишечному эпителию хозяина с помощью эпимерита (масштаб не соблюден)**

**Обозначения:** col, воротничок эпимерита; cz, кортикальная зона эпимерита; ec, эпицитарные гребни; ep, эпимерит; f, фибриллярный слой; gm, гранулярный материал цитоплазмы; gr, круговая щель в основании эпимерита; h, клетка хозяина; hf, кольцевая складка, образованная апикальными выростами клетки хозяина; hm, плазматическая мембрана клетки хозяина; il, внутренняя ламина; ИМС, внутренний мембранный комплекс; N, ядро; n, ядрышко; p, паразит; pm, плазматическая мембрана паразита.



**Рисунок 19 - Влияние гиперпаразитов *Metchnikovella* spp. на несептированную эугрегариину *Polyrhabdina pygospionis* (трансмиссионная электронная микроскопия)**

**А.** Прикрепленный трофозоит эугрегарины, зараженной, предположительно, микроспоридией *Metchnikovella incurvata*. Обратите внимание, что свободные споры гиперпаразита располагаются в эпимерите эугрегарины, а в цитоплазме под эпимеритом – много мелких светлых включений с центральным темным зерном (inc). Продольный срез. **В.** Передний конец трофозоида эугрегарины, зараженной микроспоридией *Metchnikovella spiralis*. В эктоплазме эугрегарины находится большое число нетипичных включений (inc). Продольный срез. **С.** Кортекс эугрегарины, зараженной микроспоридией *Metchnikovella spiralis*. Поперечный срез. **Д.** Передний конец здоровой эугрегарины. Косой срез.

**Обозначения:** а, амилопектиновая гранула; ecto, эктоцит эугрегарины; h, энтероцит хозяина; inc, включения; Ip, дополнительная петля внутренней ламины под бороздами между эпицитарными гребнями; Mi, микроспоридии на разных стадиях развития; mp, микропора на боковой поверхности эпицитарного гребня.

На сегодняшний день род *Polyrhabdina* включает семь названных видов (Таблица 8). Один вид не имеет описание - *Polyrhabdina* sp. из полихеты *Dipolydora socialis*. Все известные *Polyrhabdina* spp. встречаются в кишечнике полихет семейства Spionidae. Все эти виды были изучены только с помощью методов световой и, в некоторых случаях, сканирующей электронной микроскопии (Caullery, Mesnil, 1897a, 1897b, 1914a, 1919; von Kölliker, 1845, 1848; Mingazzini, 1891; Reichenow, 1932; Mackinnon, Ray, 1931; Ganapati, 1946; Kamm, 1922; Fowell, 1936; de Faria et al., 1918; Rueckert et al, 2018; Таблица 8). Для *Polyrhabdina* нет данных по молекулярным последовательностям, за исключением последовательностей, полученных в моем исследовании (Paskerova et al., 2021). Для всех *Polyrhabdina* spp. известны только две стадии жизненного цикла: трофозоиты, которые имеют глобулярный орган прикрепления, встроенный в эпителий хозяина, и гамонты, которые обычно теряют свой аппарат прикрепления во время отделения от ткани хозяина. Некоторые авторы наблюдали у трофозоитов крючкообразные отростки на апикальной поверхности органеллы прикрепления в дополнение к целому ряду крошечных зубцов у его основания (Caullery, Mesnil, 1914a; Ganapati, 1946; von Kölliker, 1848; Mackinnon, Ray, 1931; Reichenow, 1932; Rueckert et al., 2018). Другие авторы описывали шаровидный аппарат прикрепления с воротничком - посторально ориентированной круговой складкой у основания прикрепительного аппарата, и иногда с кольцом небольших зубцов, расположенных перед воротничком (Fowell, 1936a; Léger, 1893; Mackinnon, Ray, 1931). В представленных работах не было единого мнения о том, как называть такой аппарат прикрепления - мукрономом или эпимеритом (Таблица 8).

Таблица 8 - Диагностические признаки эугрегарин рода *Polyrhabdina*

<i>Polyrhabdina</i> spp. / Признаки	<i>Polyrhabdina spionis</i> (von Kölliker, 1845) Mingazzini, 1891, типовой вид	<i>Polyrhabdina bifurcata</i> (Mackinnon, Ray, 1931) Reichenow, 1932	<i>Polyrhabdina cf. spionis</i> * (von Kölliker, 1845) Mingazzini, 1891	<i>Polyrhabdina brasili</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>Polyrhabdina madrynense</i> * Rueckert et al., 2018
Синоним(ы)	<i>Gregarina spionis</i> von Kölliker, 1845	<i>Gregarina spionis</i> von Kölliker, 1845; <i>Polyrhabdina spionis</i> var. <i>bifurcata</i> Mackinnon, Ray, 1931			
	синонимы (?), <i>Polyrhabdina spionis</i> (von Kölliker, 1845) Mingazzini, 1891				
Хозяин (синонимы)	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) ( <i>Scoelepis fuliginosa</i> (Claparède, 1868), <i>Spio fuliginosus</i> Claparède, 1868) (M. 1891; C. & M. 1914; R. 1932) (?) <i>Malacoceros tetracerus</i> (Schmarda, 1861) ( <i>Scoelepis ciliata</i> (Keferstein, 1862)) (C. & M. 1914)	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) ( <i>Scoelepis fuliginosa</i> (Claparède, 1868))	<i>Malacoceros fuliginosus</i> (Claparède, 1870) ( <i>Scoelepis fuliginosa</i> (Claparède, 1868))	<i>Spio martinensis</i> Mesnil, 1896	<i>Spio quadrisetosa</i> Blake, 1983

## Продолжение таблицы 8

Типовое место обнаружения	Неаполитанский залив, Средиземное море	Плимут, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Роскофф, Ла-Мнаш, Северо-Восточная Атлантика	Кап де ла Аг, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Пуэрто-Мадрин, Аргентина, Юго-Западная Атлантика
Локализация в хозяине	кишечник	кишечник	кишечник	кишечник	кишечник
Экстенсивность, интенсивность инвазии	иногда сильно заражены (летом) (M. 1891)	85 (34%) из 250 полихет, иногда интенсивно заражены (M. & R. 1931)	3 (17%) из 18 полихет, иногда интенсивно заражены	—	—
Трофозоит: форма клетки	веретеновидный (von K. 1848); эллиптический, грушевидный (M. 1981); молодые трофозоиты конические; гамонты овальные, слегка сплюснутые (C. & M. 1914)	мешковидный, круглый в поперечном сечении (M. & R. 1931)	веретеновидный, ромбовидный	эллипсоидный (fig. C 1-3, E1 in C.et M. 1919)	ромбоидный или эллипсоидный
Трофозоит: длина x ширина (мин – макс (ср. $\pm$ SE, n – выбора), $\mu$ m)	50 x 12 (von K. 1848); молодые 4-12 x 2-7; гамонты 100 x 35 (C. & M. 1914)	молодые 7.5 x 3, гамонты 180 x 36 (M. & R. 1931)	30-65 x 10,5-22 ( $53 \pm 7$ x $17 \pm 2$ , n = 26)	около 200 (C. & M. 1914a, 1919)	31–385 x 10–76

## Продолжение таблицы 8

Число эпицитарных гребней (ср. $\pm$ SE, n – выбора), апикальных филаментов	—	—	2-6 гребней / 1 $\mu$ m (4 $\pm$ 0,9, n = 15); --	—	до 150, 3–5 гребней / 1 $\mu$ m; --
Прикрепительный аппарат (эпимерит или мукрон по разным авторам)	конический эпимерит с зубцами (иногда разветвленными) (С. & М. 1914) встроенный в клетку хозяина; эпимерит с 7-9 (обычно 8) раздвоенными зубцами (R. 1932)	эпимерит в форме бугорка, "внеклеточно" прикрепленный к клеткам хозяина, с апикальными 2 крупными, расходящимися, когтевидными отростками, которые уплощены к своим кончикам и просто прилегают к поверхности эпителия, и базальным венчиком из 14-16 мельчайших зубцов (М. & R. 1931)	эпимерит в форме бугорка, "внеклеточно" прикрепленный к клетке-хозяину, с воротничком у основания	эпимерит = <i>P. spionis</i> , но менее развитый, зубцы меньше (С. & М. 1914а)	мукрон, похожий на бугорок, иногда с 10 зубцами у основания
Задний конец	—	—	закругленный	—	закругленный
Ядро: форма и размеры ( $\mu$ m), количество ядрышек	сферическое, 1 ядрышко (М. 1891)	10.5 x 7.5, два ядрышка (М. & R. 1931)	--	сферическое, 1 ядрышко (fig. C1-3, E1 in С. & М. 1919)	сферическое, 5–26
Положение и ориентация ядра	в середине или ближе к переднему концу (М. 1891)	в середине (М. & R. 1931)	в самой широкой части	в середине (fig. C1-3, E1 in С. & М. 1919)	ближе к одному из концов, в самой широкой части клетки
Ядрышко(и): форма, размеры и положение в ядре	—	большое и маленькое (М. & R. 1931)	—	сферическое (fig. C1-3, E1 in С. & М. 1919)	—
Сизигий	—	—	—	—	—

## Продолжение таблицы 8

Подвижность трофозоитов	сокращение, скольжение (von K. 1845, 1848);	совершенно неподвижный (?) (M. & R. 1931)	скольжение	скольжение (C & M. 1919)	скольжение
Гаметоцисты	—	—	—	—	—
Последовательности ДНК	—	—	—	—	—
Встречаемость архигрегаринов в хозяине (из разных источников)	<i>Selenidium spionis</i> (Kolliker, 1845) Ray, 1930 [ <i>Selenidium intraepitheliale</i> Reichenow, 1932]; <i>Selenocystis foliata</i> (Ray, 1930) Dibb, 1938	<i>Selenidium spionis</i> (Kolliker, 1845) Ray, 1930 [ <i>Selenidium intraepitheliale</i> Reichenow, 1932]; <i>Selenocystis foliata</i> (Ray, 1930) Dibb, 1938	—	<i>Selenidium martinensis</i> Levine, 1971 (= <i>Selenidium</i> sp. Caullery et Mesnil, 1897)	—
Гиперпаразиты <i>Metchnikovella</i> (из разных источников)	—	<i>Metchnikovella</i> sp., подобна <i>M. spionis</i> Caullery, Mesnil, 1897 (M. & R. 1931)	—	<i>M. spionis</i> Caullery et Mesnil, 1897; <i>M. brasili</i> Caullery et Mesnil, 1919	—
Характерные особенности (по разным авторам)	эпимерит погружен в клетку хозяина	эпимерит внеклеточно прикрепляется (цепляется) к клеткам хозяина; зараженные клетки хозяина редко гипертрофированы	—	—	—
Источники	Caullery and Mesnil, 1914a; von Kolliker, 1845, 1848; Mingazzini, 1891; Reichenow, 1932	Mackinnon, Ray 1931; Reichenow, 1932	Paskerova et al., 2021; оригинальные данные (морфометрия)	Caullery, Mesnil, 1897a,b, 1914a, 1919	Rueckert et al., 2018

## Продолжение таблицы 8

<i>Polyrhabdina</i> spp. / Признаки	<i>Polyrhabdina minuta</i> Ganapati, 1946	<i>Polyrhabdina polydora</i> * (Léger, 1893) Caullery et Mesnil, 1914	<i>Polyrhabdina</i> sp.	<i>Polyrhabdina pygospionis</i> Caullery, Mesnil, 1914	<i>Polyrhabdina pygospionis</i> ** Caullery, Mesnil, 1914, переописание
Синоним(ы)		<i>Doliocystis polydora</i> Léger, 1893; <i>Lecudina polydora</i> Kamm, 1922	<i>Doliocystis</i> sp.	<i>Polyrhabdina pygospionis</i> Caullery, Mesnil, 1914 emend. Paskerova et al.	
Хозяин (синонимы)	<i>Prionospio cirrifera</i> Wirén, 1883	<i>Polydora ciliata</i> (Johnston, 1838) ( <i>Polydora agassizii</i> Claparède, 1869) <i>Dipolydora flava</i> (Claparède, 1870) ( <i>Polydora flava</i> Claparède, 1870) (M. & R. 1931)	<i>Dipolydora socialis</i> (Schmarda, 1861) ( <i>Polydora socialis</i> Schmarda, 1861)	<i>Pygospio elegans</i> Claparède, 1863 ( <i>P. seticornis</i> in Caullery and Mesnil, 1914a,b, 1919)	<i>Pygospio elegans</i> Claparède, 1863
Типовое место обнаружения	Ченнай (Мадрас), Бенгальский залив, Индийский океан	Марсельский залив, Средиземное море (L. 1893); Плимут, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика (M. & R., 1931 for <i>Dipolydora flava</i> )	Рио-де-Жанейро, Бразилия, Юго-Западная Атлантика	Анс Сан-Мартен, Ла-Манш, Северо-Восточная Атлантика	Кандалакшский залив, Белое море
Локализация в хозяине	задняя кишка	кишечник	кишечник	кишечник	кишечник

## Продолжение таблицы 8

Экстенсивность, интенсивность инвазии	низкие экстенсивность и интенсивность	75% полихет, иногда тяжело заражены (M. & R. 1931)	—	— обычно обильно (C.et M., 1919)	обильно; около 42% (126 из 302), 1-50 на хозяина
Трофозоит: форма.	молодые трофозоиты бутылочной формы с хорошо развитым эпимеритом; гамонты эллиптические, с короткой шейкой на переднем конце	мешкообразный (M. & R. 1931); от овального до эллипсоидного (R. et al. 2018)	— эллипсоидный (fig. 6-7, de F. et al. 1918)	— похож на <i>P. brasili</i> , но меньше (C.et M., 1919)	от эллипсоидной до грушевидной формы, круглый в поперечном сечении
Трофозоит: длина x ширина (мин – макс (ср. ± SE, n – выбора), μm)	30-60 x 20	молодые 25 x 12.5 (F. 1936); 100-180 x 30-40 (M. & R. 1931); 90–297 x 34–135 (R. et al. 2018)	—	—	28–288 x 14–50 (123 ± 34 x 35 ± 5, n = 40)
Число эпицитарных гребней (n – выборка), апикальных филаментов	—	до 190, 3–5 гребней / 1 μm (R. et al. 2018); --	—	—	около 5 гребней / 1 μm (n = 5); 10-12 апикальных филаментов
Прикрепительный аппарат (эпимерит или мукрон по разным авторам)	эпимерит короткой цилиндрической формы, расходящийся на 8 зубцов, прочно внедряющихся в эпителий кишечника хозяина; четкая зона цитоплазмы за эпимеритом	эпимерит усеченной конусообразной формы с воротничком у основания (L. 1893); эпимерит с кольцом зубчиков перед воротничком (F. 1936); булавовидный, 22-24 тонких зубца перед воротничком (M. & R. 1931); мукрон плоский (сломанный?) или с округлым выступом (R. et al. 2018)	—	—	эпимерит куполообразной формы, с воротничком у основания, весь эпимерит встроен в клетку хозяина, за исключением воротничка, расположенного "внеклеточно"
Задний конец	сужающийся, заостренный	закругленный (R. et al. 2018)	—	—	закругленный

## Продолжение таблицы 8

Ядро: форма и размеры ( $\mu\text{m}$ ), количество ядрышек	сферическое	сферическое, $\times 15$ , 1 or больше ядрышек (M. & R. 1931); сферическое, $\times 14 - 29$ (R. et al. 2018)	— сферическое, 1 ядрышко (Fig. 6-7, de F. et al. 1918)	—	сферическо-овальное, $9.5 - 19.0 \times 9.5 - 17.0$ ( $15 \pm 1,8 \times 14 \pm 1,4$ , $n = 19$ ), с 1 большим и 2-4 маленькими ядрышками
Положение и ориентация ядра	—	в середине (M. & R. 1931; R. et al. 2018)	— в середине (Fig. 6-7, de F. et al. 1918)	—	в самой широкой части, продольно, ближе к переднему или заднему концам
Ядрышко(и): форма, размеры и положение в ядре	1 большое ядрышко	периферия и сердцевина хорошо выражены (M. & R. 1931; F. 1936)	—	—	сферическое, $\times 3.7-8.5$ ( $6,2 \pm 0,8$ , $n=17$ ), $\times 2.7-5.9$ ( $4,3 \pm 0,8$ , $n = 13$ ), в различных областях ядра
Сизигий	—	—	—	—	--
Подвижность трофозоитов	скольжение	—	—	—	скольжение вперед и назад (реверс)
Гаметоцисты	—	$98-105 \times 90-100$ (F. 1936)	—	—	—
Последовательности ДНК	—	—	—	—	rDNA рибосомальный оперон
Встречаемость архигрегариин в хозяине (из разных источников)	<i>Selenidium spinosis</i> Ganapati, 1946	<i>Selenidium axiferans</i> Fowell, 1936	<i>Selenidium cruzi</i> Faria, Cunha et Fonseca, 1917	—	<i>Selenidium pygospionis</i> Paskerova et al., 2018; оригинальные данные автора диссертации (морфометрия, скольжение клетки)

## Продолжение таблицы 8

Гиперпаразиты <i>Metchnikovella</i> (из разных источников)	<i>Metchnikovella</i> sp., инфицированные грегарины деформированы	<i>M. caulleryi</i> Mackinnon, Ray, 1931	—	<i>M. incurvata</i> Caullery et Mesnil, 1914; <i>M. oviformis</i> Caullery et Mesnil, 1914	<i>M. incurvata</i> Caullery et Mesnil, 1914; <i>M. spiralis</i> Sokolova et al., 2014
Характерные особенности (по разным авторам)	напоминают <i>Polyrhabdina spionis</i> , но меньше, а зубчики не разветвленные	обитает в двух полихетах, или схожие виды? Зараженные клетки хозяина утолщены (M. & R. 1931); эпимерит погружен в инвагинацию клетки (M. & R. 1931; F. 1936); эпимерит может сбрасываться (L. 1893)	—	—	эпимерит с воротничком, без зубчиков
Источники	Ganapati, 1946	Caullery, Mesnil, 1914a; Kamm, 1922; Mackinnon, Ray, 1931; Fowell, 1936a; Rueckert et al., 2018	de Faria et al., 1918	Caullery, Mesnil, 1914a,b, 1919	Frolova et al., 2023; Paskerova et al., 2018, 2021; Rotari et al., 2015; Sokolova et al., 2013, 2014; оригинальные данные (морфометрия)

Обозначения: '—', нет данных; '?', противоречивое или расплывчатое описание; '\*', исследованы методами сканирующей электронной микроскопии; '\*\*', исследованы методами сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии. Цветом выделены те виды, которые были изучены (зеленый) и переописаны (лиловый) при участии автора диссертации.

Французские исследователи Коллери и Менил впервые отметили эугрегарину *Polyrhabdina pygospionis* в кишечнике полихет *Pygospio seticornis* (ныне *P. elegans*), собранных на французском побережье Ла-Манша, но не дали адекватного описания этого вида. В своих работах по инвазии эугрегарин микроспоридиями семейства Metchnikovellidae они неоднократно отмечали гиперпаразитов *Metchnikovella incurvata* и *M. oviformis* в *P. pygospionis* (Caullery, Mesnil, 1914a, 1914b, 1919). Мы полагаем, что, несмотря на то, что работали в другой географической точке – на побережье Белого моря, я и мои коллеги исследовали именно эугрегарину *P. pygospionis* Caullery, Mesnil, 1914, поскольку она была изолирована из того же хозяина – из полихет *P. elegans*. Кроме того, среди *P. pygospionis* встречались грегарины зараженные микроспоридиями *M. incurvata* (Paskerova et al., 2016; Rotari et al., 2015; Sokolova et al., 2013; в этих статьях эугрегарина называется *Polyrhabdina* sp.). С помощью методов электронной микроскопии мы выявили особенности строения кортекса этой грегарины: наличие петель внутренней ламины под эпицитарными бороздками, что не характерно для эугрегарин, и отсутствие звеньев внутренней пластинки у оснований эпицитарных гребней, что характерно для некоторых несептированных и септированных эугрегарин, например, *Ancora* и *Stylocephalus* (Симдянов, 1995a; Desportes, 1969; Simdyanov et al., 2017). Более того, прикрепительная органелла этой эугрегарины организована как эпимерит других изученных эугрегарин (Paskerova et al., 2021).

Эугрегарины *P. spionis* и *P. bifurcata* (Mackinnon, Ray, 1931; Reichenow, 1932) были выделены из полихеты *Scolecopsis fuliginosa* (Claparède, 1868) (ныне *Malacoceros fuliginosus*). Их считали либо вариантами одного и того же вида *P. spionis* (Mackinnon, Ray, 1931), либо отдельными видами (Reichenow, 1932), отличающимися по количеству и морфологии зубцов на поверхности прикрепительной органеллы (Таблица 8). *P. spionis* имеет эпимерит с семью-девятью раздвоенными апикальными зубцами, а у *P. bifurcata* - с двумя крупными когтевидными апикальными отростками и базальным кольцом из 14-16 небольших зубцов. Согласно ранее опубликованным рисункам (Caullery, Mesnil, 1914a; Mackinnon, Ray, 1931; Reichenow, 1932), грегарины, обнаруженные нами в полихетах *Malacoceros fuliginosus*, были более похожи по внешнему виду на *P. spionis*. Судя по размерам их клеток, мы наблюдали, предположительно, молодые трофозоиты *P. spionis* (Таблица 8; Caullery, Mesnil, 1914a; Mackinnon, Ray, 1931; Reichenow, 1932). Поскольку мы не изучали ультраструктуру *Polyrhabdina* cf. *spionis*, прикрепленной к тканям хозяина, мы не можем обсуждать наличие зубцов на поверхности прикрепительного аппарата. Воротничок у основания прикрепительной органеллы, который мы наблюдали у *P. pygospionis* и *P. cf. spionis*, был также описан у *P. polydora* (Caullery, Mesnil, 1914a; Kamm, 1922; Mackinnon, Ray, 1931; Fowell, 1936a). На основании внешней морфологии *P. pygospionis* и *P. cf. spionis*, типового вида, а также данных о

тонком строении прикрепительной органеллы и кортекса у *P. pygospionis*, я и мои коллеги внесли уточнение в диагноз рода *Polyrhabdina* и в диагноз семейства Polyrrhabdinidae (Paskerova et al., 2021).

По Камм (Kamm, 1922) род *Polyrhabdina* вместе с родами *Sycia* Léger, 1892 и *Ulivina* Mingazzini, 1891 относится к семейству Polyrrhabdinidae. Это семейство объединяет септированных эугрегариин с прикрепительной органеллой, организованной по типу эпимерита. Видовой состав родов *Sycia* и *Ulivina* до сих пор не определен, поскольку их морфологические характеристики недостаточны и перекрываются. *S. inopinata* Léger, 1891 – единственный вид, который был исследован методом просвечивающей электронной микроскопии. Эугрегарины *Sycia* spp. и *Ulivina* spp. встречаются в основном в полихетах семейств Cirratulidae и Eunicidae (Desportes, Schrével, 2013; Schrével, 1969; Schrével, Vivier, 1966). Под световым микроскопом как у *Polyrhabdina* spp., так и у *Sycia* spp. и *Ulivina* spp. хорошо видна область светлой, негранулированной цитоплазмы под прикрепительной органеллой. Однако ни наши электронно-микроскопические данные по *P. pygospionis*, ни данные по тонкому строению *S. inopinata* не подтверждают наличие фибриллярной перегородки, разделяющей клетку грегариин на переднюю и заднюю (ядросодержащую) части, как это характерно для настоящих септатных эугрегариин (Desportes, Schrével, 2013; Ganapati, 1946; Kamm, 1922; Mingazzini, 1891; Paskerova et al., 2021; Schrével, 1969; Schrével, Vivier, 1966). У эугрегариин родов *Sycia* и *Ulivina* прикрепительные органеллы варьируют по форме и размерам: от маленькой папиллы с длинным нитевидным отростком на вершине или без него у *Ulivina* spp. до крупного округлого сосочка с толстым воротничком у его основания у *Sycia* spp. Опубликованные электронограммы *S. inopinata* (Schrével, 1969; Schrével, Vivier, 1966), а также личные сообщения профессора Ж. Шревелия (Prof. J. Schrével), позволяют предположить, что воротничок этой эугрегарины покрыт трехмембранной пелликулой, и внутренний мембранный комплекс заканчивается над воротничком, а не под ним, как у *P. pygospionis*. Предположительно, воротничок *S. inopinata* является круглым выступом клетки эугрегарины под шаровидным прикрепительным аппаратом. Зернистая цитоплазма с короткими фибриллами в основании прикрепительной органеллы у *P. pygospionis* может соответствовать сфинктерному кольцу, описанному в прикрепительном аппарате у *S. inopinata*. По сравнению с пелликулой *P. pygospionis*, связки внутренней ламины в основании эпицитарного гребня, а также петли внутренней ламины под дном эпицитарных борозд, по-видимому, отсутствуют у *S. inopinata* (Desportes, Schrével, 2013; Schrével, 1969; Schrével, Vivier, 1966). Из-за скудных морфологических и отсутствующих молекулярных данных по представителям таксономический статус и видовой состав родов *Sycia* и *Ulivina* еще предстоит пересмотреть, а их близкое филогенетическое родство с родом *Polyrhabdina* необходимо доказать.

## 5.2 Влияние гиперпаразитических микроспоридий *Metchnikovella spiralis* и *M. incurvata* на эугрегарины *Polyrhabdina pygospionis*

Много работая с эугрегариной *Polyrhabdina pygospionis* из беломорской полихеты *Pygospio elegans*, я обнаружила, что в цитоплазме этой грегарины встречаются два вида микроспоридий семейства Metchnikovellidae. Одна из микроспоридий была определена как *Metchnikovella incurvata* Caullery et Mesnil, 1914, тогда как вторая была описана как новый вид *M. spiralis* Sokolova et al., 2014 (диагностические признаки представлены в таблице 5). Данные по этим находкам вошли в серию публикаций (Frolova et al., 2023; Rotari et al., 2015; Sokolova et al., 2013, 2014). Полученные мной электроннограммы интактных и зараженных полирабдин позволяют выявить влияние мечниковелл на своего хозяина-эугрегарины.

На ранних стадиях заражения мечниковеллами эугрегарины сохраняют типичную форму клеток и подвижность. На более поздних стадиях развития мечниковелл, когда клетка хозяина заполнена цистами и свободными спорами, эугрегарины деформируются: они, как правило, становятся слегка неправильной формы, короче и шире интактных эугрегаринов, но при этом сохраняют способность к скольжению. Микроспоридия *M. incurvata* интенсивно размножается прямо в цитоплазме своего хозяина, что ее цисты и свободные споры могут заполнить клетку грегарины настолько плотно, что даже не видно ядра клетки-хозяина. Другой гиперпаразит полирабдины – *M. spiralis*, обычно не производит много цист и свободных спор. Однако эти стадии заключены в объемные паразитофорные вакуоли, которые занимают значительный объем цитоплазмы и могут даже смещать и деформировать ядро эугрегарины (Frolova et al., 2023; Rotari et al., 2015; Sokolova et al., 2013, 2014). По моим данным мечниковеллы способны развиваться и в эпимерите, но никогда не затрагивают эпицит эугрегарины (Paskerova et al., 2021). Неизменный эпицит зараженных микроспоридиями эугрегаринов продолжает участвовать в их подвижности.

Как правило, в *P. pygospionis*, зараженных мечниковеллами, наблюдается снижение числа гранул амилопектина в цитоплазме. Одновременно с этим появляются мелкие, округлые включения на периферии (в эктоците) клетки хозяина в большом числе. Особенно много таких включений у эугрегаринов, зараженных *M. spiralis* (Рисунок 19). Неинфицированные грегарины никогда не содержали таких включений (Рисунок 19). Я полагаю, что эти включения, имеющие электронносветлое содержимое с центрально расположенным электронноплотным зерном, имеют белковую природу. Включения появляются в цитоплазме эугрегарины на самых ранних стадиях развития ее гиперпаразита (до появления свободных спор и цист). Возможно, эти включения используются гиперпаразитами при их развитии. Можно предположить, что

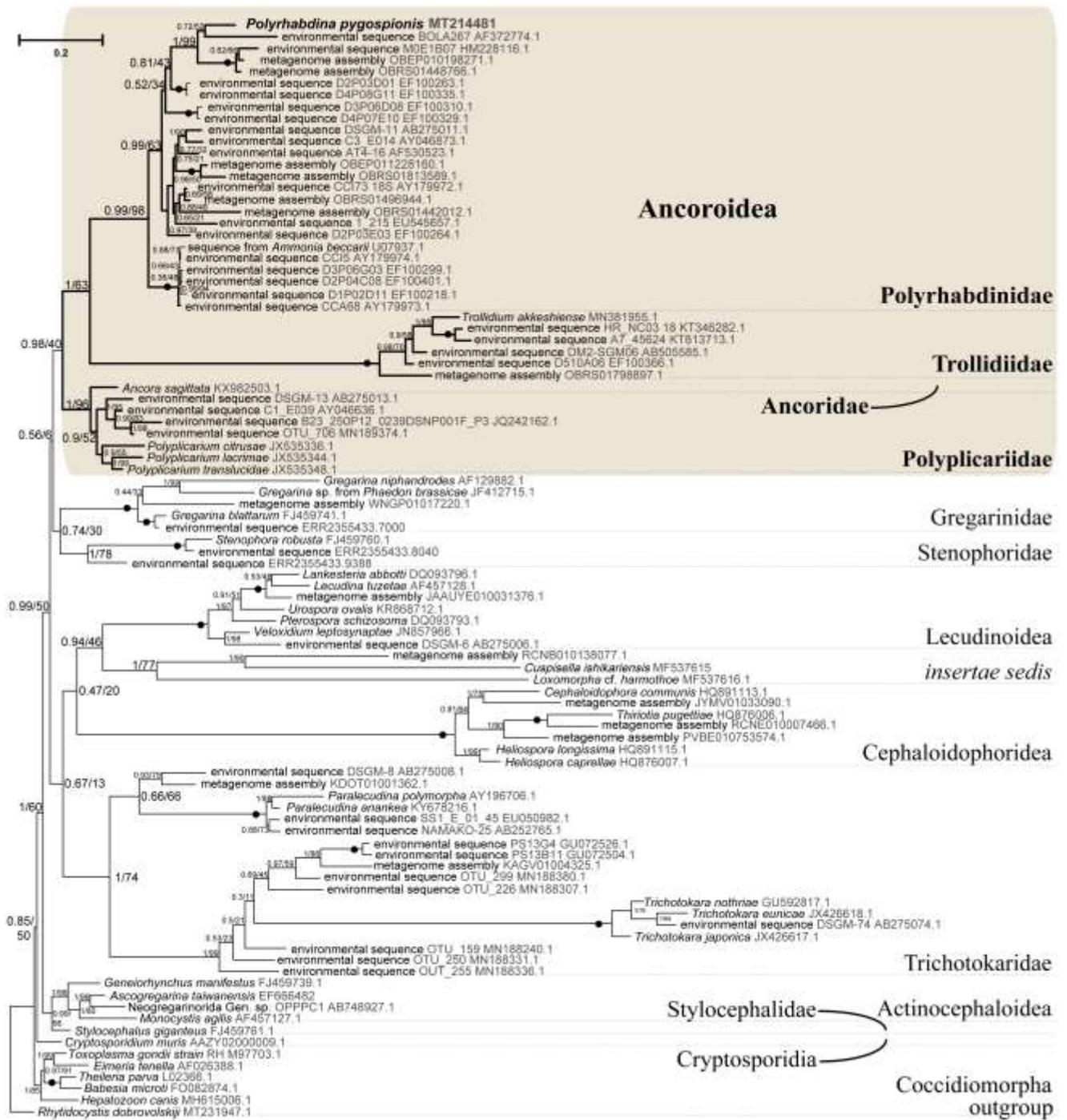
мечниковеллы оказывают воздействие на метаболизм хозяина и переориентирует его на свои нужды в пролиферации и спорогонии (Frolova et al., 2023).

### 5.3 Филогенетический анализ подтверждает валидность семейства Polyrrhabdinidae

Молекулярно-филогенетический анализ последовательностей генов 18S рРНК (Рисунок 20) показал, что *P. pygospionis* вместе с морфологически неидентифицированными эукариотами из морского грунта из разных географических точек формируют хорошо выраженную кладу в пределах суперклады Ancoroidea Simdyanov et al., 2017 (Paskerova et al., 2021). Этот результат подтверждает ранее определенное положение исследованной грегарины среди анкороидей на основе мультигенного филогенетического анализа (Рисунок 33А; Janouškovec et al., 2019: *Polyrrhabdina* sp. в оригинале). Я идентифицировала эту кладу как семейство Polyrrhabdinidae Kamm, 1922 – таксон, который требовал филогенетического подтверждения и нуждался в переописании в связи с новыми данными по морфологии полирабдин. В кладе выделяются как минимум два кластера последовательностей, которые, возможно, соответствуют родам *Polyrrhabdina* Mingazzini, 1891, *Sycia* Léger, 1892 и/или *Ulivina* Mingazzini, 1891, исторически относящиеся к этому семейству (Kamm, 1922). Анализ состава семейства требует дальнейшего исследования.

### 5.4 Синапоморфии анкороид (Ancoroidea)

Молекулярно-филогенетический анализ (Рисунок 20) показал 4 хорошо поддерживаемые клады в суперкладе Ancoroidea, три из которых соответствовали ранее известным семействам, а четвертая представляла новое семейство Trollidiidae (Paskerova et al., 2021). Таким образом, по результатам проведенной мной таксономической ревизии суперклады Ancoroidea объединяет четыре семейства: Ancoridae Simdyanov et al., 2017, Polyplicariidae Cavalier-Smith, 2014, Polyrrhabdinidae Kamm, 1922 и Trollidiidae Paskerova et al., 2021. Сопоставление ультраструктурных данных и результатов молекулярной филогении позволяет мне выделить возможные синапоморфии для представителей семейства Polyrrhabdinidae и надсемейства Ancoroidea в целом. Так, у прикрепленных эугрегарин *P. pygospionis* and *P. cf. spionis* практически весь эпимерит погружен в клетку хозяина, и только воротничок эпимерита



**Рисунок 20 - Байесовское построение филогенетического древа эугрегарин, полученное на основе 94 последовательностей гена 18S рРНК (1574 позиций) по модели GTR+F+I+G8**

Числа в узлах обозначают апостериорные вероятности (числитель) и коэффициенты максимального правдоподобия в процентах (знаменатель). Черные точки на ветвях соответствуют значениям поддержек равным 1,0 и 100% соответственно. Впервые полученная последовательность *Polyrhabdina pygospionis* выделена жирным шрифтом. Названия основных линий эугрегарин соответствуют Cavalier-Smith, 2014, Paskerova et al., 2021 и Simdyanov et al., 2017.

оказывается над апикальной поверхностью энтероцита полихеты. Воротничок эпимерита, как кажется, представляет собой общую черту организации для полирабдин и, возможно, для представителей семейства Polyrhabdinidae, если подтвердится родство эугрегарин рода *Sycia*, которые также образуют воротничок под основанием эпимерита, с этим семейством. Эпимерит и его воротничок могут служить основой для формирования выростов, крючков и других образований, часто наблюдаемых у разных прикрепленных к тканям хозяина полирабдин.

Многие эугрегарины клады Ancoroidea имеют хорошо развитый, выступающий эпимерит. Так, согласно разным авторам, выраженный эпимерит обнаружен у *Ancora* (family Ancoridae), *Polyplacarium* (Polyplacariidae), *Polyrhabdina* (Polyrhabdinidae) (Cavalier-Smith, 2014; Cecconi, 1905; Paskerova et al., 2021; Simdyanov et al., 2017; Wakeman, Leander, 2013). Обычно эпимерит утрачивается у эугрегарин, открепившихся от тканей хозяина (гамонтов). На месте утраченного эпимерита может сохраниться остаточная структура, например, наподобие дискообразного отростка («мукрон» в оригинальном исследовании) у *Trollidium akkeshiense* (Wakeman, 2020).

Другая общая черта и, соответственно, возможная синапоморфия для предствителей надсемейства Ancoroidea – отсутствие связей внутренней ламины (базальной «мембраны») под основаниями эпицитарных гребней. Помимо *P. pygospionis*, такие связки отсутствуют у *A. sagittata* (Simdyanov et al., 2017) и, судя по опубликованным электрограммам, наиболее вероятно у *T. akkeshiense* (Wakeman, 2020: Fig. 12) и у вероятного члена надсемейства *S. inopinata* (Schrével, 1969: Fig. 23).

### 5.5 Эпимерит – синапоморфия эугрегарин

Полученные мной данные по строению и судьбе прикрепительной органеллы полирабдин хорошо согласуются с тем, что эпимерит является общей чертой организации всех эугрегарин,

как септированных, так и не септированных. В то время как мукрон – неотъемлемая часть архигрегарин и бластогрегарин – споровиков, сохранивших строение зоита (спорозои́та, мерозои́та) на стадиях трофозои́та и гамонта (Paskerova et al., 2018, 2021; Simdyanov et al., 2017, 2018). Полученные данные также подтверждают недавнюю ревизию диагноза отряда Eugregarinida Léger, 1900, emend. Simdyanov et al., 2017 (Simdyanov et al., 2017).

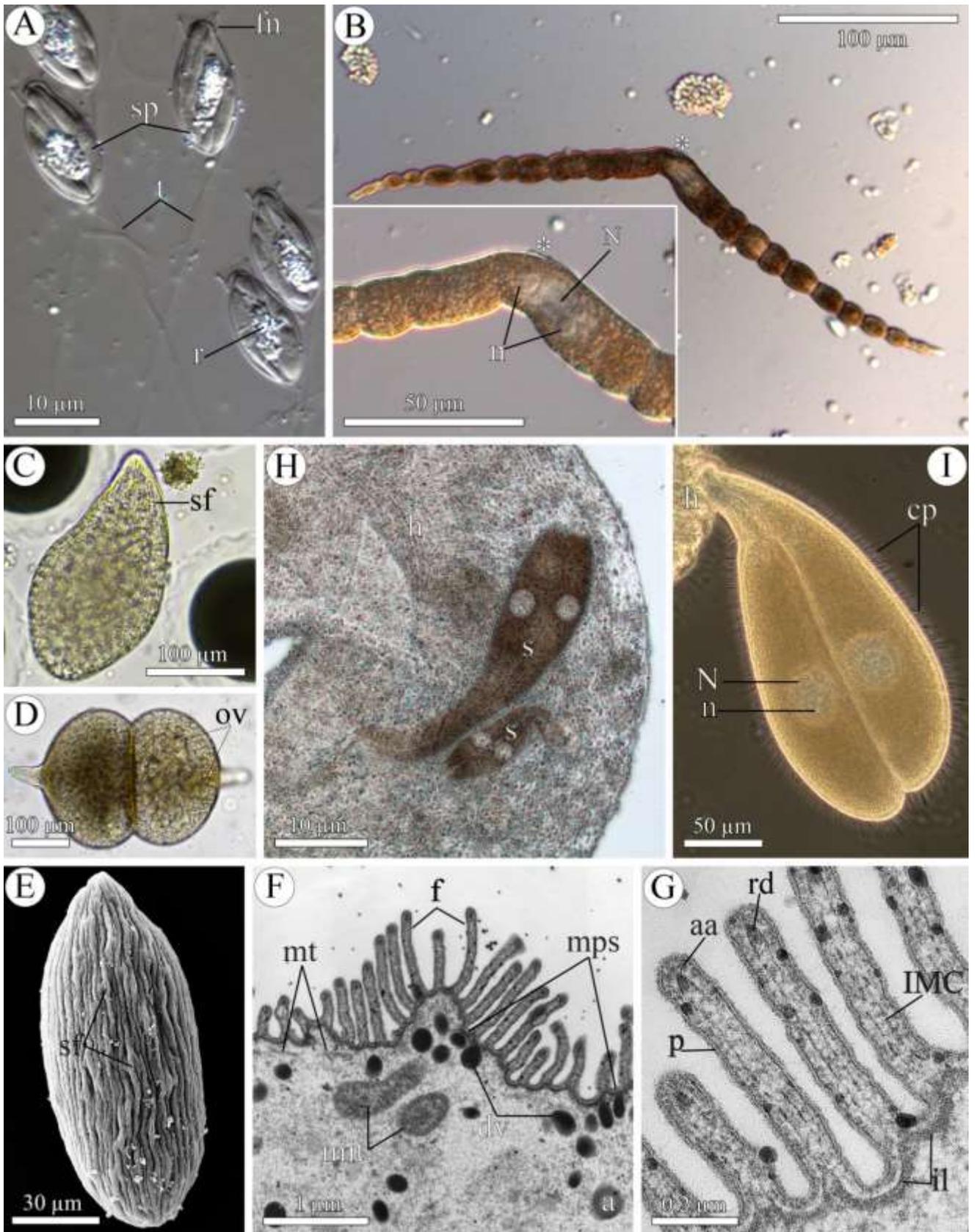
## Глава 6 Подвижность грегариин как адаптация к обитанию в разных нишах в хозяине

Эугрегарины паразитируют, как правило, в кишке самых разных беспозвоночных животных. Однако некоторые эугрегарины заселили иную нишу в хозяине, а именно целом и его производные. Со сменой ниши обитания у эугрегариин обычно происходит перестройка покровов и меняется или исчезает клеточная подвижность (Фролов, 1991). Так, эугрегарины семейства *Urosporidae* Léger, 1892 – паразиты целома полихет и других морских беспозвоночных, обладают разными типами клеточной подвижности или являются неподвижными (Diakin et al., 2016). Для проверки гипотезы происхождения уроспорид от несептированных кишечных эугрегариин и гипотезы зависимости клеточной подвижности от строения эпицита я совместно с коллегами провела исследование тонкого строения и филогенетического положения двух целомических эугрегариин: *Urospora ovalis* и *U. travisiae*, паразитирующих в полихете *Travisia forbesii* (Diakin et al., 2016; Valigurová et al., 2023). Для полноты характеристики уроспор я использовала собственный материал исследования *U. chiridotae*, паразита голотурии *Chiridota laevis* (Дякин, Паскерова, 2004).

Обобщенные данные по архи-, бласто- и эугрегариинам позволяют поднять вопрос о роли клеточной подвижности в адаптации паразитов к существованию в определенной нише в пределах организма хозяина.

### 6.1 Целомические эугрегарины с разными типами подвижности: *Urospora ovalis*, *U. travisiae* и *U. chiridotae*

Целомические эугрегарины *U. ovalis* и *U. travisiae* паразитируют в одном хозяине (Рисунок 21, Таблицы 1, 9). При этом трофозоиты *U. ovalis* всегда свободно флотируют в целоме, тогда как трофозоиты *U. travisiae* могут быть прикреплены к наружной стенке кишки хозяина. Морфология *U. ovalis* интересна тем, что овальные трофозоиты не демонстрируют явной гетерополярности клетки: невозможно выделить передний или задний конец клетки. Напротив, молодые и зрелые трофозоиты *U. travisiae* - гетерополярные протисты. Молодые трофозоиты имеют каплевидную форму тела, тогда как зрелые – V-образную (двулучевую) форму. У зрелых трофозоитов, лучи отходят от переднего конца, который может продолжать функционировать как зона прикрепления к тканям хозяина. Старший (первичный) луч обычно длиннее и содержит ядро (Рисунок 21). Следует добавить, что необычную двурукую форму



**Рисунок 21 - Морфология несептированных эугрегарин рода *Urospora*: *U. trivisiae*, *U. ovalis* и *U. chiridotae*. Световая (А, В, Н - дифференциально-интерференционный контраст, С, D – светлое поле, I – фазовый контраст) и электронная (Е – сканирующая, F, G - трансмиссионная) микроскопия**

**А.** Ооцисты, изолированные из целомической полости полихеты *Trivisia forbesii*. Обратите внимание на отростки (воронка (fn) и «хвост» (t)) на полюсах ооцисты, а также на остаточное тело (r) в центре ооцисты. Видовая принадлежность ооцист к *U. trivisiae* или *U. ovalis* не установлена. **В.** Трофозоит *U. trivisiae*, изолированный из целома полихеты *T. forbesii*. **Вставка.** Детали организации переднего конца (\*) трофозоида на В. **С.** Трофозоит *U. ovalis*, изолированный из целома полихеты *T. forbesii*. Обратите внимание, что клетка сокращена на одном из концов с образованием супергребней (sf). **Д.** Сизигий *U. ovalis*. В цитоплазме гамонтов много больших вакуолей со светлым содержимым (ov). **Е.** Трофозоит *U. ovalis*. Обратите внимание, что клетка паразита сокращена с образованием супергребней (sf). **Ф.** Организация кортекса *U. ovalis* на сокращенном участке клетки: поперечный срез через супергребень. **Г.** Детали строения эпицитарных гребней эугрегарины *U. ovalis*. **Н.** Два сизигия *U. chiridotae* (s) внутри кровеносного «сосуда» голотурии *Chiridota laevis* (h). **И.** Прикрепленный к тканям хозяина (h) сизигий *U. chiridotae*.

**Обозначения:** \*, передний конец; а, амилопектиновая гранула; аа, филамент (апикальная арка) между плазмалеммой и внутренним мембранным комплексом в вершине эпицитарного гребня; ср, цитопили; dv, везикула с электронно-плотным материалом; f, эпицитарный гребень; fn, воронка ооцисты; h, ткань хозяина; ИМС, внутренний мембранный комплекс; il, внутренняя ламина; mit, митохондрия; mps, микропороподобная структура; mt, микротрубочки; N, ядро; n, ядрышко; ov, вакуоли с оптически прозрачным содержимым; p, плазматическая мембрана; r, остаточное тело; rd, электронно-плотный стержень под внутренним мембранным комплексом в вершине эпицитарного гребня; s, сизигий; sf, супергребень; sp, спорозоит; t, «хвостовой» отросток ооцисты.

трофозоитов целомических грегарин *Pterospora* spp. (семейство Urosporidae) можно тоже характеризовать с точки зрения биаксиальности их клетки (Diakin et al., 2016; Dogiel, 1910; Landers, 1991, 2001; Landers, Gunderson, 1986; Leander, 2008a).

*U. ovalis* и *U. trivisiae* обладают эпицитом, сходным образом организованным и типичным для эугрегарин (Рисунок 21; Симдянов, 1995b, 2009; Corbel et al., 1979; Diakin et al., 2016; Desportes, Schrével, 2013; Desportes et al., 1977; Valigurová et al., 2013). Однако трофозоиты *U. ovalis* демонстрируют метаболизирующую подвижность, схожую с таковой у трофозоитов *Nematocystis magna* – целомической эугрегарины из семейства Monocystidae

Таблица 9 - Диагностические признаки *Urospora ovalis*, *U. travisiae*, *U. chiridotae*

Вид / признаки	<i>Urospora ovalis</i> * Dogiel, 1910	<i>Urospora travisiae</i> * Dogiel, 1910	<i>Urospora chiridotae</i> * (Dogiel, 1906) Goodrich, 1925
Синоним(ы)			<i>Cystobia chiridotae</i> Dogiel, 1906
Хозяин (синонимы)	<i>Travisia forbesii</i> Johnston, 1840		<i>Chiridota laevis</i> (O. Fabricius, 1780) ( <i>Chiridota pellucida</i> (Vahl, 1806))
Типовое место обнаружения	Берген, Северное море; Екатерининская гавань, Кольский залив, Баренцево море		Екатерининская гавань, Кольский залив, Баренцево море
Другие места обнаружения	в окрестностях ББС МГУ и УНБ «Беломорская», Канадалакшский залив, Белое море		в окрестностях УНБ «Беломорская», Канадалакшский залив, Белое море; Сейнт Андрюс, Уэстерн Чаннел, Северо-Западная Атлантика
Локализация в хозяине	целом		полость кровеносного «сосуда»
Прикрепление к тканям хозяина.	нет (свободное флотирование в целомической жидкости)	есть (могут быть прикреплены к мезентериям и целомической обкладке кишки)	есть (могут быть прикреплены к стенкам «сосудов»)
Экстенсивность, интенсивность инвазии	29% (20 из 69), несколько клеток – несколько десятков	67% (46 из 69), несколько десятков клеток	36% (20 из 36), несколько клеток или сизигиев – несколько десятков сизигиев (Белое море); 75% (12 из 16) (Северо-Западная Атлантика), —
Полярность клетки	невыражена	выражена	выражена
Трофозоит: форма клетки.	овальная	У-образная, два луча отходят под острым или тупым углом от широкого конца, сужаются к концам, имеют вздутия по ходу	кеглевидная
Трофозоит: длина x ширина (мин – макс (ср. ± SD, n – выборка), μm)	19,6 - 294 x 12,6- 187,6 (179 ± 72 x 114 ± 42, n = 36)	угол между лучами 10 – 180° (90 - 130°, n = 25), длина первичного луча 195-660 (392 ± 99,4, n = 25), длина вторичного луча 165 - 580 (352 ± 96,8, n = 25)	199 - 471 x 17 - 58 (258 ± 75 x 36 ± 10,6, n=24)
Число эпицитарных гребней (мин – макс / 1 μm), апикальных филаментов	3 – 7, 5 апикальных арок, апикальные филаменты слиты в стержень	3 – 4, -, апикальные филаменты слиты в стержень	0

## Продолжение таблицы 9

Другие поверхностные структуры (мин – макс (ср. $\pm$ SE, n – выборка), $\mu\text{m}$ )	супергребни (в сокращенном участке клетки), включающие в себя 10-20 эпицитарных гребней, –	–	цитопили, 21 -39 ( $29 \pm 3,8$ , n=20) на расширенном конце гамонта, 9 - 26 ( $16 \pm 3,9$ , n=14) на зауженном конце гамонта
Прикрепительный аппарат	отсутствует	?, широкая плоская площадка, лишенная эпицитарных гребней, окруженная кольцевой бороздой	?, цитопили на узком конце клетки
Ядро: форма и размеры (мин – макс (ср. $\pm$ SE, n – выборка), $\mu\text{m}$ ), количество ядрышек	округлое или овальное, 15,4 - 31 x 10,6 - 18,5 ( $23,9 \pm 4,1$ x $14,8 \pm 2,1$ , n =9), 2 – 3 ядрышка	округлое или овальное, 11,5 - 67 x 7,7 - 36,6 ( $36 \pm 16$ x $25,2 \pm 9,8$ , n=9), 2 – 3 ядрышка	округлое, 17 - 37 ( $26 \pm 4$ , n=24), обычно 1 ядрышко
Положение и ориентация ядра	в середине клетки, продольно	в переднем конце первичного луча, продольно	в расширенной (дистальной) части клетки
Ядрышко(и): форма, размеры (мин – макс (ср. $\pm$ SE, n – выборка), $\mu\text{m}$ ), положение в ядре	округлое, 5,3 - 12,9 ( $7,7 \pm 1,9$ , n=17), обычно на периферии ядра	округлое, 1,9 - 5,8 ( $4,5 \pm 1,5$ , n=5), обычно у периферии ядра	округлое, 9,5 - 15,4 ( $12,2 \pm 1,8$ , n=17), обычно на периферии ядра
Сизигий	?, конец к концу	фронтальный	латеральный
Подвижность трофозоитов	метаболия клетки (непрогрессивная подвижность)	направленное скольжение лучом или прикрепительным аппаратом вперед	неподвижные
Гаметоциты: форма, размеры ширина (мин – макс (ср. $\pm$ SE, n – выборка), $\mu\text{m}$ )	сферические, $116,6\text{--}684,6 \times 67,9\text{--}616,4$ ( $268,0 \pm 96,2 \times 240,2 \pm 90,0$ , n = 75); гаметоциты <i>U. ovalis</i> меньше таковых <i>U. trivisiae</i>		сферические, 219 - 297 ( $251 \pm 34,5$ , n = 5)
Ооциты: форма	веретеновидные, разнополярные: с воронкой и бичевым отростком на противоположных концах		
Ооциты: размеры (мин – макс в длину x мин – макс в ширину (ср. $\pm$ SE, n – выборка), $\mu\text{m}$ )	тело ооциты: $12,7\text{--}20,3 \times 3,9\text{--}8,2$ ( $16,3 \pm 2,2 \times 6,7 \pm 0,8$ , n = 54); воронка: $1,5\text{--}4,2 \times 2,2\text{--}5,7$ ( $2,6 \pm 0,6 \times 4,1 \pm 0,7$ , n = 49); бичевидный отросток в несколько раз длинее тела ооциты; ооциты <i>U. ovalis</i> меньше таковых <i>U. trivisiae</i>		—, бичевидный отросток по длине равен длине тела ооциты
Последовательности ДНК	SSU rDNA и LSU rDNA	SSU rDNA и LSU rDNA	—
Источники	Diakin et al., 2016; Dogiel, 1910; Valigurová et al., 2023; оригинальные данные (морфометрия)	Diakin et al., 2016; Dogiel, 1910; Valigurová et al., 2023; оригинальные данные (морфометрия)	Дякин, Паскерова, 2004; Dogiel, 1906; Dyakin, Simdyanov, 2005; Goodrich, 1925; оригинальные данные (морфометрия)

Обозначения: ‘—’, нет данных; ‘?’, противоречивое или расплывчатое описание; ‘\*’, исследованы методами электронной микроскопии.

(MacMillan, 1973; Miles, 1968). Тогда как V-образные *U. trivisiae* обладают скользящим типом подвижности, характерным для многих эугрегариин. Таким образом, эугрегарины *U. ovalis* и *U. trivisiae*, обитающие в целоме одного хозяина, демонстрируют разные типы подвижности, хотя покровы у них организованы сходным образом с эпицитом способных к скольжению кишечных эугрегариин (Diakin et al., 2016).

В составе пелликулы *U. ovalis* и *U. trivisiae* помимо типичных микропор есть еще микропороподобные структуры, у которых нет инвагинации плазмалеммы, но внутренний мембранный комплекс прерывается с образованием электронно-плотного конуса (Рисунок 21). Неоднократно под сканирующим или трансмиссионным электронными микроскопами были засвидетельствованы шарики какого-то экскреторного материала на поверхности многих эугрегариин, как между эпицитарными гребнями, так и на поверхностях паразита, участвующих в прикреплении к ткани хозяина (Симдянов, 1995b, 2009; Cook et al., 2001; Valigurová, 2012; Valigurová et al., 2013; Walker et al., 1984). Такой материал был замечен и между эпицитарными гребнями *U. ovalis* и *U. trivisiae*. Везикулы с подобным по плотности материалом также были обнаружены возле микропороподобных структур в цитоплазме этих грегариин (Рисунок 21). Я предполагаю, что типичные микропоры играют роль в поступлении питательных веществ в цитоплазму эугрегарины, тогда как микропороподобные структуры участвуют в выводе секреторных продуктов, например, слизи для облегчения подвижности или адгезивного материала для усиления прикрепительного эффекта паразита. В случае *U. ovalis* и *U. trivisiae* секреторируемый материал аккумулируется неоднородно на поверхности. Это наблюдение позволяет мне предположить, что секреция слизи происходит с различной интенсивностью в разных зонах поверхности паразита, и выброс слизи имеет эруптивную (импульсивную) природу (Diakin et al., 2016). Выброс слизи в окружающую среду может служить еще и защитным для эугрегарины механизмом, направленным против атакующих целомоцитов хозяина, как это было показано для других целомических паразитов (Coulon, Jangoux, 1988, 1991; de Ridder, Jangoux, 1984; Siedlecki, 1903).

*Urospora chiridotae* – несептированная эугрегариина, паразитирующая в обширных кровеносных лакунах (часто называемых «сосудами») целомических мезентериев голотурии *Chiridota laevis* (Рисунок 21, Таблица 9). Трофозоит этой эугрегарины обладает кеглевидной формой тела. Зауженным концом некоторые уроспоры прикрепляются к стенкам кровеносных «сосудов». К сожалению, до сих пор не известны детали организации контакта между паразитом и тканью хозяина, поэтому невозможно определить является ли зауженный конец паразита передним концом, формируется ли на нем прикрепительная органелла или заякоревание в тканях происходит за счет модифицированного кортекса уроспор (см. ниже). Поверхность клетки не имеет продольных или поперечных складок или гребней, но несет

большое число перпендикулярно отходящих длинных тонких цитопилей (Дякин, Паскерова, 2004; Dyakin, Symdianov, 2005). Длинные, ригидные цитопили, вероятно, способствуют сохранению свободного пространства вокруг паразита в просвете лакуны для лучшего омывания его поверхности токами жидкости внутренней среды хозяина. Цитопили также могут препятствовать оседанию целомацитов на поверхность эугрегарины. Кроме того, цитопили зауженного конца могут участвовать в закоревании трофозоитов в стенках «сосудов» хозяина. Трофозоиты *U. chiridotae* неподвижны. Для *U. chiridotae* характерны ранние сизигии (неогамия), формирующиеся, как я предполагаю, на стадии спорозоида – подвижной стадии жизненного цикла (Дякин, Паскерова, 2004). Считалось, что трофозоиты *U. chiridotae* обладают полиморфностью – изменением пропорций и формы клетки – в зависимости от места локализации в хозяине: в кровеносном «сосуде», на поверхности мезентерия, на наружной поверхности или в тканях кишки хозяина (Дякин, Паскерова, 2004; Dogiel, 1906, 1909). Такая точка зрения поддерживалась не всеми исследователями (Goodrich, 1925; Levine, 1977b). Они предполагали, что разные морфотипы паразитов являются самостоятельными видами. Очевидно, что паразиты голотурии *C. laevis* требуют дополнительного исследования с привлечением методов электронной микроскопии и молекулярной биологии для более глубокого понимания их морфологии и биологии и разрешения их видового статуса.

Полученные данные по строению покровов и подвижности целомических эугрегариин трех видов рода *Urospora* дополнительно указывают на то, что скольжение трофозоитов эугрегариин связано с характерной организацией их покровов – наличием эпицитарных гребней с микрофиламентами в их вершинах, тогда как иные типы клеточной подвижности или ее отсутствие могут быть (но не обязательно) сопряжены с вторичными изменениями в строении эпицита.

## 6.2 Происхождение целомических грегариин

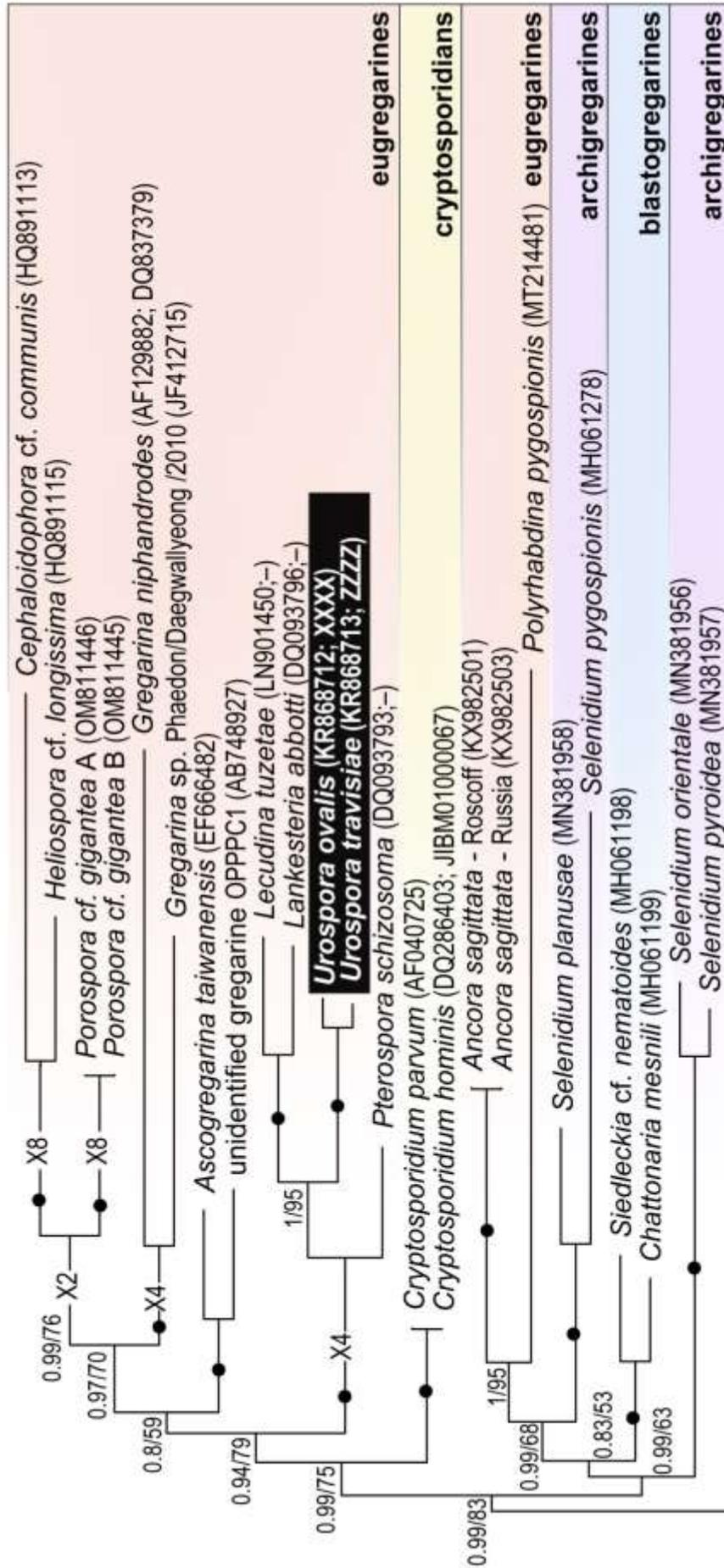
Молекулярно-филогенетический анализ на основе последовательностей SSU рДНК показал, что *U. ovalis* и *U. trivisiae* имеют родство к таким эугрегариинам как *Difficilina*, *Lecudina*, *Lankesteria*, *Pterospora* (полные филогенетические построения см. в Diakin et al., 2016; Valigurová et al., 2023). Таким образом, исследуемые уроспоры относятся к кладе Lecudinoidea, объединяющей представителей как семейства Lecudinidae, так и семейства Urosporidae (Рисунки 9, 20). При этом представители обоих семейств могут располагаться в пределах одного кластера, не демонстрируя явного внутреннего разделения на две клады в

соответствии с семействами. Стоит отметить, что представители семейства Urosporidae обладают яркой диагностической чертой, возможно, синапоморфией. Их ооцисты имеют характерную морфологию: овальные ооцисты обладают воронковидным отростком на одном полюсе и длинным отростком на другом полюсе (Рисунок 21; Diakin et al., 2016; Valigurová et al., 2023). Анализ филогенетического родства уроспор с другими эугрегариными на основе последовательности хотя бы двух генных маркеров (18S + 28S рРНК), хоть и ограниченный небольшим таксономическим набором, подтверждает родство уроспор с лекудиноидами (Рисунок 22; Valigurová et al., 2023).

Я предполагаю, что филогенетическое построение на основе одного генного маркера, а именно гена 18S рРНК, не позволяет разрешить порядок ветвления в кладе Lecudinoidea. Тем не менее, полученные результаты филогенетического анализа подтверждают близкое родство лекудинид, кишечных паразитов морских беспозвоночных, и уроспорида, целомического паразита морских беспозвоночных. Это, в свою очередь, поддерживает идею о том, что переход к обитанию в целомической полости хозяина осуществлялся среди кишечных эугрегаринов и, возможно, неоднократно (Diakin et al., 2016; Leander et al., 2006; Park, Leander, 2024; Wakeman et al., 2014).

К сказанному следует добавить, что переход от кишечного паразитизма к полостному, вероятно, имел место и у архигрегаринов. Хотя ранее предполагалось, что архигрегарины не обитают в иных нишах, кроме как в полости кишечника, недавняя работа (Wakeman et al., 2014) показала, что в полихете *Thelepus japonicus* Marenzeller, 1884 (сем. Terrellidae) обитают два филогенетически близких паразита: в кишечнике – *Selenidium terebelae* Ray, 1930 типичного строения для архигрегаринов, в целоме – *S. melongena* Wakeman et al., 2014, неподвижная, прикрепленная к наружной стенке кишечника и необычно организованная. Трофозоит целомического паразита не имеет органелл апикального комплекса, а утраченные субпелликулярные микротрубочки замещены системой фибрилл. В моем исследовании филогенетическое положение *S. melongena* среди архигрегаринов теребеллид было подтверждено с использованием построения на основе последовательностей гена 18S рРНК (Рисунок 9; Paskerova et al., 2018). Модифицированная организация этой архигрегарины и, как следствие, потеря клеточной подвижности, скорее всего, являются результатом перехода от кишечного к целомическому паразитизму.

Один из возможных путей перехода от кишечного паразитизма к целомическому, вероятно, был связан с репродуктивным метаморфозом полихет, когда кишечные грегарины на короткое время оказываются в полости тела хозяина (Durchon, Vivier, 1961). Такая временная локализация грегаринов в полости тела хозяина могла быть закреплена в жизненном цикле паразита. Сам переход от паразитирования в кишке к паразитированию в полости тела может



**Рисунок 22 - Фрагмент филогенетического построения по методу максимального правдоподобия, полученного на основе конкатенированных последовательностей SSU и LSU рДНК (3300 п.н.) эугрегарин (по Valigurová et al., 2023 с изменениями)**

Числа в узлах указывают апостериорные вероятности (числитель) и коэффициенты максимального правдоподобия в процентах (знаменатель). Черные точки на ветвях обозначают максимальную (1/100) поддержку. Идентификационные номера (GenBank) последовательностей указаны в скобках и расположены в следующем порядке: SSU рДНК; LSU рДНК. Впервые полученные последовательности SSU (Diakin et al., 2016) и LSU рДНК *U. ovalis* (XXXX - OR529005.1) и *U. trivisiae* (ZZZZ - OR529006.1) (Valigurová et al., 2023) выделены черным.

быть объяснен попыткой уменьшения видовой конкуренции, когда грегарины филогенетически родственных видов занимают разные ниши в пределах одного хозяина (Diakin et al., 2016; Wakeman et al., 2014).

В заключение, возникновение целомического паразитизма происходило независимо в разных ветвях кишечных грегариин и сопровождалось изменениями в строении их кортекса и, как следствие, подвижности.

### **6.3 «Целомический» путь выхода уроспор из хозяина во внешнюю среду**

По сравнению с кишечными паразитами перед целомическими грегаринами стоит проблема выхода (эмиссии) из хозяина во внешнюю среду. Для поиска вероятных путей выхода эугрегариин рода *Urospora* во внешнюю среду я провела исследование бурых тел, извлеченных из целомической полости полихеты *Trivisia forbesii*. Полученные данные были опубликованы совместно с моими чешскими коллегами (Valigurová et al., 2023).

Используя методы световой и электронной микроскопии, я и мои коллеги показали, что в бурых телах полихеты *T. forbesii* регулярно обнаруживаются гаметоцисты разных размеров и разной степени зрелости. Молекулярно-биологическими методами мы установили, что гаметоцисты принадлежат двум близкородственным видам целомических эугрегариин, *Urospora trivisiae* и *U. ovalis*. К сожалению, получить достоверные морфометрические отличия гаметоцист и ооцист двух видов не удалось (Таблица 9).

При изоляции гаметоцист из бурых тел их тонкая и эластичная оболочка довольно легко разрушается, высвобождая большое число (более 256) ооцист. С помощью световой

микроскопии высокого разрешения я показала, что овальные ооцисты уроспор обладают ярко выраженной полярностью, характерной для многих представителей семейства Urosporidae: воронкообразный вырост на одном полюсе и бичеобразный отросток на другом полюсе ооцисты. Каждая ооциста содержала по 8 спорозоитов, сгруппированных в две полярные группы по 4 спорозоида (Рисунок 21; Diakin et al., 2004; Valigurová et al., 2023).

Проведенное совместно с чешскими исследователями электронномикроскопическое исследование бурых тел, показало, что большинство инкапсулированных гаметоцист не подвержено деструктивным изменениям: спорогония в ооцистах имеет место быть, хотя часто идет асинхронно в пределах одной гаметоцисты. Кроме того, были обнаружены одиночные свободные спорозоиты вне гаметоцист, а именно среди целомоцитов бурого тела. Строение таких спорозоитов идентично спорозоидам в пределах зрелых ооцист, заключенных в гаметоцисту. Все факты в совокупности позволили сделать предположение о роли некоторых спорозоитов, рано развившихся и вышедших из гаметоцист, в аутоинвазии хозяина. Наши данные показали, что несмотря на защитную роль бурых тел, целомоциты этих образований не оказывают существенное влияние на споруляцию эугрегариин, а напротив, позволяют паразитам, изолированным от новых атак иммунной системы хозяина слоями целомоцитов, достаточно долго существовать в хозяине. Наше исследование подтвердило, что для целомических эугрегариин характерен «целомический» путь выхода во внешнюю среду: в момент повреждения или смерти хозяина (Valigurová et al., 2023).

#### **6.4 Подвижность грегариин как адаптация паразитов к обитанию в определенной нише в хозяине**

Архи-, бласто- и эугрегарины, обитающие в кишечном тракте, обычно обладают изгибательной подвижностью или скольжением (например, *Selenidium* spp. и *Polyrhabdina* spp. соответственно). Они развиваются зажатыми в узких пространствах между складками кишечного эпителия или между кишечным эпителием и содержимым кишечника. В этом случае подвижность паразитам нужна для того, чтобы производить смену жидкости окружающей среды вокруг них для увеличения эффективности питания, а также для уменьшения силы трения и давления жидкости/ткани на прикрепленных трофозоитов (Diakin et al., 2016; Leander, 2008b). Это применимо и для целомических грегариин (например, *U. travisiae* и *U. ovalis*), которые прикрепляются к наружной стенке кишечника или свободно флотируют в целомической полости полихет (Diakin et al., 2016). Стоит добавить, что подвижность

целомических грегариин помогает им избегать оседания защитных клеток хозяина (целоцитов) на их поверхность. Подвижность также необходима для поиска партнеров и создания сизигия (архигрегарины и эугрегарины) и для образования гаметоцитов путем отпочковывания от мерогамонта (бластогрегарины).

Метаболия, как правило, характерна для паразитов (многочисленные представители семейств *Urosporidae* и *Monocystidae*), обитающих в полости тела хозяина. Предположительно, моноцистиды приобрели этот тип подвижности как адаптацию к обитанию в вязкой среде, будучи локализованными среди скопления гамет в семенниках хозяина-олигохеты (Фролов, 1991). Некоторые уроспорида также могли приобрести метаболирующую подвижность в результате их обитания в жидкой среде полости тела хозяина, часто богатой половыми продуктами и целоцитами (Diakin et al., 2016).

Среди грегариин можно найти большое число неподвижных паразитов (Боголепова, 1953; Дякин, Паскерова, 2004; Dogiel, 1906, 1909, 1910; Dyakin, Simdyanov, 2005; Goodrich, 1925, 1950; Levine, 1977; Théodoridès, Laird, 1970; Wakeman et al., 2014). Обычно они встречаются в полостях тела с подвижной внутренней средой (например, кровеносные «сосуды» голотурий, обширная целомическая полость хозяина) или, напротив, локализованы в тканях хозяина, где нет выраженных токов жидкости внутренней среды. Таким образом, для некоторых целомических и тканевых грегариин свойственно утрачивать подвижность (Дякин, Паскерова, 2004; Diakin et al., 2016).

Поверхность некоторых грегариин семейств *Monocystidae*, *Lecudinidae* и *Urosporidae* несет цитопили. Обычно такие грегарины обитают в целомической полости хозяина или ее производных, и являются неподвижными, а их кортекс отличается от типичного эпицита грегариин, способных к скольжению (Дякин, Паскерова, 2004; Dyakin, Simdyanov, 2005; Hildebrand, 1980; Hoshida, Todd, 1996; Philippe et al., 1982; Porchet-Hennerè, Fischer, 1973; Sanders, Poinar, 1973; Sathananthan, 1977; Schrével et al., 1983; Tronchin, Schrével, 1977; Vivier, 1968; Vivier, Petitprez, 1968; Warner, 1968). Цитопили у разных грегариин организованы по-разному, т.е. не являются гомологичными структурами. Однако эти отростки, независимо от своей организации, могут служить как защитные образования от оседания защитных клеток хозяина (целоцитов) на поверхность грегариин (Рисунок 21; Дякин, Паскерова, 2004; Dyakin, Simdyanov, 2005). Цитопили могут также защищать паразита от сдавливания тканями хозяина.

В заключение этого раздела, необходимо подчеркнуть, что у архи-, бласто- и эугрегариин при их развитии из спорозойта в трофозойт происходит смена субстрат-зависимой подвижности клетки на субстрат-независимую. У архи- и бластогрегариин смена подвижности не сопровождается значительной перестройкой покровов, тогда как у эугрегариин трехмембранная пелликула теряет подлежащий кортикальный цитоскелет (сеть

микрофиламентов и слой (слои) продольно-ориентированных микротрубочек) и формирует эпицитарные гребни с филаментами в их вершинах и внутренней ламиной под внутренним мембранным комплексом. Архи- и эугрегарины, заселяющие целом хозяина, могут претерпеть вторичную перестройку покровов с появлением нового типа (например, метаболия) или с утратой подвижности клетки. Перестройка организации покровов клетки и изменения подвижности в ходе трансформации спорозонта в трофозоит обусловлены внеклеточным существованием грегаринов в хозяине. Мелкие зоиты могут скользить в среде хозяина передним концом вперед за счет глideosом, встраивающихся в пелликулу на переднем конце, протягивающихся вдоль и сбрасывающихся на заднем конце клетки (см. пункт 2.1). Крупные клетки, собственно трофозоиты, гамонты и мерогамонты, должны обладать более эффективным механизмом подвижности для преодоления силы трения вязкой среды. У них появляется клеточная подвижность, основанная на динамической работе цитоскелета клетки. Как следствие последнего, клетка-эугрегарина может совершать не только поступательное движение вперед, как это свойственно зоитам, но и поступательное движение назад (реверс). Действительно, эугрегарина *Polyrhabdina pygospionis* с хорошо развитым эпицитом (см. пункт 5.1) способна скользить вперед и назад без изменения формы и разворота клетки (Таблица 8).

## Глава 7 Эпицеллюлярный паразитизм среди кокцидий

Эпицеллюлярный паразитизм широко представлен у грегариин (Gregarinomorpha). Однако этот вариант локализации в хозяине также встречается у базальных кокцидий (Coccidia, Coccidiomorpha). Исследование разнообразия вариантов взаимодействия базальных споровиков с клеткой хозяина является основой для понимания эволюции споровиков в целом.

Одна из плохо изученных базальных групп кокцидий - отряд Protococcidiida Kheisin, 1956. Эта группа включает 4 семейства: Eleutheroschizonidae Chatton & Villeneuve, 1936; Myriosporidae Grassé, 1953; Angeiocystidae Léger, 1911 и Grelliidae Levine, 1973 (Perkins et al., 2000). Для представителей отряда Protococcidiida характерны следующие особенности жизненного цикла: отсутствие мерогонии; гамогония и спорогония проходят внеклеточно (Хейсин, 1956; Perkins et al., 2000). На настоящий момент филогенетическое единство отряда и его родство с другими кокцидиями не подтверждены современными молекулярно-биологическими методами. Лишь для двух представителей этого отряда – протококцидии *Eleutheroschizon duboscqi* Brasil, 1906 и *E. planoratum* Paskerova et al., 2023 – были получены молекулярно-биологические свидетельства, демонстрирующие сестринское положение этих паразитов к настоящим кокцидиям (*Eimeria*, *Sarcocystis*, *Toxoplasma*) (Janouškovec et al., 2019; Paskerova et al., 2023). Для представителей рода *Eleutheroschizon* Brasil, 1906 характерно эпицеллюлярное развитие на поверхности эпителиальных клеток кишечника хозяина. По мере развития гамонты элеутерошизонов открепляются от клеток хозяина и выносятся во внешнюю среду, где проходят гаметогенез и спорогенез. Ооцисты содержат веерообразный кластер спорозоитов, связанных друг с другом остаточным телом (Brasil, 1906; Chatton, Villeneuve, 1936b; Perkins et al., 2000).

В дополнение к проведенным ранее исследованиям (Brasil, 1906; Chatton, Villeneuve, 1936b) я совместно с коллегами изучила эндогенные стадии жизненного цикла *E. duboscqi*, используя современные микроскопические методы. Особое внимание было уделено стратегии прикрепления этого паразита к клетке хозяина, строению его кортекса и цитоскелета по сравнению с другими споровиками (Таблица 1; Valigurová et al., 2015). В кишечнике полихеты *Naineris quadricuspida* (Fabricius, 1780) я обнаружила еще одного представителя рода *Eleutheroschizon* (Таблица 1). Всестороннее исследование этого паразита и сравнение его с известными протококцидиями *E. duboscqi* и *E. murmanicum* Awerinzew, 1908, паразитирующего в кишечнике полихеты *Ophelia limacina*, позволило мне и моим коллегам определить его как новый вид и дать ему название *E. planoratum* (Таблица 10). На основе особенностей локализации протококцидий в хозяине мы скорректировали диагноз рода *Eleutheroschizon*

(Paskerova et al., 2023). Полученные нами филогенетические построения с использованием последовательностей ДНК ядерного рибосомного оперона (SSU рДНК, 5.8S рДНК и LSU рДНК) споровиков показали сестринское положение *Eleutheroschizon* по отношению к кладе Eimeriidae в составе Coccidiomorpha, а также дополнительно подтвердили сестринские отношения *Cryptosporidium* с грегаринами (Paskerova et al., 2023). Полученные данные позволяют мне предложить новый тип эндопаразитизма среди споровиков — паразитизм в закрытой эпицеллюлярной нише, который конвергентно эволюционировал у *Eleutheroschizon* и *Cryptosporidium*.

**Таблица 10 - Диагностические признаки протококцидий рода *Eleutheroschizon***

Виды / характеристики	<i>E. duboscqi</i> Brasil, 1906, оригинальное описание, типовой вид	<i>E. duboscqi</i> * Brasil, 1906, emend. Paskerova et al., 2023	<i>E. murmanicum</i> Awerintzew, 1908	<i>E. planoratum</i> * Paskerova et al., 2023
Хозяин	<i>Scoloplos armiger</i> (Müller, 1776), <i>Protoaricia oerstedii</i> (Claparède, 1864) (former <i>Theostoma oerstedii</i> (Claparède, 1864))	<i>Scoloplos armiger</i> (Müller, 1776)	<i>Ophelia limacina</i> (Rathke, 1843)	<i>Naineris quadricuspida</i> (Fabricius, 1780)
Типовое место обнаружения	Люк-сюр-мер, Ла-Манш, Западная Атлантика ( <i>S. armiger</i> ); залив То, Средиземное море ( <i>P. oerstedii</i> )	Пролив Великая Салма (ББС МГУ) и о. Большой Горелый (УНБ «Беломорская» СПбГУ), Кандалакшский залив, Белое море	Екатерининская гавань, Кольский залив, Баренцево море	Луда Виченная, Керетский Архипелаг, Кандалакшский залив, Белое море
Локализация в хозяине	в конец первой трети кишки, часто в вентральной бороздке	в средней кишке, прикреплен к кишечному эпителию или свободно в полости кишки	прикреплен к кишечному эпителию или свободно в полости кишки	средняя и задняя кишка, обычно прикреплен к кишечному эпителию
Заражение: экстенсивность (доля зараженные хозяев), интенсивность (число паразитов на хозяина)	около 5%, обильная	около 11% (16 из 146) на ББС МГУ и 16% (4 из 25) на УНБ «Беломорская» СПбГУ, несколько десятков	не в каждом хозяине, обильная	около 83% (100 из 121), от единичных до нескольких десятков клеток

## Продолжение таблицы 10

Форма клетки	вытянутый колокол, широкая часть обращена к кишечному эпителию	шлемовидная или удлинённый колокол, прямой или слегка изогнутый, самая широкая часть обращена к кишечнику хозяина	широкий, низкий конус, широкая часть обращена к кишечному эпителию	бочонковидная, прямая или слегка изогнутая, уплощенный передний конец обращен к кишечному эпителию
Размер клетки (ширина x высота (ср. $\pm$ SE, выборка), $\mu$ m)	до 30 в высоту	6.5-15 x 8.5-27 x (11 $\pm$ 1.7 x 15 $\pm$ 3.3, n=18)	до 50-60 x 25-38	6-24 x 7-36 (15 $\pm$ 3.2 x 24 $\pm$ 4.5, n=100)
Число борозд (ср., (мин-макс, выборка))	—	обычно 12 (10-13, n=21)	—	обычно 12 (9-12, n=15)
Передний конец (прикрепительный аппарат)	широкий, с 2 венчиками округлых лопастей («зубчиков» в оригинале)	округлый, 4.4-12.7 (9.7 $\pm$ 2.2, n=11) $\mu$ m в диаметре, выпуклый, с 1-2 венчиком округлых лопастей (до 20 в сумме) и 1 периферическим кольцом пучков длинных филаментов, чередующихся с короткими крюковидными филаментами	широкий, выпуклый, с 1 периферическим кольцом из 12-20 конических лопастей («зубчиков» в оригинале)	овальный, 9-19 (14.5 $\pm$ 2.6, n=5) $\mu$ m в макс диаметре, плоский, с волнистым контуром и 1 периферическим кольцом из пучков филаментов
Задний конец; «хвост» (дистальная часть паразитофорного мешка)	округлый; с 1 «хвостом», коническим, заостренным, иногда крюковидным или с небольшим вздутием на конце	округлый, иногда с депрессией на вершине; с 1 (редко 2-3 или отсутствует) «хвостом» (коническим, заостренным, иногда крюковидным или с небольшим вздутием на конце)	округлый; без «хвоста»	округлый, иногда с депрессией на вершине; с 1 или без «хвоста» (конический, заостренный, иногда крюковидный)

Продолжение таблицы 10

Ядро: число, форма, размер (ширина x длина (ср. $\pm$ SE, выборка), $\mu$ m), расположение в клетке паразита	—	1 большое, округлое, 3.9-8.1 x 3.0-9.0 (5.8 $\pm$ 1.3 x 5.7 $\pm$ 1.3, n=10), расположено в широкой части клетки (макрогамонты); несколько маленьких, сферических, 1.2-1.7 x 1.2-1.6 (x 1.4 $\pm$ 0.1, n=20), равномерно распространены по цитоплазме (микрогамонты)	1 большое, овальное, центрально расположенное (макрогамонты); множество мелких ядер по периферии и 1 неправильно-овальной формы остаточного тела (микрогамонты)	1 большое, сферическое, 4-11 x 4-11 (x7 $\pm$ 1.2, n=57), расположено в широкой части клетки (макрогамонты); несколько маленьких равномерно распределенных по цитоплазме (микрогамонты)
Ядрышко: количество, форма, размер (ширина x длина, ср. $\pm$ SE, выборка), $\mu$ m), расположение в ядре	—	1 large, spherical, 1.5-3.0 x 1.4-2.8 (2.4 $\pm$ 0.5 x 2.3 $\pm$ 0.6, n=5), eccentrically located (macrogamonts); several fragmented (microgamonts)	1 large, spherical, centrally located (macrogamonts)	1 large, oval, 2.8-4.4 x 1.6-3.5 (3.5 $\pm$ 0.5 x 2.4 $\pm$ 0.4, n=10), eccentrically located (macrogamonts)
Мерогония	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
Спорозоит (ширина x длина, $\mu$ m)	2 x 5, заостренный; ядро расположено в апикальной части клетки	—	похож на таковой <i>E. duboscqi</i>	—
Ооциста	несколько веерообразных скоплений спорозоитов, соединенных одним концом с остаточным телом	—	—	—
Подвижность	неподвижные	неподвижные	—	неподвижные
Отличительные черты	—	образование паразитофорного мешка из сросшихся выростов зараженного энтероцита	парные ассоциации из одно и многоядерных (2-3 ядра) клеток, объединенные широкими концами, лопасти отсутствуют (сизигий?)	образование паразитофорного мешка из сросшихся выростов зараженного энтероцита

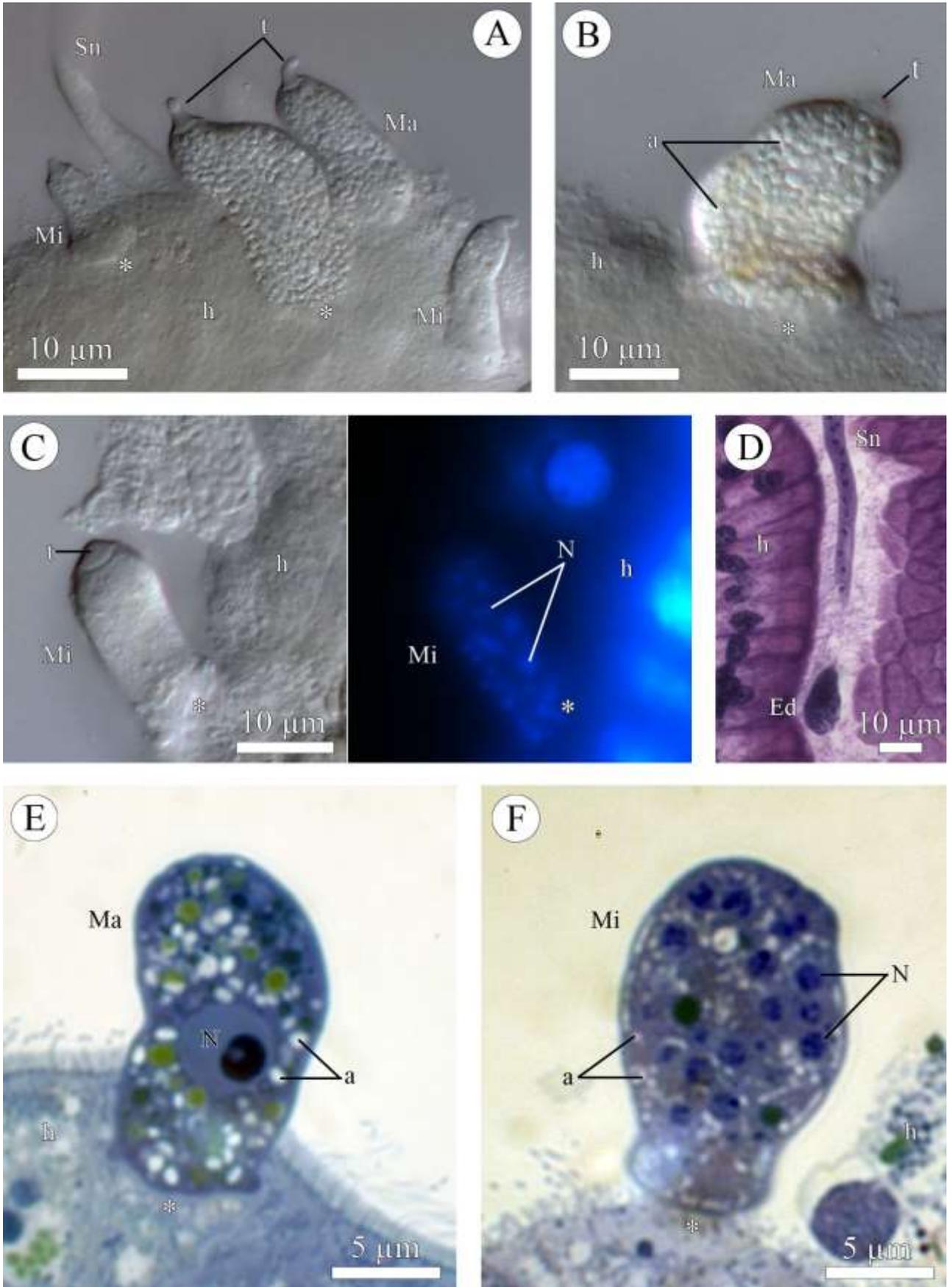
## Продолжение таблицы 10

rDNA последовательности	—	SSU, 5.8S, LSU rDNA, ITS1, ITS2	—	SSU, 5.8S, LSU rDNA, ITS1, ITS2
Источники	Brasil, 1906; Chatton, Villineuve, 1936b	Paskerova et al., 2023; Valigurová et al., 2015 ; оригинальные данные (морфометрия)	Аверинцев, 1908	Paskerova et al., 2023; оригинальные данные (морфометрия)

Обозначения: ‘—’, нет данных; ‘?’, противоречивое или расплывчатое описание; ‘\*’, исследованы методами сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии. Цветом выделены те виды, которые были переописаны (зеленый) и описаны (лиловый) при участии автора диссертации.

### 7.1 Строение и стратегия прикрепления протококцидий к клетке хозяина на примере *Eleutheroschizon duboscqi* и *E. planoratum*

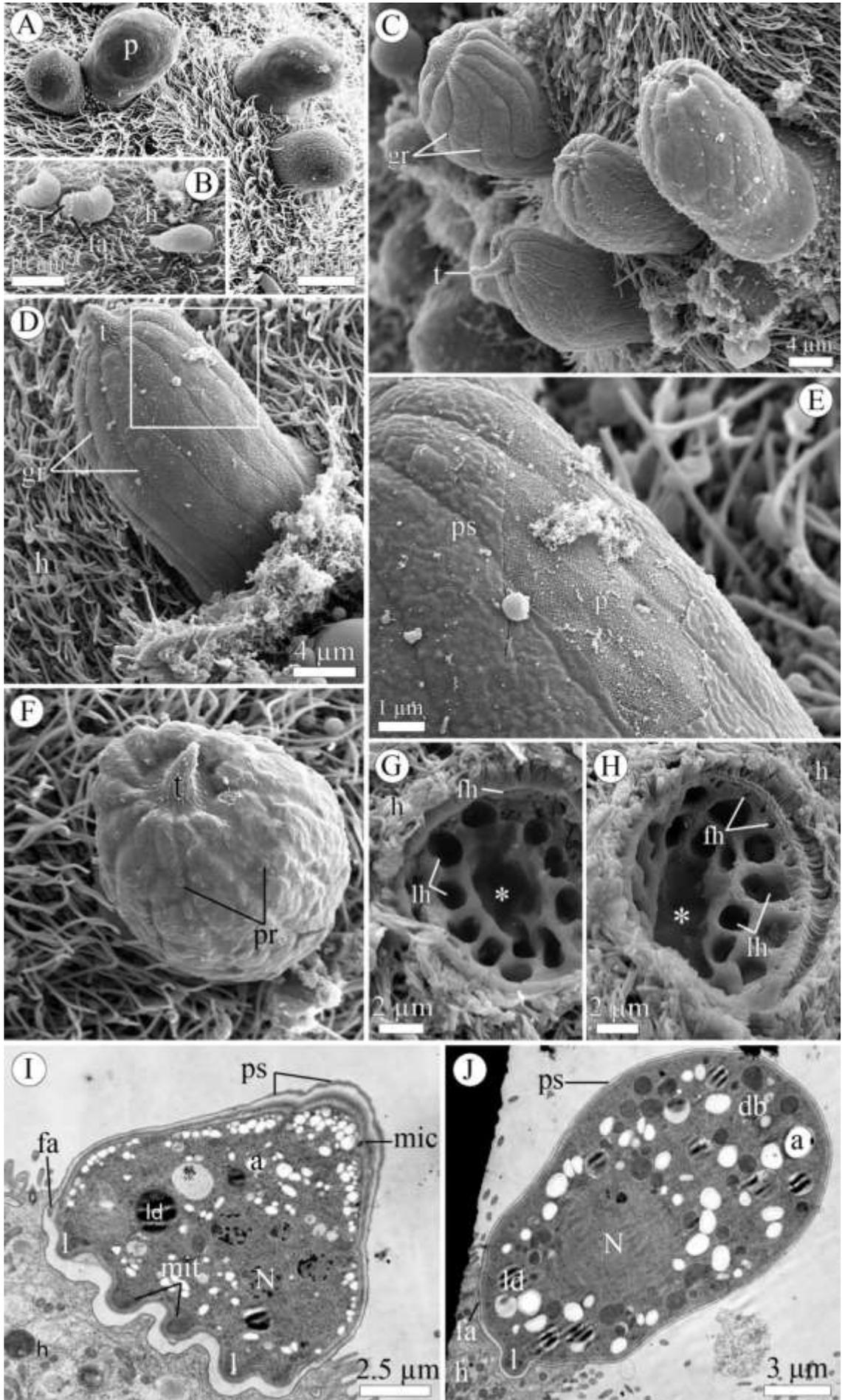
В своем исследовании я подтвердила, что *E. duboscqi* и *E. planoratum* располагаются эпицеллюлярно на поверхности кишечного эпителия хозяина. При этом я впервые показала, что вокруг паразитов формируется так называемый паразитофорный мешок, в образовании которого участвуют выросты апикальной части клетки хозяина (Рисунки 23–26; Paskerova et al., 2023; Valigurová et al., 2015). С помощью методов иммунной флуоресценции и окрашивания специфическими реагентами, было показано, что актиновые и миозиновые филаменты, а также  $\alpha$ -тубулин присутствуют в стенке паразитофорного мешка (детали см. в Valigurová et al., 2015). Это наблюдение подтверждает включение микроворсинок и ресничек энтероцита хозяина в формирование паразитофорного мешка вокруг паразита. Сканирующая электронная микроскопия показала, что паразитофорный мешок вокруг элеутерошизонов имеет поры. Таким образом, локализация элеутерошизона оказывается переходной между настоящим эпицеллюлярным прикреплением внеклеточных паразитов, таких как грегарины, к клетке(ам) хозяина и внутриклеточным расположением в пределах паразитофорной вакуоли, как это характерно для большинства кокцидий, паразитирующих в тканях хозяина. Локализация элеутерошизона напоминает таковую у криптоспоридий (Huang et al., 2004a; Lumb et al., 1988; Valigurová et al., 2007, 2008; Umemiya et al., 2005). Элеутерошизон прикрепляется к апикальной части энтероцита хозяина с помощью расширенного переднего конца. У *E. duboscqi* этот конец представляет собой сложно устроенную прикрепительную зону, слегка выпуклую и несущую



**Рисунок 23 - Морфология протококцидии *Eleutheroschizon duboscqi*, кишечного паразита полихеты *Scoloplos armiger*. Световая микроскопия**

**А-В.** Шлемообразные протококцидии прикрепляются к кишечному эпителию хозяина широким концом (\*). Они окружены паразитофорным мешком, который над свободным концом паразита часто формирует хвостоподобный отросток (t). Макрогамонты (Ma) имеют большее число амилопектиновых гранул в цитоплазме, чем микрогамонты (Mi). Обратите внимание на бластогрегарины *Siedleckia cf. nematoides* (Sn) среди протококцидий на А. Дифференциально-интерференционный контраст. **С.** Микрогамонт. Дифференциально-интерференционный контраст и флюоресцентная микроскопия, окраска DAPI. **Д.** Протококцидия (Ed) и бластогрегарина (Sn) в просвете кишечника хозяина (h). Светлое поле, гистологический срез, окраска эозином и гематоксилином Бёмера. **Е – F.** Макрогамонт (E) и микрогамонт (F). Светлое поле, полутонкие срезы, окраска толуидиновым синим.

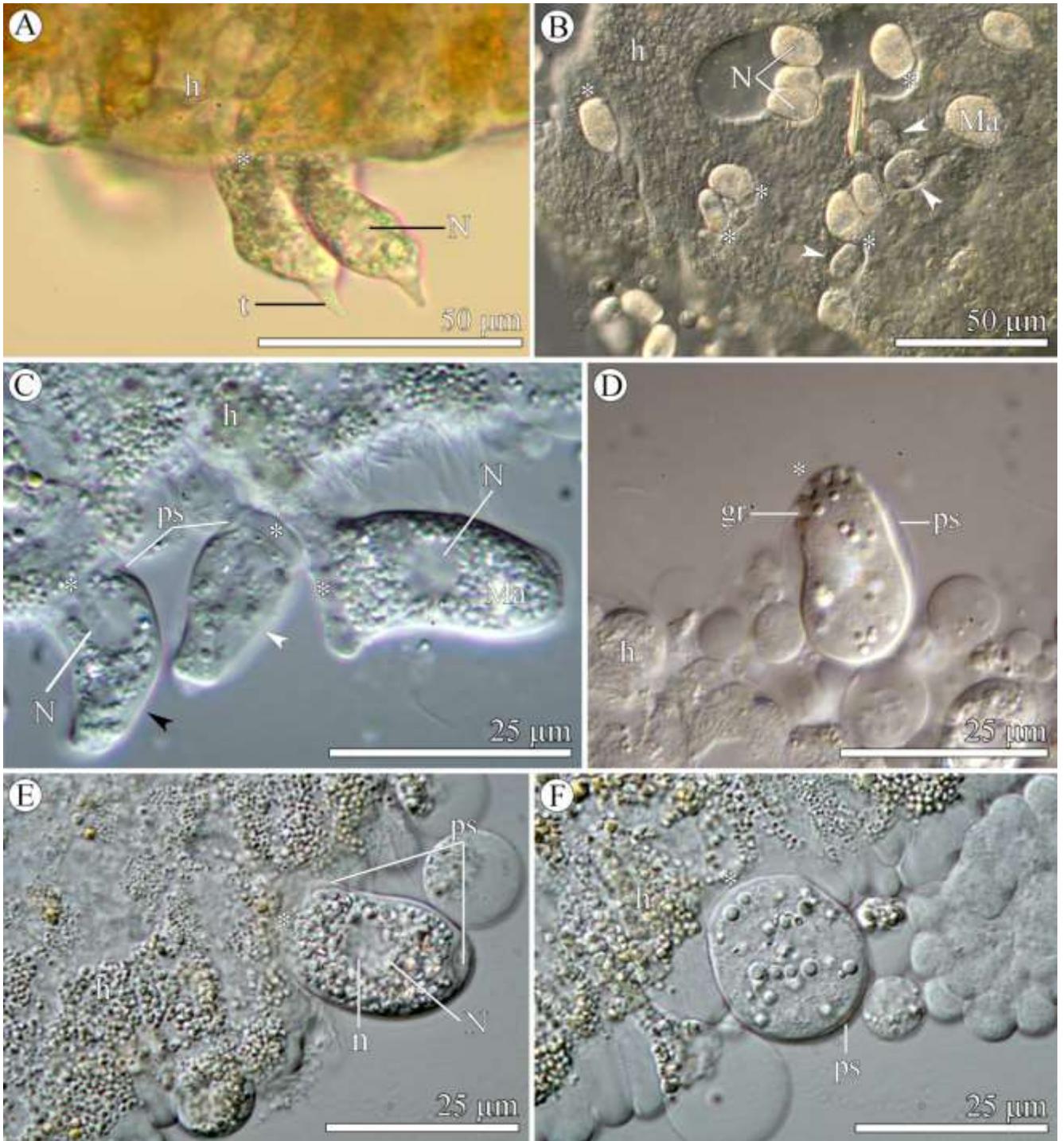
**Обозначения:** \*, базальный отдел протококцидии; а, амилопектин; Ed, протококцидия; h, кишечный эпителий хозяина; Ma, макрогамонт; Mi, микрогамонт; N, ядро; Sn, бластогрегарина; t, хвостоподобный отросток паразитофорного мешка.



**Рисунок 24 - Организация паразитфорной ниши и морфология протококцидии *Eleutheroschizon duboscqi*. Сканирующая (А-Н) и трансмиссионная (I, J) электронная микроскопия**

**А.** Протококцидии (р) на поверхности кишечного эпителия хозяина-полихеты *Scoloplos* cf. *armiger*. Паразиты окружены паразитофорным мешком, часто формирующим складки избыточной поверхности. **В.** Молодые протококцидии: две клетки искусственно отделены от эпителия хозяина (слева), одна клетка (крайняя правая) прикреплена к эпителию хозяина. У свободных паразитов видны лопасти (l) на прикрепительной поверхности и венчик пучков филаментов (fa) по периферии прикрепительного аппарата. **С - Д.** Поверхность протококцидий несет борозды (gr), которые могут проступать даже под паразитофорным мешком. Обратите внимание, что не у всех паразитов образуется хвостоподобный отросток (t) избыточной поверхности паразитофорного мешка. **Е.** Фрагмент Д при большом увеличении, демонстрирующий поверхность паразита в зоне разрушения паразитофорного мешка. **Ф.** Паразитофорный мешок может иметь поры (pr). **Г - Н.** Вдавления (\*, кратеры) на поверхности кишечного эпителия хозяина, оставшиеся на месте развития молодого трофозоида (Г; один круг глубоких вдавлений, которые соответствуют лопастям прикрепительного аппарата) и гамонта (Н; два венчика лопастей прикрепительного аппарата соответственно) протококцидий. **I-J.** Микрогамонт (I) и макрогамонт (J) на поверхности кишечного эпителия (h) хозяина. Обратите внимание на паразитофорный мешок (ps), образованный слившимися выростами апикальной части зараженного энтероцита хозяина вокруг каждого паразита.

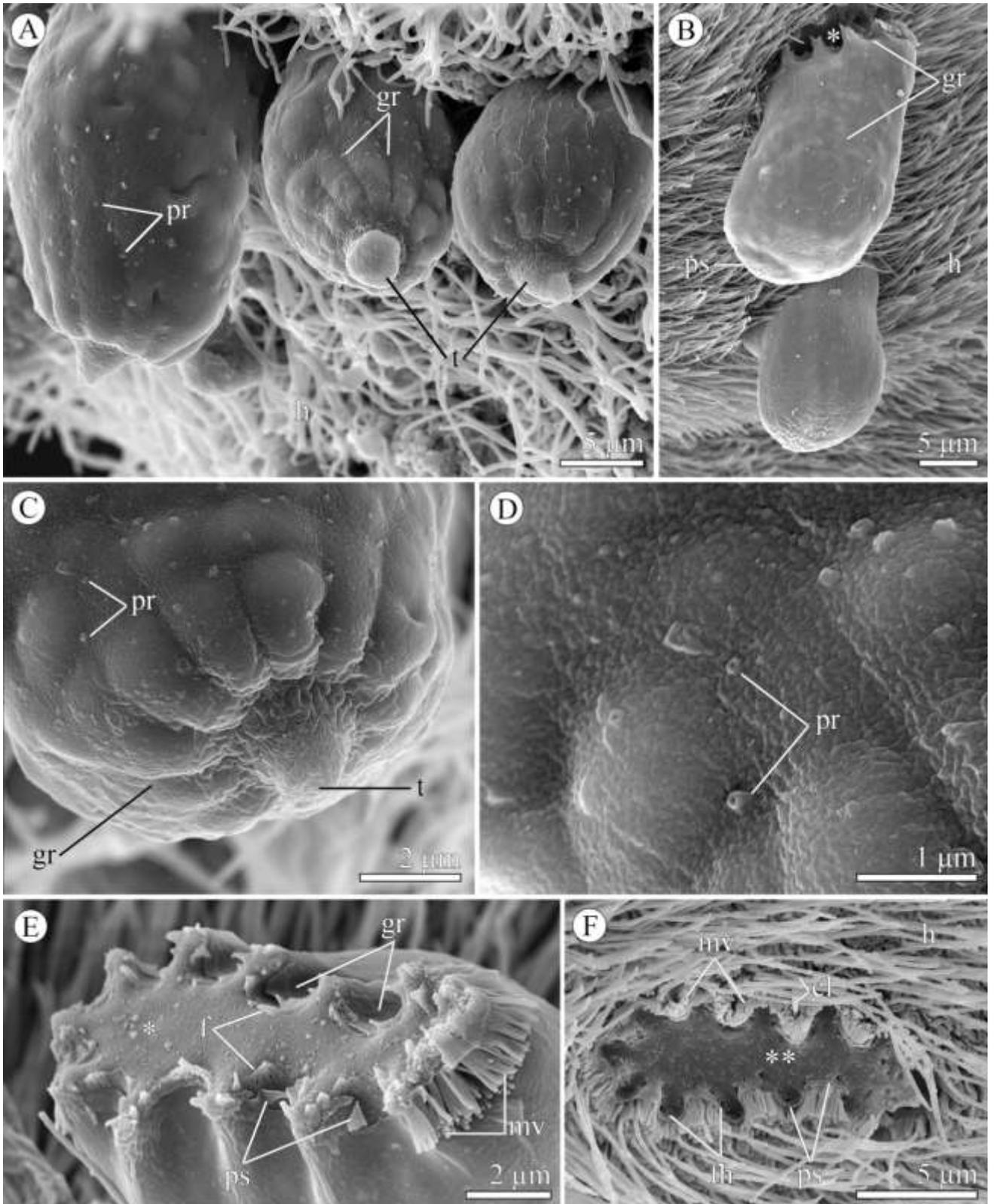
**Обозначения:** \*, вдавление (кратер) на поверхности кишечного эпителия хозяина в месте развития паразита; a, амилопектиновая гранула; db, электронно-плотное тело; fa, пучок филаментов на периферии прикрепительного аппарата; fh, вдавление ткани хозяина в месте формирования пучка филаментов прикрепительного аппарата паразита; gr, борозда на поверхности паразита; h, кишечный эпителий хозяина; l, лопасть прикрепительного аппарата; ld, липидное включение; lh, вдавление ткани хозяина в месте формирования лопасти прикрепительного аппарата паразита; mic, микропора; mit, митохондрия; N, ядро; p, паразит; pr, поры; ps, паразитофорный мешок; t, хвостоподобный отросток паразитофорного мешка.



**Рисунок 25 - Морфология и локализация в хозяине протококцидии *Eleutheroschizon planoratum*. Световая микроскопия**

**А.** Два макрогамонта прикреплены к поверхности кишечного эпителия хозяина *Naineris quadricuspida* (h). Паразиты окружены паразитофорным мешком, часто формирующим хвостовидный отросток (t) избыточной поверхности. Временный препарат. **В.** Кусок кишки хозяина с протококцидиями на поверхности. Можно заметить, что макрогамонты (Ma) превосходят в численности микрогамонты (головка стрелки). Давленный препарат. **С.** Слегка придавленные гамонты. Давленный препарат. **Д.** Микрогамонт, расположенный под углом, с частично видимыми бороздами и лопастями прикрепительной зоны паразита. Давленный препарат. **Е- F.** Макрогамонт (E) и микрогамон (F) слегка придавленные. Давленный препарат.

**Обозначения:** \*, базальный конец паразита, участвующий в прикреплении к клетке хозяина; gr, борозда на поверхности паразита; h, кишечный эпителий хозяина; Ma, макрогамонт; N, ядро; n, ядрышко; ps, паразитофорный мешок; t, хвостоподобный каудальный отросток паразитофорной вакуоли; белая головка стрелки указывает на микрогамонты; черная головка стрелки указывает на молодой макрогамонт.



**Рисунок 26 - Организация паразитофорной ниши и области прикрепления к клетке хозяина у эпицеллюлярной протококцидии *Eleutheroschzion planoratum*. Сканирующая электронная микроскопия**

**А-В.** Протококцидии, прикрепленные к поверхности кишечного эпителия хозяина-полихеты. **С.** Задний конец паразита, окруженного паразитофорным мешком. **Д.** Поры паразитофорного мешка, видимые на С, при большом увеличении. **Е.** Прикрепительный аппарат паразита, механически отделенного от эпителия хозяина. **Ф.** Кратер, оставленный на поверхности эпителия кишки хозяина после отделения паразита.

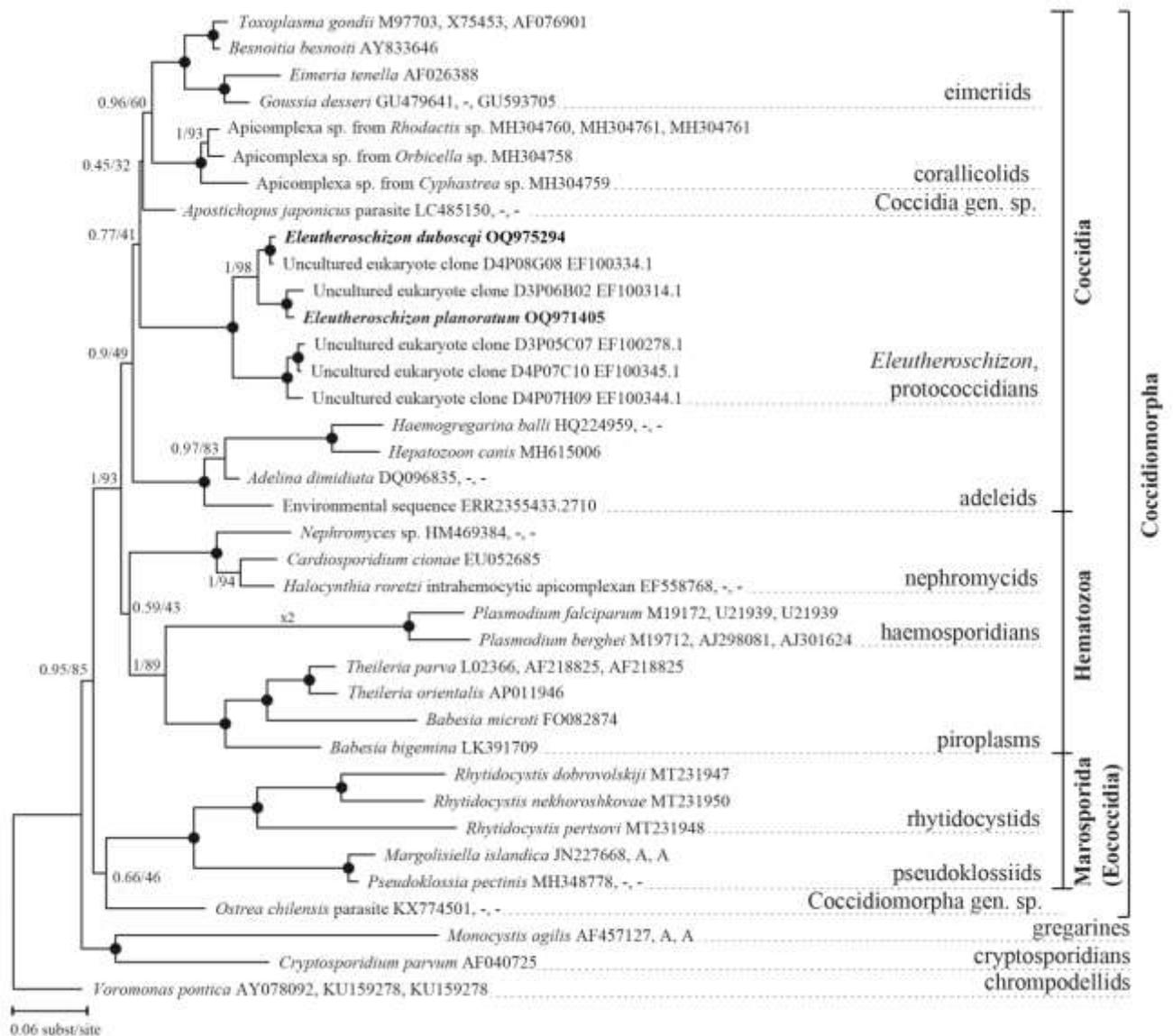
**Обозначения:** \*, передний конец паразита, участвующий в прикреплении к клетке хозяина; \*\*, кратер на поверхности кишечного эпителия, соответствующий прикрепительному аппарату паразита; cl, реснички кишечного эпителия хозяина; f, пучки филаментов прикрепительного аппарата паразита; fh, углубления для пучков филаментов; gr, борозда на поверхности паразита; h, кишечный эпителий хозяина; mv, микровилли энтероцита хозяина; pr, поры; ps, паразитофорный мешок; t, хвостоподобный каудальный отросток паразитофорной вакуоли.

периферическое кольцо пучков филоментозных структур и округлые лопасти, расположенных в один или несколько венчиков по всей площади прикрепительной поверхности. У *E. planoratum* прикрепительный конец плоский, овальный, с неровным контуром и ограниченный пучками филаментов. На прикрепительной поверхности нет лопастей. В месте прикрепления протококцидий формируются кратеры на поверхности тканей хозяина, которые хорошо видны при искусственном (механическом) отделении паразитов. *E. duboscqi* формирует глубокое, округлое в сечении впячивание на апикальной поверхности клетки хозяина, по периферии которого располагаются некрупные дополнительные углубления, в которые вложены пучки филаментов, а остальная поверхность кратера несет округлые ямки, расположенные в 1-2 венчика и комплементарные лопастям прикрепительного аппарата паразита. В случае *E. planoratum* образуется овальный, плоский кратер с неровным краем, вдоль которого которого располагаются лишь небольшие ямки для связи с пучками филаментов прикрепительного аппарата. У обоих элеутерошизонов покровы прикрепительной зоны представляют собой трехмембранную пелликулу с хорошо развитым гликокаликсом и микропорами. В цитоплазме паразитов под покровами располагаются митохондрии, везикулы и мембраны ЭПР (Рисунки 23-26; Paskerova et al., 2023; Valigurová et al., 2015). Скорее всего, прикрепительный аппарат этих паразитов образован не столько за счет разросшегося переднего конца спорозонта, сколько за счет всей части клетки, обращенной к энтероциту хозяина, и поэтому не может быть сопоставлен ни с мукроном архигрегариин, ни с эпимеритом эугрегариин (Paskerova et al., 2021; Simdyanov et al., 2017).

Свободная поверхность *E. duboscqi* и *E. planoratum* несет борозды, на дне которых располагаются микропоры. Пелликула вне прикрепительного аппарата подстлана слоем из лент филаментов, скорее всего, актиновой природы. Наблюдаемые эндогенные стадии не обладали клеточной подвижностью (Paskerova et al., 2023; Valigurová et al., 2015).

## **7.2 Филогенетическое положение *Eleutheroschizon duboscqi* and *E. planoratum* из беломорских полихет**

Совместно с моими коллегами я провела два филогенетических анализа - байесовский (Рисунок 27) и максимального правдоподобия (не показан), - на основе почти полных последовательностей рибосомного оперона (SSU рДНК, 5.8S рДНК и LSU рДНК) *E. dubsocqi*, *E. planoratum* и 32 представителей основных линий клады Coccidiomorpha.



**Рисунок 27 - Байесовское построение филогенетического дерева, полученное на основе 37 конкатенированных последовательностей генов 18S, 5.8S и 28S рНК (4527 позиций) кокцидиоморф в рамках модели GTR+G+I**

Числа в узлах обозначают апостериорные вероятности (числитель) и коэффициенты максимального правдоподобия в процентах (знаменатель). Черные точки на ветвях соответствуют значениям поддержек равным 1,0 и 100% соответственно. Впервые полученные последовательности *Eleutheroschizon duboscqi* и *E. planoratum* выделены жирным шрифтом. Названия основных линий кокцидиоморф соответствуют Janouškovec et al., 2019, Mathur et al., 2020 и Miroljubova et al., 2020.

В качестве аутгруппы были использованы представители (по одному) грегарин, криптоспоридий и кольподелид. Оба анализа дали полностью идентичные по топологии деревья.

Полученные филогенетические построения показали монофилию основных групп кокцидиоморф: эймерииды, аделеидные кокцидии, коралликолиды, линии гематозоев и мароспориды (=эококцидии). Исследованные *Eleutheroschizon* spp. образуют крепкую монофилетическую группу (апостериорная вероятность, PP = 1; процент бутстрепа, BP = 100) вместе с экологическими последовательностями, полученными из приливно-отливных морских отложений, собранных в Гренландии. Эта группа подразделяется на две устойчивые клады: клада (PP = 1, BP = 98), в которой *E. duboscqi* (вместе с одним некультивированным организмом) формирует сестринскую ветвь к ветви, образованной *E. planoratum* (с другим некультивированным эукариотным организмом), и клада (PP = 1, BP = 100) из трех некультивированных эукариот из Гренландии. Топология клады *Eleutheroschizon* spp. убедительно показывает правомерность выделения нового вида *E. planoratum*. Кроме того, объединенная клада протококцидий, а именно *Eleutheroschizon* spp. и все экологические последовательности, оказывается сестринской по отношению к кладе, объединяющей эймериидных кокцидий, коралликолид и морфологически неидентифицированного паразита из голотурии *Apostichopus japonicus* (Selenka, 1867), хотя и со слабой поддержкой (PP = 0,77, BP = 41). Полученные нами филогенетические построения также показали, что за пределами кокцидиоморф *Cryptosporidium parvum* занимает сестринское положение к грегарине *Monocystis agilis* с сильной поддержкой (PP = 1.0, BP = 100) (Paskerova et al., 2023). Схожий результат был получен в крупномасштабной филогении по методу максимального правдоподобия на основе конкатенированных последовательностей 296 белков апикомплекса и им родственных протистов (Janouškovec et al., 2019). Филогенетические построения свидетельствуют в пользу независимого происхождения закрытого эпицеллюлярного паразитизма у протококцидий и криптоспоридий.

### 7.3 Обоснование видов *Eleutheroschizon duboscqi* и *E. planoratum* из беломорских полихет

До моего исследования только два вида протококцидий рода *Eleutheroschizon* были известны - *E. duboscqi* и *E. turmanicum*. *E. duboscqi* был описан Л. Бразилем (Brasil, 1906) методами световой микроскопии как кишечный паразит полихет *Scoloplos armiger* (Orbiniidae),

собранных на французском побережье Ла-Манша (Таблица 10). Жизненный цикл этого паразита был интерпретирован двумя французскими исследователями, которые работали с протококцидиями из полихет *Protoaricia oerstedii* (Orbiniidae) с побережья Средиземного моря (Chatton, Villeneuve, 1936b). Последовательное эпицеллюлярное развитие трофозоитов и гамонтов этого паразита в кишечнике *S. armiger* было продемонстрировано современными методами световой и электронной микроскопии на материале из Белого моря (Valigurová et al., 2015). Молекулярные данные по *E. duboscqi* были получены только из беломорского материала (Janouškovec et al., 2019; Paskerova et al., 2023). Во всех исследованиях после работы Бразила (Brasil, 1906) предполагалось, что изученные паразиты, хотя и собранные в разных местах и из разных хозяев, являются *E. duboscqi*, так как по морфологическим признакам все находки схожи с первоописанием. Я и мои коллеги придерживаемся этого предположения, поскольку подтвердить, что именно этот вид, а не иные виды, родственные с ним, встречался в разных полихетах и географических точках, на данный момент невозможно.

*Eleutheroschizon murmanicum* был описан как внеклеточный кишечный паразит полихет *Ophelia limacina* (Opheliidae), собранных в Баренцевом море (Аверинцев, 1908). Как и *E. duboscqi*, *E. murmanicum* прикрепляется к энтероциту хозяина с помощью сложного аппарата прикрепления. Поверхность прикрепления широкая, выпуклая, с 12-20 коническими выростами, расположенными по периферии (Таблица 10).

По размерам клетки *E. planoratum* крупнее, чем *E. duboscqi*, но мельче чем *E. murmanicum*. У *E. planoratum* поверхность прикрепления к тканям хозяина плоская, лишенная каких-либо лопастей. Морфологические особенности аппарата прикрепления хорошо отличают этот вид от других известных (Таблица 10), что убедительно говорит о правомерности выделения этого паразита в самостоятельный вид. Этот вывод также подтверждается филогенетическим анализом, проведенным с использованием конкатенированных последовательностей ядерной ДНК (см. п. 7.2) *E. duboscqi* и *E. planoratum* (Рисунок 27; Paskerova et al., 2023).

#### 7.4 Сравнение эпицеллюлярной локализации *Eleutheroschizon* и других споровиков

Эпицеллюлярный паразитизм характерен для большинства базальных споровиков. Архи-, бласто- и эугрегарины обладают специализированным аппаратом прикрепления (мукрон, эпимерит или модифицированный протомерит), который может служить еще и питающей органеллой (Paskerova et al., 2021; Simdyanov et al., 2017). Криптоспоридии тоже обладают

органеллой для прикрепления к клетке хозяина и питания (Рисунки 28, 29). В отличие от грегарин, в зоне контакта с клеткой хозяина *Cryptosporidium* образует Y-образный сайт слияния мембран (плазмалеммы и мембраны апикальной вакуоли паразита и плазматической мембраны энтероцита хозяина). Цитоплазма паразита отделена от цитоплазмы клетки хозяина лишь присутствующей здесь цитоскелетной сеткой (dense line и dense band) из актиновых волокон

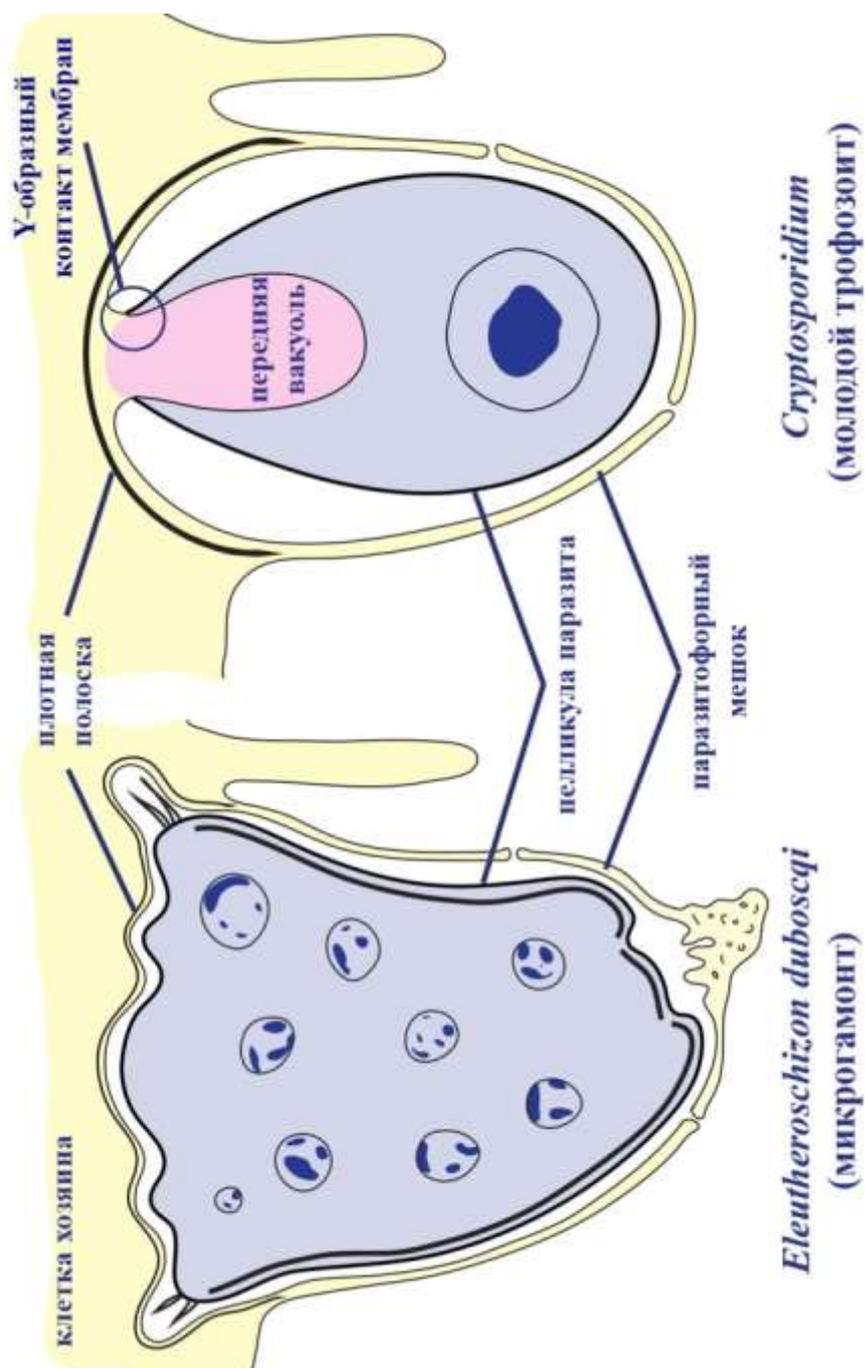
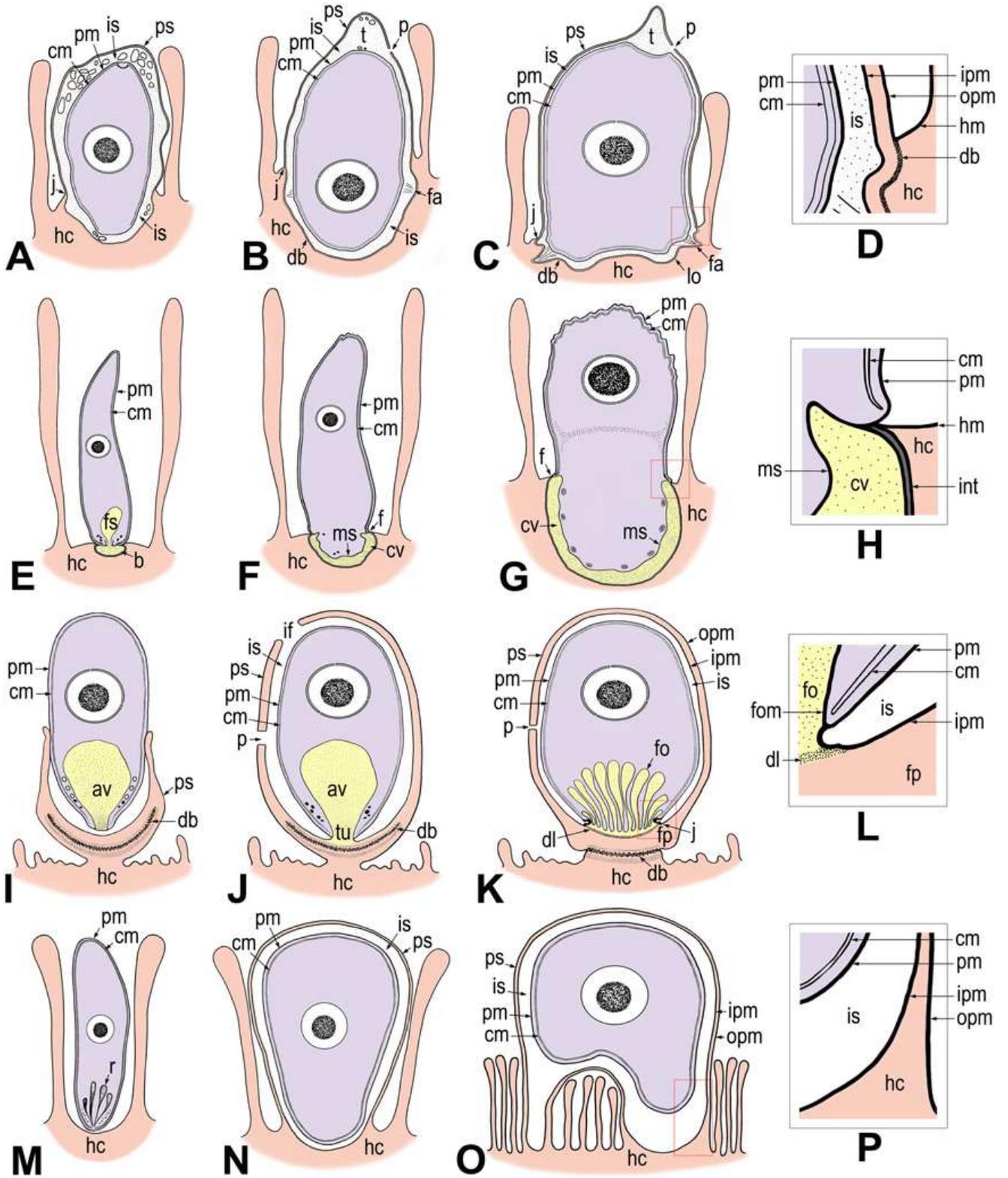


Рисунок 28 - Схема организации паразитофорного мешка при закрытом эпителиальном паразитизме у протококцидий (*Eleutheroschizon duboscqi*) и криптоспоридий (масштаб не соблюден)



**Рисунок 29 - Обобщенная схема развития контакта эцицеллюлярных споровиков разных филогенетических линий с клеткой хозяина (по Valigurová et al., 2015 с изменениями)**

Диаграммы, вошедшие в схему, построены на анализе как собственных, так и опубликованных данных (подробнее смотрите в тексте). В диаграммах используются три цвета для обозначения паразита (лиловый), клетки хозяина и ее образований (рыжий) и непосредственная зона контакта паразита и клетки хозяина (желтый). Масштаб в диаграммах не соблюден. **A-D. *Eleutheroschizon duboscqi*, закрытая эцицеллюлярная локализация.** **A.** Эцицеллюлярно расположенный зоит, проходящий трансформацию в трофозоит и покрытый паразитофорным мешком (ПМ). **B.** Молодой трофозоит с сформированным венчиком пучков филаментов на периферии развивающегося прикрепительного аппарата. Над задним концом паразита формируется хвостоподобный отросток ПМ. **C.** Трофозоит с хорошо выраженным прикрепительным аппаратом: лопасти и пучки филаментов. **D.** Детали строения зоны взаимодействия паразита и клетки хозяина (участок отмечен красным квадратом на C). **E – H. Эугрегарины, открытая эцицеллюлярная локализация.** **E.** Спорозоит сразу после прикрепления к эпителиальной клетке хозяина. На переднем конце паразита начинает формироваться эпимеритная почка. **F.** Трансформация спорозоида в трофозоит; развитие эпимерита. **G.** Молодой трофозоит с развитыми эпимеритом, септой (в случае септированных эугрегарин) и эпицитом. **H.** Детали строения плотного контакта плазматических мембран паразита и клетки хозяина (участок отмечен красным квадратом на G). Внутренний мембранный комплекс (две цитомембраны) эпицита паразита завершается в основании эпимерита. **I – L. Криптоспоридии, закрытая эцицеллюлярная локализация.** **I.** Прикрепленный зоит в процессе превращения в трофозоит. Паразит частично покрыт неполностью развитым ПМ, образующимся за счет сливающихся между собой выростов апикальной части зараженной клетки хозяина. **J.** Молодой трофозоит, почти полностью заключенный в ПМ. Паразит формирует туннелеобразный вырост, который связывает цитоплазму передней вакуоли и цитоплазму клетки хозяина. Сетка из актиновых филаментов (db, dense band) разделяет цитоплазмы двух клеток. Плазматическая мембрана клетки хозяина, плазмалемма и мембрана передней вакуоли паразита сливаются, образуя Y-образный кольцевой контакт. **K.** Зрелый трофозоит с полностью развитой на основе передней вакуоли питающей органеллой. В основании ПМ формируются филаментозные выросты. Цитоплазма питающей органеллы отделена от цитоплазмы филаментозных выростов слоем актиновых волокон (dl, dense line). **L.** Детали строения Y-образного кольцевого контакта мембран (участок отмечен красным квадратом на K). **M – P. Эймерииды (*Acroëimeria*, *Goussia*), псевдоэцицеллюлярная локализация.** **M.** Зоит перед внедрением в клетку хозяина. **N.** Трофозоит/меронт, окруженный ПМ с одной зоной взаимодействия паразита и клетки хозяина

(вторичная полярность клетки паразита). **О.** Гамонт, развивающийся над микровиллиями клетки хозяина с формированием дополнительной зоны взаимодействия (вторичная полярность клетки паразита). **Р.** Детали строения зоны взаимодействия паразита и клетки хозяина (участок отмечен красным квадратом на **О**).

**Обозначения:** av, передняя вакуоль; b, эпимеритная почка; cm, цитомембраны пелликулы паразита; cv, кортикальная зона эпимерита; db, dense band – сетка из актиновых волокон; f, сайт взаимодействия мембран паразита и клетки хозяина; dl, dense line – слой актиновых волокон; fa, прикрепительные пучки филаментов; fo, питающая органелла с ламеллами; fom, мембрана питающей органеллы; fp, филаментозный отросток ПМ; fs, фляжкообразная структура; hc, клетка хозяина; hm, плазматическая мембрана клетки хозяина; if, неполное слияние мембран ПМ; int, плотный контакт между плазматическими мембранами контактирующих паразита и клетки-хозяина; ipm, внутренняя мембрана паразитофорного мешка; is, пространство между паразитом и ПМ; j, Y-образный кольцевой сайт слияния мембран паразита и клетки хозяина; lo, лопасть прикрепительной органеллы; ms, мембраноподобная структура, отграничивающая кортикальную зону от цитоплазмы эпимерита; орm, наружная мембрана ПМ; p, пора ПМ; pm, плазматическая мембрана паразита; ps, паразитофорный мешок (ПМ); r, роптрия; t, хвостовой отросток ПМ; tu, туннелеобразный вырост-связка между паразитом и клеткой хозяина.

(Valigurová et al., 2007, 2008, 2015). Подобно грегаринам, *Eleutheroschizon* имеет сложно организованный аппарат прикрепления, который увеличивает поверхность контакта двух клеток (Рисунки 28, 29). В зоне прикрепления не формируется плотный контакт между мембранами клеток двух организмов. Клетка хозяина не пенетрирована, и слияния цитоплазмы двух клеток не наблюдается. Остается неясным, может ли такой аппарат прикрепления участвовать в питании паразита. Органеллы апикального комплекса отсутствуют в прикрепительном аппарате в течение эндогенной фазы (трофозоит и гамонт, прикрепленные к энтероцитам хозяина и заключенные в паразитофорный мешок) жизненного цикла элеутерошизона. Вероятно, питание путем мизоцитоза не является типичным для этого паразита. Многочисленные микропоры, зачастую связанные с везикулами и окруженные митохондриями, расположены по всей поверхности трофозоида элеутерошизона, а также на поверхности самого аппарата прикрепления. Это может указывать на то, что транспорт веществ из внутреннего пространства паразитофорного мешка в цитоплазму паразита может быть опосредован через его пелликулу и микропоры (Koreny et al., 2023; Piro et al., 2021; Wan et al., 2023).

*Eleutheroschizon* spp., возможно, образуют плотный контакт с клеткой хозяина только на стадии взаимодействия спорозоида с клеткой хозяина. Как только начинается процесс

формирования паразитофорного мешка (а этот процесс, очевидно, происходит быстрее, чем у *Cryptosporidium* (Valigurová et al., 2015)), паразит теряет этот предположительно прямой контакт с мембраной клетки хозяина и начинает формировать характерный аппарат прикрепления. Следует добавить, что существует множество доказательств того, что *Cryptosporidium* дистанционно индуцирует изменения апикальной поверхности не только клетки-мишени, но и в соседних клетках хозяина (Borowski et al., 2010; Huang et al., 2004a; Kolářová, Valigurová, 2021; Valigurová, Florent, 2021; Valigurová et al., 2007, 2008, 2015). По аналогии с *Cryptosporidium* и в противоположность прикрепленным к тканям хозяина грегаринам, *Eleutheroschizon* spp. можно рассматривать как гемиепицеллюлярных паразитов, которые дистанционно воздействуют на апикальную часть клетки хозяина в течение большей части эндогенной фазы их жизненного цикла (Paskerova et al., 2023). Известно, что *Cryptosporidium* способен активизировать молекулярные механизмы ремоделирования актина и увеличения апикального объема клетки-хозяина (активизация полимеризации актина и интенсификация работы аквапорина 1 (AQP1) и натрий-зависимого транспортера глюкозы (SGLT1)) (Borowski et al., 2008). Я предполагаю, что протококцидии *Eleutheroschizon* также могут запускать подобные сигнальные пути в мембране энтероцита, которые вызывают образование апикальных выростов с последующим их слиянием вокруг паразита. Плотная полоска микрофиламентов под мембраной энтероцита в месте прикрепления паразита также является одним из ответов клетки хозяина на действие *Cryptosporidium* и *Eleutheroschizon* (Melicherová et al., 2018; Paskerova et al., 2023). Я также предполагаю, что транспортеры в мембране клетки-мишени могут быть модифицированы эпицеллюлярно развивающимся элеутерошизоном, чтобы усилить поглощение ключевых веществ для удовлетворения своих метаболических потребностей, как это было продемонстрировано в случае с *Cryptosporidium* (Piro et al., 2021).

Архи-, эу- и бластогрегарины, эпицеллюлярно прикрепленные к тканям хозяина, обычно не окружены никакими мембранными образованиями, полностью обхватывающими паразита. В случае формирования выростов апикальной части энтероцита хозяина, обхватывающие эпимерит паразита (например, *Polyrhabdina pygospionis*), можно говорить о формировании неполной паразитофорной ниши или о разросшейся зоны соединения (скользящего контакта), возникающей у спорозонта в момент его прикрепления к клетке-мишени и развивающейся по ходу трансформации и роста трофозонта. Последнее мне кажется более правдоподобным и объясняет отсутствие просвета (полости) между двумя взаимодействующими клетками.

Исключение из правила доминирования открытого эпицеллюлярного паразитирования среди грегариноморф и бластогрегарин составляет архигрегарины *Ditrypanocystis* sp., которая развивается в многослойном мешке из мембран, образованных в результате слияния ресничек

энтероцитов хозяина с последующей редукцией их аксонем (Butaeva et al., 2006). Подобный паразитофорный мешок может возникать в результате избыточной экскреции белков роптрий и микронем архигрегарины.

В данной диссертации я предпочитаю использовать термин «паразитофорный мешок» в описании структур, окружающих эпицеллюлярно прикрепленного паразита, в отличие от других исследователей, которые используют термин «паразитифорная вакуоль» (Borowski et al., 2008). Я полагаю (Valigurová et al., 2015), что термин «паразитофорная вакуоль» для описания локализации эпицеллюлярных организмов, таких как *Ditrypanocystis*, *Cryptosporidium* и *Eleutheroschizon*, вводит в заблуждение, потому что он отсылает к вакуолярному пространству, образованному вокруг паразита внутри клетки хозяина и ограниченному лишь одной мембраной (Scholtyseck, 1979). Тогда как паразитофорный мешок является эпицеллюлярной структурой, образованной слившимися выростами клетки хозяина вокруг паразита. Стенка этой структуры представляет собой слой цитоплазмы между двумя мембранами (наружной и внутренней), являющимися продолжениями плазмалеммы клетки хозяина. Стенка паразитофорного мешка может иметь поры для связи с внутренней средой хозяина (Paskerova et al., 2023; Valigurová et al., 2008, 2015). Таким образом, паразитофорный мешок представляет собой закрытую нишу для развития эпицеллюлярно-прикрепленного паразита, которая, с одной стороны, защищает паразита от агрессивной внутренней среды хозяина, а с другой стороны, осуществляет связь паразита с этой средой через поры.

Некоторые внутриклеточные кокцидии демонстрируют подобие эпицеллюлярной локализации среди микровиллей клеток кишечника или почек рыб (*Eimeria*, *Goussia*) и рептилий (*Choleoeimeria*, *Acroeimeria*). Для одних кокцидий (например, *Eimeria vanasi*) показано, что они в ходе своего эндогенного развития в клетке хозяина меняют локализацию: от внутрицитоплазматической (паразитофорная вакуоль полностью погружена в цитоплазму клетки хозяина) до эпицитоплазматической локализации (паразитофорная вакуоль вытеснена под апикальную мембрану клетки хозяина так, что площадь контакта с цитоплазмой клетки хозяина сведена к минимуму) через промежуточное состояние - полуэпицитоплазматическую локализацию (паразитофорная вакуоль погружена глубже, чем при эпицитоплазматической локализации, но не полностью). Фактически, такие споровики приходят к псевдоэпицеллюлярной локализации. Для других кокцидий (некоторые *Acroeimeria*, *Goussia*) показано, что почти на всем протяжении жизненного цикла они оказываются локализованными в микровиллярном районе клеток хозяина. Нет наблюдений, подтверждающих внедрение спорозонта в цитоплазму клетки хозяина с формированием паразитофорной вакуоли вокруг паразита, поэтому авторами предполагается, что паразитофорная ниша вокруг паразита образуется за счет слияния микровиллей, наподобие того, как это происходит вокруг

криптоспоридии в хозяине (Bartošová-Sojková et al., 2015; Benajiba et al., 1994; Dyková, Lom, 1981; Jirků et al., 2002, 2009; Kim, Paperna, 1992; Lacey, Williams, 1983; Lom, Dyková, 1982; Lukeš, 1992, 1993; Lukeš, Starý, 1992; Molnár, Baska, 1986; Paperna, 1990, 1991; Paperna, Landsberg, 1987, 1989; Paperna, Lainson, 1999). Стоит добавить, что эпицеллюлярные кокцидии *Goussia janae* обладают AMA и RON белками (Dogga et al., 2015), что может говорить в пользу того, что они могут проникать внутрь клетки хозяина, а механизм проникновения схож с таковым у внутриклеточных кокцидий.

Криптоспоридии, грегарины и *Eleutheroschizon* spp. представляют собой гетерополярные клетки, когда передний и задний концы различаются по форме, структуре и функции. Клеточная полярность обычно присуща свободноживущим протистам и внеклеточным паразитам, прикрепленным к тканям хозяина, в то время как внутриклеточные паразиты обычно теряют свою полярность после проникновения в клетку хозяина (Гинецинская и Добровольский, 1978; Valigurová et al., 2015). Псевдоэпицеллюлярные кокцидии не имеют выраженной полярности клетки: невозможно выделить передний и задний концы. У них нет прикрепительной органеллы, а поглощение питательных веществ, поступивших в паразитофорную вакуоль, идет по всей поверхности тела. Тем не менее, они могут образовывать отростки тела в сторону цитоплазмы клетки хозяина, а мембрана паразитофорной ниши в этих зонах повторяет контуры этих отростков и даже может иметь микропоры. Все это, в какой-то степени, повторяет стратегию прикрепления истинных эпицеллюлярных споровиков - увеличение площади контакта с клеткой или клетками хозяина для интенсификации процессов абсорбции питательных веществ и усиления эффективности закоривания на поверхности органа хозяина. Как я предполагаю, псевдоэпицеллюлярная локализация, независимо от ее происхождения, приводит к вторичной полярности клетки паразита в той или иной степени развития (Valigurová et al., 2015).

Суммируя сказанное, я заключаю, что все вышеупомянутые споровики, образующие специализированный контакт с клеткой хозяина, вызывают у последней изменения плазмалеммы и подлежащего цитоскелета. Такие изменения ведут к формированию вокруг паразита либо паразитофорной вакуоли внутри цитоплазмы, либо паразитофорного мешка снаружи клетки хозяина. В любом случае создается оболочка вокруг паразита, который продолжает развиваться в образовавшей полости, будучи отделенным от цитоплазмы клетки хозяина или полости органа хозяина. Механизмы влияния паразита на клетку хозяина при внедрении в нее или при инициировании создания паразитофорного мешка на ее апикальной поверхности до конца не ясны. Исследования на эту тему идут, в основном, на единичных модельных объектах (см. пункт 2.1). Для всех апикомплекс очевидно общее, что именно органеллы апикального комплекса (коноид, роптрии и микронемы) спорозоитов принимают

участие в поиске клетки-мишени, в прикреплении к клетке-мишени и во взаимодействии с клеткой-мишенью. Нюансы взаимодействия с клеткой-мишенью определяются разнообразием секретов, вырабатываемых апикомplexами. Споровики инициируют образование паразитофорной ниши (паразитофорной вакуоли или паразитофорного мешка) за счет клетки хозяина, используя ее разные клеточные механизмы.

## Глава 8 Эндогенное развитие агамококцидий рода *Rhytidocystis* в полихетах

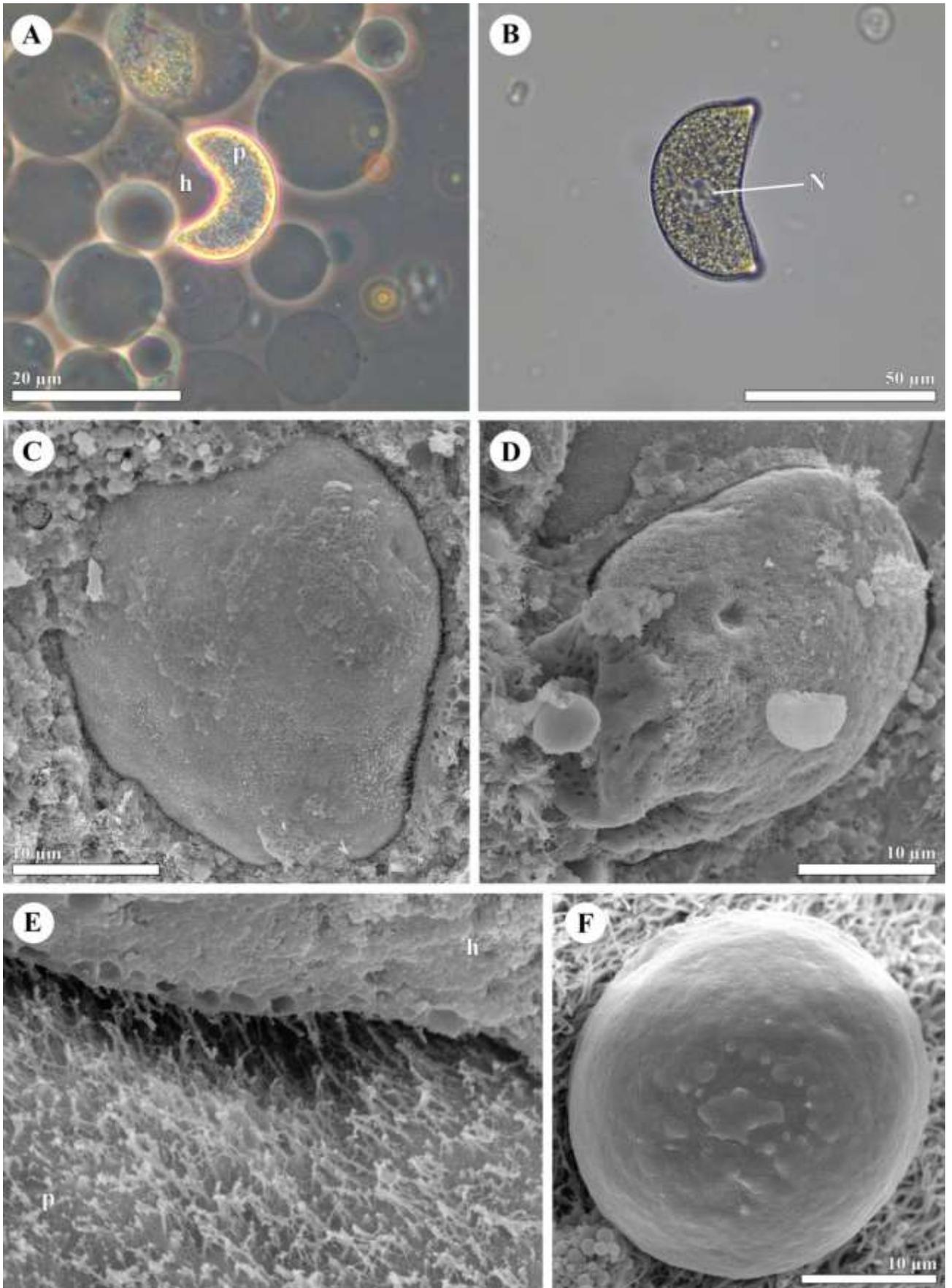
Помимо протококцидий среди споровиков есть еще одна интересная группа неясного систематического положения и состава – агамококцидии (Adl et al., 2019). Для этих споровиков не известны стадии мерогонии и гамогонии, но известны трофозоиты, ооцисты и спорозоиты. Так как нет наблюдений за гамогонией у этих паразитов, то им дано название «агамококцидии» (Levine, 1979). Изначально только род *Rhytidocystis* Henneguay, 1907, представители которого преимущественно паразитируют в тканях и целоме полихет, входил в состав этой группы. Позже, на основании формального признака «отсутствие гамогонии», к агамококцидиям отнесли *Gemmocystis cylindrus*, паразита гастродермальных клеток мезентериальных нитей твердых (Scleractinia, Hexacorallia) кораллов (Upton, Peters, 1986). Для монотипичного рода *Gemmocystis* до сих пор нет достоверных молекулярных свидетельств. Однако на основании сходной морфологии и локализации в тканях кораллов, было высказано предположение, что *G. cylindrus* может представлять собой одного из представителей Corallicolida. Коралликолиды – споровики, для которых известны лишь подвижные, зоитообразные клетки, паразитирующие в клетках мезентериальных нитей разнообразных твердых (Hexacorallia) и мягких (Octocorallia) кораллов (Keeling et al., 2021; Kwong et al., 2021). Коралликолиды (включая *G. cylindricus* Upton, Peters 1986) были вынесены из агамококцидий на основе молекулярно-биологических данных по геным и пластидным маркерам в самостоятельный таксон ранга отряда (Kwong et al., 2021). Для представителей рода *Rhytidocystis* получены разнообразные молекулярно-филогенетические данные (Janouškovec et al., 2019; Mathur et al., 2021; Miroljubova et al., 2020), которые свидетельствуют о их близком родстве с *Pseudoklossia* и *Margolisiella*. В совокупности эти организмы образуют сестринскую ветвь по отношению к настоящим кокцидиями (*Eimeria*, *Toxoplasma*), пироплазмидам и кровяным споровикам. Некоторые исследователи объединяют *Rhytidocystis*, *Pseudoklossia* и *Margolisiella* в таксон Eococcidia (надотряд в оригинале) (Miroljubova et al., 2020) или объединяя еще с *Aggregata* и *Merocystis* (семейство Aggregatidae, вынесены из Eimeriida) в таксон (класс в оригинале) Marosporida (Mathur et al., 2021). Таким образом, таксономическая обоснованность агамококцидий была поставлена под сомнение (Mathur et al., 2021). Исследования морских кокцидиоморф продолжаются, накапливаются новые данные о широком распространении и большом разнообразии агамококцидий (van Steenkiste et al., 2023). Филогенетические связи и таксономия агамококцидий могут быть снова переосмыслены. В данной диссертации я буду понимать под «агамококцидиями» лишь только представителей рода *Rhytidocystis*, как это изначально было предложено американским исследователем Н. Левиным (Levine, 1979).

Ритидоцистисы имеют ооцисты, сходные по морфологии с таковыми кокцидий: ооцисты содержат большое число спороцист, каждая из которых имеет два спорозоида. Большинство ритидоцистисов имеют относительно крупные трофозоиты. Эта черта сближает их со многими грегаринами. Однако для большинства грегаринов характерен полостной паразитизм, тогда как трофозоиты ритидоцистисов локализованы в тканях хозяина (Leander, Ramey, 2006; Levine, 1979), т.е. они демонстрируют внеклеточный тканевой паразитизм.

Исследование ритидоцистисов может прояснить их связи с грегаринами, протококцидиями, кокцидиями и *Cryptosporidium*, что, в свою очередь, позволит понять эволюцию паразитизма среди споровиков. В этой главе я привожу свои собственные данные об эндогенном развитии *Rhytidocystis dobrovolskiji* Miroljubova et al., 2020 и *R. pertsovi* Miroljubova et al., 2020 в тканях кишечника полихеты *Ophelia limacina* (Рисунки 30-31, Таблица 11). Этот материал вошел в публикацию совместно с данными моих коллег (Miroljubova et al., 2020). А также привожу неопубликованный материал по агамококцидиям *Rhytidocystis* spp. из тканей кишечника полихет *Scoloplos armiger* и *Travisia forbesii* (Рисунок 32).

### **8.1 Особенности строения и локализации в тканях хозяина агамококцидий рода *Rhytidocystis* на примере паразитов беломорских полихет**

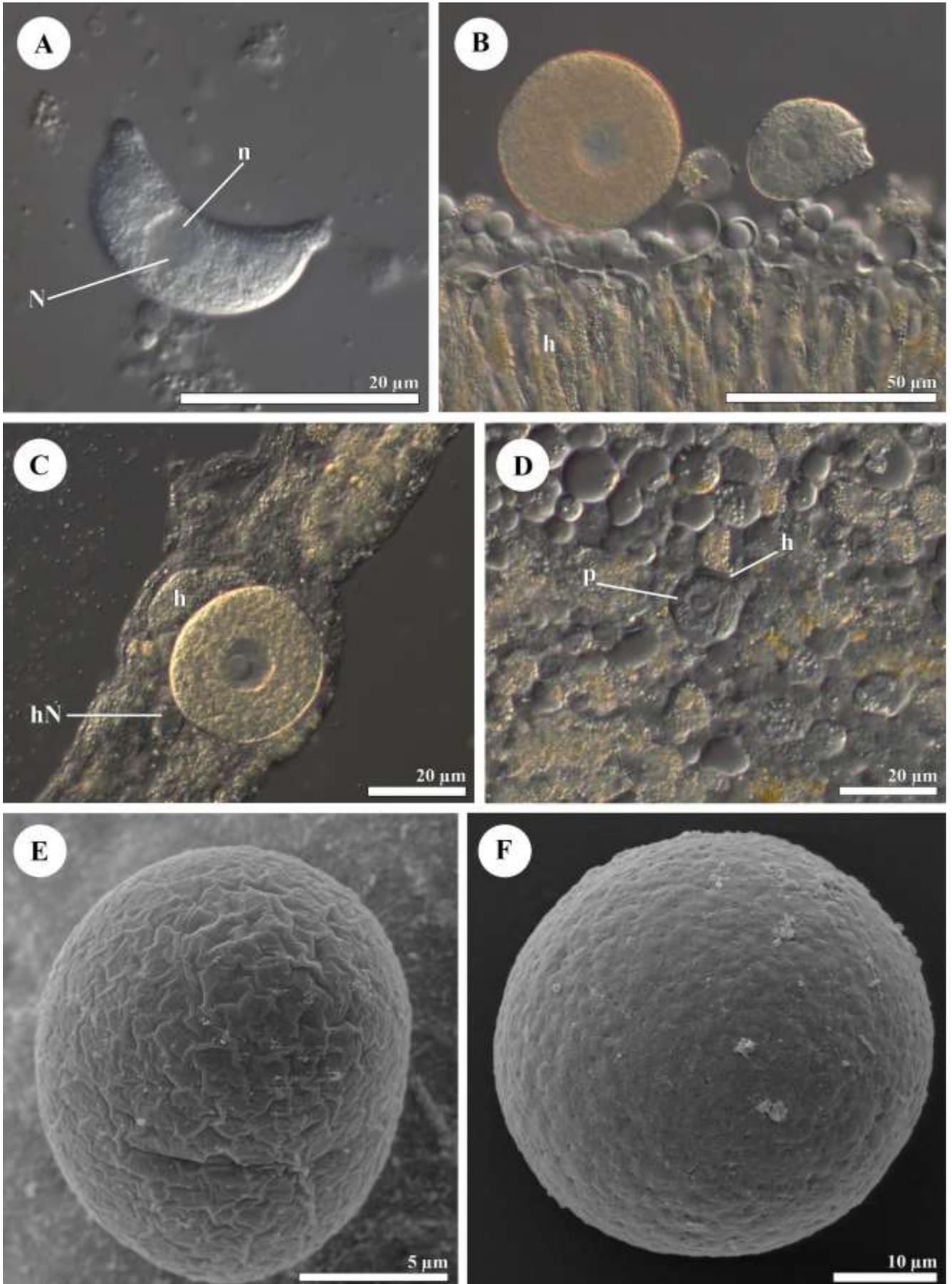
*Rhytidocystis dobrovolskiji* паразитирует в кишечном эпителии средней кишки полихет *Ophelia limacina*, собранных в окрестностях УНБ «Беломорская» СПбГУ (Таблицы 1, 11). Паразиты расположены внутри ткани кишечника хозяина и видны как белые точки изнутри и снаружи кишки при просматривании под биноклем. Давленные препараты кишки хозяина и временные препараты паразитов, изолированных из кишечного эпителия, показали стадии развития трофозоитов. Молодые трофозоиты имеют форму полумесяца. Некоторые молодые трофозоиты располагались внутри энтероцитов. В дальнейшем трофозоиты принимают неправильную округлую форму и увеличиваются в размерах. На этой стадии они, как правило, располагаются внеклеточно. Сканирующая электронная микроскопия сколов кишки хозяина показала, что поверхность внутритканевых трофозоитов неровная с углублениями и слегка опущенная за счет волокнистого гликокаликса. Нет никаких складок или гребней на поверхности. Если изолировать крупные трофозоиты из тканей хозяина в морскую воду, то за короткое время они округляются, и их поверхность сглаживается. Все формы трофозоитов



**Рисунок 30 - Морфология агамококцидии *Rhytidocystis dobrovolskiji*, кишечного паразита полихеты *Ophelia limacina*. Световая (А, В) и сканирующая электронная (С – F) микроскопия**

**А.** Молодой трофозоит внутри клетки хозяина. Давленный препарат, фазовый контраст. **В.** Молодой трофозоит, изолированный из тканей хозяина. Прижизненный препарат, светлое поле. **С-Е.** Зрелые трофозоиты в ткани хозяина. Обратите внимание на неправильную форму трофозоитов и на их поверхность, покрытую пороподобные углублениями (D) и фибриллярным гликокалисмом (E). **Ф.** Гамонт, округлившийся после изоляции из ткани хозяина и приобретший гладкую поверхность.

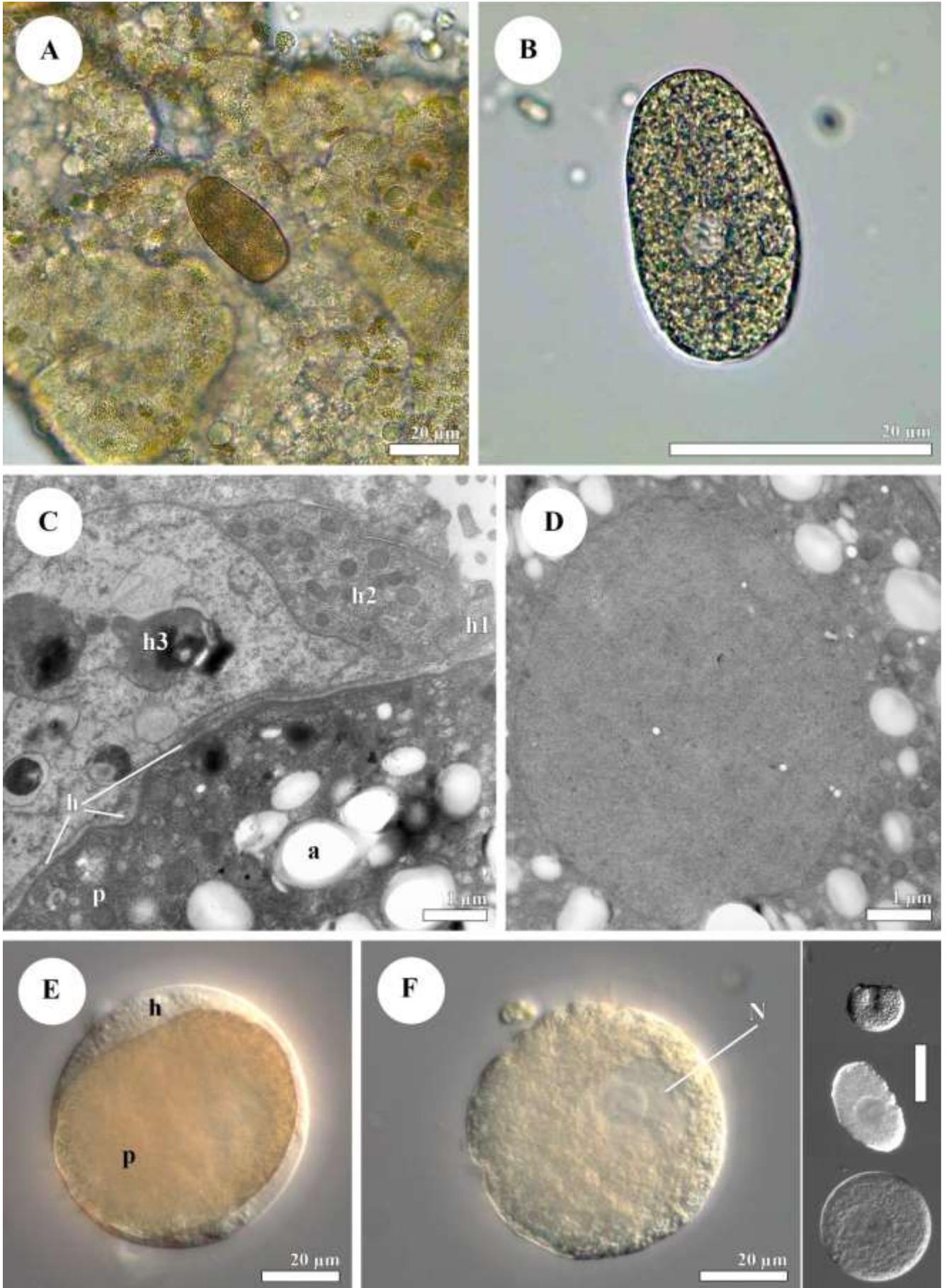
**Обозначения:** h, энтероцит хозяина; N, ядро; p, паразит.



**Рисунок 31 - Морфология агамококцидии *Rhytidocystis pertsovi*, кишечного паразита полихеты *Ophelia limacina*. Световая (А - D) и сканирующая электронная (Е - F) микроскопия**

**А.** Молодой трофозоит, изолированный из ткани хозяина. Прижизненный препарат, дифференциально-интерференционный контраст. **В.** Тканевые трофозоиты разной степени зрелости. Давленный препарат, дифференциально-интерференционный контраст. **С-Д.** Внутриклеточные трофозоиты разной степени зрелости. Давленные препараты, дифференциально-интерференционный контраст. **Е-Ф.** Тканевые трофозоиты, изолированные из ткани хозяина. Обратите внимание на неправильную, складчатую форму созревающего трофозоида (Е) и на почти правильно округлую форму зрелого трофозоида с гладкой поверхностью (F).

**Обозначения:** h, энтероцит хозяина; hN, ядро клетки хозяина; N, ядро паразита; n, ядрышко; p, паразит.



**Рисунок 32 - Морфология агамококцидий *Rhytidocystis* spp., кишечных паразитов полихет *Scoloplos armiger* (A-D) и *Travisia forbesii* (E-F). Световая (A – B, E – F) и трансмиссионная электронная (C – D) микроскопия**

**А.** Зрелый трофозоит в ткани хозяина. Прижизненный препарат, светлое поле. **В.** Зрелый трофозоит, изолированный из ткани хозяина. Прижизненный препарат, дифференциально-интерференционный контраст. **С.** Молодой трофозоит внутри энтероцита. Обратите внимание, что вокруг паразита нет паразифорной вакуоли. **Д.** Ядро молодого трофозоида на С. **Е-Ф.** Трофозоиты разной степени зрелости: Е – внутриклеточный молодой трофозоит, F – внеклеточный трофозоит. **Вставка на F.** Внеклеточные трофозоиты разной степени зрелости. Обратите внимание на изменение их формы и поверхности по мере созревания (сверху вниз). Шкала: 20  $\mu\text{m}$ .

**Обозначения:** а, амилопектиновая гранула; h, зараженный энтероцит хозяина; h1-h3, энтероциты хозяина, соседние к клетке, содержащей паразита; N, ядро паразита; p, паразит.

имели сферическое ядро с относительно крупным эксцентрически или центрически расположенным ядрышком (Рисунок 30). Лишь однажды моя коллега Т.С. Миролубова наблюдала выход молодых (неспорлированных) ооцист из эпителия кишечника хозяина. Они имели сферическую форму и были покрыты толстой прозрачной оболочкой. Не во всех ооцистах были хорошо видны ядра (Miroliubova et al., 2020).

*R. pertsovi* также является паразитом средней кишки полихет *O. limacina*, однако, собранных в другой локации – в окрестностях ББС МГУ (Таблицы 1, 11). Серповидные трофозоиты этого паразита расположены внутри энтероцитов хозяина. Иногда внутри клетки хозяина можно было увидеть сразу два молодых трофозоида (Miroliubova et al., 2020). По мере развития трофозоит принимает бобовидную, а затем и неправильно округлую форму с неровной поверхностью, несущей короткие, невысокие, часто и беспорядочно расположенные складки. Сферическое ядро обычно располагается в центральной части клетки и имеет эксцентрично расположенное ядрышко. Зрелые трофозоиты располагаются внеклеточно между энтероцитами кишки хозяина. За относительно короткое время после изоляции из тканей хозяина в морскую воду трофозоиты приобретают правильно округлую форму с почти гладкой поверхностью. Клеточная поверхность таких сферических трофозоитов имеет небольшие округлые углубления. На поверхности нет ни складок, ни гребней (Рисунок 31).

Мои коллеги (Miroliubova et al., 2020) с помощью просвечивающей электронной микроскопии показали, что некоторые внутриклеточные трофозоиты *R. pertsovi* располагались непосредственно в цитоплазме клетки хозяина, однако, были окружены множеством мелких вакуолей или несколькими крупными вакуолями. Другие внутриклеточные трофозоиты были

Таблица 11 - Диагностические признаки споровиков рода *Rhytidocystis*

Виды / характеристики	<i>R. opheliae</i> Hennequy, 1907, типовой вид	<i>R. henneguyi</i> de Beauchamp, 1913	<i>R. dobrovoljskiji</i> Miroljubova et al., 2020	<i>R. pertsovi</i> Miroljubova et al., 2020	<i>R. cyamus</i> Rueckert & Leander, 2009	<i>R. polygordiae</i> Leander & Ramey, 2006	<i>R. nekhoroškovae</i> Miroljubova et al., 2020	<i>R. sthenelais</i> (Porchet-Hennerè, 1972)
Хозяин (синонимы)	<i>Ophelia bicornis</i> Savigny, 1822	<i>Ophelia neglecta</i> Schneider, 1887	<i>Ophelia limacina</i> (Rathke, 1843)	<i>Ophelia limacina</i> (Rathke, 1843)	<i>Travisia pupa</i> Moore, 1906	<i>Polygordius</i> sp.	<i>Cistenides hyperborea</i> Malmgren, 1866 ( <i>Pectinaria hyperborea</i> (Malmgren, 1866))	<i>Sthenelais boa</i> (Johnston, 1833)
Типовое место обнаружения	Ле Круазик, Бискайский залив, Северо-Восточная Атлантика	Бухта Терене, Ла-манш, Северо-Восточная Атлантика	в окрестностях о. Средний, Керетский Архипелаг, Кандалакшский залив, Белое море	в окрестностях ББС МГУ, пролив Великая Салма, Кандалакшский залив, Белое море	Канал Императорского Орла, Канада, Северо-Восточная Пацифика	Бич Хейвен Ридж, Нью Джерси, Северо-Восточная Атлантика	в окрестностях о. Средний, Керетский Архипелаг, Кандалакшский залив, Белое море	Роскофф, Ла-Манш, Северо-Западная Атлантика
Локализация в хозяине	кишечник (внутриклеточно и внеклеточно), целом	кишка, соединительная ткань, целом	средняя кишка, внутри энтероцита (молодые) и вне клетки энтероцита (зрелые трофозоиты)	средняя кишка, внутри энтероцита (молодые) и вне клетки энтероцита (зрелые трофозоиты)	кишечник (внеклеточно)	кишечник (внутриклеточно и внеклеточно), целом (ооцисты)	средняя кишка, внутри энтероцита (молодые) и вне энтероцита у базальной ламины эпителия кишки	целом

Продолжение таблицы 11

Экстенсивность, интенсивность инвазии	100%, от десятка до пятидесяти клеток	—	48.6%, несколько – несколько десятков клеток	68.9%, несколько - сотни клеток	—	—	100%, сотни клеток	— (зависит от сезона)
Трофозоит: форма клетки	уплощенный, овальный, с небольшими впадинами по полюсам, каждая поверхность покрыта до 12 продольных рядов мелких поперечных складок	грушевидные, прикрепляются к ресничкам клеток кишечного эпителия или проникают в ткань хозяина (молодые), эллиптические с гладкой поверхностью (зрелые) в перитониуме и хлорогагенной ткани тифлозоля кишки	серповидный (молодые), неправильно-округлый (зрелые), округлый (после изоляции из тканей), без складок на поверхности	серповидный (молодые), неправильно-округлый (зрелые), округлый (после изоляции из тканей), без складок на поверхности	бобовидной формы с вогнутой вентральной и выпуклой дорсальной сторонами; 10-12 волнообразных продольных рядов из коротких поперечных складок и микропор, продольные бороздки между рядами	маленький, продолговатый, с субтерминальными углублениями на концах, с 6-8 продольными сериями мелких поперечных складок и короткими линейными рядами из 6 или более микропор	веретеновидный (молодые), неправильно-округлый со слегка неровными границами (зрелые)	—
Трофозоит: длина x ширина (ср. ± SE), μm	130-500 x 120-400	—	21,6–41,0 в длину (32,9 ± 2,37; молодые), 36,3–67,0 максимальный диаметр (ав. 51,0 ± 1,13, зрелые)	4,3–25,3 в длину (ав. 19,86 ± 1,36; молодые), 21,3–59,2 максимальный диаметр (ав. 49,15 ± 1,66, зрелые)	40–64 x 27–30	35–55 x 20-25	13,0–68,0 максимальный диаметр (47,4 ± 2,54)	—

Продолжение таблицы 11

Ядро: форма и размеры (мин – макс (ср. $\pm$ SE), $\mu\text{m}$ ), количество ядрышек	сферическое, x 50	—	сферическое, 3,6–10,0 (6,8 $\pm$ 0,61) у молодых, 12,1–25,0 (18,2 $\pm$ 0,83) у зрелых	сферическое, 4,0–6,6 (5,1 $\pm$ 0,51) у молодых, 8,0–20,0 (15,79 $\pm$ 0,79)	сферическое – эллипсоидное, x 12–15, 1 ядрышко	округлое	сферическое, 6,6–19,2 (14,64 $\pm$ 0,41)	—
Положение ядра	в середине клетки	—	в середине клетки	в середине клетки	в середине клетки	в середине клетки	в середине клетки	—
Ядрышко(и): форма, размеры и положение в ядре	несколько, разных диаметров	1 ядрышко	1 крупное, округлое, центрально или эксцентрично расположенное	1 крупное, округлое, центрально или эксцентрично расположенное	x 5–7	—	1 среднего размера, округлое, эксцентрично расположенное	—
Наличие пластид	—	—	—	—	—	да	—	да
Подвижность трофозоитов	неподвижные	—	подвижные (трофозоиты)	подвижные (трофозоиты)	—	—	неподвижные	—

## Продолжение таблицы 11

Ооцисты: форма, длина x ширина ( $\mu\text{m}$ ), количество спороцист, количество спорозоитов	овальные ооцисты 500-700 x 160-280, 2 спорозоиота (~10 $\mu\text{m}$ в длину), лежат вдоль длины спороцисты «голова к хвосту»; 55-75 x 40 ооцисты со спороцистами (другой вид?)	эллипсоидные ооцисты, до 310 x 220, спороциста 12 x 7, 2 спорозоиота лежат вдоль длины спороцисты «голова к хвосту»	округлые, x 40 – 50, с толстой оболочкой, 3 – 5 в толщину (незрелые ооцисты)	—	—	—	—	сферические ооцисты, овальные спороцисты x7, 2 спорозоиота лежат вдоль длины спороцисты «голова к голове»
Характеристики спорозоиота	—	—	—	—	—	ветереновидные спорозоиоты, 12 x 2 $\mu\text{m}$ , образуют кластеры в паразитофорных вакуолях внутри энтероцитов хозяина; ядро с 1 ядрышком расположено в заднем конце клетки	—	около 30 субпелликулярных микротрубочек начинаются с переднего конца, ядро расположено в заднем конце клетки, крупное кристаллоидное тело расположено перед ядром
Последовательности ДНК	—	—	SSU rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2, и LSU rDNA	SSU rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2, и LSU rDNA	SSU rDNA	SSU rDNA	SSU rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2, и LSU rDNA	—

Продолжение таблицы 11

Характерные особенности	на каждой поверхности около 12 (до 28 суммарно) продольных рядов поперечных складок; свободно плавают в целоме или заключены в бурые тела хозяина	интенсивное заражение приводит к разрастанию соединит.ткани в пораженные участки эпителия и других тканей	поверхность зрелых трофозоитов неровная, опушенная волокнистым гликокаликсом, с небольшими округлыми углублениями	поверхность зрелых трофозоитов неровная, с небольшими округлыми углублениями	на поверхности 10-12 волнообразных продольных рядов из коротких поперечных складок и микропор, продольные бороздки между рядами	на поверхности 6-8 продольных рядов коротких поперечных складок и ряды из 6 и более микропор; трофозоиты под щеточной каймой кишечного эпителия; ооцисты в целоме	поверхность зрелых трофозоитов с продольными и поперечными бороздами и небольшими углублениями; микропоры расположены изогнутыми рядами по поверхности клетки	—
Источники	de Beauchamp 1913; Hennegu, 1907; Levine, 1979; Rueckert, Leander, 2009b	de Beauchamp, 1912, 1913 ; Levine, 1979	Miroliubova et al., 2020; оригинальные данные автора диссертации	Miroliubova et al., 2020; оригинальные данные автора диссертации	Rueckert, Leander, 2009b	Leander, Ramey, 2006; Miroliubova et al., 2020; Rueckert, Leander, 2009b	Miroliubova et al., 2020	Leander, Ramey, 2006; Levine, 1979; Porchet-Hennerè, 1972

Обозначения: ‘—’, нет данных; ‘?’, противоречивое или расплывчатое описание. Цветом (лиловый) выделены те виды, которые были описаны при участии автора диссертации.

обнаружены внутри уже сформированной паразитофорной вакуоли.

Мои неопубликованные данные по *Rhytidocystis* sp. из кишки полихеты *Scoloplos armiger* хорошо согласуются с данными моих коллег. Начальное развитие этого паразита проходит непосредственно в цитоплазме энтероцита хозяина без формирования паразитофорной вакуоли (Рисунок 32, А-Д). Складывается впечатление, что паразитофорная вакуоль формируется по мере созревания внутриклеточных трофозоитов агамококцидий.

Наблюдения на временных препаратах за свежеизолированными *R. dobrovolskiji* и *R. pertsovi* из тканей хозяина показали, что трофозоиты с неровной поверхностью способны к незначительному скольжению вокруг своей оси, перпендикулярной фронтальной плоскости препарата, поочередно совершая поворот всей клеткой на небольшой угол (~30-35 °С) то по часовой стрелке, то против часовой стрелки. Крупные трофозоиты, у которых поверхность выровнялась после извлечения из тканей хозяина, и молодые серповидные паразиты подобной подвижности не демонстрируют. Добавлю, что развивающиеся трофозоиты *Rhytidocystis* sp. из *Scoloplos armiger* также демонстрировали скольжение вокруг своей оси в плоскости препарата. Столь неявное скольжение трофозоитов *Rhytidocystis* могло быть незамеченным другими исследователями агамококцидий, и, возможно, подвижность развивающихся трофозоитов – характерная особенность агамококцидий.

## 8.2 Филогенетическое положение агамококцидий *Rhytidocystis dobrovolskiji* и *R. pertsovi*

Мои коллеги (Miroliubova et al., 2020) получили почти полные последовательности ДНК рибосомного оперона (SSU рДНК, ITS1, 5.8S рДНК, ITS2 и LSU рДНК) для *R. dobrovolskiji* (5387 п.н.) и *R. pertsovi* (5281 п.н.). Несмотря на то, что эти паразиты морфологически слабо отличаются друг от друга и встречаются в одном и том же хозяине, они хорошо обособлены друг от друга генетически (76% перекрытия и 88,09% идентичности последовательностей по BLAST, NCBI). Филогенетические построения показали, что *R. dobrovolskiji* и *R. pertsovi* вошли в умеренно поддерживаемую кладу, состоящую из других представителей рода *Rhytidocystis* (*R. suamus* и *R. polygordiae*) и нескольких морфологически неидентифицированных эукариот. Согласно опубликованным материалам (Miroliubova et al., 2020), образованная клада «ритидоцистисов» вошла в состав устойчивой суперклады более высокого порядка вместе с неопознанным паразитом двустворки *Tridacna croecia*, кокцидиями *Margolisiella islandica* и *Pseudoklossia pectinis*, а также с экологической последовательностью из сульфидного карстового источника. Устойчивая клада *Rhytidocystis-Pseudoklossia-Margolisiella* оказалась

самой ранней ветвью кокцидиоморф. Мои коллеги предложили название "Eococcidia" для этой клады (Miroljubova et al., 2020).

### **8.3 Эндогенное развитие агамококцидий сопровождается переходом от внутриклеточного к внеклеточному паразитизму и формированием дисперсионной стадии (ооцисты) для выхода во внешнюю среду**

Согласно моим наблюдениям, агамококцидии, паразитирующие в полихете *Ophelia limacina*, растут, меняют форму клетки и, вероятно, даже состояние своих покровов по мере своего развития в хозяине. Кроме того, изначально они развиваются внутри энтероцита, а затем, по мере увеличения своих размеров, истощают и разрушают клетку хозяина и становятся внеклеточными тканевыми паразитами. Согласно данным по другим ритидоцистисам (Таблица 11), внутриклеточная локализация этих паразитов на начальных этапах эндогенного развития, наиболее вероятно, является для них общей чертой. Развитие паразитофорной вакуоли вокруг внутриклеточного трофозоида может иметь место в результате обострения паразито-хозяинных отношений по мере созревания паразита. Следует добавить, что наблюдаемая на препаратах подвижность созревающих трофозоидов *R. dobrovolskiji* и *R. pertsovi*, вероятно, помогает их выходу из клетки хозяина и чуть позже из кишечного эпителия для завершения эндогенного этапа жизненного цикла.

Мои коллеги (Miroljubova et al., 2020; Janouškovec et al., 2019) провели транскриптомный анализ для *R. pertsovi* и *Rhytidocystis* sp., кишечного паразита полихеты *Travisia forbesii*. Анализ показал, что эти агамококцидии синтезируют белки, участвующие в мейозе и формировании оболочки ооцисты у типичных кокцидий. Это позволило исследователям предположить, что трофозоиды ритидоцистид могут являться макрогамонтами, которые при развитии накапливают запас питательных веществ, образуют стенкообразующие тельца и, в конечном итоге, становятся ооцистами (Miroljubova et al., 2020).

Для выхода будущих ооцист во внешнюю среду паразитам нужно выйти из тканей хозяина в просвет кишки или в целомическую полость тела хозяина. Оба пути дисперсии агамококцидий во внешнюю среду равновероятны (Таблица 11). Согласно результатам моего исследования бурых тел, извлеченных из целомической полости полихет *T. forbesii*, часто зараженных агамококцидиями (89%, 57 из 64; Таблица 1, Рисунок 32, E-F), только ооцисты целомических эугрегарин рода *Urospora* были включены в эти тела (см. главу 6). Поэтому с

высокой степенью уверенности я могу утверждать, что дисперсия *Rhytidocystis* sp. идет по «кишечному» пути, т.е. через полость кишки хозяина *T. forbesii*.

Остается открытым вопрос о том, действительно ли есть половой процесс у агамококцидий рода *Rhytidocystis* и что он из себя представляет. Будущие исследования с использованием геномных и цитологических методов должны прояснить этот вопрос. От себя могу добавить, что половой процесс может проходить как по типу амфимиксиса, так и по типу партеногенеза. Процесс образования гамет и оплодотворения у агамококцидий никто не наблюдал. Можно предположить следующий сценарий амфимиксического полового процесса: пара спорозоитов, проникших в одну и ту же клетку хозяина, сливаются с образованием зиготы, которая растет и накапливает питательные вещества прежде формирования оболочки (ооцисты) и редукционного деления ядра. Напомню, что я и мои коллеги неоднократно наблюдали двух спорозоитов агамококцидий в одной клетке хозяина (Miroljubova et al., 2020). Похожий вариант полового размножения, основанный на неотеническом объединении двух спорозоитов в пределах одной клетки хозяина, был предложен для *Gemmocystis cylindrus* (Upton, Peters, 1986), паразита мезентериальных нитей склерактиновых кораллов, который ныне относят к отряду Corallicolida (Keeling et al., 2021; Kwong et al., 2021). Партеногенез достоверно не зарегистрирован у споровиков, но предполагался некоторыми авторами в жизненном цикле неподвижных целомических эугрегариин семейства Urosporidae (Дякин, Паскерова, 2004; Grassé, 1953).

#### 8.4 Подвижность агамококцидий

Механизм наблюдаемой мной подвижности трофозоитов агамококцидий не ясен. По данным разных авторов (Leander, Ramey, 2006; Miroljubova et al., 2020; Rueckert, Leander, 2009b), трофозоиты утрачивают полярность клетки, органеллы апикального комплекса и субпелликулярный слой продольно расположенных микротрубочек – черты, присущие спорозоитам. Покровы сохраняют свою трехмембранную организацию. Пелликула может образовывать невысокие, короткие в длину и довольно широкие складки. В цитоплазме этих выростов располагаются везикулы, митохондрии, гранулы амилопектина, липидные капли. Микропоры могут располагаться как на поверхности самих складок, так и между ними. Иногда микропоры лежат на дне неглубоких борозд, тянущихся между рядами складок. У *R. dobrovol'skiji* и *R. pertsovi* поверхность трофозоитов несет множество порообразных углублений (Рисунки 30-31), которые могут быть микропорами. Такая организация трофозоитов

агамококцидий не отвечает требованиям для создания движущей силы на основе глideosомы, как это характерно для зоитов споровиков. Складки ритидоцистисов организованы иначе, чем гребни эугрегарин: нет обособления цитоплазмы складок от общей цитоплазмы клетки и, вероятно, нет филаментов в вершинах складок. Можно предположить, что выброс слизи и, возможно, изменение формы клетки (малозаметное, в области складок или в отдельных участках поверхности) могут обеспечить небольшое скольжение клетки. Очевидно, что скольжение агамококцидий возникает независимо от направленного скольжения трофозоитов эугрегарин, хотя может иметь сходный механизм в основе. Подвижность агамококцидий требует тщательного исследования с привлечением детального анализа строения покровов трофозоитов на разных этапах созревания.

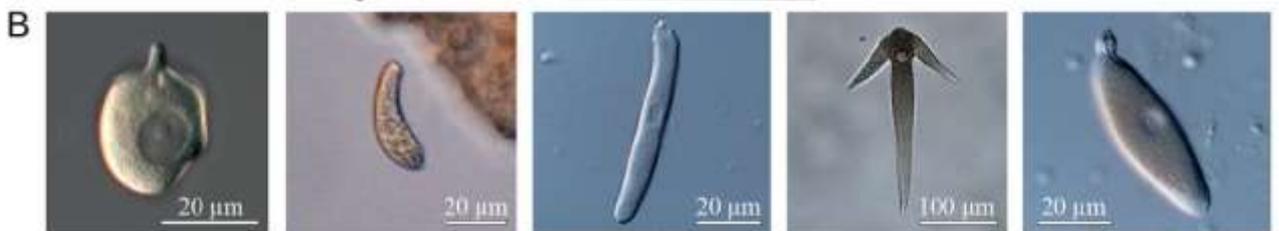
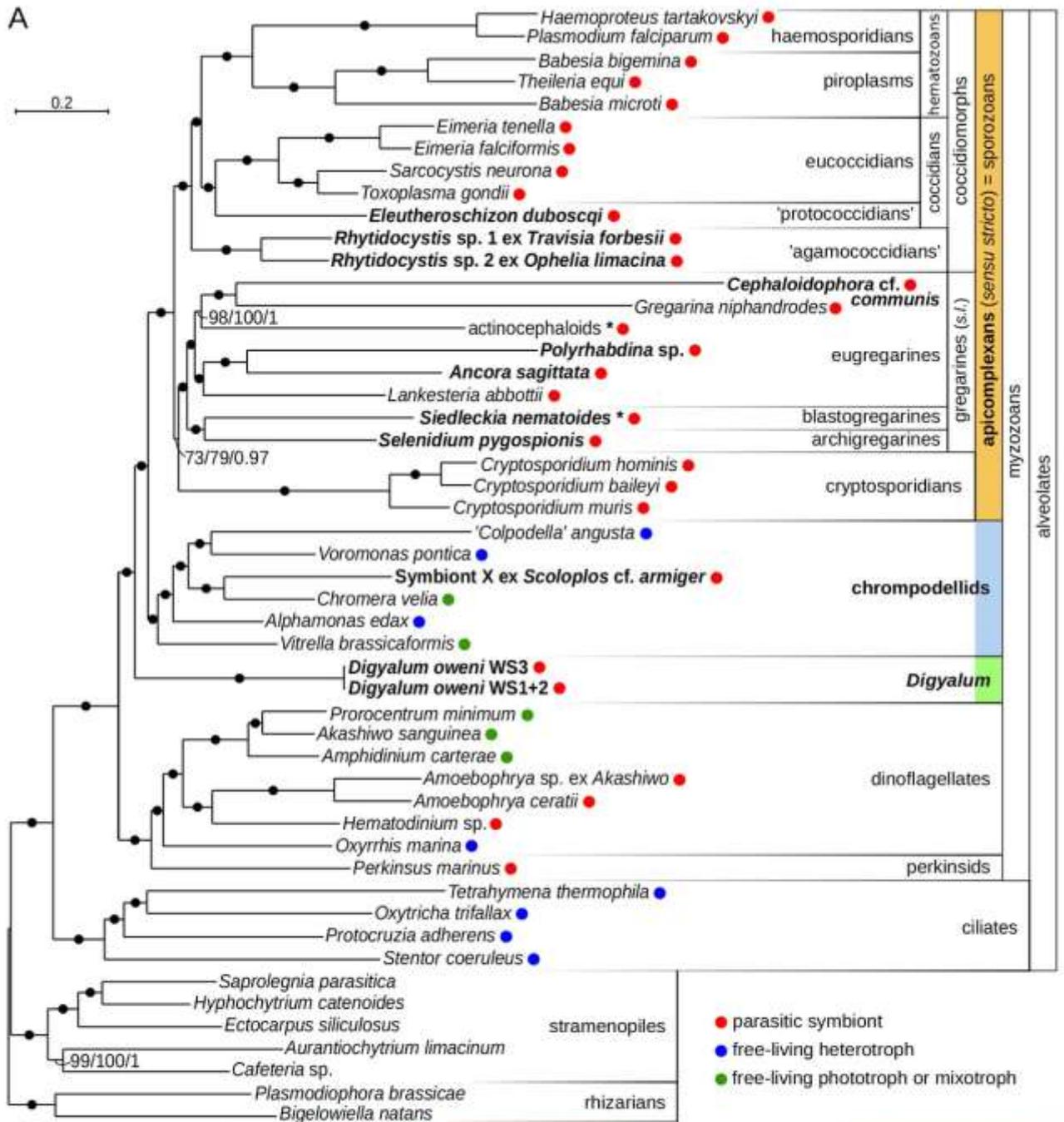
## Глава 9 Распространенность пластид и их роль в паразитировании споровиков

Вариант локализации (экстрацеллюлярная, интрацеллюлярная или эпицеллюлярная) споровиков определяется, в первую очередь, метаболической способностью паразита к существованию в тех или иных условиях (Danne et al., 2013; Dogga et al., 2015). Вероятно, наличие пластиды (апикопласта) и ее метаболизм имеют значение в определении локализации паразита. При отсутствии пластиды споровики оказываются наиболее зависимыми от метаболитов хозяина.

Чтобы понять распространенность пластид и их роль у споровиков базальных линий я приняла участие в сборе буквально единичных клеток объектов диссертационного исследования (*Siedleckia cf. nematoides*, *Polyrhabdina pygospionis*, *Rhytidocystis pertsovi*, *Rhytidocystis* sp. из *Travisia forbesii*) для транскриптомного анализа (single-cell transcriptomics) (Таблица 1; Janouškovec et al., 2019).

Полученные и привлеченные по другим протистам данные позволили построить крупные (на сегодняшний день самые крупные) филогенетические матрицы по последовательностям белков (296 маркеров). По сравнению с рДНК, белки демонстрируют более равномерную скорость замещения в их кодирующей последовательности, что делает их перспективными для филогенетических построений (Janouškovec et al., 2019). На основе полученной матрицы был проведен мультигенный филогенетический анализ, охватывающий практически все основные линии апикомплекса и близкородственных протистов (Рисунок 33). Полученные построения указывают на многократное (по крайней мере, три раза) возникновение паразитизма среди апикомплексоподобных протистов: собственно споровики (Sporozoa), организм X – морфологически неидентифицированная паразитическая хромподеллида из кишечника полихеты *Scoloplos armiger*, и кишечный внеклеточный паразит литторин *Digyalum owenii* Kouga et al., 1990 (ранее относившийся к архигрегариам, сейчас представляет сестринскую ветвь к Sporozoa + Chrompodellida (Janouškovec et al., 2019)). Для представителей всех этих линий характерна определенная, конвергентно возникшая морфология: довольно крупная, подвижная клетка-трофонт, прикрепляющаяся к тканям хозяина за счет специализированных органелл переднего конца. В линии Sporozoa полученные нами филогенетические построения поддерживают монофилию грегариноморф вместе с бластогрегариными (грегарины в широком смысле) и, в частности, эугрегарины. Подтверждено близкое родство бластогрегаринов с архигрегариными, которые совместно образуют ветвь, сестринскую к эугрегариным. Агамококцидии рода *Rhytidocystis* занимают базальное положение по отношению к другим

кокцидиоморфам (подкласс Coccidiomorpha), в то время как протококцидия *Eleutheroschizon duboscqi* демонстрирует сестринское родство к настоящим кокцидиям (отряд Eimeriida).



### Рисунок 33 - Крупномасштабная филогения Apicomplexa и родственных таксонов (по Janouškovec et al., 2019 с изменениями)

А. Филогенетическое дерево по методу максимального правдоподобия (IQ-TREE) на основе конкатенированных последовательностей 296 белков (99908 позиций) апикомплекса и его родственных протистов. Виды, секвенированные для анализа (Janouškovec et al., 2019), выделены жирным шрифтом. Значения в узлах соответствуют поддержкам UFBoot2 (1000 повторов, модель LG+G4+F+C60+PMSF), непараметрический бутстреп (100 повторов, модель LG+G4+F+C60+PMSF) и байесовский апостериорный анализ вероятности (PhyloBayes, консенсус 10 независимых запусков, модель CAT+GTR+G4). Черные точки указывают на полную поддержку: 100/100/1. Актиноцефалоиды и *Siedleckia nematoides* представляют собой сборные таксоны (\*), состоящие, соответственно, из трех или двух отдаленных вариантов последовательностей. Одиночные кавычки указывают на потенциально проблематичные таксономические группировки. Согласно более поздним публикациям (Miroljubova et al., 2020; Paskerova et al., 2021) *Rhytidocystis* sp.2 ex *Ophelia limacina* представляет собой *R. pertsovi* Miroljubova et al., 2020, *Polyrhabdina* sp. является *P. pygospionis* Caullery and Mesnil, 1914. В. Микрофотографии некоторых паразитов, слева направо: *Digyalum oweni* (фотография сделана автором диссертации), *Symbiont X* ex *Scoloplos* cf. *armiger*, *Selenidium pygospionis* (фотография сделана автором диссертации), *Ancora sagittata*, *Polyrhabdina pygospionis* (фотография сделана автором диссертации); паразиты расположены передним концом вверх.

Криптоспоридиумы с удовлетворительной поддержкой занимают базальное положение в линии Gregarinomorpha + Blastogregarinea (Рисунок 33).

Многие линии, выявленные в построениях, демонстрируют наличие метаболизма и дивергентного, АТ-богатого генома пластид (Рисунок 34; Janouškovec et al., 2019). Так, архигregarина *Selenidium pygospionis*, бластогregarина *Siedleckia* cf. *nematoides*, агамококцидии рода *Rhytidocystis*, протококцидия *Eleutheroschizon duboscqi* и апикомплексоподобный паразит *Digyalum owenii* содержат пластиды, для которых характерны метаболические пути, в основном аналогичные таковым у *Toxoplasma* и *Plasmodium*. Пластиды таких споровиков утратили фотосинтез, однако, имеют почти полный биосинтез предшественников изопреноидов, гема и жирных кислот, а также биосинтез окислительно-восстановительной системы ферредоксина и железо-серных кластеров. В противоположность указанным выше споровикам, несептированная эугregarина *Polyrhabdina pygospionis* (Ancoroidea) полностью утратила пластиды. Последний факт хорошо согласуется с другими полученными данными о том, что разнообразные эугregarины, а именно несептированная *Ancora sagittata* (Ancoroidea), септированные *Cephaloidophora* cf. *communis* (Cephaloidophoridae), *Gregarina niphandrodes*



### Рисунок 34 - Пластиды споровиков (по Janouškovec et al., 2019 с изменениями)

**А.** Наличие белков различных модулей метаболических путей (вверху таблицы), закодированные в репрезентативных геномах (G) и/или выявленные в транскриптомах споровиков (слева таблицы). Каждый белок (ячейка) имеет цветовую маркировку в соответствии с его происхождением. Пустые ячейки с черными контурами (гранями) указывают на отсутствие соответствующих генов в геномах, а пустые ячейки без контура указывают на отсутствие белков в транскриптомах. Внутриклеточная локализация белков показана кружком внутри ячейки; этот материал представляет обобщение известных экспериментальных данных или данных, полученных при прогнозировании с помощью интернет-ресурса SignalP v4.1 (дополнительно см. Janouškovec et al., 2019); нет кружочков в ячейках при отсутствии информации по белкам с неполными N-концами. Обратите внимание, что только некоторые ферменты гемового пути (HEM) локализованы в пластиде (\*1) и что сигнальные пептиды в FAS:ER и ELO не были предсказаны (\*2). **В.** Схема взаимодействий белков в модулях биосинтеза ключевых метаболитов (изопреноидные предшественники IPP и DMAP, жирные кислоты и гем), которые лежат в основе зависимости споровиков от пластиды. Цветные области содержат модули, специфичные для одного пути: жирные кислоты (розовый), предшественники изопреноидов (бледно-зеленый) и гем (желтый). Взаимодействия реконструированы по литературным данным, субстраты показаны рядом со стрелками (ALA, d-аминолевулиновая кислота; AcCoA, ацетил-коэнзим А, C8:ACP, октаноил:ациловый белок-носитель; DHAP, дигидроксиацетонфосфат; GA3p, глицеральдегид-3-фосфат; [FE-S], железо-серный кластер; Lip:E2, липоилирование на PDHE2; PEP, фосфоенолпируват; e-, восстановительная способность электронов; 3PGA, 3-фосфоглицерат; PYR, пируват; ?, неопределенность). **Обозначения:** DMAP, диметилаллилпирофосфат; DXS, 1-дезоксид-ксилозулозо-5-фосфатсинтаза; GAPDH, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; IPP, изопентенилпирофосфат; PGK, фосфоглицерат киназа; PK, пируваткиназа; TPT, триозофосфатный транслокатор.

**Споровики (слева от таблицы, сверху вниз):** *Plasmodium falciparum*, *Babesia* spp. (*B. bigemina*, *B. microti*), *Toxoplasma gondii*, *Eleutheroschizon duboscqi*, *Rhytidocystis* sp.1 (из полихеты *Travisia forbesii*), *Rhytidocystis* sp. 2 (= *R. pertsovi* Miroliubova et al., 2020 из полихеты *Ophelia limacina*); *Cephaloidophora* cf. *communis*, *Gregarina niphandrodes*, Actinocephaloidea (симбионты из *Helicoverpa armigera*, *H. assulta* и *Teleopsis dalmanni*), *Polyrhabdina* sp. (= *Polyrhabdina pygospionis* Caullery, Mesnil 1914); *Ancora sagittata*, *Lankesteria abbottii*, *Siedleckia nematoides*, *Selenidium pygospionis*, *Cryptosporidium hominis*, *Colpodella angusta*, *Voromonas pontica*, симбионт X из *Scoloplos armiger*, *Chromera velia*, *Alphamonas edex*, *Vitrella brassicaformis*, *Digyalum owenii* (два транскриптома). Филогенетическое положение выбранных

объектов показано на рисунке 33. Названия основных линий альвеолят соответствуют Janoušková et al., 2019. Цветом выделены клады альвеолят, к которым относятся объекты исследования (рыжий – апикомплексы, голубой – хромподеллиды, зеленый – *Digyalum*).

**Метаболические пути (вверху таблицы, слева направо):**

**ISP** (isoprenoid synthesis), биосинтез предшественников изопреноидов, немевалонатный путь: ispC, 1-дезоксид-D-ксилоулозо-5-фосфатредуктоизомераза; ispD, 2-C-метил-D-эритритол-4-фосфатцитидилтрансфераза; ispE, 4-дифосфоцитидил-2-C-метил-D-эритриткиназа; ispF, 2-C-метил-D-эритрит-2,4-циклодифосфатсинтаза; ispG, 4-гидрокси-3-метилбут-2-ен-1-илдифосфатсинтаза; ispH, 4-гидрокси-3-метилбут-2-енилдифосфатредуктаза.

**FDX** (ferredoxin system), редокс-система ферредоксина: Fd, [2Fe-2S] ферредоксин; FNR, ферредоксин—НАДФ(+) редуктаза.

**SUF** (sulfur mobilisation system), сборка железосерного (Fe-S) кластера: nifU, sufA, sufB, sufC, sufD, sufE, sufS – белки синтеза железосерного кластера.

**PDH** (pyruvate dehydrogenase complex), комплекс пируватдегидрогеназы: PDHE1 $\alpha$ , PDHE1 $\beta$ , PDHE2, PDHE3 – ферменты комплекса пируватдегидрогеназы E1 alpha и E1 beta (пируватдегидрогеназа), E2 (дигидролипоилтрансацилаза), E3 (дигидролипоилдегидрогеназа).

**FASII** (fatty acid synthesis II), биосинтез и элонгация жирных кислот, путь через ферментативный комплекс синтаза жирных кислот II: ACC, ацетил-КоА-карбоксилаза; ACP, ацилпереносящий белок; ACPS, синтаза ацилпереносящих белков; FabD, малонил-КоА-ацилпереносящий белок-трансацилаза; FabH,  $\beta$ -кетоацил-ацилпереносящий белок-синтаза III, FabB/F,  $\beta$ -кетоацил-ацилпереносящий белок-синтаза I/II; FabG,  $\beta$ -кетоацил-ацилпереносящий белок-редуктаза; FabZ, D-3-гидроксиоктаноил-ацилпереносящий белок-дегидратаза; FabI (ENR), эноил-ацилпереносящий белок-редуктаза.

**LIP** (lipoic acid synthesis), синтез липоевой кислоты в пластиде: LipB, октаноил-ацетилпереносящий белок-трансфераза; LipA, синтаза липоевой кислоты.

**HEM** (heme synthesis), биосинтез тетрапиррола: GTR (HemA), глутамил-тРНК-редуктаза; GSA (HemL), глутамат-1-полуальдегид 2,1-аминомутаза; ALAS, 5-аминолевулилат-синтаза; HemB (ALAD, PBGS), 5-аминолевулилат-дегидратаза, порфобилиноген-синтаза; HemC (HMBS, PBGD), порфобилиноген-дезаминаза, гидроксиметилбилан-синтаза; HemD (UROS), уропорфириноген III синтаза; HemE (UROD), уропорфириноген декарбоксилаза; HemF (CPO), копропорфириноген III оксидаза; HemY (PPO), протопорфириноген-оксидаза; HemH (FeCH, FC), феррохелатаза.

**Белки, кодируемые пластидами:** rns (16S), 16S rRNA; rnl (23S), clpC, казеинолитическая протеаза C; tufA, фактор элонгации белковой цепи EF-Tu; gro, rps, rpl, trn – рибосомные белки.

**Контроль:** Cpn60, шаперонин 60 кДа; sDer1-1, DER1-подобный белок 1 симбионтного происхождения; PREX, фермент восстановления репликации пластидной ДНК; IscS (Nfs1), цистеиндесульфураза; FAS-I: ER, синтаза жирных кислот типа I: еноилредуктаза; ELO, элонгазы, локализованные в эндоплазматическом ретикулуле.

(Gregarinidae) и актиноцефалиды (Actinocephalidae), не имеют пластид. Интересно, что несептированная эугрегарина *Lankesteria abbotti* (Lecudinoidea) и организм X (Chrompodellida) утратили пластидный геном, но независимо сохранили разные метаболические пути пластиды: биосинтез жирных кислот и изопреноидный путь соответственно. Следует добавить, что в работах по филогении протистов на основе последовательностей 16S рДНК неизменно демонстрируются разнообразные линии пластид у апикомплексоподобных организмов (ARLs) (Janouškovec et al., 2019; Mathur et al., 2018). Все эти данные указывают на широкую встречаемость пластид среди апикомплекса и им родственных протистов, при этом их геномы и метаболические пути высоко вариабельны.

Пластиды у *Digyalum*, хромподеллид и споровиков имеют общие особенности в геноме. Например, для них характерен необычный комплекс репликации и репарации пластидной ДНК (PREX), универсальные пути синтеза изопреноидов, необходимые для синтеза каротиноидов, убихинона и пренилов, и гема как кофактора белков (Janouškovec et al., 2019). Такие инновации в геноме пластид названных организмов явно свидетельствуют в пользу вертикального наследования этих органелл от общего предка.

Обсуждаемые здесь данные нашли подтверждение в другом, независимом от нашей работы, исследовании (Mathur et al., 2021), в котором были продемонстрированы новые сведения по филогении и пластидному метаболизму представителей иных групп апикомплекса и им подобных протист: несептированные эугрегарины двух групп Actinocephaloidea (*Monocystis agilis*) и Lecudinoidea (*Lecudina tuzetae*, *Pterospora schizosoma*), септированная эугрегарина группы Cephaloidophoridae (*Heliospora capraellae*), представитель Squirmida (*Platyproteum* sp., является сестринской ветвью к *D. owenii* (Janouškovec et al., 2019)) и *Piridium sociabile*, внутриклеточный паразит ноги моллюска *Buccinum undatum* и представляющий сестринскую линию к свободноживущей, фотосинтезирующей хромподеллиде *Vitrella brassicaformis*. Сопоставляя данные, можно утверждать, что в линии хромподеллид паразитизм возник как минимум дважды. Метаболизм пластид *P. sociabile* идентичен таковому большинства апикомплекса. У *Platyproteum* утрачен синтез жирных кислот (FASII путь), что больше соответствует метаболизму пластид пироплазмид. Исследованные несептированные эугрегарины надсемейства Lecudinoidea (*Lankesteria abbotti*, *Lecudina tuzetae*, *Pterospora schizosoma*) сохранили лишь один пластидный путь – биосинтез жирных кислот.

Суммируя сказанное, можно с уверенностью говорить, что споровикам базальных линий (архигрегарины, бластогрегарины, протококцидии, агамококцидии), а также хромподеллидам и апиколексоподобным протистам (*Platyproteum*, *D. owenii*) свойственно обладать пластидами общего происхождения, в то время как *Cryptosporidium*, паразитические хромподеллиды (организм X) и эугрегарины независимо утратили пластиды. При этом эугрегарины теряли пластиды как минимум дважды (Lecudinoidea с сохранением биосинтеза жирных кислот, остальные эугрегарины – полная утрата генома и метаболизма пластиды).

Утрата пластиды у споровиков сопровождается становлением внеклеточного (полостного и тканевого) паразитизма, тогда как у паразитов, трофозоиты которых развиваются внутри клетки хозяина (хотя бы только на ранних этапах), пластиды, как правило, сохраняются. Интересно, что криптоспоридии не имеют пластиды по сравнению с протококцидиями *Eleutheroschizon*, при том, что эти паразиты демонстрируют сходный вариант паразитизма – закрытый эпицеллюлярный паразитизм. Различия заключаются в том, что криптоспоридии – паразиты, для которых на эндогенной стадии развития необходимо создать непосредственный контакт с клеткой хозяина для получения жизненноважных метаболитов от хозяина, например, аминокислоты, сахара, АТФ и др. (Thompson et al., 2005). Протококцидии, напротив, не создают непосредственный контакт с клеткой хозяина и многие метаболиты способны синтезировать сами, тем самым они демонстрируют бóльшую независимость от метаболитов хозяина.

## Заключение

Проведенное комплексное исследование морфологии и молекулярной филогении представителей архигрегариин (Gregarinomorpha: Archigregarinida), бластогрегариин (Blastogregarinea), несептированных эугрегариин (Gregarinomorpha: Eugregarinida), агамококцидий (Coccidiomorpha: Agamoscicidiida), протококцидий (Coccidiomorpha: Coccidia: Protococcidiida) из морских беспозвоночных и анализ литературы по споровикам других линий могут быть подытожены следующим образом:

1. Трофозоиты архигрегариин сохраняют организацию зоита (спорозоита, мерозоита), передний конец (мукрон) которого прикрепляется к клетке хозяина (эпицеллюлярный паразитизм) и осуществляет мизоцитоз (подсасывание) содержимого цитоплазмы зараженной клетки и внутренней среды хозяина. «Аксиальный тяж», выявленный у некоторых архигрегариин (например, *Selenidium pygospionis*), представляет собой серию пищеварительных вакуолей, которые образуются (отшнуровываются) от мукрональной вакуоли и транспортируются вдоль тяжей микрофиламентов по всей клетке паразита.
2. У архигрегариин развитие трофозоита из спорозоита сопровождается сменой типа и механизма подвижности при сохранении плана строения клетки: от субстрат-зависимого однонаправленного скольжения всей клеткой за счет белковых адгезивно-моторных комплексов (глидеосом), встроенных в пелликулу, к субстрат-независимому непрогрессивному изгибанию и/или сокращению клетки на основе динамической работы субпелликулярных микротрубочек и связанных с ними микрофиламентов. При переходе от паразитизма в кишечнике к паразитизму в целоме хозяина трофозоиты архигрегариин (например, у *Selenidium melongena*) могут утрачивать клеточную подвижность в связи с реорганизацией их кортекса.
3. Трофозоиты архигрегариин (например, *Selenidium pygospionis*) могут иметь фазу внутриклеточного паразитирования в начале своего эндогенного развития. Это позволяет предположить происхождение внутриклеточных тканевых споровиков (Coccidiomorpha) от подобных архигрегариин.
4. Система отряда Archigregarinida Grassé, 1953, в котором объединяются виды с мерогонией, так и без мерогонии в жизненном цикле, валидна. Род *Selenidioides* Levine, 1971, искусственно объединяющий виды без мерогонии, должен быть упразднен.
5. Бластогрегариины представляют собой самостоятельную группу споровиков, обладающих как уникальным признаком (многоядерный мерогамонт), так и признаками архигрегариин (мукрон, гладкая или складчатая пелликула, субпелликулярный слой (слои))

- микротрубочек, ооциста без спороцист, подвижность изгибательного типа на основе динамической работы субпелликулярных микротрубочек и микрофиламентов клетки) и кокцидий (двужгутиковые микрогаметы, оогамия, отсутствие стадий сизигия и гаметоцисты). Бластогрегарины должны быть классифицированы как самостоятельный класс *Blastogregarinea* Chatton et Villeneuve, 1936 (*Apicomplexa: Sporozoa*) с обновленным диагнозом. Класс включает отряд *Siedleckiida* Simdyanov et al. 2018 с двумя монотипическими семействами: *Siedleckiidae* Chatton et Villeneuve, 1936 и *Chattonariidae* Simdyanov et al. 2018.
6. Гипотеза, согласно которой эпимерит является синапоморфией эугрегарин, получила подтверждение на примере несептированных эугрегарин семейства *Polyrhabdinidae* Kamm, 1922. Термин «мукрон» должен быть закреплен для обозначения переднего конца трофозоитов архи- и бластогрегарин, который наследуется от спорозоида, оснащен обычно органеллами апикального комплекса и участвует в мизоцитозе. Термин «эпимерит» должен быть закреплен для обозначения прикрепительной органеллы эугрегарин, образующейся *de novo* на вершине переднего конца спорозоида в ходе его трансформации в трофозоит.
  7. Выяснен таксономический состав надсемейства *Ancoroidea* Simdyanov et al., 2017, объединяющего кишечных несептированных эугрегарин из полихет. Анкороиды обладают хорошо развитым (выступающим) эпимеритом и характерным образом организованным эпицитом. Восстановлено семейство *Polyrhabdinidae* Kamm, 1922 с обновленным диагнозом, выделено новое семейство *Trollidiidae* Paskerova et al., 2021 и обновлены диагнозы семейств *Ancoridae* Simdyanov et al., 2017 и *Polyplacariidae* Cavalier-Smith, 2014.
  8. Направленное скольжение трофозоитов кишечных эугрегарин связано с характерной организацией их покровов (наличие эпицитарных гребней с микрофиламентами в вершинах), возникающей в ходе трансформации спорозоида. Появление иных типов клеточной подвижности или ее утрата могут быть сопряжены с вторичными изменениями в строении покровов (эпицита), которые возникают при заселении эугрегарины новых ниш в хозяине.
  9. Подтверждена валидность таксономического объединения близкородственных лекудиниид (*Lecudinidae* Kamm, 1922), кишечных паразитов морских беспозвоночных, и уроспорид (*Urosporidae* Léger 1892), целомических паразитов морских беспозвоночных, в пределах надсемейства *Lecudinoidea* Simdyanov et al., 2017. Это свидетельствует в пользу того, что целомические несептированные эугрегарины произошли независимо и неоднократно от различных кишечных несептированных эугрегарин.

10. Протококцидии рода *Eleutheroschizon* и архигрегарины *Ditrypanocystis* sp. характеризуются закрытым эпицеллюлярным паразитизмом, имеющим конвергентное сходство с таковым у *Cryptosporidium* spp. Этим споровикам свойственно вызывать изменения в апикальной части клетки кишечного эпителия хозяина, приводящие к формированию паразитофорного мешка, который изолирует паразита от среды кишечной полости хозяина.
11. По молекулярно-биологическим данным, агамококцидии рода *Rhytidocystis* относятся к ранней ветви кокцидиоморф. Это позволяет предположить, что внутриклеточная локализация (хотя бы на раннем этапе развития трофозоида) является анцестральной чертой для кокцидиоморф. У них появляются адаптации для существования в цитоплазме клетки хозяина (паразитофорная вакуоль формируется на поздних этапах развития трофозоида) и для выхода из клетки/ткани хозяина (скользящая непрогрессивная подвижность трофозоитов) при завершении эндогенного развития.
12. Споровикам базальных линий (архигрегарины, бластогрегарины, протококцидии, агамококцидии) свойственно обладать пластидами общего происхождения, в то время как *Cryptosporidium* spp. и эугрегарины независимо утратили пластиды. Эугрегарины теряли пластиду в ходе эволюции неоднократно, как минимум, дважды: Lecudinoidea – утрата пластидного генома с сохранением метаболических путей синтеза жирных кислот; остальные эугрегарины – полная утрата пластиды и ее метаболических путей.

Перспективы дальнейшей разработки темы могут быть следующими:

1. Продолжить исследование разнообразия архигрегаринов из морских беспозвоночных с целью решения вопроса о таксономии этой филогенетически разнообразной группы, представители которой сохранили однообразное строение (морфостазис).
2. Расширить знания о разнообразии и морфологии бластогрегаринов для выявления конвергентных путей развития этой группы по сравнению с другими базальными споровиками.
3. Начать комплексное исследование несептированных эугрегаринов группы Lecudinoidea для выявления/подтверждения синапоморфий эугрегаринов.
4. Продолжить исследование агамококцидий и других близких групп для установления филогенетических отношений и путей эволюции в пределах Coccidiomorpha.

## Выводы

1. Представителям базальных линий споровиков – архигрегаринам, бластогрегаринам, несептированным эугрегаринам, протококцидиям и агамококцидиям (Sporozoa, Apicomplexa) – свойственны следующие анцестральные признаки: крупные, преимущественно подвижные трофозоиты, для которых характерен внеклеточный кишечный паразитизм в морских беспозвоночных.
2. У споровиков базальных линий внеклеточный кишечный паразитизм встречается в двух формах: открытый эпицеллюлярный паразитизм и закрытый эпицеллюлярный паразитизм. Первый характерен для архигрегаринов, бластогрегаринов и несептированных эугрегаринов, а второй – для протококцидий рода *Eleutheroschizon* и архигрегарины *Ditrypanocystis* sp. Закрытый эпицеллюлярный паразитизм, конвергентно сходный с таковым у *Cryptosporidium*, возникает независимо у архигрегарины и протококцидий и может рассматриваться как более специализированный тип взаимодействия с хозяином по сравнению с открытым эпицеллюлярным паразитизмом.
3. Адаптации к открытому эпицеллюлярному паразитизму проявляются при развитии трофозоида из спорозоида и заключаются в следующем:
  - формирование прикрепительной органеллы. У архигрегаринов и бластогрегаринов эта органелла образуется на основе переднего конца клетки (мукрона) с полным или частичным сохранением органелл апикального комплекса. У эугрегаринов на переднем конце клетки возникает новый прикрепительный аппарат – эпимерит (синапоморфия);
  - смена типа и механизма подвижности при сохранении общего плана строения клетки у архигрегаринов и бластогрегаринов или в результате его перестройки у эугрегаринов, приводящей к формированию эпицита (синапоморфия).
4. Адаптации к закрытому эпицеллюлярному паразитизму проявляются при развитии трофозоида из спорозоида и заключаются в следующем:
  - развитие прикрепительного аппарата для закоривания паразита на апикальной поверхности клетки хозяина. У архигрегарины *Ditrypanocystis* sp. и криптоспориდიумов прикрепительный аппарат возникает на основе мукрона спорозоида, обеспечивая непосредственный контакт между мембранами клеток паразита и хозяина, в то время как у элеутерошизонов он морфологически более сложный и возникает на основе части клетки, обращенной к энтероциту хозяина, без контакта между мембранами двух клеток;
  - образование закрытой паразитофорной ниши на апикальной поверхности энтероцитов хозяина. Архигрегарины *Ditrypanocystis* sp. вызывает модификацию ресничек, а

элеутерошизоны и криптоспоридии индуцируют рост выростов с последующим их слиянием в паразитофорный мешок вокруг паразита.

5. Агамококцидии рода *Rhytidocystis* и некоторые архигрегарины рода *Selenidium* демонстрируют внутриклеточный паразитизм на ранних этапах развития трофозоида. Это позволяет рассматривать внутриклеточную локализацию на раннем этапе развития трофозоида как анцестральный признак *Coccidiomorpha*, унаследованный от архигрегаринов.
6. Переход от кишечного паразитизма к целомическому происходит у архигрегаринов, агамококцидий и несептированных эугрегаринов. У последних такой переход происходил неоднократно. Изменение локализации паразита в хозяине сопровождалось рядом вторичных морфофункциональных преобразований: перестройка покровов, утрата прикрепительной органеллы и полярности клетки, модификация или потеря подвижности.
7. Пластиды споровиков базальных групп имеют общее происхождение. Для них характерен анцестральный метаболизм, сходный с таковым у пластид внутриклеточных кокцидиоморф (*Toxoplasma*, *Plasmodium*): утрата фотосинтеза, сохранение почти полного синтеза предшественников изопреноидов, гема и жирных кислот, окислительно-восстановительной системы ферредоксина и железосерных кластеров. Неоднократная утрата пластид у несептированных эугрегаринов происходит в связи с их глубокой адаптацией к внеклеточному полостному и тканевому паразитизму.

## Список публикаций автора по теме диссертации

1. Дякин, А. Ю. Морфология гамонтов *Urospora chiridotae* (Sporozoa: Gregarinomorpha: Eugregarinida) из голотурии *Chiridota laevis* (Echinodermata: Holothuroidea: Apoda) / А. Ю. Дякин, Г. Г. Паскерова // Паразитология. – 2004. – Т. 38 – № 3. – С. 225-238.
2. Butaeva, F. *Ditrypanocystis* sp. (Apicomplexa, Gregarina, Selenidiidae): the mode of survival in the gut of *Enchytraeus albidus* (Annelida, Oligochaeta, Enchytraeidae) is close to that of the coccidian genus *Gyptosporidium*. / F. Butaeva, **G. Paskerova**, R. Entzeroth // Tsytologiya. – 2006. – V. 48. – N 8. – P. 695-704.
3. Sokolova, Yu. Ya. Fine structure of *Metchnikovella incurvata* Caullery and Mesnil 1914 (microsporidia), a hyperparasite of gregarines *Polyrhabdina* sp. from the polychaete *Pygospio elegans* / Yu. Ya. Sokolova, **G. G. Paskerova**, Yu. M. Rotari, E. S. Nasonova, A. V. Smirnov // Parasitology. – 2013. – V.140. – P. 855-867.
4. Sokolova, Yu. Ya. Description of *Metchnikovella spiralis* sp. n. (Microsporidia: Metchnikovellidae), with notes on the ultrastructure of metchnikovellids / Yu. Ya. Sokolova, **G. G. Paskerova**, Yu. M. Rotari, E. S. Nasonova, A. V. Smirnov // Parasitology. – 2014. – V. 141. – P. 1108-1122.
5. Rotari, Yu. M. Diversity of metchnikovellids (Metchnikovellidae, Rudimicrosporea), hyperparasites of bristle worms (Annelida, Polychaeta) from the White Sea / Yu. M. Rotari, **G. G. Paskerova**, Yu. Ya. Sokolova // Protistology. – 2015. – V. 9. – № 1. – P. 50-59.
6. Valigurová, A, Protococcidian *Eleutheroschizon duboscqi*, an unusual apicomplexan interconnecting gregarines and cryptosporidia / A. Valigurová, **G. G. Paskerova**, A. Diakin, M. Kováčiková, T. G. Simdyanov // PLoS ONE. – 2015. – V. 10. – N 4. – P. e0125063.
7. Diakin, A. Morphology and molecular phylogeny of coelomic gregarines (Apicomplexa) with different types of motility: *Urospora ovalis* and *U. travisiae* from the polychaete *Travisia forbesii* / A. Diakin, **G. G. Paskerova**, T. G. Simdyanov, V. V. Aleoshin, A. Valigurová // Protist. – 2016. – V. 167. – P. 279-301.
8. **Paskerova, G.G.** *Metchnikovella dogieli* sp. n. (Microsporidia: Metchnikovellida), a parasite of archigregarines *Selenidium* sp. from polychaetes *Pygospio elegans* / G. G. Paskerova, E. V. Frolova, M. Kováčiková, T. S. Panfilkina, E. S. Mesentsev, A. V. Smirnov, E. S. Nasonova // Protistology. – 2016. – V. 10. – N. 4. – P. 148-157.
9. Valigurová, A. Motility in blastogregarines (Apicomplexa): native and drug-induced organisation of *Siedleckia nematoides* cytoskeletal elements / A. Valigurová, N. Vaškovicová,

- A. Diakin, **G. G. Paskerova**, T. G. Simdyanov, M. Kováčiková // PLoS ONE. – 2017. – V. 12. – N. 6. – P. e0179709.
10. Simdyanov, T. G. First ultrastructural and molecular phylogenetic evidence from the blastogregarines, an early branching lineage of plesiomorphic Apicomplexa / T. G. Simdyanov, **G. G. Paskerova**, A. Valigurová, A. Diakin, M. Kováčiková, J. Schrével, L. Guillou, A. A. Dobrovolskij, V. V. Aleoshin // Protist. – 2018. – V. 169. – N. 5. – P. 697-726.
  11. **Paskerova, G. G.** Fine structure and molecular phylogenetic position of two marine gregarines, *Selenidium pygospionis* sp. n. and *S. pherusa* sp. n., with notes on the phylogeny of Archigregarinida / G. G. Paskerova, T. S. Miroljubova, A. Diakin, M. Kováčiková, A. Valigurová, L. Guillou, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // Protist. – 2018. – V. 169. – N. 6. – P. 826-852.
  12. Kováčiková, M. Motility and cytoskeletal organisation in the archigregarine *Selenidium pygospionis* (Apicomplexa): observations on native and experimentally affected parasites / M. Kováčiková, **G. G. Paskerova**, A. Diakin, T. G. Simdyanov, N. Vaškovicová, A. Valigurová // Parasitology Research. – 2019. – V. 118. – N. 9. – P. 2651-2667.
  13. Janouškovec, J. Apicomplexan-like parasites are polyphyletic and widely but selectively dependent on cryptic plastid organelles / J. Janouškovec, **G. G. Paskerova**, T. S. Miroljubova, K. V. Mikhailov, T. Birley, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // eLife. – 2019. – V. 8. – P. 49662.
  14. Miroljubova, T. S. Polyphyletic origin, intracellular invasion, and meiotic genes in the putatively asexual agamococcidians (Apicomplexa *incertae sedis*) / T. S. Miroljubova, T. G. Simdyanov, K. V. Mikhailov, V. V. Aleoshin, J. Janouškovec, P. A. Belova, **G. G. Paskerova** // Scientific Reports. – 2020. – V. 10. – P. 1-17.
  15. Karpov, S. A. The aphelids, intracellular parasitoids of algae, consume host cytoplasm “from the inside” / S. A. Karpov, **G. G. Paskerova** // Protistology. – 2020. – V. 14. – N. 4. – P. 258–263.
  16. **Paskerova, G. G.** Evidence from the resurrected family Polyhrabdinidae Kamm, 1922 (Apicomplexa: Gregarinomorpha) supports the epimerite, an attachment organelle, as a major eugregarine innovation // G. G. Paskerova, T. S. Miroljubova, A. Valigurová, J. Janouškovec, M. Kováčiková, A. Diakin, Yu. Ya. Sokolova, K. V. Mikhailov, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // PeerJ. – 2021. – V. 9. – P. e11912.
  17. Frolova, E. V. Diversity, distribution, and development of hyperparasitic microsporidia in gregarines within one super-host / E. V. Frolova, G. G. **Paskerova**, A. V. Smirnov, E. S. Nassonova // Microorganisms. – 2023. – V. 11. – N. 1. – P. 152.
  18. **Paskerova, G.G.** Morphological and phylogenetic study of protococcidians sheds light on the evolution of epicellular parasitism in Sporozoa (Apicomplexa), with the description of

- Eleutheroschizon planoratum* sp. nov. / G. G. Paskerova, T. S. Miroliubova, A. Valigurová, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // *Diversity*. – 2023. – V. 15. – N. 7. – P. 863.
19. Valigurová, A. Dispersal and invasive stages of *Urospora* eugregarines (Apicomplexa) from brown bodies of a polychaete host / A. Valigurová, A. Diakin, M. Seifertová, N. Vaškovicová, M. Kováčiková, **G. G. Paskerova** // *Journal of Invertebrate Pathology*. – 2023. – V. 201. – P. 107997.

### Список выступлений автора по теме диссертации

1. Паскерова, Г. Г. Грегарины Дальнезеленецкой губы Баренцева моря / **Г. Г. Паскерова** // Тезисы докладов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 140-летию со дня рождения Н.М.Книповича. Мурманск, ПИНРО. – 2002. — С. 159-161.
2. Дякин, А. Ю. *Urospora chiridotae* (Dogiel, 1906) Goodrich, 1925 (Apicomplexa: Eugregarinidae): новые данные / А. Ю. Дякин, **Г. Г. Паскерова** // Аничковский Вестник. Молодые биологи Санкт-Петербурга – 300-летию города. Тезисы докладов. Санкт-Петербург. – 2003. – №33. – С. 48-49.
3. Дякин, А. Ю. Неогамная грегарины беломорской голотурии *Chiridota laevis* / А. Ю. Дякин, **Г. Г. Паскерова** // IV научная сессия Морской биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета. Тезисы докладов. Санкт-Петербург. – 2003. – С. 56-58.
4. Паскерова, Г. Г. К фауне грегаринов Белого моря / **Г. Г. Паскерова**, А.Ю. Дякин, Ю.В. Гусева // Проблемы современной паразитологии. Петрозаводск. Тезисы докладов. – 2003. – Т. 2. – С. 51-53.
5. Butaeva, F. *Ditrypanocystis* sp. (Apicomplexa, Selenidiidae) in the oligochaete *Enchytraeus albidus* (Annelida, Enchytraeidae): mode of survival in the host gut brush border similar to that of *Cryptosporidium* species (Apicomplexa, Coccidia) / F. Butaeva, **G. Paskerova**, R. Entzeroth // Проблемы современной паразитологии. Санкт-Петербург. Тезисы докладов. – 2003. – Т. 2. – С. 216-217.
6. Дякин, А. Ю. Тонкое строение кортикальной зоны грегарины *Urospora chiridotae* (Dogiel, 1906) Goodrich, 1925 / А. Ю. Дякин, **Г. Г. Паскерова** // V научная сессия Морской биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета (МБС СПбГУ). Тезисы докладов. Санкт-Петербург. – 2004. – С. 48-49.
7. Дякин, А. Ю. Строение покровов *Urospora travisiae* и *Urospora ovalis* – грегаринов с разным типом движения / А. Ю. Дякин, **Г. Г. Паскерова** // VII научная сессия Морской биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета (МБС СПбГУ). Тезисы докладов. Санкт-Петербург. – 2006. – С. 59-60.
8. Paskerova, G. Reconstruction of general evolutionary pathways of the lower gregarines on the basis of ultrastructural and biological data. / **G. Paskerova** // Materialien zum wissenschaftlichen Seminar der Stipendiaten des “Michail Lomonosov” – Programms 2005/06. Moskau. – 2006. – P. 154-156.
9. Паскерова, Г. Г. Кто вы, бластогрегарины? История изучения и персональные наблюдения за *Siedleckia nematoides* Caullery et Mesnil, 1898 (Blastogregarinorina,

- Siedleckia) / **Г. Г. Паскерова** // VIII научная сессия Морской биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета (МБС СПбГУ). Тезисы докладов. Санкт-Петербург. – 2007. – С. 61-63.
10. Дякин, А. Ю. Морфология грегарины *Urospora ovalis*, паразита целомической полости полихеты *Travisia forbesii* / А. Ю. Дякин, **Г. Г. Паскерова** // Материалы IV Всероссийской школы по теоретической и морской паразитологии. Калининград, пос.Лесное. – 2007. – С. 75-78.
  11. Dyakin, A. Correlation between cortex structure and motility type of gregarines by the example of three *Urospora* species / A. Dyakin, **G. Paskerova** // Abstracts of V European Congress of Protistology and XI European Conference on Ciliate Biology. – Protistology. – 2007. – V. 5. – N. 1. – P. 25-26.
  12. Paskerova, G. G. Transition between extracellularity and intracellularity in lower sporozoans; a case of *Eleutheroschizon duboscqui* Brasil, 1906 (Coccidea, Protococciida) from polychaetes *Scoloplos armiger* and *Nainereis quadricuspida* / **G. G. Paskerova** // Abstracts of V European Congress of Protistology and XI European Conference on Ciliate Biology. – Protistology. – 2007. – V. 5. – N. 1. – P. 60-61.
  13. Paskerova, G. G. Evolutionary trends of the lower gregarines: ultrastructural and biological data / **G. G. Paskerova** // Abstracts of V European Congress of Protistology and XI European Conference on Ciliate Biology. – Protistology. – 2007. – V. 5. – N. 1. – P. 61.
  14. Rotari, Yu. New data on hyperparasitic microsporidians from polychaetes of the White Sea / Yu. Rotari, **G. Paskerova** // Abstracts of V European Congress of Protistology and XI European Conference on Ciliate Biology. – Protistology. – 2007. – V. 5. – N. 1. – P. 67-68.
  15. Паскерова, Г. Г. Низшие споровики полихет Белого моря. / **Г. Г. Паскерова** // IX Научная Сессия Морской Биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета. Тезисы докладов. Санкт-Петербург. – 2008. – С. 58-60.
  16. Simdyanov, T. G. Blastogregarines (Alveolata: Apicomplexa: Sporozoa) are a plesiomorphic group of sporozoans as inferred from ultrastructural and molecular data / T. G. Simdyanov, **G. Paskerova**, K. V. Mikhailov, V. V. Aleoshin // Xth European Multicolloquium of Parasitology. Abstract Book. Paris. – 2008. – P. 32-33.
  17. Simdyanov, T. New data on Protococcidia: a plesiomorphic Apicomplexa taxon / T. Simdyanov, A. Dyakin, **G. Paskerova**, R. Entzeroth, V. Aleoshin, J. Schrével // 1st Asian Congress of Protistology. Abstract Book. Jeju National University. Korea. – 2011. – P. 73-74.
  18. Nassonova, E. A new metchnikovellid microsporidium: A hyperparasite of gregarines from the polychaete *Pygospio elegans* / E. Nassonova, **G. Paskerova**, Yu. Sokolova, Yu. Rotari, A. Smirnov // VI European Congress of Protistology. Abstract Book. Berlin. – 2011. – P. 93.

19. Diakin, A. Phylogenetic study on early emerging apicomplexans with emphasis on genera *Eleutheroschizon* and *Siedleckia* / A. Diakin, T. Simdyanov, **G. Paskerova**, V. Aleoshin, R. Entzeroth, J. Schrével, A. Valigurova // X Ceske a Slovenske Parazitologicke Dny. Abstract Book. Masarykova univerzita. Brno. – 2012. – P. 82.
20. Diakin, A. Observations on some basal apicomplexans from marine invertebrates. / A. Diakin, T. G. Simdyanov, **G. G. Paskerova**, A. Valigurová. 43rd Jirovec's Protozoological Days. Conference Proceeding. České Budějovice. – 2013. – P. 30.
21. Diakin, A. *Urospora ovalis* – coelomic gregarine from the White Sea polychaete *Travisia forbesii*. / A. Diakin, **G. G. Paskerova**, T. G. Simdyanov, A. Valigurová // V4 Parasitological Meeting – Parasites in the Heart of Europe. Book of abstracts. Stará Lesná. – 2014. – P. 38-39.
22. Kováčiková, M. Motility of *Siedleckia nematoides* (Apicomplexa): structural changes of cytoskeletal elements after drugs application. / M. Kováčiková, T. G. Simdyanov, **G. G. Paskerova**, A. Diakin, A. Valigurová // 49th European Marine Biology Symposium. Abstracts Volume. St Petersburg. – 2014. – P. 21-22.
23. Valigurová, A. Attachment strategy of *Eleutheroschizon dubosqi* (Apicomplexa): a protococcidian sharing features of gregarines and cryptosporidia. / A. Valigurová, **G. G. Paskerova**, A. Diakin, T. G. Simdyanov // 49th European Marine Biology Symposium. Abstracts Volume. St Petersburg. – 2014. – P. 25-26.
24. Paskerova, G. G. *Selenidium* sp. (Apicomplexa: Archigregarinida) from the intestine of *Pygospio elegans* (Polychaeta): fine structure and phylogenetic position. / **G. G. Paskerova**, A. Diakin, T. S. Panfilkina, A. Valigurová, T. G. Simdyanov // 49th European Marine Biology Symposium. Abstracts Volume. St Petersburg. – 2014. – P. 95-96.
25. Paskerova, G. G. Fine structure of *Polyrhabdina* sp. (Apicomplexa: Eugregarinida), with emphasis on the taxonomic position of polyrhabdines. / **G. G. Paskerova**, A. Diakin, T. S. Panfilkina, T. G. Simdyanov, A. Valigurová // 49th European Marine Biology Symposium. Abstracts Volume. St Petersburg. – 2014. – P. 96-97.
26. Kováčiková, M. Motility of archigregarine *Selenidium* sp. parasitizing polychaete *Pygospio elegans* from White Sea. / M. Kováčiková, A. Diakin, **G. G. Paskerova**, A. Valigurová // Proceedings: Students in Polar Research Conference. Abstracts Volume. Brno. – 2015. – P. 31.
27. Kováčiková, M. The motility in selenidiid archigregarines (Selenidiidae), an early emerging group of Apicomplexa. / M. Kováčiková, A. Diakin, **G. G. Paskerova**, A. Valigurová. // 12th European Multicolloquium of Parasitology. Abstract Volume. Turku. – 2016. – P. 24.04.
28. Diakin, A., The family Urosporidae Léger, 1892: biodiversity, morphological plasticity, and molecular phylogeny, as inferred from SSU rDNA. / A. Diakin, **G. G. Paskerova**, A.

- Valigurová. // 15th International Congress of Protistology. Book of Abstracts. Prague. – 2007. – P. 311.
29. Kováčiková, M. Cytoskeletal elements and motility in the archigregarine *Selenidium* sp.: observations on native and drug-treated parasites. / M. Kováčiková, **G. G. Paskerova**, A. Diakin, A. Valigurová // 15th International Congress of Protistology. Book of Abstracts. Prague. – 2007. – P. 113.
30. Панфилкина, Т. С. Развитие *Selenidium* sp. (Аpicомплекса: Archigregarininorida) в кишечнике полихеты *Pygospio elegans*. / Т. С. Панфилкина, **Г. Г. Паскерова** // 1-я Студенческая научная сессия Учебно-научной базы «Беломорская». Санкт-Петербургский государственный университет. Тезисы докладов. Санкт-Петербург. – 2017. – С. 34.
31. Paskerova, Gita G. Metchnikovellids as basal microsporidia: research history and perspectives. / **Gita G. Paskerova**, Ekaterina V. Frolova, Alexey V. Smirnov, Elena S. Nassonova // 53rd European Marine Biology Symposium. Book of abstracts. Ostend. – 2018. – P. 27.
32. Кудрявкина, А. И. Эпимерит как синапоморфия эугрегариин подтверждается на примере прикрепительного аппарата асептанной эугрегарины *Difficilina* sp. (Sporozoa, Аpicомплекса). / А. И. Кудрявкина, Т. Г. Симдянов, **Г.Г. Паскерова** // VIII Школа по теоретической и морской паразитологии. VIII Всероссийская конференция с международным участием. ФИЦ ИНБИОМ. Сборник тезисов. Севастополь. – 2022. – С. 50.
33. Паскерова, Г. Г. Бластогрегарины Белого моря. / **Г. Г. Паскерова**, Т. С. Миролубова, А. И. Кудрявкина, Т. Г. Симдянов // XIV Всероссийская конференция с международным участием "Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря". Сборник тезисов. Санкт-Петербург. – 2022. – С. 40.
34. Паскерова, Г.Г. Три молодца из одного ларца: паразиты полихеты *Scoloplos armiger* раскрывают секреты эволюции Аpicомплекса. / **Г. Г. Паскерова**, Т. Г. Симдянов / Доклад на 67-ых чтениях, посвященных памяти члена-корреспондента Академии наук СССР, профессора В.А. Догеля. – 2022. – Режим доступа: [https://www.youtube.com/watch?v=L6gp\\_Q7хао](https://www.youtube.com/watch?v=L6gp_Q7хао)
35. Паскерова, Г.Г. Бандиты с чулком на голове или закрытый эпицеллюлярный паразитизм у споровиков (Аpicомплекса). / **Г. Г. Паскерова** // Всероссийская конференция «Морская биология в 21 веке: биология развития, молекулярная и клеточная биология, биотехнология морских организмов (памяти академика Владимира Леонидовича Касьянова)». Тезисы докладов. Владивосток. – 2023. – С. 261-262.

### Список цитированной в диссертации литературы

1. Аверинцев, С. Исследования над паразитическими простейшими / С. Аверинцев // Труды Императорского СПб Общества естествоиспытателей. – 1908. – № 38-2. – С. 1–139.
2. Бейер, Т. В. Класс Coccidea Leuckart, 1879 – Кокцидии / Т.В. Бейер // В кн: Протисты: Руководство по зоологии. Санкт-Петербург: Наука. Часть 2, 2007. – С. 149–256.
3. Боголепова, И. И. Грегарины залива Петра Великого. // Труды Зоологического Института АН СССР. – 1953. – Т. 13. – С. 38–56.
4. Гинецинская, Т. А. Частная паразитология. / Т. А. Гинецинская, А. А. Добровольский. – М., «Высшая школа», 1978. – 595 с.
5. Гранович А.И. Программы учебных дисциплин Кафедры зоологии беспозвоночных биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета. Магистратура «Биология». Учебно-методическое пособие. / А.И. Гранович, А.Н. Островский, С.А. Карпов, К.В. Галактионов, А.В. Гришанков, Н.Н. Шунатова, В.М. Хайтов, А.Л. Мальцева, М.А. Варфоломеева, Г.Г. Паскерова, О.Н. Котенко, А.В. Смирнов, Д.Ю. Крупенко, А.Г. Гончар, В.А. Крапивин, Ф.Е. Четвериков, Е.С. Насонова, А.А. Кудрявцев, В.В. Старунов, А.А. Сухотин, П.П. Скучас, В.В. Козин. — М., Товарищество научных изданий КМК, 2021. — 96 с.
6. Догель, В. Catenata. Организация рода *Haplozoon* и некоторых сходных с ним форм. / В. Догель. – С-Петербург, 1910. – 30 с.
7. Дякин, А. Ю. Морфология гамонтов *Urospora chiridotae* (Sporozoa: Gregarinomorpha: Eugregarinida) из голотурии *Chiridota laevis* (Echinodermata: Holothuroidea: Apoda). / А. Ю. Дякин, Г. Г. Паскерова // Паразитология. – 2004. – Т. 38. – № 3. – С. 225–238.
8. Исси, И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших. / И. В. Исси. – Л.: Наука, 1986. – 130 с.
9. Крылов, М. В. Новые таксоны в типе Sporozoa, Spiromonadomorpha subcl. n. Spiromonadida ordo n. / М. В. Крылов, А. П. Мыльников // Паразитология. – 1986. – Т. 20. – № 6. – С. 425–430.
10. Крылов, М. В. Макросистема и филогения споровиков. / М. В. Крылов, А. А. Добровольский // Труды Зоологического института АН СССР. – 1980. – Т. 94. – С. 62–74.
11. Михайлов, К. В. Рибосомная РНК мечниковеллид в транскриптомах грегариин и рДНК микроспоридий *sensu lato* в метагенамах. / К. В. Михайлов, Е. С. Насонова, Е. А. Шишкин, Г. Г. Паскерова, Т. Г. Симдянов, В. А. Юдина, А. В. Смирнов, Я. Янушкевец, В. В. Алешин // Журнал общей биологии. – 2021. – Т. 82. – № 3. – С. 201–228.

12. Мыльников, А. П. Ультраструктура и биология некоторых представителей отряда *Spiromonadida* (Protozoa). / А. П. Мыльников // Зоологический журнал. – 1991. – Т. 70. – № 7. – С. 5–15.
13. Мыльников, А. П. Таксономический ранг и место в системе протистов *Colpodellida*. / А. П. Мыльников, М. В. Крылов, А. О. Фролов // Паразитология. – 2000. – Т. 34. – № 7. – С. 3–13.
14. Наумов, А. Д. Зоологические экскурсии на Белом море: Пособие для летней учебной практики по зоологии беспозвоночных. / А. Д. Наумов, А. В. Оленев. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1981. – 176 с.
15. Роскин, Г. И. Микроскопическая техника. / Г. И. Роскин, Л. Б. Левинсон. – 3 изд., Москва, "Советская наука", 1957. – 476 с.
16. Симдянов, Т. Г. *Selenidium pennatum* sp.n. - новый вид архигрегариин из *Flabelligera affinis* (Polychaeta: Flabelligeridae). / Т. Г. Симдянов // Паразитология. – 1992. – Т. 4. – С. 344–346.
17. Симдянов, Т. Г. Два новых вида грегариин с аберрантным строением эпицита из полихет Белого моря. / Т. Г. Симдянов // Паразитология. – 1995а. – Т. 29. – С. 305–315.
18. Симдянов, Т. Г. Ультраструктура двух видов грегариин рода *Lankesteria* (Eugregarinida: Lecudinidae). / Т. Г. Симдянов // Паразитология. – 1995b. – Т. 29. – № 5. – С. 424–432.
19. Симдянов, Т. Г. Класс Gregarinae Dufour, 1828 - Грегарины. / Т. Г. Симдянов // В кн: Протисты: Руководство по зоологии. Санкт-Петербург: Наука. Часть 2, 2007. – С. 20–149.
20. Симдянов, Т. Г. *Difficilina cerebratulii* gen. et sp.n. (Eugregarinida: Lecudinidae) - новый вид грегариин из немертины *Cerebratulus barentsi* (Nemertini: Cerebratulidae). / Т. Г. Симдянов // Паразитология. – 2009. – Т. 43. – № 4. – С. 273–288.
21. Тимофеев, С. А. Микроспоридии и их ближайшие родственники: современные представления об эволюции уникальной группы экстремальных паразитов. / С. А. Тимофеев, И. В. Сендерский, В. С. Журавлев, В. В. Долгих // Паразитология. – 2020. – Т. 54. – С. 355–370.
22. Тихоненков, Д. В. Ранняя филогения и эволюция альвеолят. / Д. В. Тихоненков, А. П. Мыльников, К. В. Михайлов, В. В. Алешин. – Пенза: Изд-во ПГУ, 2016. – 166 с.
23. Фролов, А. О. Мировая фауна грегариин. Семейство Monocystidae. / А. О. Фролов // Труды Зоологического института АН СССР. – 1991. – Т. 229. – С. 1–126.
24. Фролов, А. О. Класс Colpodellea (Kussakin, Drozdov, 1998). / А. О. Фролов // В кн: Протисты: Руководство по зоологии. Санкт-Петербург: Наука. Часть 2, 2007. – С. 12–19.
25. Хейсин, Е. М. О системе споровиков (класс Sporozoa, тип Protozoa). / Е. М. Хейсин // Зоологический журнал. – 1956. – Т. 35. – № 9. – С. 1281–1298.

26. Цетлин, А. Б. Практический определитель многощетинковых червей Белого моря. / А. Б. Цетлин. – Москва: Издательство МГУ, 1980. – 113 с.
27. Шерешевская, Е. Новый паразит грегарин и положение семейства Metchnikovellidae (C.&M.) в системе простейших. / Е. Шерешевская // Русский Архив Протистологии. – 1924. – Т. 3. – № 3-4. – С. 137–144.
28. Adl, S. M. The revised classification of eukaryotes. / S. M. Adl, A. G. Simpson, C. E. Lane, J. Lukeš, et al. // J. Eukaryot. Microbiol. – 2012. – V. 59. – P. 429–514.
29. Adl, S. M. Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. / S. M. Adl, D. Bass, C. E. Lane, J. Lukeš, et al. // J. Eukaryot. Microbiol. – 2019. – V. 66. P. 4–119.
30. Arvy, L. Sur deux grégarines de *Phascolion strombus* Montagu. / L. Arvy // Bull. Lab. marit. Dinard France. – 1952. – V. 36. – P. 7–13.
31. Baines, I. Demonstration of actin in the protozoan *Gregarina*. / I. Baines, C. A. King // Cell Biol. Int. Rep. – 1989. – V. 13. – P. 679–686.
32. Barta, J. R. What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. / J. R. Barta, R. C. A. Thompson // Trends Parasitol. – 2006. – V. 22. – P. 463–468.
33. Bartošová-Sojtková, P. Epicellular Apicomplexans: Parasites “On the Way In”. / P. Bartošová-Sojtková, R. D. Oppenheim, D. Soldati-Favre, J. Lukeš // PLoS Pathog. – 2015. – V. 11. – N. 9. – P. e1005080.
34. Baudoin, J. Sur l’ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine *Ancyrophora puytoraci* B. / J. Baudoin // Protistologica. – 1969. – V. 5. – P. 431–430.
35. Beams, H. W. Studies on the fine structure of a gregarine parasitic in the gut of the grasshopper, *Melanoplus differentialis*. / H. W. Beams, T. N. Tahmisian, R. L. Devine, E. Anderson // J. Protozool. – 1959. – V. 6. – P. 136–146.
36. Benajiba, M. H. Ultrastructure and sporogony of *Eimeria* (syn. *Epieimeria*) *anguillae* (Apicomplexa) in the eel (*Anguilla anguilla*). / M. H. Benajiba, A. Marques, J. Lom, G. Bouix // J. Eukaryot. Microbiol. – 1994. – V. 41. – P. 215–222.
37. Bisio, H. Signaling cascades governing entry into and exit from host cells by *Toxoplasma gondii*. / H. Bisio, D. Soldati-Favre // Annu. Rev. Microbiol. – V. 73. – P. 579–599.
38. Bleidorn, C. Mitochondrial sequence data expose the putative cosmopolitan polychaete *Scoloplos armiger* (Annelida, Orbiniidae) as a species complex. / C. Bleidorn, I. Kruse, S. Albrecht, T. Bartolomaeus // BMC Evol Biol. – 2006. – V. 6. – N. 47. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-6-47>.
39. Bodył, A. Early steps in plastid evolution: current ideas and controversies. / A. Bodył, P. Mackiewicz, J. W. Stiller // BioEssays. – 2009. – V. 31. – N. 11. – P. 1219–1232.

40. Bodył, A. Do plastid-related characters support the chromalveolate hypothesis? / A. Bodył // *J. Phycology*. – 2005. – V. 41. – N. 3. – P. 712–719.
41. Bonnin, A. Monoclonal antibodies identify a subset of dense granules in *Cryptosporidium parvum* zoites and gamonts. / A. Bonnin, J. Gut, J. F. Dubremetz, R. G. Nelson, P. Camerlynck // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 1995. – V. 42. – P. 395–401.
42. Borowski, H. Active invasion and/or encapsulation? A reappraisal of host-cell parasitism by *Cryptosporidium*. / H. Borowski, P. L. Clode, R. C. Thompson // *Trends Parasitol.* – 2008. – V. 24. – N. 11. – P. 509–516.
43. Borowski, H. Morphological characterization of *Cryptosporidium parvum* life-cycle stages in an invitro model system. / H. Borowski, R. C. A. Thompson, T. Armstrong, P. L. Clode // *Parasitology*. – 2010. – V. 137. – P. 13–26.
44. Boucher, L. E. The apicomplexan glideosome and adhesins –structures and function. / L. E. Boucher, J. Bosch // *J. Struct. Biol.* – 2015. – V. 190. – P. 93–114.
45. Brasil, L. *Eleutheroschizon* cf. *duboscqi*, sporozoaire nouveau parasite de *Scoloplos armiger* O.F. Müller. / L. Brasil // *Arch. Zool. Exp. Gen.* – 1906. – V. 4. – P. 17–22.
46. Brasil, L. Documents sur quelques sporozoaires d'annelides. / L. Brasil // *Arch. Protistenkd.* – 1909. – V. 16. – P. 106–148.
47. Brugerolle, G. *Colpodella vorax*: ultrastructure, predation, lifecycle, mitosis and phylogenetic relationships. / G. Brugerolle // *Eur. J. Protistol.* – 2002. – V. 38. – P. 113–126.
48. Burrell, A. Life cycle stages, specific organelles and invasion mechanisms of *Eimeria* species. / A. Burrell, F. Tomley, S. Vaughan, V. Marugan-Hernandez // *Parasitology*. – 2020. – V. 147. – P. 263–278.
49. Burt, D. R. R. On *Ditrypanocystis cirratuli* gen. nov., sp. nov. a gregarine possessing undulating membranes. / D. R. R. Burt, M. Denny, P. A. Thomasson // *Parasitology*. – 1963. – V. 53. – P. 1–14.
50. Butaeva, F. *Ditrypanocystis* sp. (Apicomplexa, Gregarina, Selenidiidae): the mode of survival in the gut of *Enchytraeus albidus* (Annelida, Oligochaeta, Enchytraeidae) is close to that of the coccidian genus *Cryptosporidium*. / F. Butaeva, G. Paskerova, R. Entzeroth // *Tsytylogiya*. – 2006. – V. 48. – P. 695–704.
51. Cali A. Microsporidia. / A. Cali, J. J. Becnel, P. M. Takvorian // In: *Handbook of the Protists*. – 2017. – Режим доступа: 10.1007/978-3-319-32669-6\_27-1.
52. Carreno, R. A. *Cryptosporidium* is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small-subunit ribosomal RNA gene sequences. / R. A. Carreno, D. S. Martin, J. R. Barta // *Parasitol. Res.* – 1999. – V. 85. – P. 899–904.

53. Castellon, C. *Lecudina capensis* sp. n. parasitic gregarine of *Pherusa laevis* (Stimpson, 1856) (polychaete annelid). / C. Castellon, M. P. Gracia // Acta Protozool. – 1988. – V. 27. – N. 3/4. – P. 291–296.
54. Caullery, M. Sur quelques parasites internes des Annélides. / M. Caullery, F. Mesnil // Trav. Sta. Zool. Wimereux. – 1899. – V. 7. – P. 80–99.
55. Caullery, M. Sur l'existence de grégaires dicystidées chez les annélides polychètes. / M. Caullery, F. Mesnil // C. R. Soc. Biol. – 1914a. – V. 77. – P. 516–520.
56. Caullery, M. Sur les Metschnikovellidae et autres protistes parasites des grégaires d'annélides. / M. Caullery, F. Mesnil // C. R. Soc. Biol. – 1914b. – V. 77. – P. 527–532.
57. Caullery, M. Metschnikovellidae et autres protistes parasites des grégaires d'annélides. / M. Caullery, F. Mesnil // Ann. Inst. Pasteur. – 1919. – V. 33. – N. 4. – P. 209–240.
58. Caullery, M. Sur trois sporozoaires parasites de la *Capitella capitata* O.Fab. / M. Caullery, F. Mesnil // C. R. Soc. Biol. – 1897b. – V. 49. – P. 1005–1008.
59. Caullery, M. Sur un type nouveau (*Metschnikovella* n.g.) d'organismes parasites des grégaires. / M. Caullery, F. Mesnil // C. R. Soc. Biol. – 1897a. – V. 49. – P. 960–962.
60. Caullery, M. Sur un sporozoaire aberrant (*Siedleckia* n. g.). / M. Caullery, F. Mesnil // C. R. Hebd. Séanc. Mém. Soc. Biol. Paris. – 1898. – V. 5. – N. 50. – P. 1093–1095.
61. Caullery, M. Sur un mode particulier de division nucléaire chez les grégaires. / M. Caullery, F. Mesnil // Arch. Anat. Microsc. – 1900. – V. 3. – N. 4. – P. 146–167.
62. Caullery, M. Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des grégaires. / M. Caullery, F. Mesnil // C. R. Hebd. Séanc. Mém. Soc. Biol. Paris. – 1901. – V. 53. – P. 84–87.
63. Cavalier-Smith, T. Protalveolate phylogeny and systematics and the origins of Sporozoa and dinoflagellates (phylum Myzozoa nom. nov.). / T. Cavalier-Smith, E. E. Chao // Eur. J. Protistol. – 2004. – V. 40. – P. 185–212.
64. Cavalier-Smith, T. Cell diversification in heterotrophic flagellates. / T. Cavalier-Smith // In: The Biology of Free-living Heterotrophic Flagellates. Oxford University Press, 1991. – P. 113–131.
65. Cavalier-Smith, T. Kingdom protozoa and its 18 phyla. / T. Cavalier-Smith // Microbiol. Rev. – 1993. – V. 57. – N. 4. – P. 953–994.
66. Cavalier-Smith, T. Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. / T. Cavalier-Smith // Eur. J. Protistol. – 2014. – V. 50. – P. 472–495.
67. Cecconi, J. Sur l' *Anchorina sagittata* Leuck. parasite de la *Capitella capitata* O. Fabr. / J. Cecconi // Arch. Protistenkd. – 1905. – V. 6. – P. 230–244.
68. Chatton, E. Observations sur les Sporozoaires du genre *Siedleckia*. *S. dogieli* n. sp. et *S. mesnili* n. sp. / E. Chatton, L. Dehorne // Arch. Anat. Microsc. – 1929. – V. 25. – P. 530–543.

69. Chatton, E. La sexualité et le cycle évolutif des *Siedleckia* d'après l'étude de *S. caulleryi*, n. sp. Hologrégarines et Blastogrégarines. Sporozoaires hologamétogènes et blastogamétogènes. / E. Chatton, F. Villeneuve // C.R. Acad. Sci. D Nat. – 1936a. – V. 203. – P. 505–508.
70. Chatton, E. Le cycle évolutif de l'*Eleutheroschizon duboscqui* Brasil. Prevue expérimentale de l'absence de schizogonie chez la *Siedleckia caulleryi* Ch et Vill. / E. Chatton, F. Villeneuve // C.R. Acad. Sci. D Nat. – 1936b. – V. 203. – P. 834–837.
71. Chen, W. J. Directed migration of *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in its natural host *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). / W. J. Chen, M. H. Fan-Chiang // J. Eukaryot. Microbiol. – 2001. – V. 48. – P. 537–541.
72. Chen, X. M. Cdc42 and the actin-related protein/neural Wiskott-Aldrich syndrome protein network mediate cellular invasion by *Cryptosporidium parvum*. / X. M. Chen, B. Q. Huang, P. L. Splinter, J. D. Orth, D. D. Billadeau, M. A. McNiven, N. F. LaRusso // Infect. Immun. – 2004. – V. 72. – P. 3011–3021.
73. Chen, X. M. Localized glucose and water influx facilitates *Cryptosporidium parvum* cellular invasion by means of modulation of host-cell membrane protrusion. / X. M. Chen, S. P. O'Hara, B. Q. Huang, P. L. Splinter, J. B. Nelson, N. F. LaRusso // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – V. 102. – P. 6338–6343.
74. Chobotar, B. 1982. Ultrastructure. / B. Chobotar, E. Scholtyseck // In: The Biology of the Coccidia. Baltimore, University Park Press, 1982. – P. 101–165.
75. Chobotar, B. Ultrastructural observations of host-cell invasion by sporozoites of *Eimeria papillata* in vivo. / B. Chobotar, H. D. Danforth, R. Entzeroth // Parasitol. Res. – 1993. – V. 79. – N. 1. – P. 15–23.
76. Claparède, E. D. R. Études anatomiques sur les Annélides, Turbellariés, Opalines et Grégarines observés dans les Hébrides. / E. D. R. Claparède // Mém. Soc. Phys. et Hist. nat. Genève. – 1861. – V. 16. – P. 71–164.
77. Clopton, R. Order Eugregarinorida Léger, 1900. / R. Clopton // In: An illustrated guide to the protozoa: organisms traditionally referred to as protozoa, or newly discovered groups. Vol. 1. Lawrence: Society of Protozoologists, 2000. – P. 205–298.
78. Cook, T. J. P. 2001. Epimerite-host epithelium relationships among eugregarines parasitizing the damselflies *Enallagma civile* and *Ischnura verticalis*. / T. J. P. Cook, J. Janovy, R. E. Clopton // J. Parasitol. – 2001. – V. 87. – P. 988–996.
79. Corbel, J. C. Étude de *Gonospora beloneides* (Ming.) (= *Lobianchella beloneides* Ming.) (grégarine Urosporidae), parasite coelomique d'une Alciopidae (Polychaeta) et remarques sur d'autres grégarines d'Alciopidae. / J. C. Corbel, I. Desportes, J. Théodoridès // Protistologica. – 1979. – V. 15. – P. 55–65.

80. Corbel, J. C. *Metchnikovella martojai* n.sp. (Microsporidies, Metchnikovellidae) parasite d'une grégarine de Gryllide. / J. C. Corbel // Protistologica. – 1967. – V. 3. – P. 365–368.
81. Corliss, J. O. The Kingdom Protista and its 45 phyla. / J. O. Corliss // BioSystems. – 1984. – V. 17. – N. 2. – P. 87–126.
82. Coulon, P. Gregarine species (Apicomplexa) parasitic in the burrowing echinoid *Echinocardium cordatum*: occurrence and host reaction. / P. Coulon, M. Jangoux // Dis. Aquat. Org. – 1987. – V. 2. – P. 135–145.
83. Coulon, P. Coelomocyte reaction against *Lithocystis schneideri* (Apicomplexa: Sporozoa), a gregarine parasite of the spatangoid echinoid *Echinocardium cordatum*. / P. Coulon, M. Jangoux // In: Echinoderm Biology. Rotterdam, Balkerna, 1988. – P. 769–773.
84. Coulon, P. Cyclic occurrence of gregarine trophozoites (Apicomplexa) in the burrowing echinoid *Echinocardium cordatum* (Echinodermata, Spatangoidea). / P. Coulon, M. Jangoux // Dis. Aquat. Org. – 1991. – V. 12. – P. 71–73.
85. Cox, F. E. G. *Ditrypanocystis cirratuli* [Sporozoa, Archigregarinida] parasitic in *Cirratulus cirratus* from Plymouth. / F. E. G. Cox // J. Marine Biol. Ass. United Kingdom. – 1965. – V. 45. – P. 59–64.
86. Cox, F. E. G. The Evolutionary Expansion of the Sporozoa. / F. E. G. Cox // Internat. J. Parasitol. – 1994. – V. 24. – N. 8. – P. 1301–1316.
87. Cox, F. E. G. Systematics of the parasitic Protozoa. / F. E. G. Cox // Trends Parasitol. – 2002. – V. 18. – N. 3. P. 108.
88. Crawley, H. The movements of gregarines. / H. Crawley // P Acad Nat Sci Philadelphia. – 1905. – V. 57. – P. 89–99.
89. Danne, J. C. Alveolate mitochondrial metabolic evolution: dinoflagellates force reassessment of the role of parasitism as a driver of change in apicomplexans. / J. Danne, S. G. Gornik, J. I. MacRae, M. J. McConville, R. F. Waller // Mol. Biol. Evol. – 2013. – V. 30. – P. 123–139.
90. de Beauchamp, M. P. L'evolution de *Rhytidocystis henneguyi* n. sp., Grégarine agame parasite des Ophélie. / M. P. de Beauchamp // Compte Rendu de l'Association Francaise pour l'Avancement des Sciences. – (1912). – V. 154. – P. 1384–1385.
91. de Beauchamp, P. Recherches sur les *Rhytidocystis* parasities des Ophélie. / M. P. de Beauchamp // Arch. Protistenkd. – 1913. – V. 31. – P. 138–168.
92. de Faria, G. Sobre es protozoarios parasitos da *Polydora socialis*. / G. de Farina, A. B. da Cunha, O. R. da Fonseca // Brazil Med. – 1917. – V. 31. – P. 243.
93. de Faria, G. Protozoarios parazitos de "*Polydora socialis*". / G. de Farina, A. B. da Cunha, O. R. da Fonseca // Mem. Inst. Osw-Cruz. – 1918. – V. 10. – P. 17–19.

94. de Puytorac, P. Précis de Protistologie. / P. de Puytorac, J. Grain, J. – P. Mignot. – Societe Nouvelle des Editions Boubée, Paris, 1987. – 581 p.
95. de Ridder, C. Intracoelomic parasitic Sporozoa in the burrowing spatangoid, *Echinocardium cordatum*: coelomocyte reaction and formation of brown bodies. / C. de Ridder, M. Jangoux // Helgoländer Meeresunters. – 1984. – V. 37. – P. 225–231.
96. Desportes, I. 2013. Treatise on Zoology—Anatomy, Taxonomy, Biology. The Gregarines (2 vols). The early branching Apicomplexa. / I. Desportes, J. Schrével. – Brill Leiden, Boston, 2013. – 781 p.
97. Desportes, I. Intérêt taxonomique de l'ultrastructure épicytaire chez *Ganymedes* Huxley, *Porospora* Schneider et *Thiriotia* n. g., grégarines parasites de crustacés. / I. Desportes, C. Vivarès, J. Théodoridès // Ann. Sci. Nat. Zool. – 1977. – V. 19. – P. 261–277.
98. Desportes, I. Ultrastructure et développement des Grégarines du genre *Stylocephalus*. / I. Desportes // Ann. Sci. Nat. Zool. Ser. – 1969. – V. 12. – N. 11. – P. 31–96.
99. Devauchelle, G. Étude ultrastructurale du développement des Grégarines du *Tenebrio molitor* L. / G. Devauchelle // Protistologica. – 1968. – V. 4. – P. 313–332.
100. Diakin, A. Morphology and molecular phylogeny of coelomic gregarines (Apicomplexa) with different types of motility: *Urospora ovalis* and *U. trivisiae* from the polychaete *Trivisia forbesii*. / A. Diakin, G. G. Paskerova, T. G. Simdyanov, V. V. Aleoshin, A. Valigurová // Protist. – 2016. – V. 167. P. 279–301.
101. Dibb, M. J. *Selenocystis foliata* (Ray) from *Scolecopsis fuliginosa* Clpde. and its identity with *Haplozoon* sp. / M. J. Dibb // Parasitology. – 1938. – V. 30. – P. 296–308.
102. Dobrowolski, J. M. *Toxoplasma* invasion of mammalian cells is powered by the actin cytoskeleton of the parasite. / J. M. Dobrowolski, L. D. Sibley // Cell. – 1996. – V. 84. – N. 6. – P. 933–999.
103. Dogga, S. K. Phylogeny, morphology, and metabolic and invasive capabilities of epicellular fish coccidium *Goussia janae*. / S. K. Dogga, P. Bartošová-Sojtková, J. Lukeš, D. Soldati-Favre // Protist. – 2015. – V. 166. – P. 659–676.
104. Dogiel, V. Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. I. *Cystobia chiridotae* nov. sp. II. *Hyalosphaera gregarinicola* nov. gen.nova spec. / V. Dogiel // Arch. Protistenkd. – 1906. – V. 7. – P. 106–130.
105. Dogiel, V. Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. III. Über die Sporocysten der Cölom-Monocystidae. / V. Dogiel // Arch. Protistenkd. – 1909. – V. 16. – P. 194–208.
106. Dogiel, V. Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. IV. *Callynthrochlamys phronimae* Frenz. u. a. m. / V. Dogiel // Arch. Protistenkd. – 1910. – V. 20. – P. 60–78.

107. Dogiel, V. A. Sur un nouveau genre de Metchnikovellidae. / V. A. Dogiel // Ann. Inst. Pasteur. – 1922. – V. 36. – P. 574–577
108. Dubremetz, J. F. Apical organelles and host–cell invasion by Apicomplexa. / J. F. Dubremetz, N. Garcia–Reguet, V. Conseil, M. N. Fourmaux // Internat. J. Parasitol. – 1998. – V. 28. – P. 1007–1013.
109. Durchon, M. Déterminisme de la gamogonie chez une Grégarine parasite de *P. cultrifera* G. (Annelide Polychète). / M. Durchon, E. Vivier // C R Acad Sci Paris. – 1961. – V. 253. – P. 318–320.
110. Dyakin, A. Y. The cortical zone of skittle–like cells of *Urospora chiridotae*, a gregarine from an apode holothuria *Chiridota laevis*. / A. Y. Dyakin, T. G. Simdyanov // Protistology. – 2005. – V. 4. – P. 97–105.
111. Dyková, I. Fish coccidia: critical notes on life cycles, classification and pathogenicity. / I. Dyková, J. Lom // J. Fish. Dis. – 1981. – V. 4. – P. 487–505.
112. Elliott, D. A. *Cryptosporidium parvum* induces host cell actin accumulation at the host–parasite interface. / D. A. Elliott, D. P. Clark // Infect. Immun. – 2000. – V. 68. – P. 2315–2322.
113. Fichera, M. E. A plastid organelle as a drug target in apicomplexan parasites. / M. E. Fichera, D. S. Roos // Nature. – 1997. – V. 390. – P. 407–409.
114. Forney, J. R. A role for host phosphoinositide 3–kinase and cytoskeletal remodeling during *Cryptosporidium parvum* infection. / J. R. Forney, D. B. DeWald, S. Yang, C. A. Speer, M. C. Healey // Infect. Immun. – 1999. – V. 67. – P. 844–852.
115. Fowell, R. R. Observations on the Sporozoa inhabiting the gut of the polychaete worm *Polydora flava* Claparède. / R. R. Fowell // J. Parasitol. – 1936a. – V. 28. – P. 414–430.
116. Fowell, R. R. The fibrillar structures of protozoa, with special reference to schizogregarines of the genus *Selenidium*. / R. R. Fowell // J. Roy. Microsc. Soc. – 1936b. – V. 56. P. – 12–28.
117. Fréchal, K. Gliding motility powers invasion and egress in Apicomplexa. / K. Fréchal, J. – F. Dubremetz, M. Lebrun, D. Soldati–Favre // Nature Reviews. Microbiology. – 2017. – P. 1–16.
118. Fréchal, K. 2020. The Actomyosin Systems in Apicomplexa. / K. Fréchal, A. Krishnan, D. Soldati–Favre // In: Myosins. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1239. Springer, Cham, 2000. – P. 331–354.
119. Frolova, E. V. Diversity, distribution, and development of hyperparasitic microsporidia in gregarines within one super–host. / E. V. Frolova, G. G. Paskerova, A. V. Smirnov, E. S. Nassonova // Microorganisms. – 2023a. – V. 11. – N. 1, 152. – режим доступа: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010152>.
120. Frolova, E. V. *Mesnilia travisiae* gen. nov., sp. nov. (Microsporidia: Metchnikovellida), a parasite of archigregarines *Selenidium* sp. from the polychaete *Travisia forbesii*: morphology,

- molecular phylogeny and phylogenomics. / E. V. Frolova, M. P. Raiko, N. I. Bondarenko, G. G. Paskerova, T. G. Simdyanov, A. V. Smirnov, E. S. Nassonova // *Protistology*. – 2023b. – V. 17. – N. 4. – P. 244–258.
121. Frolova, E. V. Molecular phylogeny and new light microscopic data of *Metchnikovella spiralis* (Microsporidia: Metchnikovellidae), a hyperparasite of eugregarine *Polyrhabdina* sp. from the polychaete *Pygospio elegans*. / E. V. Frolova, G. G. Paskerova, A. V. Smirnov, E. S. Nassonova // *Parasitology*. – 2021. – V. 148. – P. 779–786.
122. Frolova, E. V. 2022. *Metchnikovella dobrovolskiji* sp. nov. (Microsporidia: Metchnikovellida), a parasite of archigregarines *Selenidium pygospionis* from the polychaete *Pygospio elegans*. / E. V. Frolova, G. G. Paskerova, A. V. Smirnov, E. S. Nassonova // *Protistology*. – 2022. – V. 16. – N. 3. – P. 226–235.
123. Funes, S. The Apicoplast. / S. Funes, X. Pérez–Martínez, A. Reyes–Prieto, D. González–Halphen // In: *The Structure and Function of Plastids*. Springer, 2007. – P. 475–505.
124. Galindo, L. J. Evolutionary genomics of *Metchnikovella incurvata* (Metchnikovellidae), an early branching microsporidium. / L. J. Galindo, G. Torruella, D. Moreira, H. Timpano, G. Paskerova, A. Smirnov, E. Nassonova, P. López–García // *Genome Biol. Evol.* – 2018. – V. 10. – N. 10. – P. 2736–2748.
125. Ganapati, P. N. Notes on some gregarines from polychaetes of the Madras coast. / P. N. Ganapati // *Proceed. Indian Acad. Sci. Section B, Biol. Sci.* – 1946. – V. 23. – N. 5. – P. 228–248.
126. Ghazali, M. Actin and spectrin–like (Mr = 260–240 000) proteins in gregarines. / M. Ghazali, M. Philippe, A. Deguercy, P. Gounon, J. M. Gallo, J. Schrével // *Biol. Cell*. – 1989. – V. 67. – P. 173–184.
127. Ghazali, M. Myosin–like protein (Mr 175,000) in *Gregarina blaberae*. / M. Ghazali, J. Schrével // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 1993. – V. 40. – P. 345–354.
128. Giard, A. Note sur un nouveau groupe de protozaires parasites des annélides, et sur quelques points de l'histoire des grégarines (*Selenidium pendula*). / A. Giard // *Association française pour l'avancement des sciences. Congress de Blois. Première partie. Documents officiels, procès-verbaux 1, 1884.* – P. 192.
129. Gile, G. H. Transcriptomic analysis reveals evidence for a cryptic plastid in the colpodellid *Voromonas pontica*, a close relative of chromerids and apicomplexan parasites. / G. H. Gile, C. H. Slamovits // *PLoS ONE*. – 2014. – V. 9. – N. 5. – P. e96258.
130. Gleeson, M. T. The plastid in Apicomplexa: what use is it? / M. T. Gleeson // *Internat. J. Parasitol.* – 2000. – V. 39. – P. 1053–1070.

131. Goggin, C. L. Phylogenetic position of the genus *Perkinsus* (Protista, Apicomplexa) based on small subunit ribosomal RNA. / C. L. Goggin, S. C. Barker // Mol. Biochem. Parasitol. – 1993. – V. 60. – N. 1. – P. 65–70.
132. Goodrich, H. P. Observations on the gregarines of *Chiridota*. / H. P. Goodrich // Quart. J. Micr. Sci. – 1925. – V. 69. – P. 619–628.
133. Goodrich, H. P. Sporozoa of Sipunculus. / H. P. Goodrich // Quart. J. Micr. Sci. – 1950. – V. 91. – N. 4. – P. 469–476.
134. Grassé, P. P. Classe des grégarinomorphes (Gregarinomorpha n. nov.; Gregarinae Haeckel, 1866; Gregarinidea Lankester, 1885; gregarines des auteurs). / P. P. Grassé // In: Traité de Zoologie, t. 1, fasc. 2. Masson, Paris, 1953. – P. 550–690.
135. Gubbels, M. – J. *Toxoplasma gondii*'s basal complex: the other apicomplexan business end is multifunctional. / M. Gubbels, D. J. P. Ferguson, S. Saha, J. D. Romano, S. Chavan, V. A. Primo, C. Michaud, I. Coppens, K. Engelberg // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2022. – V. 12. – P. 882166.
136. Gunderson, J. *Selenidium vivax* n. sp. (Protozoa, Apicomplexa) from the sipunculid *Phascolosoma agassizii* Keferstein, 1867. / J. Gunderson, E. B. Small // J. Parasitol. – 1986. – V. 72. – P. 107–110.
137. Håkansson, S. Time-lapse video microscopy of gliding motility in *Toxoplasma gondii* reveals a novel, biphasic mechanism of cell locomotion. / S. Håkansson, H. Morisaki, J. Heuser, L. D. Sibley // Mol. Biol. Cell. – 1999. – V. 10. – N. 11. – P. 3539–3547.
138. Han, B. Invasion of host cells by microsporidia. / B. Han, P. M. Takvorian, L. M. Weiss // Front. Microbiol. – 2020. – режим доступа: doi:10.3389/fmicb.2020.00172.
139. Hashim, A. Interaction of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* with primary human and bovine intestinal cells. / A. Hashim, B. Bourke, M. Clyne // Infect. Immun. – 2006. – V. 74. – P. 99–107.
140. He, C. Y. A plastid segregation defect in the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. / C. Y. A. He, M. K. Shaw, C. H. Pletcher, B. Striepen, L. G. Tilney, D. S. Roos // EMBO J. – 2001. – V. 20. – P. 330–339.
141. Heintzelman, M. B. GpMyoF, a WD40 repeat-containing myosin associated with the myonemes of *Gregarina polymorpha*. / M. B. Heintzelman, M. J. Mateer // J. Parasitol. – 2008. – V. 94. – P. 158–168.
142. Heintzelman, M. B. Gliding motility in apicomplexan parasites. / M. B. Heintzelman // Semin. Cell Dev. Biol. – 2015. – V. 46. – P. 135–142.
143. Heintzelman, M. B. Actin and myosin in *Gregarina polymorpha*. / M. B. Heintzelman // Cell Motil. Cytoskel. – 2004. – V. 58. – P. 83–95.

144. Held, A. A. III. Development of endoparasitic, zoosporic fungi. / A. A. Held // Bull. Torrey Bot. Club. – 1973. – V. 100. – P. 203–216.
145. Heller, G. A scanning electron microscope study on *Gregarina* sp. from *Udeopsylla nigra*. / G. A. Heller, R. W. Weise // J. Protozool. – 1973. – V. 20. – N. 1. – P. 61–64.
146. Henneguy, L. F. Sur une Grégarine parasite des Ophélie. / L. F. Henneguy // C. R. Assoc. Fr. Avanc. Sci. – 1907. – V. 36. – P. 633–636.
147. Hesse, E. Contribution à l'étude des monocystidées des oligochètes. / E. Hesse // Archives de zoologie expérimentale et générale. – 1909. – V. 43. – P. 27–301.
148. Hiillos, A. L. Droplet digital PCR as a tool for investigating dynamics of cryptic symbionts. / A. L. Hiillos, A. Thonig, K. E. Knott // Ecology and evolution. – 2021. – V. 11. – N. 23. – P. 17381–17396.
149. Hildebrand, H. Observations ultrastructurales sur le stade plasmodial de *Metchnikovella wohlfarthi* Hildebrand et Vivier 1971, microsporidia hyperparasite de la grégarine *Lecudina tuzetae*. / H. Hildebrand // Protistologica. – 1974. – V. 10. – P. 5–15.
150. Hildebrand, H. Observations ultrastructurales sur le sporoblaste de *Metchnikovella wohlfarthi*, n. sp. (Microsporidies), parasite de la grégarine *Lecudina tuzetae*. / H. Hildebrand, E. Vivier // Protistologica. – 1971. – V. 7. – P. 131–139.
151. Hildebrand, H. F. Electron-microscopic investigation on evolution stages of trophozoite of *Didymophyes gigantea* (Sporozoa, Gregarinida). 1. Fine structure of protomerite and epimerite and relationship between host and parasite. / H. F. Hildebrand // Z. Parasitenkd. – 1976. – V. 49. – P. 193–215.
152. Hildebrand, H. F. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Entwicklungsstadien des Trophozoiten von *Didymophyes gigantea* (Sporozoa, Gregarinida). III. Die Feinstruktur des Epizyten mit besonderer Berücksichtigung der kontraktile Elemente. / H. F. Hildebrand // Z. Parasitenkd. – 1980. – V. 64. – P. 29–46.
153. Hoshide, K. The fine structure of cell surface and hair-like projections of *Filipodium ozakii* Hukui, 1939 gamonts. / K. Hoshide, K. S. Todd // Acta Protozool. – 1996. – V. 35. – N. 4. – P. 309–315.
154. Huang, B. Q. *Cryptosporidium parvum* attachment to and internalization by human biliary epithelia in vitro: A morphologic study. / B. Q. Huang, X. M. Chen, N. F. LaRusso // J. Parasitol. – 2004a. – V. 90. – P. 212–221.
155. Huang, J. Phylogenomic evidence supports past endosymbiosis, intracellular and horizontal gene transfer in *Cryptosporidium parvum*. / J. Huang, N. Mullapudi, C. A. Lancto, M. Scott, M. S. Abrahamsen, J. C. Kissinger // Genome Biol. – 2004b. – V. 5. – P. R88.

156. Janouškovec, J. A common red algal origin of the apicomplexan, dinoflagellate, and heterokont plastids. / J. Janouškovec, A. Horák, M. Oborník, J. Lukeš, P. J. Keeling // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – V. 107. – P. 10949–10954.
157. Janouškovec, J. Evolution: causality and the origin of parasitism. / J. Janouškovec, P. J. Keeling // Curr. Biol. – 2016. – V. 26. – P. R174–R177.
158. Janouškovec, J. Apicomplexan-like parasites are polyphyletic and widely but selectively dependent on cryptic plastid organelles. / J. Janouškovec, G. G. Paskerova, T. S. Miroljubova, K. V. Mikhailov, T. Birley, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // eLife. – 2019. – V. 8. – P. e49662.
159. Janouškovec, J. Factors mediating plastid dependency and the origins of parasitism in apicomplexans and their close relatives. / J. Janouškovec, D. V. Tikhonenkov, F. Burki, A. T. Howe, M. Kolísko, A. P. Mylnikov, P. J. Keeling // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – V. 112. – P. 10200–10207.
160. Jirků, M. A model for taxonomic work on homoxenous Coccidia: redescription, host specificity, and molecular phylogeny of *Eimeria ranae* Dobell, 1909, with a review of anuran–host *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriorina). / M. Jirků, M. Jirků, M. Oborník, J. Lukeš, D. Modry // J. Eukaryot. Microbiol. – 2009. – V. 56. – P. 39–51.
161. Jirků, M. The phylogeny of *Goussia* and *Choleoeimeria* (Apicomplexa; Eimeriorina) and the evolution of excystation structures in coccidia. / M. Jirků, D. Modry, J. R. Šlapeta, B. Koudela, J. Lukeš // Protist. – 2002. – V. 153. – P. 379–390.
162. Jomaa, H. Inhibitors of the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. / H. Jomaa, J. Wiesner, S. Sanderbrand, B. Altincicek, C. Weidemeyer, M. Hintz, I. Turbachova, M. Eberl, J. Zeidler, H. K. Lichtenthaler, D. Soldati, E. Beck // Science. – 1999. – V. 285. – P. 1573–1576.
163. Kamm, W. M. Studies on gregarinies II. Synopsis of the polycystid gregarines of the world, excluding those from the Myriapoda, Orthoptera, and Coleoptera. / W. M. Kamm // Illinois Biological Monographs. – 1922. – V. VII. – N. 1. – P. 1–103.
164. Karpov, S. A. The aphelids, intracellular parasitoids of algae, consume host cytoplasm “from the inside”. / S. A. Karpov, G. G. Paskerova // Protistology. – 2020. – V. 14. – N. 4. – P. 258–263.
165. Karpov, S. A. Morphology, phylogeny, and ecology of the aphelids (Aphelidea, Opisthokonta) and proposal for the new superphylum Opisthosporidia. / S. A. Karpov, M. A. Mamkaeva, V. V. Aleoshin, E. Nassonova, O. Lilje, F. H. Gleason // Front. Microbiol. – 2014. – V. 5. – P. 1–11.
166. Karpov, S. A. Morphology and molecular phylogeny of *Aphelidium insulamus* sp. nov. (Aphelida, Opisthosporidia). / S. A. Karpov, A. E. Vishnyakov, P. López-García, N. A. Zorina, M. Ciobanu, V. S. Tcvetkova, D. Moreira // Protistology. – 2020. – V. 14. – P. 191–203.

167. Karpov, S. A. Morphological and genetic diversity of Opisthosporidia: new aphelid *Paraphelidium tribonemae* gen. et sp. nov. / S. A. Karpov, V. S. Tsvetkova, M. A. Mamkaeva, G. Torruella, H. Timpano, D. Moreira, K. S. Mamanazarova, P. López-García // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2017. – V. 64. – P. 204–212.
168. Keeley, A. The glideosome: a molecular machine powering motility and host–cell invasion by Apicomplexa. / A. Keeley, D. Soldati // *Trends Cell Biol.* – 2004. – V. 14. – N. 10. – P. 528–532.
169. Keeling, P. J. Corallicolids: The elusive coral–infecting apicomplexans. / P. J. Keeling, V. Mathur, W. K. Kwong // *PLoS Pathog.* – 2021. – V. 17. – N. 9. – P. e1009845.
170. Kim, S. H. Fine structure of epicytoplasmic stages of *Eimeria vanasi* from the gut of cichlid fish. / S. H. Kim, I. Paperna // *Dis. Aquat. Org.* – 1992. – V. 12. – P. 191–197.
171. King, C. A. Cell surface interaction of the protozoan *Gregarina* with concanavalin A beads—implications for models of gregarine gliding. / C. A. King // *Cell Biol. Int. Rep.* – 1981. – V. 5. – P. 297–305.
172. King, C. A. Cell motility of sporozoan protozoa. / C. A. King // *Parasitol. Today.* – 1988. – V. 4. – P. 297–305.
173. Kolářová, I. Hide–and–seek: A game played between parasitic protists and their hosts. / I. Kolářová, A. Valigurová // *Microorganisms.* – 2021. – V. 9. – P. 2434.
174. Koreny, L. Stable endocytic structures navigate the complex pellicle of apicomplexan parasites. / L. Koreny, B. N. Mercado–Saavedra, C. M. Klinger, K. Barylyuk, S. Butterworth, J. Hirst, Y. Rivera–Cuevas, N. R. Zaccai, V. J. C. Holzer, A. Klingl, et al. // *Nat. Commun.* – 2023. – V. 14. – P. 2167.
175. Kováčiková, M. Motility and cytoskeletal organisation in the archigregarine *Selenidium pygospionis* (Apicomplexa): observations on native and experimentally affected parasites. / M. Kováčiková, G. G. Paskerova, A. Diakin, T. G. Simdyanov, N. Vaškovicová, A. Valigurová // *Parasitol. Res.* – 2019. – V. 118. – P. 2651–2667.
176. Kováčiková, M. Structures related to attachment and motility in the marine eugregarine *Cephaloidophora* cf. *communis* (Apicomplexa). / M. Kováčiková, T. G. Simdyanov, A. Diakin, A. Valigurová // *Eur. J. Protistol.* – 2017. – V. 59. – P. 1–13.
177. Kuvardina, O. N. The phylogeny of colpodellids (Alveolata) using small subunit rRNA gene sequences suggests they are the free–living sister group to apicomplexans. / O. N. Kuvardina, B. S. Leander, V. V. Aleshin, A. P. Myl'nikov, P. J. Keeling, T. G. Simdyanov // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2002. – V. 49. – N. 6. – P. 498–504.

178. Kuvardina, O. N. Fine structure of syzygy in *Selenidium pennatum* (Sporozoa, Archigregarinida). / O. N. Kuvardina, T. G. Simdyanov // Protistology. – 2002. – V. 2. – P. 169–177.
179. Kwong, W. K. Taxonomy of the apicomplexan symbionts of coral, including Corallicolida ord. nov., reassignment of the genus *Gemmocystis*, and description of new species *Corallicola aquarius* gen. nov. sp. nov. and *Anthozoaphila gnarlus* gen. nov. sp. nov. / W. K. Kwong, N. A. T. Irwin, V. Mathur, I. Na, N. Okamoto, M. J. A. Vermeij, P. J. Keeling // J. Eukaryot. Microbiol. – 2021. – P. e12852.
180. Lacey, S. M. *Epieimeria anguillae* (Léger & Hollande, 1922) Dyková & Lom, 1981 (Apicomplexa: Eucoccidia) in the European eel, *Anguilla anguilla* (L.). / S. M. Lacey, I. C. Williams // J. Fish Biology. – 1983. – V. 23. – P. 605–609.
181. Lamarque, M. H. Plasticity and redundancy among AMA–RON pairs ensure host cell entry of *Toxoplasma* parasites. / M. H. Lamarque, M. Roques, M. Kong–Hap, M. L. Tonkin, G. Rugarabamu, J. – B. Marq, D. M. Penarete–Vargas, M. J. Boulanger, D. Soldati–Favre, M. Lebrun // Nat. Commun. – 2014. – V. 5. – P. 4098.
182. Landers, S. C. *Pterospora schizosoma*, a new species of aseptate gregarine from the coelom of *Axiiothella rubrocincta* (Polychaeta, Maldanidae). / S. C. Landers, J. Gunderson // J. Protozool. – 1986. – V. 33. – P. 297–300.
183. Landers, S. C. Comparative surfacemorphology of marine coelomic gregarines (Apicomplexa Urosporidae): *Pterospora floridiensis* and *Pterospora schizosoma*. / S. C. Landers, B. S. Leander // J. Eukaryot. Microbiol. – 2005. – V. 52. – P. 23–30.
184. Landers, S. C. *Pterospora demodendrion* sp. nov. and *Pterospora clymenellae*, acephaline eugregarines from coastal North Carolina. / S. C. Landers // Eur. J. Protistol. – 1991. – V. 27. – P. 55–59.
185. Landers, S. C. *Pterospora floridiensis*, a new species of acephaline gregarine (Apicomplexa) from the maldanid polychaete *Axiiothella mucosain* St. Andrew Bay, Florida. / S. C. Landers // Syst. Parasitol. – 2001. – V. 48. – P. 55–59.
186. Larsson, J. I. R. The Primitive Microsporidia. In: Microsporidia: Pathogens of Opportunity. / J. I. R. Larsson. John Wiley and Sons, Inc., Ames, Iowa, 2014. – P. 605–634.
187. Lax, G. Phylogenomic diversity of archigregarine apicomplexans. / G. Lax, E. Park, I. Na, V. Jacko-Reynolds, W. K. Kwong, C. S. E. House, M. Trznadel, K. Wakeman, B. S. Leander, P. Keeling // Open Biol. – 2024. – V. 14. – P. 240141.
188. Leander, B. S. Morphostasis in alveolate evolution. / B. S. Leander, P. J. Keeling // Trends Ecol. Evol. – 2003. – V. 18. – N. 8. – P. 395–402.

189. Leander, B. S. Early evolutionary history of dinoflagellates and apicomplexans (Alveolata) as inferred from Hsp90 and actin phylogenies. / B. S. Leander, P. J. Keeling // *J. Phycol.* – 2004. – V. 40. – P. 341–350.
190. Leander, B. S. Molecular phylogeny and surface morphology of *Colpodella edax* (Alveolata): insights into the phagotrophic ancestry of Apicomplexans. / B. S. Leander, O. N. Kuvardina, V. V. Aleshin, A. P. Mylnikov, P. J. Keeling // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2003. – V. 50. – N. 5. – P. 334–340.
191. Leander, B. S. Phylogeny of marine gregarines (Apicomplexa) — *Pterospora*, *Lithocystis* and *Lankesteria* — and the origin(s) of coelomic parasitism. / B. S. Leander, S. A. J. Lloyd, W. Marshall, S. C. Landers // *Protist.* – 2006. – V. 157. – P. 45–60.
192. Leander, B. S. Ultrastructure of the archigregarine *Selenidium vivax* (Apicomplexa) — A dynamic parasite of sipunculid worms (host: *Phascolosoma agassizii*). / B. S. Leander // *Mar. Biol. Res.* – 2006. – V. 2. – P. 178–190.
193. Leander, B. S. Molecular phylogeny and ultrastructure of *Selenidium serpulae* (Apicomplexa, Archigregarinia) from the calcareous tubeworm *Serpula vermicularis* (Annelida, Polychaeta, Sabellida). / B. S. Leander // *Zool. Scr.* – 2007. – V. 36. – P. 213–227.
194. Leander, B. S. Marine gregarines: evolutionary prelude to the apicomplexan radiation? / B. S. Leander // *Trends Parasitol.* – 2008a. – V. 24. – P. 60–67.
195. Leander, B. S. A hierarchical view of convergent evolution in microbial eukaryotes. / B. S. Leander // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2008b. – V. 55. – P. 59–68.
196. Leander, B. S. Cellular identity of a novel small subunit rDNA sequence clade of apicomplexans: description of the marine parasite *Rhytidocystis polygordiae* n. sp. (host: *Polygordius* sp., Polychaeta). / B. S. Leander, P. A. Ramey // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2006. – V. 53. – N. 4. – P. 280–91.
197. Léger, L. *Selenococcidium intermedium* Lég. et Dub. et la systématique des Sporozoaires. / L. Léger, O. Duboscq // *Arch. Zool. Exp. Gen. Ser.* – 1910. – V. 5. – P. 187–238.
198. Léger, L. Les Schizogregarines des Tracheates. II. Legenre *Schizocystis*. / L. Léger // *Arch. Protistenkd.* – 1909. – V. 18. – P. 5–15.
199. Léger, L. Recherches sur les grégarines. / Louis Léger. – Thèses pour obtenir le grade de docteur ès sciences naturelles. La faculté des sciences de Paris, Académie de Paris, Paris. – 1892. – 201 pp.
200. Léger, L. 1893. L'évolution des grégarines intestinales des vers marins. / L. Léger // *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences.* – 1893. – V. 116. – P. 204–206.

201. Letcher, P. M. Morphological, molecular, and ultrastructural characterization of *Rozella rhizoclosmatii*, a new species in Cryptomycota. / P. M. Letcher, J. E. Longcore, C. A. Quandt, D. Leite, T. Y. James, M. J. Powell // Fungal Biology. – 2017. – V. 121. – P. 1–10.
202. Levine, N. D. A newly revised classification of the protozoa. / N. D. Levine, J. O. Corliss, F. E. Cox, G. Deroux, J. Grain, B. M. Honigberg, G. F. Leedale, A. R. Loeblich, J. Lom, D. Lynn, E. G. Merinfeld, F. C. Page, G. Poljansky, V. Sprague, J. Vavra, F. G. Wallace // J. Protozool. – 1980. – V. 27. – N. (1):37–58.
203. Levine, N. D. Taxonomy of the Sporozoa. / N. D. Levine // J. Protozool. – 1970. – V. 56. – P. 208–209.
204. Levine, N. D. Taxonomy of the Archigregarinorida and Selenidiidae (Protozoa, Apicomplexa). / N. D. Levine // J. Protozool. – 1971b. – V. 18. – P. 704–717.
205. Levine, N. D. Uniform terminology for the protozoan subphylum Apicomplexa. / N. D. Levine // J. Protozool. – 1971a. – V. 18. – N. 2. – P. 352–355.
206. Levine, N. D. Revision and checklist of the species (other than *Lecudina*) of the aseptate gregarine family Lecudinidae. / N. D. Levine // J. Protozool. – 1977a. – V. 24. – N. 1. – P. 41–52.
207. Levine, N. D. Checklist of the species of the aseptate gregarine family Urosporidae. / N. D. Levine // Internat. J. Parasitol. – 1977b. – V. 7. – P. 101–108.
208. Levine, N. D. Agamococcidiorida ord. n. and Rhytidocystidae fam. n. fro the coccidian genus *Rhytidocystis* Henneguy, 1907. / N. D. Levine // J. Protozool. – 1979. – V. 26. – N. 2. – P. 167–168.
209. Levine, N. D. Phylum 2. Apicomplexa Levine, 1970. / N. D. Levine. In: An illustrated guide to the Protozoa. Society of Protozoologists, Kansas, 1985. – P. 322–374.
210. Lim, L. The evolution, metabolism and functions of the apicoplast. / L. Lim, G. I. McFadden // Phil. Trans. R. Soc. B. – 2010. – V. 365. – P. 749–763.
211. Lom, J. Some marine fish coccidia of the genera *Eimeria* Schneider, *Epieimeria* Dykova & Lom and *Goussia* Labbe. / J. Lom, I. Dyková // J. Fish Dis. – 1982. – V. 5. – P. 309–321.
212. Lovett, J. L. *Toxoplasma gondii* microneme secretion involves intracellular Ca<sup>2+</sup> release from IP<sub>3</sub>/ryanodine sensitive stores. / J. L. Lovett, N. Marchesini, S. N. Moreno, L. D. Sibley // J. Biol. Chem. – 2002. – V. 277. – P. 25870–25876.
213. Lovett, J. L. Intracellular calcium stores in *Toxoplasma gondii* govern invasion of host cells. / J. L. Lovett, L. D. Sibley // J. Cell Sci. – 2003. – V. 116. – Pt 14. – P. 3009–3016.
214. Lucarotti, C. J. Cytology of *Leidyana canadensis* (Apicomplexa: Eugregarinida) in *Lambdina fiscellaria fiscellaria* Larvae (Lepidoptera: Geometridae). / C. J. Lucarotti // J. Invert. Pathol. – 2000. – V. 75. – P. 117–125.

215. Lukeš, J. Ultrastructure of the life-cycle stages of *Goussia janae* (Apicomplexa, Eimeriidae), with X-ray microanalysis of accompanying precipitates. / J. Lukeš, V. Starý // *Can. J. Zool.* – 1992. – V. 70. – P. 2382–2397.
216. Lukeš, J. Life cycle of *Goussia pannonica* (Molnar, 1989) (Apicomplexa, Eimeriorina), an extracytoplasmic coccidium from the white bream *Blicca bjoerkna*. / J. Lukeš // *J. Protozool.* – 1992. – V. 39. – P. 484–494.
217. Lukeš, J. A coccidian (Apicomplexa: Eimeriidae) with extracytoplasmally located stages in the kidney tubules of golden carp (*Carassius auratus gibelio* L.) (Cyprinidae). / J. Lukeš // *Folia Parasitol.* – 1993. – V. 40. – P. 1–7.
218. Lumb, R. Ultrastructure of the attachment of *Cryptosporidium* sporozoites to tissue culture cells. / R. Lumb, K. Smith, P. J. O'Donoghue, J. A. Lanser // *Parasitol. Res.* – 1988. – V. 74. – P. 531–536.
219. MacGregor, H. C. The fine structure of two archigregarines *Selenidium fallax* and *Dirtypanocystis cirratuli*. / H. C. MacGregor, P. A. Thomasson // *J. Protozool.* – 1965. – V. 12. – P. 438–443.
220. Mackenzie, C. Substrate contact, mucus, and eugregarine gliding. / C. Mackenzie, M. H. Walker // *J. Protozool.* – 1983. – V. 30. – P. 3–8.
221. Mackinnon, D. L. Class Sporozoa. / D. L. Mackinnon, R. S. J. Hawes. // In: *An Introduction to the Study of Protozoa*. Oxford, Clarendon Press, 1961. – P. 157–213.
222. Mackinnon, D. L. Observations on dicystid gregarines from marine worms. / D. L. Mackinnon, H. N. Ray // *Q. J. Microsc. Sci.* – 1931. – V. 74. – P. 439–466.
223. MacMillan, W. G. Conformation changes in the cortical region during peristaltic movements of a gregarine trophozoite. / W. G. MacMillan // *J. Protozool.* – 1973. – V. 20. – P. 267–274.
224. Mathur, V. Global diversity and distribution of close relatives of apicomplexan parasites. / V. Mathur, J. del Campo, M. Kolisko, P. J. Keeling // *Environ. Microbiol.* – 2018. – V. 20. – N. 8. – P. 2824–2833.
225. Mathur, V. Phylogenomics identifies a new major subgroup of Apicomplexans, Marosporida class nov., with extreme apicoplast genome reduction. / V. Mathur, W. K. Kwong, F. Husnik, N. A. T. Irwin, A. Kristmundsson, C. Gestal, M. Freeman, P. J. Keeling // *Genome Biol. Evol.* – 2021. – V. 13. – N. 2. – P. evaa244.
226. McDonald, V. Localization of parasite antigens in *Cryptosporidium parvum*-infected epithelial cells using monoclonal antibodies. / V. McDonald, M. V. McCrossan, F. Petry // *Parasitology.* – 1995. – V. 110. – P. 259–268.
227. McFadden, G. I. The apicoplast. / G. I. McFadden // *Protoplasma.* – 2011. – V. 248. – P. 641–650.

228. Melicherová, J. Response of cell lines to actual and simulated inoculation with *Cryptosporidium proliferans*. / J. Melicherová, L. Hofmannová, A. Valigurová // Eur. J. Protistol. – 2018. – V. 62. – P. 101–121
229. Mellor, J. S. Microtubules and the propagation of bending waves by the archigregarine, *Selenidium fallax*. / J. S. Mellor, H. Stebbings // J. Exp. Biol. – 1980. – V. 87. – P. 149–161.
230. Mesnil, F. Sur les Metchnikovellidae et autres Protistes parasites des Grégarines d'Annélides. / F. Mesnil // Bull. Inst. Pasteur. – 1915. – V. 13. – P. 359.
231. Miles, H. B. The contractile system of the acephaline gregarine *Nematocystis magna*: Observations by electron microscope. / H. B. Miles // Rev. Iber. Parasitol. – 1966. – V. 26. – P. 361–368.
232. Miles, H. B. The fine structure of the epicyte of the acephaline gregarines *Monocystis lumbriciolidi*, and *Nematocystis magna*: observations by electron microscope. / H. B. Miles // Rev. Iber. Parasitol. – 1968. – V. 28. – P. 455–465.
233. Mingazzini, P. Gregarine monocistidee, nuove o poco conosciute, del Golfo di Napoli. / P. Mingazzini // Atti Della Reale Accademia Dei Lincei. Rendiconti. – 1891. – V. 7. – P. 229–235.
234. Mioliubova, T. S. Polyphyletic origin, intracellular invasion, and meiotic genes in the putatively asexual agamococcidians (*Apicomplexa incertae sedis*). / T. S. Mioliubova, T. G. Simdyanov, K. V. Mikhailov, V. V. Aleoshin, J. Janouškovec, P. A. Belova, G. G. Paskerova // Scientific Reports. – 2020. – V. 10. – P. 1–17.
235. Molnár, K. Light and electron microscopic studies on *Epieimeria anguillae* (Léger & Hollande, 1922), a coccidium parasitizing the European eel, *Anguilla anguilla* L. / K. Molnár, F. Baska // J. Fish Dis. – 1986. – V. 9. – P. 99–110.
236. Moore, R. B. A photosynthetic alveolate closely related to apicomplexan parasites. / R. B. Moore, M. Obornik, J. Janouškovec, T. Chrudimsky, M. Vancova, D. H. Green, S. W. Wright, N. W. Davies, C. J. Bolch, K. Heimann, J. Šlapeta, O. Hoegh–Guldberg, J. M. Logsdon, D. A. Carter // Nature. – 2008. – V. 451. – P. 959–963.
237. Morano, A. A. The ringleaders: understanding the apicomplexan basal complex through comparison to established contractile ring systems. / A. A. Morano, J. D. Dvorin // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2021. – V. 11. – P. 656976.
238. Morrissette, N. S. Cytoskeleton of apicomplexan parasites. / N. S. Morrissette, L. D. Sibley // Microbiol Mol Biol R. – 2002. – V. 66. – P. 21–38.
239. Münter, S. *Plasmodium* sporozoite motility is modulated by the turnover of discrete adhesion sites. / S. Münter, B. Sabass, C. Selhuber–Unkel, M. Kudryashev, S. Hegge, U. Engel, J. P. Spatz, K. Matuschewski, U. S. Schwarz, F. Frischknecht // Cell Host Microbe. – 2009. – V. 6. – N. 6. – P. 551–562.

240. Na, I. Phylogenomics reveals Adeleorina are an ancient and distinct subgroup of Apicomplexa / I. Na, C. Campos, G. Lax, W. K. Kwong, P. J. Keeling // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2024. – V. 195. – P. 108060.
241. Nassonova, E. S. Evolutionary relationships of *Metchnikovella dogieli* Paskerova et al., 2016 (Microsporidia: Metchnikovellidae) revealed by multigene phylogenetic analysis. / E. S. Nassonova, N. I. Bondarenko, G. G. Paskerova, M. Kováčiková, E. V. Frolova, A. V. Smirnov // *Parasitol. Res.* – 2021. – V. 120. – N. 2. – P. 525–534.
242. Nichols, B. A. Penetration of mouse peritoneal macrophages by the protozoon *Toxoplasma gondii*. New evidence for active invasion and phagocytosis. / B. A. Nichols, G. R. O'Connor // *Lab Invest.* – 1981. – V. 44. – P. 324–335.
243. Oborník, M. Morphology, ultrastructure and life cycle of *Vitrella brassicaformis* n. sp., n. gen., a novel chromerid from the Great Barrier Reef. / M. Oborník, D. Modry, M. Lukeš, E. Cernotíková–Stříbrná, J. Cihlář, M. Tesařová, E. Kotabová, M. Vancová, O. Prášil, J. Lukeš // *Protist.* – 2012. – V. 163. – N. 2. – P. 306–323.
244. O'Hara, S. P. A novel *Cryptosporidium parvum* antigen, CP2, preferentially associates with membranous structures. / S. P. O'Hara, J. R. Yu, J. J. Lin // *Parasitol. Res.* – 2004. – V. 92. – N. 4. – P. 317–27.
245. Opitz, C. 'The glideosome': a dynamic complex powering gliding motion and host cell invasion by *Toxoplasma gondii*. / C. Opitz, D. Soldati // *Mol. Microbiol.* – 2002. – V. 45. – N. 3. – P. 597–604.
246. Ormierès, R. Etude ultrastructurale de la partie antérieure d'*Epicavus araeoceri* Ormierès et Daumal, eugrégarine parasite du coléoptère anthribidae *Araeocerus fasciculatus* de Geer. / R. Ormierès, J. Daumal // *Protistologica*. – 1970. – V. 6. – P. 97–111.
247. Ormierès, R. *Pyxinia firmus* (Leger, 1892), eugrégarine parasite du coléoptère *Dermestes frischii* Kugel. Etude ultrastructurale. / R. Ormierès // *Zeitschr. Parasitenk.* – 1977. – V. 53. – P. 13–22.
248. Ouassi, M. A. Etude ultrastructurale de mucron d'une Grégarine du genre *Lecudina*, parasite intestinal d'*Audoinia tentaculata* (Annélide Polychète) et de ses rapports avec la cellule hôte. / M. A. Ouassi, E. Porchet–Hennerè // *Protistologica*. – 1978. – V. 14. – P. 39–52.
249. Paperna, I. Fine structure of the epicytoplasmic eimerid coccidium *Acroeimeria pintoii* Lainson & Paperna, 1999, a gut parasite of the lizard *Ameiva ameiva* in North Brazil. / I. Paperna, R. Lainson // *Parasite*. – 1999. – V. 6. – P. 359–364.
250. Paperna, I. Tubular formations extending from parasitophorous vacuoles in gut epithelial cells of cichlid fish infected by *Eimeria* (s.l.) *vanasi*. / I. Paperna, J. H. Landsberg // *Dis. Aquat. Org.* – 1987. – V. 2. – P. 239–242.

251. Paperna, I. Description and taxonomic discussion of eimerian coccidia from African and Levantine geckoes. / I. Paperna, J. H. Landsberg // *S. A. J. Zool.* – 1989. – V. 24. – P. 345–355.
252. Paperna, I. Fine structure of the gamonts of *Eimeria* (s. l.) *vanasi*, a coccidium from the intestine of cichlid fishes. / I. Paperna // *Dis. Aquat. Org.* – 1990. – V. 9. – P. 163–170.
253. Paperna, I. Fine structure of *Eimeria* (s. l.) *vanasi* merogony stages in the intestinal mucosa of cichlid fishes. / I. Paperna // *Dis. Aquat. Org.* – 1991. – V. 10. – P. 195–201.
254. Park, E. Molecular phylogeny of the Lecudinoidea (Apicomplexa): a major group of marine gregarines with diverse shapes, movements and hosts. / E. Park, B. S. Leander // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2024. – P. e13053.
255. Paskerova, G. G. Morphological and phylogenetic study of protococcidians sheds light on the evolution of epicellular parasitism in Sporozoa (Apicomplexa), with the description of *Eleutheroschizon planoratum* sp. nov. / G. G. Paskerova, T. S. Miroljubova, A. Valigurová, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // *Diversity.* – 2023. – V. 15. – N. 7. – P. 863.
256. Paskerova, G. G. Fine structure and molecular phylogenetic position of two marine gregarines, *Selenidium pygospionis* sp. n. and *S. pherusa* sp. n., with notes on the phylogeny of Archigregarinida. / G. G. Paskerova, T. S. Miroljubova, A. Diakin, M. Kováčiková, A. Valigurová, L. Guillou, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // *Protist.* – 2018. – V. 169. – N. 6. – P. 826–852.
257. Paskerova, G. G. Evidence from the resurrected family Polyrrhabdinidae Kamm, 1922 (Apicomplexa: Gregarinomorpha) supports the epimerite, an attachment organelle, as a major eugregarine innovation. G. G. Paskerova, T. S. Miroljubova, A. Valigurová, J. Janouškovec, M. Kováčiková, A. Diakin, Y. Y. Sokolova, K. V. Mikhailov, V. V. Aleoshin, T. G. Simdyanov // *PeerJ.* – 2021. – V. 9. – P. e11912.
258. Paskerova, G. G. *Metchnikovella dogieli* sp. n. (Microsporidia: Metchnikovellida), a parasite of archigregarines *Selenidium* sp. from polychaetes *Pygospio elegans*. / G. G. Paskerova, E. V. Frolova, M. Kováčiková, T. S. Panfilkina, E. S. Mesentsev, A. V. Smirnov, E. S. Nasonova // *Protistology.* – 2016. – V. 10. – N. 4. – P. 148–157.
259. Perkins, F. O. Phylum Apicomplexa. / F. O. Perkins, J. R. Barta, R. E. Clopton, M. A. Peirce, S. J. Upton // In: *An Illustrated Guide to the Protozoa.* Society of Protozoologists, Lawrence, KS (USA), 2000. – P. 190–370.
260. Perkins, M. E. Cpabc, a *Cryptosporidium parvum* Atpbinding cassette protein at the host–parasite boundary in intracellular stages. / M. E. Perkins, Y. A. Riojas, T. W. Wu, S. M. Le Blancq // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – V. 96. – P. 5734–5739.

261. Philippe, M. The three cortical membranes of the gregarines (parasitic protozoa). Characterization of the membrane proteins of *Gregarina blaberae*. / M. Philippe, J. Schrével // *Biochem J.* – 1982. – V. 201. – P. 455–464.
262. Philippe, M. The three cortical membranes of the gregarines (parasitic Protozoa). 3. Comparative studies of the membrane proteins among different sporozoan species during their vegetative phase. / M. Philippe, D. Vinckier, J. F. Dubremetz, J. Schrével // *J. Protozool.* – 1982. – V. 29. – N. 3. – P. 424–430.
263. Piro, F. An uninvited seat at the dinner table: How apicomplexan parasites scavenge nutrients from the host. / F. Piro, R. Focaia, Z. Dou, S. Masci, D. Smith, M. DiCristina // *Microorganisms.* – 2021. – V. 9. – P. 2592.
264. Porchet–Hennerè, E. Observations en microscopie photonique et électronique sur la sporogénèse de *Dehornia sthenelais* (n. gen., sp. n.), sporozoaire parasite de l'annelide polychete *Sthenelais boa* (Aphroditides). / E. Porchet–Hennerè // *Protistologica.* – 1972. – V. 8. – N. 2. – P. 245–255.
265. Porchet–Hennerè, E. *Diplauxis schréveli*, n. sp. gregarine parasite du coelome de l'annelide polychete *Platynereis dumerilii*: cycle et étude ultrastructurale préliminaire. / E. Porchet–Hennerè, A. Fischer // *Protistologica.* – 1973. – V. 9. – N. 4. – P. 437–454.
266. Powell, M. J. Fine structure of the unwallled thallus of *Rozella polyphagi* in its host *Polyphagus euglenae*. / M. J. Powell // *Mycologia.* – 1984. – V. 76. – P. 1039–1048.
267. Powell, M. J. Ultrastructure of early stages of *Rozella allomycis* (Cryptomycota) infection of its host, *Allomyces macrogynus* (Blastocladiomycota). / M. J. Powell, P. M. Letcher // *Fungal Biology.* – 2019. – V. 123. – P. 109–116.
268. Powell, M. J. Ultrastructural characterization of the host–parasite interface between *Allomyces anomalus* (Blastocladiomycota) and *Rozella allomycis* (Cryptomycota). / M. J. Powell, P. M. Letcher, T. Y. James // *Fungal Biol.* – 2017. – V. 121. – P. 561–572.
269. Ray, H. N. Studies on some Sporozoa in polychaete worms. I. Gregarines of the genus *Selenidium*. / H. N. Ray // *J. Parasitol.* – 1930. – V. 22. – P. 370–398.
270. Reichenow, E. Sporozoa. / E. Reichenow // In: *Lehrbuch der Protozoenkunde: eine Darstellung der Naturgeschichte der Protozoen mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen und pathogenen Formen.* Part II. Jena, Fünfte Auflage, 1929. – P. 863–1153.
271. Reichenow, E. Sporozoa. / E. Reichenow // In: *Die Tierwelt der Nord und Ostsee.* Leipzig, 1932. – V. 21 (Teil II). – P. 1–88.
272. Reynolds, E. S. The use of lead Citrate at a high pH as an electron opaque sStain in electron microscopy. / E. S. Reynolds // *Journal of Cell Biology.* – 1963. – V. 17. – P. 208–212.

273. Rotari, Yu. M. Diversity of metchnikovellids (Metchnikovellidae, Rudimicrosporea), hyperparasites of bristle worms (Annelida, Polychaeta) from the White Sea. / Yu. M. Rotari, G. G. Paskerova, Yu. Ya. Sokolova // Protistology. – 2015. – V. 9. – N. 1. – P. 50–59.
274. Roumégous, C. Identification of new components of the basal pole of *Toxoplasma gondii* provides novel insights into its molecular organization and functions. / C. Roumégous, A. Abou Hammoud, D. Fuster, J. – W. Dupuy, C. Blancard, B. Salin, D. R. Robinson, P. Renesto, I. Tardieux, K. Frénel // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2022. – V.12. – P. 1010038.
275. Rueckert, S. Morphology and molecular systematic of marine gregarines (Apicomplexa) from Southwestern Atlantic spionid polychaetes. / S. Rueckert, N. Glasinovich, M. E. Diez, F. Cremona, N. Vázquez // J. Invert. Pathol. – 2018. – V. 159. – P. 49–60.
276. Rueckert, S. Archigregarines of the English Channel revisited: New molecular data on *Selenidium* species including early described and new species and the uncertainties of phylogenetic relationships. / S. Rueckert, A. Horák // PLoS ONE. – 2017. – V. 12. – N. 11. – P. e0187430.
277. Rueckert, S. Molecular phylogeny and surface morphology of marine archigregarines (Apicomplexa), *Selenidium* spp., *Filipodium phascolosomae* n. sp. and *Platyproteum* n. g. and comb. from North–Eastern Pacific peanut worms (Sipuncula). / S. Rueckert, B. S. Leander // J. Eukaryot. Microbiol. – 2009a. – V. 56. – P. 428–439.
278. Rueckert, S. Phylogenetic position and description of *Rhytidocystis cyamus* sp. n. (Apicomplexa, Rhytidocystidae): a novel intestinal parasite of the north–eastern Pacific ‘stink worm’ (Polychaeta, Opheliidae, *Travisia pupa*). / S. Rueckert, B. S. Leander // Mar. Biodiv. – 2009b. – V. 39. – P. 227–234.
279. Ryan, U. It's official – *Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? / U. Ryan, A. Papparini, P. Monis, N. Hijjawi // Water Research. – 2016. – режим доступа: 10.1016/j.watres.2016.09.013.
280. Sanders, R. D. Fine structure and life cycle of *Lankesteria clarki* sp. n. (Sporozoa: Eugregarinida) parasitic in the mosquito *Aedes sierrensis* (Ludlow). / R. D. Sanders, O. Poinar // J. Protozool. – 1973. – V. 20. – N. 5. – P. 594–602.
281. Sathananthan, A. H. Cytochemical nature and fine structure of the gregarine *Zeylanocystis burti* Dissanaiké, with special reference to microfilaments, microtubules and movement. / A. H. Sathananthan // J. Protozool. – 1977. – V. 24. – N. 2. – P. 233–243.
282. Schnepf, E. "Myzocytosis", a kind of endocytosis with implications to compartmentation in endosymbiosis: observations in *Paulsenella* (Dinophyta). / E. Schnepf, G. Deichgräber // Naturwissenschaften. – 1984. – V. 71. – N. 4. – P. 218–219.

283. Schnepf, E. Elektronenmikroskopische Beobachtungen an Parasiten aus Scenedesmus-massenkulturen. / E. Schnepf, E. Hegewald, C. – J. Soeder // Arch. Mikrobiol. – 1971. – V. 75. – P. 209–229.
284. Scholtyseck, E. Ultrastructure. / E. Scholtyseck // In: The Coccidia: *Eimeria*, *Isospora*, *Toxoplasma*, and related genera. University Park Press, Baltimore, MD, 1973. – P. 81–144.
285. Scholtyseck, E. Ultrastructural study of characteristic organelles (paired organelles, micronemes, micropores) of sporozoa and related organisms. / E. Scholtyseck, H. Mehlhorn // Z. Parasitenkd. – 1970. – V. 34. – N. 2. – P. 97–127.
286. Scholtyseck, E. Electron microscope observations concerning the penetration of a host cell by *Eimeria ferrisi* in vivo. / E. Scholtyseck // Z. Parasitenk. – 1975. – V. 46. – P. 91–94.
287. Scholtyseck, E. Fine structure of parasite Protozoa. An atlas of micrographs, drawings and diagrams. / E. Scholtyseck. Springer—Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1979. – 206 p.
288. Schrével, J. The three cortical membranes of the gregarines. I. Ultrastructural organization of *Gregarina blaberae*. / J. Schrével, E. Caigneaux, D. Gros, M. Philippe // J. Cell Sci. – 1983. – V. 61. – P. 151–174.
289. Schrével, J. Ultrastructure of *Selenidium pendula*, the type species of archigregarines, and phylogenetic relations to other marine Apicomplexa. / J. Schrével, A. Valigurová, G. Prensier, A. Chambouvet, I. Florent, L. Guillou // Protist. – 2016. – V. 167. – P. 339–368.
290. Schrével, J. Etude de l'ultrastructure et du rôle de la région antérieure (mucron et epimérite) de Grégarines parasites d'Annélides Polychètes. / J. Schrével, E. Vivier // Protistologica. – 1966. – V. 2. – P. 17–28.
291. Schrével, J. Contribution à l'étude de trois Grégarines parasites d'Annélides Polychètes: *Lecudina elongata* Mingazzini, 1891; *Lecudina tuzetae* Schrével, 1963; *Gonospora varia* Léger, 1892. / J. Schrével // Arch. Zool. Exp. Gén. – 1964. – V. 104. – P. 125–142.
292. Schrével, J. Cycle de *Selenidium pendula* Giard, 1884, gregarine parasite de *Nerine cirratus* de Chiaje (annelide polychete). / J. Schrével // Protistologica. – 1966. – V. 2. – P. 31–34.
293. Schrével, J. Mouvements chez les grégarines. / J. Schrével // SFRS–CERIMES. – 1967. – Режим доступа: [www.canal-u.tv/video/cerimes/mouvements\\_chez\\_les\\_gregarines.13331](http://www.canal-u.tv/video/cerimes/mouvements_chez_les_gregarines.13331).
294. Schrével, J. L'ultrastructure de la région antérieure de la Gregarine *Selenidium* et son intérêt pour l'étude de la nutrition chez les Sporozoaires. / J. Schrével // J. Microsc. – 1968. – V. 7. – P. 391–410.
295. Schrével, J. Biologie, cytologie, physiologie des Grégarines parasites d'Annélides polychètes. / J. Schrével. Thèse doctorat. Faculté des Sciences de Lille. Lille, Université de Lille. CNRS AO 2570, 1969.

296. Schrével, J. Contribution à l'étude des Selenidiidae parasites d'annélides polychètes. 1.—Cycle biologiques. / J. Schrével // Protistologica. – 1970. – V. 6. – P. 389–426.
297. Schrével, J. Contribution à l'étude des selenidiidae parasites d'annélides Polychètes: II. Ultrastructure de quelques trophozoites. / J. Schrével // Protistologica. – 1971a. – V. 7. – P. 101–130.
298. Schrével, J. Observations biologiques et ultrastructurales sur les Selenidiidae et leurs conséquences sur la systematique des Gregarinomorphes. / J. Schrével // J. Protozool. – 1971b. – V. 18. – P. 448–470.
299. Schrével, J. S. Action de l'urée sur la motilité et les microtubules sous-pelliculaires de Protozoaire *Selenidium hollandei*. / J. Schrével, S. Buissonnet, M. M. Metais // C. R. Acad. Sc. Paris. – 1974. – V. 278. – P. 2201–2204.
300. Shaw, M. K. Cell invasion by *Theileria* sporozoites. / M. K. Shaw // Trends Parasitol. – 2003. – V. 19. – N. 1. – P. 2–6.
301. Sibley, L. D. Intracellular parasite invasion strategies. / L. D. Sibley // Science. – 2004. – V. 304. – N. 5668. – P. 248–53.
302. Siddal, M. E. Molecular determination of the phylogenetic position of a species in the genus *Colpodella* (Alveolata). / M. E. Siddal, K. S. Reece, T. A. Nerad, E. M. Bureson // American Museum Novitates. – 2001. – P. 3314.
303. Siedlecki, M. Quelques observations sur les rôles des amibocytes dans le coelome d'une Annélide. / M. Siedlecki // Ann. Inst. Pasteur. – 1903. – V. 17. – P. 449–462.
304. Simdyanov, T. G. A new view on the morphology and phylogeny of eugregarines suggested by the evidence from the gregarine *Ancora sagittata* (Leuckart, 1860) Labbé, 1899 (Apicomplexa: Eugregarinida). / T. G. Simdyanov, L. Guillou, A. Y. Diakin, K. V. Mikhailov, J. Schrével, V. V. Aleoshin // PeerJ. – 2017. – V. 5. – P. e3354.
305. Simdyanov, T. G. Fine structure and putative feeding mechanism of the archigregarine *Selenidium orientale* (Apicomplexa: Gregarinomorpha). / T. G. Simdyanov, O. N. Kuvardina // Eur. J. Protistol. – 2007. – V. 43. – P. 17–25.
306. Simdyanov, T. G. First ultrastructural and molecular phylogenetic evidence from the blastogregarines, an early branching lineage of plesiomorphic Apicomplexa. / T. G. Simdyanov, G. G. Paskerova, A. Valigurová, A. Diakin, M. Kováčiková, J. Schrével, L. Guillou, A. A. Dobrovolskij, V. V. Aleoshin // Protist. – 2018. – V. 169. – P. 697–726.
307. Soldati, D. Molecular and functional aspects of parasite invasion. / D. Soldati, B. J. Foth, A. F. Cowman // Trends Parasitol. – 2004. – V. 20. – P. 567–574.
308. Sokolova, Yu. Ya. Fine structure of *Metchnikovella incurvata* Caullery and Mesnil, 1914 (microsporidia), a hyperparasite of gregarines *Polyrhabdina* sp. from the polychaete *Pygospio*

- elegans*. / Yu. Ya. Sokolova, G. G. Paskerova, Yu. M. Rotari, E. S. Nasonova, A. V. Smirnov // Parasitology. – 2013. – V.140. – P. 855–867.
309. Sokolova, Yu. Ya. Description of *Metchnikovella spiralis* sp. n. (Microsporidia: Metchnikovellidae), with notes on the ultrastructure of metchnikovellids. / Yu. Ya. Sokolova, G. G. Paskerova, Yu. M. Rotari, E. S. Nasonova, A. V. Smirnov // Parasitology. – 2014. – V. 141. – P. 1108–1122.
310. Stebbings, H. Microtubules and movement in the archigregarine, *Selenidium fallax*. / H. Stebbings, G. A. Boe, P. R. Garlick // Cell Tissue Res. – 1974. – V. 148. – P. 331–345.
311. Stubblefield, J. W. The morphology and life history of *Amphiacantha ovalis* and *A. attenuata*, two new haplosporidian parasites of gregarines. / J. W. Stubblefield // J. Parasitol. – 1955. – V. 41. – N. 5. – P. 443–459.
312. Stoeck, T. Protistan diversity in the Arctic: a case of paleoclimate shaping modern biodiversity? / T. Stoeck, J. Kasper, J. Bunge, C. Leslin, V. Ilyin, S. Epstein // PLoS ONE. – 2007. – V. 2. – P. e728.
313. Théodoridès, J. Quelques eugregarines parasites d'Invertébrés marines de St. Andrews (Nouveau-Brunswick). / J. Théodoridès, M. Laird // Canad. Journ. Zool. – 1970. – V. 48. – P. 1013–1016.
314. Théodoridès, J. The phylogeny of the Gregarina (Sporozoa). / J. Théodoridès // Origins Life Evol. Biosphere. – 1984. – V. 13. – P. 339–342.
315. Thompson, R. C. A. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. / R. C. A. Thompson, M. E. Olson, G. Zhu, S. Enomoto, M. S. Abrahamsen, N. S. Hijjawi // Advances in parasitology. – 2005. – V. 59. – P. 77–158.
316. Tomova, C. New comprehension of the apicoplast of *Sarcocystis* by transmission electron tomography. / C. Tomova, W. J. C. Geerts, T. Müller-Reichert, R. Entzeroth, B. M. Humbel // Biol. Cell. – 2006. – V. 98. – P. 535–545.
317. Tomova, C. Membrane contact sites between apicoplast and ER in *Toxoplasma gondii* revealed by electron tomography. / C. Tomova, B. M. Humbel, W. J. C. Geerts, R. Entzeroth, J. C. M. Holthuis, A. J. Verkleij // Traffic. – 2009. – V. 10. – P. 1471–1480.
318. Toso, M. A. *Gregarina niphandrodes* may lack both a plastid genome and organelle. / M. A. Toso, C. K. Omoto // J. Eukaryot. Microbiol. – 2007. – V. 54. – P. 66–72.
319. Tronchin, G. Chronologie des modifications ultrastructurales au cours de la croissance de *Gregarina blaberae*. / G. Tronchin, J. Schrével // J. Protozool. – 1977. – V. 24. – P. 67–82.
320. Tuzet, O. *Selenidium flabelligerae* n. sp. parasite de *Flabelligera diplochaitos* Otto (Annélide sédentaire). / O. Tuzet, R. Ormieres // Ann Sci Nat Zool Ser. – 1958. – V. 11. – N. 20. – P. 71–76.

321. Tuzet, O. *Selenidium productum* nom. nov. pour *Selenidium flabelligerae* Tuz. et Orm., 1958, préemployé. / O. Tuzet, R. Ormieres // Vie et Milieu. – 1965. – V. 15. – P. 801–802.
322. Umemiya, R. Electron microscopic observation of the invasion process of *Cryptosporidium parvum* in severe combined immunodeficiency mice. / R. Umemiya, M. Fukuda, K. Fujisaki, T. Matsui // J. Parasitol. – 2005. – V. 91. – P. 1034–1039.
323. Upton S. J. A new and unusual species of coccidium (Apicomplexa: Agamococcidiorida) from Caribbean scleractinian corals. / S. J. Upton, E. C. Peters // Journal of Invertebrate Pathology. – 1986. – V. 47. – N. 2. – P. 184–193.
324. Valigurová, A. An ultrastructural comparison of the attachment sites between *Gregarina steini* and *Cryptosporidium muris*. / A. Valigurová, L. Hofmannová, B. Koudela, J. Vávra // J. Eukaryot. Microbiol. – 2007. – V. 54. – P. 495–510.
325. Valigurová, A. Cryptosporidia: epicellular parasites embraced by the host cell membrane. / A. Valigurová, M. Jirků, B. Koudela, M. Gelnar, D. Modry, J. Šlapeta. // Internat. J. Parasitol. – 2008. – V. 38. – P. 913–922.
326. Valigurová, A. Fine structure of trophozoites of the gregarine *Leidyana ephestiae* (Apicomplexa: Eugregarinida) parasitic in *Ephestia kuehniella* larvae (Lepidoptera). / A. Valigurová, B. Koudela // Eur. J. Protistol. – 2005. – V. 41. – P. 209–218.
327. Valigurová, A. Morphological analysis of the cellular interactions between the eugregarine *Gregarina garnhami* (Apicomplexa) and the epithelium of its host, the desert locust *Schistocerca gregaria*. / A. Valigurová, B. Koudela // Eur. J. Protistol. – 2008. – V. 44. – P. 197–207.
328. Valigurová, A. Eugregarine trophozoite detachment from the host epithelium via epimerite retraction: fiction or fact? / A. Valigurová, V. Michalková, B. Koudela // Internat. J. Parasitol. – 2009. – V. 39. – P. 1235–1242.
329. Valigurová, A. Protococcidian *Eleutheroschizon duboscqi*, an unusual apicomplexan interconnecting gregarines and cryptosporidia. / A. Valigurová, G. G. Paskerova, A. Diakin, M. Kováčiková, T. G. Simdyanov // PLoS ONE. – 2015. – V. 10. – N. 4. – P. e0125063.
330. Valigurová, A. Motility in blastogregarines (Apicomplexa): native and drug-induced organisation of *Siedleckia nematoides* cytoskeletal elements. / A. Valigurová, N. Vaškovicová, A. Diakin, G. G. Paskerova, T. G. Simdyanov, M. Kováčikova // PLoS ONE. – 2017. – V. 12. – N. 6. – P. e0179709.
331. Valigurová, A. The enigma of eugregarine epicytic folds: where gliding motility originates? / A. Valigurová, N. Vaškovicová, N. Musilová, J. Schrével // Frontiers in Zoology. – 2013. – V. 10. – P. 57.

332. Valigurová, A. Sophisticated adaptations of *Gregarina cuneata* (Apicomplexa) feeding stages for epicellular parasitism. / A. Valigurová // PLoS ONE. – 2012. – V. 7. – N. 8. – P. e42606.
333. Valigurová, A. Dispersal and invasive stages of *Urospora* eugregarines (Apicomplexa) from brown bodies of a polychaete host. / A. Valigurová, A. Diakin, M. Seifertová, N. Vaškovicová, M. Kováčiková, G. G. Paskerova // Journal of Invertebrate Pathology. – 2023. – V. 201. – P. 107997.
334. Valigurová, A. Nutrient acquisition and attachment strategies in basal lineages: A tough nuttocrack in the evolutionary puzzle of Apicomplexa. / A. Valigurová, I. Florent // Microorganisms. – 2021. – V. 9. – P. 1430.
335. Vávra, J. Scanning electron microscopy of gregarines (Protozoa, Sporozoa) and its contribution to the theory of gregarine movement. / J. Vávra, E. B. Small // J. Protozool. – 1969. – V. 16. – N. 4. – P. 745–757.
336. Vávra, J. *Lankesteria baretti* n. sp. (Eugregarinidae, Dyplocystidae), a parasite of the Mosquito *Aedes triseriatus* (Say) and review of the genus *Lankesteria* Mingazzini. / J. Vávra // J. Protozool. – 1969. – V. 16. – N. 03. – P. 546–570.
337. Vegni Talluri, M. Freeze–fracture study of the gregarine trophozoite: II. Evidence of “rosette” organization on cytomembranes in relation with micropore structure. / M. Vegni Talluri, R. Dallai // Boll. Zool. – 1983. – V. 50. – P. 245–255.
338. Vinckier, D. Organisation ultrastructurale corticale de la Grégarine *Monocystis herculea*. / D. Vinckier, E. Vivier // C. R. Acad. Sci. D. – 1968. – V. 266. – P. 1737–1739.
339. Vinckier, D. Organisation ultrastructurale corticale de quelques Monocystidées parasites du ver Oligochète *Lumbricus terrestris* L. / D. Vinckier // Protistologica. – 1969. – V. 5. – P. 505–517.
340. Vivier, E. Observations de cytologie comparée chez les sporozoaires. I.—Les structures superficielles chez les formes végétatives. / E. Vivier, G. Devauchelle, A. Petitprez, E. Porchet–Hennerè, G. Prensier, J. Schrével, D. Vinckier // Protistologica. – 1970. – V. 6. – P. 127–150.
341. Vivier, E. Les ultrastructures superficielles et leur évolution au niveau de la jonction chez les couples de *Diplauxis hatti*, gregarine parasite de *Perinereis cultrifera*. / E. Vivier, A. Petitprez // C. R. Acad. Sc. – 1968. – V. 266. – P. 491–493.
342. Vivier, E. Etude au microscope électronique de une gregarine du genre *Selenidium*, parasite de *Sabellaria alveolata* L. / E. Vivier, J. Schrével // J. Microsc. Paris. – 1964. – V. 3. – P. 651–670.
343. Vivier, E. Les ultrastructures cytoplasmiques de *Selenidium hollandei*, n. sp., Grégarine parasite de *Sabellaria alveolata* L. / E. Vivier, J. Schrével // J. Microsc. Paris. – 1966. – V. 5. – P. 213–228.

344. Vivier, E. Étude en microscopie photonique et électronique de différents stades du cycle de *Metchnikovella hovassei* et observations sur la position systématique des Metchnikovellidae. / E. Vivier, J. Schrével // Protistologica. – 1973. – V. 9. – P. 95–118.
345. Vivier, E. Étude, au microscope électronique, de la spore de *Metchnikovella hovassei* n. sp.: appartenance des Metchnikovellidae aux Microsporidies. / E. Vivier // C. R. Soc. Biol. – 1965. – V. 260. – P. 6982–6984.
346. Vivier, E. L'organisation ultrastructurale corticale de la gregarine *Lecudina pellucida*; ses rapports avec l'alimentation et la locomotion. / E. Vivier // J. Protozool. – 1968. – V. 15. – N. 2. – P. 230–246.
347. Vivier, E. Réflexions et suggestions à propos de la systématique des sporozoaires: création d'une classe des Hematozoa. / E. Vivier // Protistologica. – 1982. – V. 18. – P. 449–457.
348. Vivier, E. The microsporidia of the protozoa. / E. Vivier // Protistologica. – 1975. – V. 9. – N. 3. – P. 345–361.
349. Van Steenkiste, N. W. L. Patterns of host–parasite associations between marine meiofaunal flatworms (Platyhelminthes) and rhytidocystids (Apicomplexa). / N. W. L. Van Steenkiste, K. C. Wakeman, B. Söderström, B. S. Leander // Sci. Rep. – 2023. – V. 13. – N. 1. – P. 21050.
350. von Kölliker, A. Die Lehre von der thierischen Zelle und den einfacheren thierischen Formelementen, nach den neuesten Fortschritten dargestellt. / A. von Kölliker // Zeitschrift für wissenschaftliche Botanik. – 1845. – V. 1. – N. 2. – P. 46–102.
351. von Kölliker, A. Beiträge zur Kenntniss niederer Thiere. / A. von Kölliker // Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. – 1849. – V. 1. – P. 1–37.
352. Wakeman, K. C. Comparative ultrastructure and molecular phylogeny of *Selenidium melongena* n. sp. and *S. terebellae* Ray 1930 demonstrate niche partitioning in marine gregarine parasites (Apicomplexa). / K. C. Wakeman, M. B. Heintzelman, B. S. Leander // Protist. – 2014. – V. 165. – P. 493–511.
353. Wakeman, K. C. Morphology and molecular phylogeny of the marine gregarine parasite *Selenidium oshoroense* n. sp. (Gregarina, Apicomplexa) isolated from a Northwest Pacific *Hydroides ezoensis* Okuda 1934 (Serpulidae, Polychaeta). / K. C. Wakeman, T. Horiguchi // Mar. Biodiv. – 2017. – V. 48. – N. 8. – P. 1489–1499.
354. Wakeman, K. C. Molecular phylogeny of pacific archigregarines (Apicomplexa), including descriptions of *Veloxidium leptosynaptae* n. gen., n. sp., from the sea cucumber *Leptosynapta clarki* (Echinodermata), and two new species of *Selenidium*. / K. C. Wakeman, B. S. Leander // J. Eukaryot. Microbiol. – 2012. – V. 59. – P. 232–245.
355. Wakeman, K. C. Molecular phylogeny of marine gregarine parasites (Apicomplexa) from tube-forming polychaetes (Sabelliariidae, Cirratulidae, and Serpulidae), including descriptions of two

- new species of *Selenidium*. / K. C. Wakeman, B. S. Leander // J. Eukaryot. Microbiol. – 2013. – V. 60. – P. 514–525.
356. Wakeman, K. C. Molecular phylogeny of marine gregarines (Apicomplexa) from the Sea of Japan and the Northwest Pacific including the description of three novel species of *Selenidium* and *Trollidium akkeshiense* n. gen. n. sp. / K. C. Wakeman // Protist. – 2020. – V. 171. – P. 125710.
357. Walker, M. H. Freeze–fracture studies on the pellicle of the eugregarine, *Gregarina garnhami* (Eugregarinida, Protozoa). / M. H. Walker, N. J. Lane, W. M. Lee // J. Ultrastruct. Res. – 1984. – V. 88. – P. 66–76.
358. Waller, R. F. Nuclear–encoded proteins target to the plastid in *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum*. / R. F. Waller, P. J. Keeling, R. G. Donald, B. Striepen, E. Handman, N. Lang–Unnasch, A. F. Cowman, G. S. Besra, D. S. Roos, G. I. McFadden // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – V. 95. – N. 21. – P. 12352–12357.
359. Walsh, R. D. The fine structure of the gregarine *Lankesteria culicis* parasitic in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. / R. D. Walsh, C. S. Callaway // J. Protozool. – 1969. – V. 16. – N. 3. – P. 536–545.
360. Wan, W. The *Toxoplasma* micropore mediates endocytosis for selective nutrient salvage from host cell compartments. / W. Wan, H. Dong, D. H. Lai, J. Yang, K. He, X. Tang, Q. Liu, G. Hide, X. Q. Zhu, L. D. Sibley, et al. // Nat. Commun. – 2023. – V. 14. – P. 977.
361. Warner, F. D. The fine structure of *Rhynchocystis pilosa* (Sporozoa, Eugregarinida). / F. D. Warner // J. Protozool. – 1968. – V. 15. – P. 59–73.
362. WoRMS. / World Register of Marine Species, VLIZ, 2024. – Режим доступа: <https://www.marinespecies.org>.
363. Zhu, G. What is the phylogenetic position of *Cryptosporidium*? / G. Zhu, J. S. Keithly, H. Philippe // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2000. – V. 50. – N. 4. – P. 1673–1681.

## Список иллюстративного материала

### Список таблиц

Таблица 1 – Объем оригинального материала, вошедшего в диссертацию .....	13
Таблица 2 – Диагностические признаки архигрегариин из полихет семейства Spionidae .....	69
Таблица 3 – Диагностические признаки <i>Selenidium</i> spp. из полихет семейства Flabelligeridae .....	75
Таблица 4 – Влияние реагентов, модифицирующих или разрушающих актиновые филаменты и микротрубочки в клетке, на подвижность живых архигрегариин <i>Selenidium pygospionis</i> , изолированных из полихеты <i>Pygospio elegans</i> .....	80
Таблица 5 – Диагностические признаки микроспоридий рода <i>Metchnikovella</i> .....	89
Таблица 6 – Диагностические признаки бластогрегариин .....	113
Таблица 7 – Влияние реагентов, модифицирующих или разрушающих актиновые филаменты и микротрубочки в клетке, на подвижность живых <i>Siedleckia</i> cf. <i>nematoides</i> , паразитов полихеты <i>Scoloplos armiger</i> .....	124
Таблица 8 – Диагностические признаки эугрегариин рода <i>Polyrhabdina</i> .....	144
Таблица 9 – Диагностические признаки <i>Urospora ovalis</i> , <i>U. travisiae</i> , <i>U. chiridotae</i> .....	162
Таблица 10 – Диагностические признаки протококцидий рода <i>Eleutheroschizon</i> .....	173
Таблица 11 – Диагностические признаки споровиков рода <i>Rhytidocystis</i> .....	205

### Список рисунков и схем

Рисунок 1 – Жизненный цикл, организация зои́та и пелликулы споровиков .....	44
Рисунок 2 – Интерпретация образования паразитофорной вакуоли при быстром проникновении паразитоида в клетку-жертву на примере взаимодействия <i>Aphelidium</i> ( <i>Aphelida</i> , <i>Opisthosporidia</i> ) и зеленой водоросли .....	52
Рисунок 3 – Морфология архигрегарины <i>Selenidium pygospionis</i> . Световая (А, В, D – дифференциально-интерференционный контраст, С – фазовый контраст, Е – флуоресцентная микроскопия) и электронная (F – сканирующая, G – трансмиссионная) микроскопия .....	61
Рисунок 4 – Тонкое строение архигрегарины <i>Selenidium pygospionis</i> : организация цитоплазмы, внутриклеточная стадия. Электронная трансмиссионная микроскопия .....	63
Рисунок 5 – Схема строения переднего конца архигрегарины, прикрепленной к кишечному эпителию хозяина, на примере <i>Selenidium pherusaе</i> (масштаб не соблюден) ...	65
Рисунок 6 – Кортикальный цитоскелет архигрегарины <i>Selenidium pygospionis</i> в контроле	

и после обработки оризалином. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (А–В), трансмиссионная электронная микроскопия (С) .....	82
Рисунок 7 – Влияние гиперпаразитической микроспоридии <i>Metchnikovella dogieli</i> на архигрегарины <i>Selenidium pygospionis</i> . Световая микроскопия (дифференциально–интерференционный контраст) .....	87
Рисунок 8 – Схема организации паразитофорной ниши вокруг архигрегарины <i>Ditrypanocystis</i> sp. (масштаб не соблюден) .....	97
Рисунок 9 – Фрагмент филогенетического построения по методу Байеса, полученного на основе 128 последовательностей гена 18S рРНК (1550 п.н.) альвеолят в рамках модели GTR + Г + I (по Paskerova et al., 2018 с изменениями) .....	99
Рисунок 10 – Морфология бластогрегарины <i>Siedleckia</i> cf. <i>nematoides</i> . Световая микроскопия .....	104
Рисунок 11 – Морфология бластогрегарины <i>Siedleckia</i> cf. <i>nematoides</i> . Сканирующая электронная микроскопия .....	106
Рисунок 12 – Строение бластогрегарины <i>Siedleckia</i> cf. <i>nematoides</i> . Трансмиссионная электронная микроскопия .....	108
Рисунок 13 – Схема организации бластогрегаринов (по Simdyanov et al., 2018 с изменениями) .....	110
Рисунок 14 – Байесовское построение филогенетического дерева альвеолят, полученное на основе последовательностей ДНК 54 таксономических единиц в рамках модели GTR + Г + I и аппроксимации САТ (по Simdyanov et al., 2018 с изменениями) .....	121
Рисунок 15 – Схема организация пелликулы и субпелликулярных микротрубочек у <i>Siedleckia nematoides</i> .....	128
Рисунок 16 – Морфология несептированной эугрегарины <i>Polyrhabdina pygospionis</i> . Световая (А–В – дифференциально–интерференционный контраст) и электронная (С–D – сканирующая, Е – трансмиссионная) микроскопия .....	136
Рисунок 17 – Морфология несептированной эугрегарины <i>Polyrhabdina</i> cf. <i>spionis</i> . Сканирующая электронная микроскопия .....	138
Рисунок 18 – Схема организации трофозойта несептированной эугрегарины рода <i>Polyrhabdina</i> (на примере <i>P. pygospionis</i> ), прикрепленной к кишечному эпителию хозяина с помощью эпимерита (не в масштабе) .....	140
Рисунок 19 – Влияние гиперпаразитов <i>Metchnikovella</i> spp. на несептированную эугрегарины <i>Polyrhabdina pygospionis</i> (трансмиссионная электронная микроскопия) .....	142
Рисунок 20 – Байесовское построение филогенетического дерева эугрегаринов, полученное	

на основе 94 последовательностей гена 18S рРНК (1574 позиций) по модели GTR+F+I+G8 .....	156
Рисунок 21 – Морфология несептированных эугрегарин рода <i>Urospora</i> : <i>U. travisiae</i> , <i>U. ovalis</i> и <i>U. chiridotae</i> . Световая (А, В, Н – дифференциально–интерференционный контраст, С, D – светлое поле, I – фазовый контраст) и электронная (Е – сканирующая, F, G – трансмиссионная) микроскопия .....	160
Рисунок 22 – Фрагмент филогенетического построения по методу максимального правдоподобия, полученного на основе конкатенированных последовательностей 18S и 28S рРНК (3300 п.н.) эугрегарин (по Valigurová et al., 2023 с изменениями) .....	167
Рисунок 23 – Морфология протококцидии <i>Eleutheroschizon duboscqi</i> , кишечного паразита полихеты <i>Scoloplos armiger</i> . Световая микроскопия .....	177
Рисунок 24 – Организация паразитфорной ниши и морфология протококцидии <i>Eleutheroschizon duboscqi</i> . Сканирующая (А–Н) и трансмиссионная (I, J) электронная микроскопия .....	179
Рисунок 25 – Морфология и локализация в хозяине протококцидии <i>Eleutheroschizon planoratum</i> . Световая микроскопия .....	181
Рисунок 26 – Организация паразитофорной ниши и области прикрепления к клетке хозяина у эпицеллюлярной протококцидии <i>Eleutheroschizon planoratum</i> . Сканирующая электронная микроскопия .....	183
Рисунок 27 – Байесовское построение филогенетического дерева кокцидиоморф, полученное на основе 37 конкатенированных последовательностей генов 18S, 5.8S и 28S рРНК (4527 позиций) в рамках модели GTR+G+I .....	186
Рисунок 28 – Схема организации паразитофорного мешка при закрытом эпицеллюлярном паразитизме у протококцидий ( <i>Eleutheroschizon dusbosqi</i> ) и криптоспоридий .....	189
Рисунок 29 – Обобщенная схема развития контакта эпицеллюлярных споровиков разных филогенетических линий с клеткой хозяина (по Valigurová et al., 2015 с изменениями) ...	190
Рисунок 30 – Морфология агамококцидии <i>Rhytidocystis dobrovolskiji</i> , кишечного паразита полихеты <i>Ophelia limacina</i> . Световая (А, В) и сканирующая электронная (С – F) микроскопия .....	199
Рисунок 31 – Морфология агамококцидии <i>Rhytidocystis pertsovi</i> , кишечного паразита полихеты <i>Ophelia limacina</i> . Световая (А – D) и сканирующая электронная (Е – F) микроскопия .....	201
Рисунок 32 – Морфология агамококцидий <i>Rhytidocystis</i> spp., кишечных паразитов	

полихет <i>Scoloplos armiger</i> (A–D) и <i>Travisia forbesii</i> (E–F). Световая (A – B, E – F) и трансмиссионная электронная (C – D) микроскопия .....	203
Рисунок 33 – Крупномасштабная филогения <i>Aricomplexa</i> и родственных таксонов (по Janouškovec et al., 2019 с изменениями) .....	215
Рисунок 34 – Пластиды споровиков (по Janouškovec et al., 2019 с изменениями) .....	217