

УДК 576.895.121+591.34 : 576.31

© 1994

**КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ
И УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КОРАЦИДИЯ
TRIAENOPHORUS NODULOSUS (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA)**

Ж. В. Корнева

Изучена ультраструктурная организация корацидия *Triaenophorus nodulosus*. Подробно описана выделительная система, состоящая из двух цистоцитов и протонефридальных каналов, которые заканчиваются порами в толще ресничной оболочки. Уточнен клеточный состав и охарактеризованы все типы клеточных элементов корацидия.

Данные по морфологии онкосфер, полученные на светооптическом уровне (Michajlov, 1932, 1933; Ogren, 1961, 1968; Котикова, Куперман, 1977), были существенно уточнены использованием электронно-микроскопической техники. У некоторых представителей отряда Cyclophyllidea сделана реконструкция мышечной системы онкосфер (Collin, 1968; Swiderski, 1983), изучено строение крючьев (Collin, 1968), желез проникновения и ларвальных покровов (Rybicka, 1972, 1973; Furukawa e. a., 1977; Fairweather, Threadgold, 1981; Кашин, Плужников, 1983).

У корацидиев отряда Pseudophyllidea исследованы покровы и нервная система (Тимофеев, Куперман, 1968; Куперман, 1973; Grammeltveldt, 1973; Wikgren, 1986; Куперман, 1988). Попыток описать строение личинки в целом до сих пор не предпринималось.

В нашей работе мы поставили цель охарактеризовать клеточные элементы онкосферы *Triaenophorus nodulosus* и установить ее ультраструктурную организацию.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Корацидиев *Triaenophorus nodulosus* получали из яиц, выделенных из половозрелых стробил. Для электронно-микроскопического исследования личинок фиксировали в течение 1 ч 2.5%-ным глутаровым альдегидом на 0.05 М какодилатном буфере при pH 7.2 с постфиксацией в течение 40 мин 1%-ным раствором четырехоксида осмия на том же буфере. Заключенный в агар материал дегидратировали в этиловых спиртах возрастающей концентрации, ацетоне и заключали в аралдит. Серийные ультратонкие срезы контрастировали водным 4%-ным уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу, просматривали под электронным микроскопом JEM-100 C, при 80 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При описании онкосферы мы воспользовались терминологией Огрена (Ogren, 1961), представляющей нам наиболее обоснованной. При этом часть онкосферы, содержащая крючья, определяется как задний конец онкосферы, а противоположный ему — передний.

Корацидий цестод состоит из двух образований: ресничной оболочки и собственно личинки — онкосферы. Наши данные по ультраструктуре ресничной оболочки корацидия *T. nodulosus* вполне совпадают с результатами ранее проведенных исследований (Тимофеев, Куперман, 1968; Куперман, 1973, 1988). Она представляет собой многоядерный синцитий с ресничками, содержащий митохондрии, мультиламеллярные тельца и липидные включения. Сетчатый характер его цитоплазмы определяется многочисленными вакуолями, увеличивающимися в размерах по мере старения корацидия. Ресничную оболочку подстилает сильно утолщенная складчатая мембрана (рис. 1).

Онкосфера покрыта тонким наружным цитоплазматическим слоем, поверхность которого образует складки и пластинчатые выросты. Изучение серийных срезов позволило установить, что данный слой образован единственной клеткой, цитоплазма которой содержит редкие мелкие митохондрии. Толщина наружной цитоплазматической оболочки онкосферы возрастает в области ядра и в задней части личинки, вокруг лезвий каждой пары крючьев. Эту оболочку подстилает хорошо развитая базальная пластинка и элементы соматической мускулатуры, связанные с ней многочисленными полудесмосомами. Непосредственно под сократимыми участками мышечных клеток располагаются их ядродержащие части, цитоплазма которых богата крупными округлыми митохондриями.

Значительный объем в онкосфере занимает мускулатура, связанная с эмбриональными крючьями. Пучки мышц отходят от скопления «соединительнотканного» материала, окружающего проксимальные части крючьев, и прикрепляются к базальной пластинке в средней и передней областях онкосферы. От воротничков крючьев берут начало мышечные пучки, расходящиеся широким веером и заканчивающиеся на базальной пластинке задней трети онкосферы.

Вокруг крючьев сохраняются остатки онкобластов в виде тонкого слоя цитоплазмы, содержащего митохондрии и вакуоли, а мембрана онкобласта посредством десмосом контактирует с наружной цитоплазматической оболочкой. Лезвия крючьев пронизывают базальную пластинку и выступают за пределы онкосферы. Их апикальные части находятся в полости, образованной онкобластами, а базальные — отграничены от окружающей цитоплазмы опоясывающими десмосомами (рис. 1).

Под слоем соматической мускулатуры располагаются клетки с крупными округлыми ядрами и хорошо заметными ядрышками, объединенные в синцитий. Их цитоплазма содержит митохондрии, профили аппарата Гольджи, свободные рибосомы, а также скопления электронноплотных гранул секрета округлой и продолговатой форм. Отростки этих клеток, армированные микротрубочками, пронизывают слой соматической мускулатуры, базальную пластинку и связываются с наружной цитоплазматической оболочкой десмосомами. Апикальные концы отростков, расположенные по всей поверхности онкосферы, образуют булавовидные расширения, содержащие гранулы секрета. Впоследствии они разрастаются путем распластывания и образуют наружную цитоплазму покровов процеркоида. В связи с этим мы обозначаем вышеописанные клетки онкосферы как тегументальные (рис. 2, 5, 6; см. вкл.).

Вблизи латеральных крючьев локализованы две небольшие клетки с активными ядрами. Их цитоплазма содержит цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулюма, митохондрии и крупные электронноплотные гранулы. Ультраструктура данных клеток сходна с таковой желез проникновения, описанных у личиночных и взрослых стадий развития псевдофиллидных цестод (Давыдов, Куперман, 1979; Kuperman, Davydov, 1981; Куперман, 1988). Мы обозначаем данные клетки как железы проникновения онкосфер. Укрепленные микротрубочками протоки желез обнаруживаются только в об-

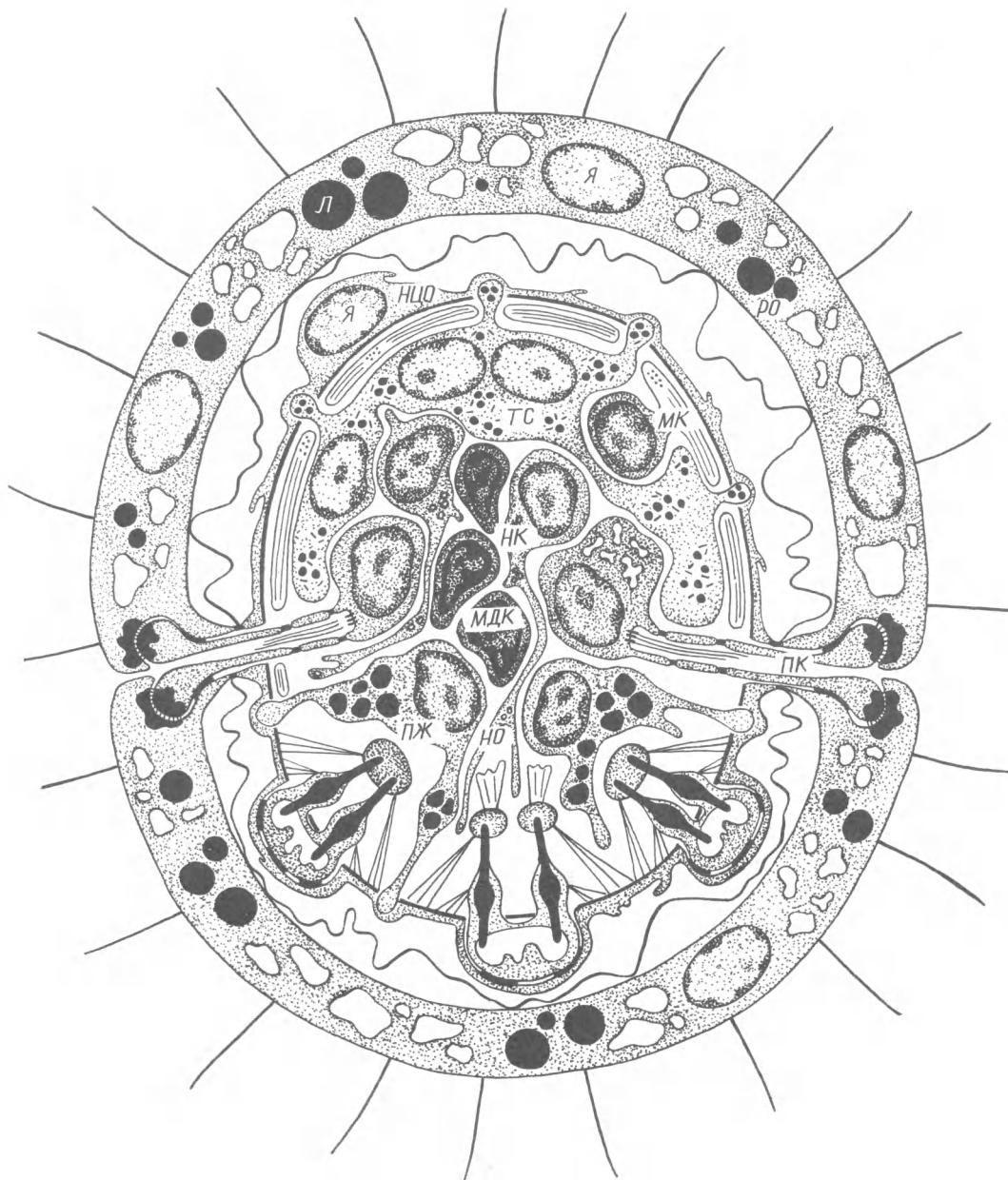


Рис. 1. Схема ультраструктурной организации корацидия *T. nodulosus*.

Я — ядро; РО — ресничная оболочка; ПК — полость выделительного канала; НЦО — наружная цитоплазматическая оболочка; ТС — тегументальный синцитий; НК — нервная клетка; НО — нервный отросток; МК — мышечная клетка; ПЖ — железы проникновения; МДК — малодифференцированная клетка; Л — липиды.

Fig. 1. Schematic of hatched oncosphere of *T. nodulosus* showing its general ultrastructure.

ласти крючьев онкосферы, а их концевые отделы соединяются с наружной цитоплазматической оболочкой посредством десмосом.

Центральную область тела личинки занимают мелкие малодифференцированные клетки, характеризующиеся низкими ядерно-плазменными отношениями, ядрами, богатыми гетерохроматином, и цитоплазмой, заполненной рибосомами и митохондриями (рис. 1).

В передней половине онкосферы располагаются от 4 до 6 клеток с активными ядрами и ультраструктурой, характерной для нервных элементов. В их окооядерной нейроплазме и в отростках, проходящих от переднего к заднему концу личинки, наблюдаются митохондрии, нейротрубочки и мелкие электронноплотные гранулы со светлым окаймлением. Отдельные отростки нервных клеток контактируют с мышечными волокнами. Плазматические мембраны в области контакта утолщаются. В цитоплазме нервного отростка отмечается скопление нейросекреторных гранул. Пространство между мембранами мышечной и нервной клеток заполнено материалом средней электронной плотности (рис. 2, 7).

Скопление отростков нервных клеток наблюдается в задней трети онкосферы, в области локализации крючьев и связанной с ними мускулатуры. Контакты нервных отростков с элементами мышечной системы также наблюдаются в заднем конце корацидия.

Нервные отростки, укрепленные нейротрубочками, в некоторых случаях пронизывают базальную пластинку и септальными десмосомами соединяются с базальной цитоплазматической мембраной наружного слоя онкосферы. Десмосомы ограничивают полость, образующуюся между концевым отделом нервного отростка и наружным цитоплазматическим слоем. В полости наблюдаются пузырьки со светлым содержимым, по внешнему виду идентичные везикулам нервного отростка (рис. 2, 8).

В непосредственной близости от желез проникновения билатерально симметрично располагаются элементы выделительной системы, представленные двумя циртоцитами и отходящими от них выделительными каналами. Не исключено, что в образовании каждого канала участвуют несколько клеток, которые соединяются между собой десмосомами. Для цитоплазмы каналов характерно присутствие многочисленных извитых полостей. В отдельных случаях можно наблюдать соединение этих полостей с просветом выделительного канала. Внутренняя поверхность последнего на стадии сформированной онкосферы несет микроворсинки. Канал условно можно подразделить на три отдела. Его проксимальный отдел окружает ресничное пламя циртоцита, дистальный — выходит за пределы онкосферы, открываясь во внешнюю среду, а связующим звеном между ними служит средний отдел. Непременной принадлежностью выделительной системы онкосферы является десмосома, расположенная непосредственно под базальной пластинкой и соединяющая средний и проксимальный отделы (рис. 2, 1).

Цитоплазма клетки, формирующая апикальный участок канала, укрепленная продольно расположенными микротрубочками, пронизывает слой соматической мускулатуры, базальную пластинку и заканчивается в толще ресничной оболочки онкосферы, открываясь в неглубокую выделительную пору, связанную с внешней средой. Стенки канала соединены с ресничной оболочкой многочисленными опоясывающими десмосомами. Контакт концевой части выделительного канала с ресничной оболочкой осуществляется посредством кольцевой десмосомы (рис. 2, 2, 2а).

ОБСУЖДЕНИЕ

Многими авторами отмечена билатеральная симметрия размещения клеточных элементов в онкосферах циклофиллид (Ogren, 1968; Collin, 1969;

Swiderski, 1983). У онкосферы *Triaenophorus nodulosus* билатерально симметрично расположены железы проникновения и циртоциты. В локализации нервных и тегументальных клеток какой-либо симметрии не обнаружено. Среди малодифференцированных элементов онкосферы *T. nodulosus* нам также не удалось выявить симметричные пары, как это было сделано для «зародышевых» клеток *Echinococcus granulosus* (Swiderski, 1983).

В последнее время сложилось представление о наружном цитоплазматическом слое онкосферы как о синцитии, связанном тонкими отростками цитоплазмы с погруженными в глубину тела ядрами (Grammeltveldt, 1973; Rybicka, 1973; Swiderski, 1983; Кашин, Плужников, 1983). На этом основании предполагается, что покровы онкосферы гомологичны тегументу взрослых гельминтов и закладываются на стадии «ранней преонкосферы», когда становится возможным идентифицировать эмбриональную двуядерную клетку, связанную отростками с «эпителиальным слоем эмбриона» (Rybicka, 1973). У онкосферы *T. nodulosus* наружная цитоплазматическая оболочка представляет собой одноядерную клетку, подстланную базальной пластинкой и соединенную с отростками тегументальных клеток и протоками желез проникновения десмосомами. Сказанное позволяет предположить, что наружный цитоплазматический слой онкосферы представляет собой одну из эмбриональных оболочек. В дальнейшем отростки тегументальных клеток сливаются и образуют наружный цитоплазматический слой процеркоида.

Анатомические особенности мускулатуры онкосферы *Triaenophorus nodulosus* и онкосфер циклофиллид *Hymenolepis citelli* и *Echinococcus granulosus* (Collin, 1968; Swiderski, 1983) обнаруживают много общих черт в размещении мышечных пучков и их связи с эмбриональными крючьями, которые берут начало от воротничков и базальной части крючьев, а заканчиваются на базальной пластинке в определенных областях онкосферы.

Расположение проксимальных частей крючьев *T. nodulosus* в цитоплазме онкобластов, а их апикальных концов в полостях, образованных этими онкобластами, сходно с таковым у онкосферы *Taenia crassiceps*, для которой показано, что базальные части сформированных крючьев лежат интрацеллюлярно, а лезвия проникают в специальное образование онкобласта — «ножны» (Chew, 1983) или «воротничок» (Fairweather, Threadgold, 1981).

Локализация желез проникновения у онкосферы *Triaenophorus nodulosus* сходна с таковой у личинок ранее изученных видов псевдофиллид (Kupertan, Davydov, 1982). Обнаруженные особенности концевых отделов протоков позволяют предположить, что закладка желез у онкосферы псевдофиллид и циклофиллид идет разными путями. Слияние наружного цитоплазматического слоя циклофиллидных онкосфер с протоками (Кашин, Плужников, 1983) свидетельствует о том, что железы проникновения в данном случае, вероятнее всего, являются модификацией клеток тегумента, тогда как у *T. nodulosus* обладают самостоятельным происхождением.

Сложно организованная выделительная система *T. nodulosus*, впервые детально описанная у онкосфер ленточных червей, обладает общими чертами строения с выделительными элементами других классов плоских червей, имеющих свободно плавающую личинку: Amphilinoidea, Gyrocotylida (Xylander, 1987; Rohde, Watson, 1987).

У *Triaenophorus nodulosus* характерной особенностью выделительной системы является кольцевая десмосома, расположенная под базальной пластинкой, где, по-видимому, происходит разделение канала, и его апикальная часть отбрасывается вместе с наружной цитоплазматической оболочкой онкосферы (при попадании личинок в первого промежуточного хозяина).

Элементы нервной системы *T. nodulosus* по своему расположению и ультраструктуре соответствуют аминокергическим клеткам, выявленным

в онкосфере *Diphyllobothrium dendriticum* (Wikgren, 1986). Однако у исследованного нами вида пептидоэргических нейронов не обнаружено. Наряду с этим отростки нервных клеток образуют характерные для онкосферы *Hymenolepis nana* (Fairweather, Threadgold, 1981) нервно-мышечные контакты, которые локализованы в задней половине онкосферы. Холинэстеразная активность, топографически связанная у плоских червей с нервной и половой системами, в онкосфере *T. nodulosus* по местоположению также приурочена к крючьям (Котикова, Куперман, 1977). Это свидетельствует в пользу наличия интенсивной иннервации мышечной системы, связанной с крючьями и обеспечивающей активное и согласованное их функционирование во время проникновения в полость тела копепод.

Список литературы

- Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Структура фронтальных желез у представителей трех отрядов цестод // Тр. ИБВВ АН СССР. 1979. Вып. 38 (41). С. 177—188.
- Кашин В. А., Плужников Л. Т. Цитоморфология зрелых яиц цестоды *Fimbriaria fasciolaris* (Cestoidea, Hymenolepididae) // Паразитология. 1983. Т. 17, вып. 6. С. 430—435.
- Котикова Е. А., Куперман Б. И. Развитие нервного аппарата *Triaenophorus nodulosus* (Cestoidea, Pseudophyllidea) в онтогенезе // Паразитология. 1977. Т. 11, вып. 3. С. 252—259.
- Куперман Б. И. Ленточные черви рода *Triaenophorus* — паразиты рыб. Л.: Наука, 1973. 208 с.
- Куперман Б. И. Функциональная морфология низших цестод. Л.: Наука, 1988. 167 с.
- Тимофеев В. А., Куперман Б. И. Ультратонкое строение кутикулы и субкутикулярного слоя процерконда, плероцерконда и взрослых особей *Triaenophorus nodulosus* (Pall.) // Паразитология. 1968. Т. 2, вып. 1. С. 42—49.
- Chew M. W. K. *Taenia crassiceps*: ultrastructural observations on the oncosphere and associated structures // J. Helminthol. 1983. Vol. 57, N 2. P. 101—113.
- Collin W. K. Electron microscope studies of the muscle and hook systems of hatched oncospheres of *Hymenolepis citelli* McLeod, 1933 // J. Parasitol. 1968. Vol. 54, N 1. P. 74—88.
- Collin W. K. The cellular organization of hatched oncospheres of *Hymenolepis citelli* (Cestoda, Cyclophyllidea) // J. Parasitol. 1969. Vol. 55, N 1. P. 149—166.
- Fairweather L., Threadgold L. T. *Hymenolepis nana*: the fine structure of the «penetration gland» and nerve cells within the oncosphere // Parasitol. 1981. Vol. 82, N 3. P. 445—458.
- Furukawa T., Miyazato T., Okamoto K., Nakai Y. The fine structure of the hatched oncospheres of *Hymenolepis diminuta* // Jap. J. Parasitol. 1977. Vol. 26, N 2. P. 49—62.
- Grammeltveidt A. Differentiation of the tegument and associated structures in *Diphyllobothrium dendriticum* Nitsch (1824) (Cestoda, Pseudophyllidea) // Int. J. for Parasitol. 1973. Vol. 3. P. 321—327.
- Куперман Б. И., Давыдов В. Г. The fine structure of glands in oncospheres, procercooids and plerocercoids of pseudophyllidea (Cestoidea) // Int. J. Parasitol. 1981. Vol. 12, N 2/3. P. 135—144.
- Куперман Б. И., Давыдов В. Г. The fine structure of frontal glands in adult cestodes // Int. J. Parasitol. 1982. Vol. 12, N 4. P. 285—293.
- Michajlov W. *Triaenophorus crassus* Forel (*T. robustus* Olsson) et son développement // Ann. parasitol. Hum. Comp. 1932. Vol. 10, N 3. P. 257—270.
- Michajlov W. Les stades larvaires de *Triaenophorus nodulosus* (Pall.) 1. Le coracidium // Ann. Parasitol. Hum. Comp. 1933. Vol. 11, N 5. P. 339—358.
- Ogren R. E. The mature oncosphere of *Hymenolepis diminuta* // J. Parasitol. 1961. Vol. 47. P. 197—207.
- Ogren R. E. The basic cellular pattern for undifferentiated oncospheres of *Hymenolepis diminuta* // Trans. Amer. Microsc. Soc. 1968. Vol. 87, N 4. P. 448—463.
- Rohde K., Watson N. Ultrastructure of the protonephridial system of larvae *Austramphilina elongata* (Platyhelminthes, Amphilinidea) // J. Submicrosc. Cytol. 1987. Vol. 19, N 1. P. 113—118.
- Rybicka K. Ultrastructure of embryonic envelopes and their differentiation in *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) // J. Parasitol. 1972. Vol. 58, N 5. P. 849—863.
- Rybicka K. Ultrastructure of embryonic syncytial epithelium in a cestode *Hymenolepis diminuta* // Parasitology. 1973. Vol. 66, N 1. P. 9—18.

- Swiderski Z. Echinococcus granulosus : hook-muscle systems and cellular organization of infective oncospheres // Int. J. Parasitol. 1983. Vol. 13, N 3. P. 289—299.
- Wikgren M. Diphyllbothrium dendriticum. The nervous system of early larval stages of the cestode Diphyllbothrium dendriticum // Acta Zool. 1986. Vol. 67, N 3. P. 155—163.
- Xylander W. E. R. Ultrastructure of the lycophora larva of Gyrocotyle urna (Cestoda, Gyrocotylidae) 3. The protonephridial system // Zoomorphol. 1987. Vol. 107. P. 88—95.

ИБВВ им. И. Д. Папанина,
Борок, 152742

Поступила 20.08.1993

CELL COMPOUND AND ULTRASTRUCTURE ORGANISATION OF THE CORACIDIUM
TRIAENOPHORUS NODULOSUS (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA)

Zh. V. Korneva

Key words: Cestoda, oncosphere, ultrastructure, cell types, protonephridial system.

S U M M A R Y

Serial transsections of the oncosphere *T. nodulosus* were investigated by means of the transmissive electron microscopy. The cytological characteristic has been given for cell types as follows: feebly differentiated, muscular, neural, tegumental cells, single cells of penetration, and cells of excretory system. The processes of tegumental cell are provided with microtubules, go through the basal plate, and form mace-like expansions. Subsequently they form the external cytoplasm of proceroid's tegument. The muscular cells include the somatic cells and cells connected with hook apparatus. The neural cells are located in central part of oncosphere, and their processes are agglomerated in posterior one third of oncosphere and innervate the system of hooks and the associated muscles. Few feebly differentiated cells are concentrated in the central part of oncosphere. The excretory system consist of two cirtocytes and excretory channels, which are subdivided into three parts connected one to another by cell contacts alike desmosomes. Proximal parts surround the ciliary flame of the cirtocyte, the distal part is ended in ciliary shell by the excretory pore.

Вклейка к ст. Ж. В. Корневой

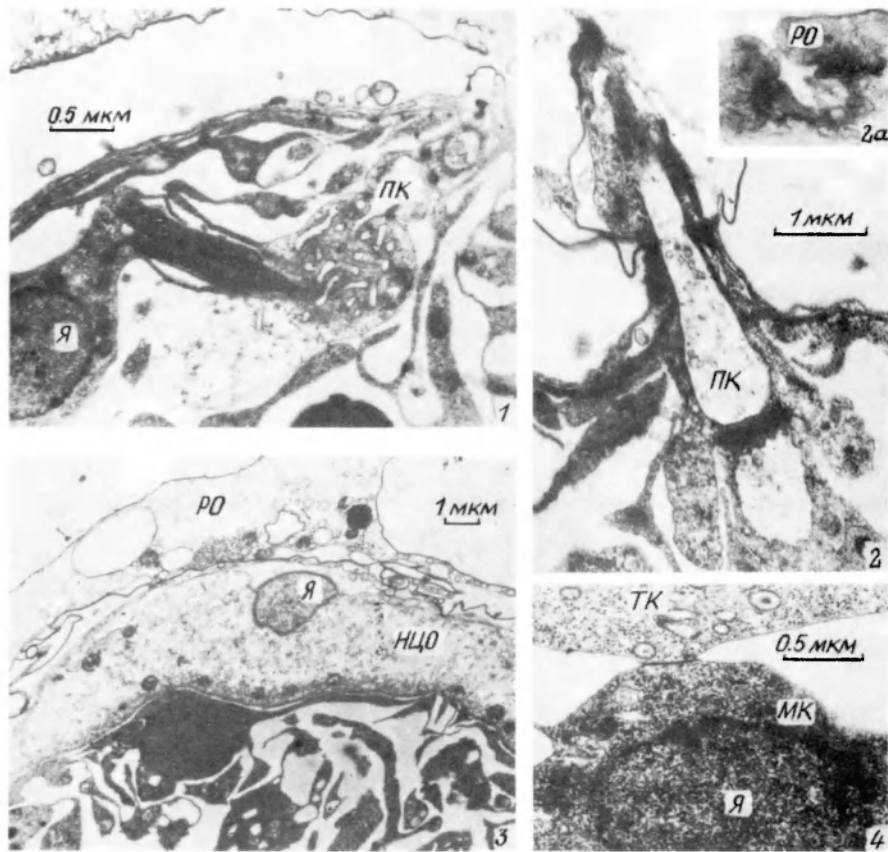


Рис. 2. Ультраструктура онкосферы *T. nodulosus*.

1 — цитроцит и начальный участок выделительного канала; 2 — средний участок выделительного канала; 2а — выделительная пора; 3 — фрагмент цитоплазматической оболочки с ядром; 4 — зона контакта между тегументальной и мышечной клетками; 5 — отросток тегументальной клетки с секретом; 6 — фрагмент тегументального синцития; 7 — нервно-мышечный контакт; 8 — свободное нервное окончание. Обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 2. Transmission electron micrographs showing the fine structure of the oncosphere of *T. nodulosus*.

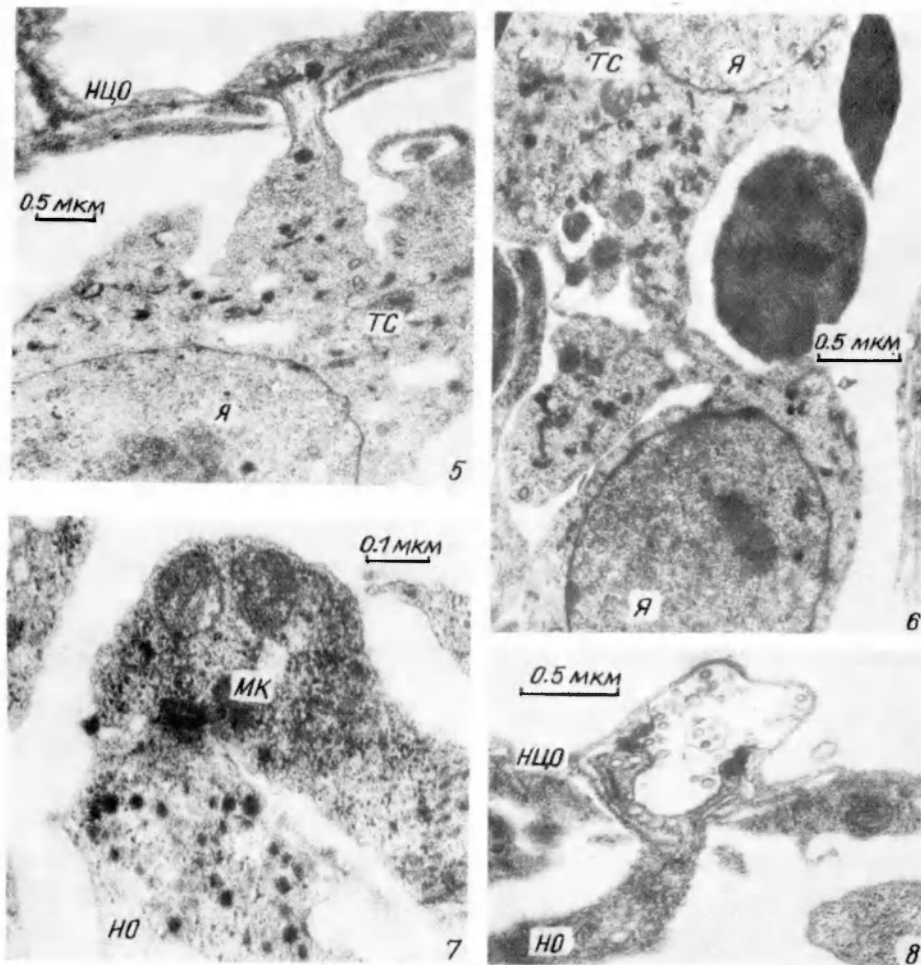


Рис. 2 (продолжение).