УДК 576.893.19 + 593.19

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ РАНГ И МЕСТО В СИСТЕМЕ ПРОТИСТОВ COLPODELLIDA[1]

© А. П. Мыльников, М. В. Крылов, А. О. Фролов

Анализ морфофункциональной организации и дивергентных процессов у Colpodellida, Perkinsida, Gregrinea, Coccidea подтвердил наличие у них уникального общего плана строения и необходимость объединения в один тип Sporozoa. Таксономический ранг и место в системе Colpodellida представляется следующим образом: тип Sporozoa Leuckart 1879; em. Krylov, Mylnikov, 1986 (Syn.: Apicomplexa Levine, 1970). Хищники либо паразиты. Имеют общий план строения: пелликулу, состоящую у расселительных стадий из плазматической мембраны и внутреннего мембранного комплекса, микропору(ы), субпелликулярные микротрубочки, коноид (у части редуцирован), роптрии и микронемы (у части редуцированы), трубчатые кристы в митохондриях. Класс Perkinsea Levine, 1978. Хищники или паразиты, имеющие в жизненном цикле вегетативные двужгутиковые стадии развития. Подкласс 1. Colpodellia nom. nov. (Syn.: Spiromonadia Krylov, Mylnikov, 1986). Хищники; имеют два гетеродинамных жгутика; мастигеномы нитевидные (если имеются); цисты 2—4-ядерные; стрекательные органеллы — трихоцисты. Подкласс 2. Perkinsia Levine, 1978. Все виды — паразиты; зооспоры имеют два гетеродинамных жгутика; мастигонемы (если имеются) нитевидные и в виде щетинок.

Главная цель систематиков — построение естественной системы. Естественная система прежде всего должна обладать максимальными прогностическими свойствами (Старобогатов, 1989). Иными словами, знания о систематическом положении организма должны позволять предсказывать неизвестные свойства этого организма.

К настоящему времени накопилось достаточно много сведений о морфофункциональной организации колподеллид (= спиромонадид) и близких им организмов, прежде всего споровиков. Эти данные получены традиционными морфологическими методами и методами молекулярной биологии. По мере накопления данных по молекулярной филогении все больше и больше становится очевидным, что одно изучение нуклеотидных последовательностей в нуклеиновых кислотах не в состоянии решить проблему. Только комплексный подход, связанный с глубоким анализом дивергентных процессов, учитывающий данные всех современных методов (а не какого-то одного) и вовлекающий в круг исследования как можно большее число объектов, способен дать действительно объективный результат.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для решения поставленной задачи использованы ранее полученные оригинальные материалы и данные других исследователей, а также новые сведения о строении двух видов колподеллид *Colpodella edax* (пресноводный изолят BE) и *Dinomonas vorax*[2] (морской изолят G-3). Первый клон выделен из очистных сооружений пос. Борок

[1] Название рода *Spiromonas* Perty, 1952 (Patterson, Zölffel, 1991) оказалось невалидным и было заменено на *Colpodella* Cienkowski, 1865. Вслед за этим Кавалье-Смит предложил для отряда Spiromonadida Krylov, Mylnikov, 1986 новое название Colpodellida (Cavalier-Smith, 1993).

[2] *Dinomonas vorax* имеет альвеолярные покровы, не встречающиеся у других *Colpodella*, поэтому пока целесообразно *Dinomonas* считать самостоятельным родом.

Ярославской обл., второй — из донных проб прибрежья Черного моря вблизи г. Ялты (Крым).

Условия культивирования и наблюдения жгутиконосцев в световом микроскопе были описаны ранее (Мыльников, 1991).

Для электронно-микроскопического изучения взвесь жгутиконосцев сгущали центрифугированием и фиксировали в смеси 2 %-ного OsO_4 и 0.6 %-ного глутаральдегида, приготовленной на 0.05 М какодилатном буфере для клона BE или на среде Шмальца—Пратта для клона G-3, в течение 15—30 мин при 1°. После дегидратации в серии спиртов и безводного ацетона объект помещался в смесь аралдита и эпона. Исследование проводилось на микроскопе JEM-100 C.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Распространение. Колподеллиды широко распространены в пресных водоемах и в почве (Alexeieff, 1929; Мыльников, 1983). Колподеллиды обычны для очистных сооружений (Жуков, Мыльников, 1993) и дна прудов, заросших растительностью, более редки в озерах, реках и водоемах пещер. В солоноватых бассейнах их отмечают эпизодически (Simpson, Patterson, 1996). *Dinomonas vorax* обнаружен нами в прибрежной зоне литорали Черного моря вблизи г. Ялты. В пробах, взятых из Белого (вблизи пос. Чупа) и Баренцева морей (вблизи пос. Дальние Зеленцы), этот вид не обнаружен. Максимальная численность этих хищников, по нашим наблюдениям, в очистных сооружениях не превышает 100—200 экз./мл, а в стоячих водоемах еще меньше.

Общая морфология и жизненный цикл. Типичным и широко распространенным представителем колподеллид является *Colpodella edax* (рис. 1). Сытые экземпляры *C. edax* имеют бобовидную или яйцевидную форму тела (рис. 1, *1—3*). Длина клеток составляет 10—18, ширина 5—10 мкм. Короткий передний жгутик равен 1/3—1/2 длины тела, а длинный рекуррентный — на 1/3 длиннее тела клетки. Оба жгутика отходят ниже заостренного переднего конца клетки (рострума). Крупная сократительная вакуоль располагается вблизи базальных тел жгутиков. Вдоль тела проходит продольная складка, хорошо заметная у голодных особей. При плавании особи *C. edax* движутся по спирали. После контакта рострума с жертвой между ними образуется цитоплазматический мостик (рис. 1, *2*). Через него содержимое жертвы в течение 3—5 мин переходит в заднюю часть тела хищника, где образуется одна или реже несколько пищеварительных вакуолей (рис. 1, *2*, *3*). После окончания питания жертва лопается, и хищник начинает плавать. Нападение *C. edax* друг на друга не наблюдается. Время удвоения численности хищников при 20° составляет 2—4 ч.

Перед делением особи теряют подвижность и оседают на дно чашки. Клетки округляются, в цитоплазме появляются крупные светопреломляющие гранулы. Ядро располагается около поверхности тела, напротив ядра лежит пищеварительная вакуоль. Сократительная вакуоль не функционирует. Особь покрывается цистной оболочкой (рис. 1, *4*). Ядро делится один или два раза (рис. 1, *5*, *6*). В результате последующей цитотомии в цисте образуются 2 или 4 особи. Интенсивное движение жгутиков дочерних особей приводит к разрыву оболочки цисты (рис. 1, *7*). Небольшое остаточное тело располагается в центре цисты.

Колподеллиды — облигатные хищники, питаются путем «высасывания» цитоплазмы разных видов жгутиконосцев из родов *Anthophysa*, *Bodo*, *Ochromonas*, *Rhynocomonas* (Мыльников, 1983) и многих видов цилиофор из родов *Colpoda*, *Tetrahymena*, *Uronema*.

Ультраструктура. Покровы. Пелликула *C. edax* (рис. 2; см. вкл.) имеет трехмембранное строение. Наружный слой представлен типичной плазматической мембраной, внутренний — двумя цитоплазматическими мембранами, объединенными в так называемый внутренний мембранный комплекс. Плазматическая мембрана покрывает всю поверхность клетки, субпелликулярный мембранный комплекс в

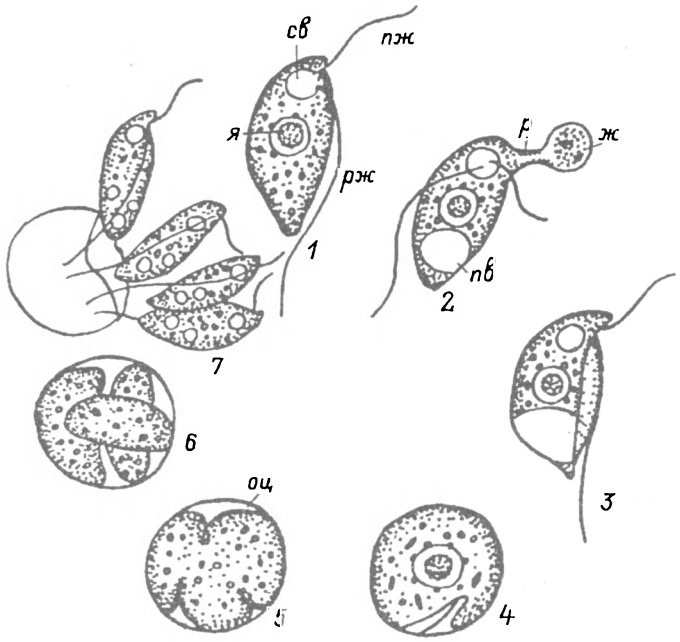

Рис. 1. Жизненный цикл *Colpodella edax*.

1—3 — взрослые трофозоиты; *2* — питающийся трофозоит; *4* — молодая циста; *5, 6* — деление цисты; *7* — выход молодых трофозоитов из лопнувшей цисты; *Ж* — жертва; *ОЦ* — стенка цисты; *ПВ* — пищеварительная вакуоль; *ПЖ* — передний жгутик; *РЖ* — рекуррентный жгутик; *СВ* — сократительная вакуоль; *Я* — ядро.

Fig. 1. The scheme of the life-cicle of *Colpodella edax*.

жгутиковом кармане и на переднем конце тела отсутствует. Отчетливо заметный гликокаликс не обнаружен.

У *D. vorax* внутренние мембраны сближены незначительно и формируют альвеолярные пузырьки (рис. 3, *1*, *2*, *4*; см. вкл.). Внутри альвеол иногда заметно тонкое фибриллярное содержимое. На переднем конце клетки *D. vorax* обнаружен двойной слой альвеолярных пузырьков. Толщина альвеолярных пузырьков варьирует от 50 до 200 нм.

Трехмембранное строение пелликулы характерно не только для колподеллид, но и для расселительных стадий паразитических споровиков (спорозоитов, мерозоитов, кинет), трофозоиты эволюционно продвинутых групп Sporozoa могут сохранять лишь плазмалемму, утрачивая частично или полностью внутренний мембранный комплекс. У наиболее примитивных групп споровиков, например у Archigregarinida, трофозоиты на протяжении всего своего существования сохраняют черты организации, свойственные расселительным стадиям, и имеют трехмембранную пелликулу. Эта особенность строения пелликулы у Archigregarinida и у Colpodellida, вероятно, обусловлена их внеклеточным существованием и может рассматриваться как анцестральный признак.

Субпелликулярные микротрубочки. У всех видов колподеллид под пелликулой обнаружены продольные субпелликулярные микротрубочки, число их незначительно варьирует у разных видов. Как правило, они собраны в ленты, объединяющие по 2—6 микротрубочек (рис. 2, *2*).

Продольные субпелликулярные микротрубочки обнаружены у большинства споровиков. Особенно хорошо развиты субпелликулярные микротрубочки у Archigregarinida, при этом они располагаются не в один, а в несколько рядов. Однако у

трофозоитов, эволюционно продвинутых Eugregarinida, продольные микротрубочки исчезли. Их заменили сложно устроенная система фибрилл или кольцевые субпелликулярные микротрубочки (Фролов, 1991).

У большинства эволюционно продвинутых споровиков субпелликулярные микротрубочки исчезают на стадии внутриклеточного трофозоита и формируются de novo у стадий расселения. Очевидно, что подобные изменения вторичны по своей природе.

Микропора (= ультрацитостом). Впервые описан Гарнемом с соавторами (Garnham e. a., 1961) у спорозоитов *Plasmodium falciparum* и назван «микропиле». Термин «микропора» предложили позже Вивье и Эннере (Vivier, Hennere, 1964). Структурно микропора формируется как инвагинация плазмалеммы (рис. 2, *4*; 3, *4*). Внутренний мембранный комплекс прерывается у основания микропоры и образует цилиндрическую структуру. На тангенциальных срезах структура микропоры напоминает два концентрически вложенных одно в другое кольца. Микропоры обнаружены у всех изученных видов колподеллид. У *C. edax* (рис. 2, *4*) и у *D. vorax* (рис. 3, *4*) диаметр немногочисленных микропор достигает 30 нм при глубине до 90 нм.

Микропора обнаружена у представителей всех таксономических групп Sporozoa и, по-видимому, выполняет роль ультрацитостома. Исследования Айкавы и др. (Aikawa e. a., 1967), выполненные на *Plasmodium elongatum*, Лангрета (Langreth, 1976) — на *P. lophurae* экспериментально подтвердили эту точку зрения. В настоящее время большинство исследователей считают, что микропора участвует в питании споровиков. Роль микропоры у колподеллид, питание которых осуществляется через рострум, пока остается неясной.

Коноид — термин предложен Густавсоном и др. (Gustafson e. a., 1954) для конусообразной структуры, обнаруженной на апикальном полюсе у *Toxoplasma gondii*. Коноид обнаружен у всех исследованных колподеллид. У *C. edax* коноид объединяет 25—27 микротрубочек (рис. 2, *1*, *2*), формирующих стенку конуса. Внутри коноида или рядом с ним залегает лента из 4—5 микротрубочек (рис. 2, *2*). Длина коноида 12 мкм, диаметр его переднего острого конца 0.25 мкм. У *Dinomonas vorax* коноид состоит из 20—21 микротрубочки, вблизи него также находится лента из 2—4 микротрубочек (рис. 3, *2*).

Имеющиеся в настоящее время сведения о строении коноида у различных видов колподеллид (Мыльников, 1991) показывают, что эта органелла у них развита неодинаково. Наиболее хорошо коноид развит у *Colpodella angusta*, *C. edax* и *Dinomonas vorax*, у *C. gonderi* он состоит всего из 4—5 микротрубочек, а у *C. perforans* на месте коноид обнаружены только фибриллы.

Питание колподеллид происходит через передний конец клетки, преобразованный в рострум (Мыльников, 1983; 1988). Процесс поглощения пищи колподеллидами *Dinomonas vorax*, *Colpodella angusta*, *C. edax*, питающимися мелкими жгутиконосцами, занимает несколько минут, у видов, питающихся крупной добычей — инфузориями или криптофитовыми, например у *C. gonderi*, *C. perforans*, этот процесс может длиться несколько часов. Скорость поглощения пищи, очевидно, коррелирует с развитостью коноида. Колподеллиды с крупным коноидом поглощают пищу значительно быстрее, чем колподеллиды с небольшим коноидом или колподеллиды, у которых типичный коноид отсутствует.

У различных групп споровиков также отмечена трансформация коноида. Так, у Archigregarinida коноид и ассоциированные с ним структуры выполняют функцию клеточного рта. Эта функция коноида, по-видимому, первична. Однако в дальнейшем морфофункциональная эволюция грегарин пошла по пути совершенствования прикрепительного аппарата. У ряда представителей отряда Eugregarinida апикальный полюс функционирует как своеобразная присоска, обеспечивающая прикрепление паразита к клетке хозяина. При том не исключается трофическая функция мукронального комплекса (коноид, мукрональная вакуоль) (Шревель, 1969), но роль клеточного рта им уже явно утрачена. Дальнейшая адаптация к внеклеточному паразитированию сопровождается у Eugregarinida утратой мукрона как органеллы прикрепления и заменой мукрона на эпимерит (Schrevel, Vivier, 1966). Эпимерит

представляет собой специализированную органеллу прикрепления, полностью утратившую трофические функции. Эпимерит лишен коноида и комплекса роптрии—микронемы. У ряда грегарин, паразитирующих в полости тела хозяев, специализация переднего конца тела трофозоитов утрачивается полностью (Фролов, 1991). Похожая картина морфофункциональных изменений наблюдается у Coccidea. Менее специализированные группы Coccidea — Coccidiida и Adeleida, по-видимому, используют коноид как органеллу, способствующую внедрению паразита в клетку хозяина. Механизм проникновения внутрь клетки хозяина у эволюционно продвинутых групп Coccidea — Haemosporida и Piroplasmida — меняется. Главную роль в этом процессе начинает выполнять комплекс роптрии—микронемы, соответственно изменяется состав белков роптрий и полностью утрачивается коноид.

Таким образом, на примере эволюции различных групп споровиков мы видим, как по мере все более глубокой адаптации паразитов к хозяину меняются функции коноида, вплоть до полной его утраты.

Полярные кольца описаны у многих видов споровиков, у колподеллид они найдены только у *Colpodella pugnax* (Simpson, Patterson, 1996).

Роптрии и микронемы. Густавсон с соавторами (Gustafson e. a., 1954) обнаружил на апикальном полюсе у *Toxoplasma gondii* электронноплотные тела и назвал их «токсонемы». Гарнем и др. (Garnham e. a., 1960) нашли у *Haemamoeba* (= *Plasmodium*) *gallinacea* аналогичные образования и назвали их «парные органеллы». Дальнейшие исследования показали, что подобные структуры встречаются у всех Sporozoa, а форма, количество и пространственное расположение их варьируют. Сено (Senaud, 1967) предложил для этих органелл новый термин — роптрии, которым в настоящее время пользуются большинство исследователей. Роптрии в виде извилистых, булавовидных структур локализуются обычно в апикальной, реже в дистальной частях клеток споровиков. Вокруг роптрий, в средней части клетки паразита и даже на дистальном полюсе (Mehlhorn, Schein, 1977) располагаются мелкие электронноплотные осмиофильные образования — микронемы. Термин предложен Джекобсом (Jacobs, 1967). Диаметр их варьирует, а количество непостоянно и может достигать большого числа.

Микронемы или роптрии найдены у всех изученных к настоящему времени колподеллид. Ранее у *Colpodella angusta* нами были обнаружены три пучка электронноплотных узких образований — микронем (Крылов, Мыльников, 1986). Длина их составляет 1 мкм, диаметр — 20—30 нм. Конец микронем, обращенный к передней части клетки, обычно сужен. Один пучок микронем проходит внутрь коноида, второй — лежит рядом с коноидом, третий — рядом с корешками кинетосом. Внутри коноида заметны грушевидные осмиофильные тела, 0.1 × 0.5 мкм, которые мы считаем роптриями (Крылов, Мыльников, 1986). У *C. edax* в передней части клетки также обнаружены булавовидные роптрии и тонкие микронемы (рис. 2, *1*). У *Dinomonas vorax* микронемы 1.1 мкм длины (рис. 3, *3*) и 20—70 нм в диаметре, роптрии около 0.3 мкм длины.

Шолтизек и Мелхорн (Scholtyseck, Mehlhorn, 1970) полагают, что роптрии и микронемы — единый комплекс, представляющий собой «железу», секрет которой синтезируется в микронемах и по тонким протокам концентрируется в резервуарах — роптриях. Эта точка зрения получила косвенное подтверждение благодаря установлению цитохимической общности в комплексе роптрии—микронемы цистозоитов *Toxoplasma gondii* (Vivier, Petitprez, 1972). Из роптрий по узким протокам, открывающимся в районе полярного кольца, на апикальном полюсе паразита, секрет выделяется во внешнюю среду. Предполагается, что фермент, продуцируемый комплексом роптрии—микронемы, способствует проникновению паразита в клетку хозяина. Косвенным доказательством этого предположения служат наблюдения за редукцией комплекса роптрии—микронемы у внутриклеточных стадий кокцидий. Вивье и Петипре (Vivier, Petitprez, 1972) считают роптрии и микронемы гомологичными структурами. По их мнению, микронемы — молодые формы роптрий; по мере роста мелкие микронемы превращаются в крупные, а это и есть роптрии.

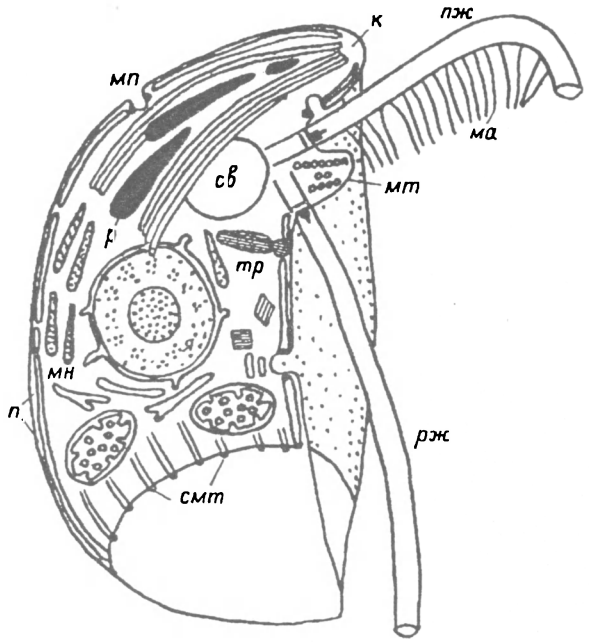

Рис. 4. Схема строения клетки *Colpodella edax*.
МА — мастигонемы.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Рис. 4. The scheme of the ultrustructure organisation of *Colpodella edax*.

Ядро колподеллид так же, как и у всех эукариот, покрыто ядерной оболочкой, состоящей из двух параллельно расположенных мембран (наружной и внутренней), разделенных перинуклеарным пространством. По классификации ядер простейших (Райков, 1978) ядра колподеллид относятся к малым пузырьковидным. Так, диаметр ядра у *Colpodella angusta* варьирует от 1.7 до 2.2 мкм (Крылов, Мыльников, 1986). Ядро расположено обычно по середине тела зоита, ядерные поры слабо заметны, ядрышко (диаметр 0.8—1 мкм) одно, локализуется чаще всего в центре ядра. Наружная мембрана ядра формирует разветвления в цитоплазме, иногда соединяясь с внутренним мембранным комплексом пелликулы. Сходную организацию имеют ядра *C. edax* (рис. 4) и *D. vorax* (рис. 3, *1*).

Митохондрии. У *C. edax* (рис. 2, *1*) и *Dinomonas vorax* (рис. 3, *1*) митохондрии обычно овальной или удлиненной формы, они имеют диаметр 0.5—3 мкм и содержат трубчатые кристы.

Митохондрии с кристами трубчатого типа описаны у всех изученных видов споровиков, в том числе и у пироплазмид (Aikawa, Sterling, 1974).

Рибосомы. В цитоплазме кольподеллид содержится много рибосом, большая часть которых располагается на мембранах эндоплазматической сети.

Жгутики. Жгутики у колподеллид выходят из раздельных жгутиковых карманов. У *Colpodella angusta* между ними лежит валик. Передний жгутик *C. edax* несет тонкие нетрубчатые до 1 мкм длины простые (нечленистые) мастигонемы (рис. 4). У *Dinomonas vorax* мастигонемы отмечены лишь в проксимальной части переднего жгутика. У *C. angusta* оба жгутика гладкие. У этих хищников передний жгутик меньше заднего. Бичевидная часть жгутиков небольшая и не всегда заметна на высушенных препаратах. Строение аксонемы жгутиков отвечает формуле 9 + 2. Две центральные микротрубочки упираются в небольшую аксосому (рис. 2, *3*; 3, *1*, *2*). В переходной зоне жгутиков находится цилиндр. Кинетосомы 0.3 мкм длины, имеют обычное строение,

лежат перпендикулярно друг другу и соединены поперечно исчерченным мостиком (рис. 2, *5*; 3, *1*).

Корешковая система жгутиков устроена довольно просто. От кинетосом отходят 2—3 ленты микротрубочек (рис. 2, *3*, *5*; 3, *1*). Общей для колподеллид является, вероятно, лента из 4—5 микротрубочек. Эти ленты проходят вблизи коноида (рис. 2, *2*; 3, *2*) и в промежутке между кинетосомами.

Жгутики известны у микрогамет многих споровиков. Они гладкие, без мастигонем. Между кинетосомами иногда заметна лента из 4 микротрубочек, которая, возможно, гомологична микротрубочковой ленте колподеллид.

Сократительная вакуоль. Все пресноводные виды колподеллид имеют сократительную вакуоль. Сократительная вакуоль с системой приводящих каналов располагается в передней трети тела колподеллид, вблизи кинетосом жгутиков (рис. 2, *2*; 4). У морского вида *D. vorax* сократительная вакуоль отсутствует.

Стрекательные органеллы. В пелликулу *C. edax* и *D. vorax* упираются трихоцисты (рис. 2, *4*, *5*; 3, *5*; 4). Их строение у обоих видов одинаково. На поперечных срезах трихоциста представляет собой квадрат или ромб с ребром 160—180 нм. В трихоцисте заметны 22—27 темных полосок, реже — меньше. Длина кристаллоида трихоцист равна 0.25—0.5 мкм. Шаровидная головка имеет диаметр 0.3 мкм. Концы кристаллоида сужены.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные позволяют прояснить систематическое положение и филогению колподеллид (спиромонад), в прошлом относимых к бодонидам (Hollande, 1952).

Как предполагалось ранее (Крылов, Мыльников, 1986; Мыльников, Крылов, 1987), колподеллид необходимо сравнивать со своеобразными паразитическими организмами из рода *Perkinsus* (рис. 4, 5). Жизненный цикл *P. marina*, паразитирующего в устрицах, включает одноклеточные одноядерные трофонты размером 3—10 мкм, размножающиеся делением надвое, и зооспоры. Строение зооспор характеризуется наличием трехслойной пелликулы, продольных субпелликулярных микротрубочек, микропор, полярного кольца, коноида и двух жгутиков. Передний жгутик несет два типа мастигонем: тонкие нитевидные и в виде щетинок. Мастигонемы, как и у колподеллид (Perkins, 1976), нетрубчатые.

Другой вид *P. atlanticus* паразитирует в крабе (Azevedo, 1989). Споры этого паразита находятся внутри жабр хозяина. В споре содержатся одно ядро с ядрышком и крупная вакуоль. В результате споруляции содержимое споры многократно делится и появляются многочисленные зооспоры (рис. 5). Они несут два голых (безмастигонемных) жгутика. Задний жгутик имеет длинный бичевидный кончик. Кинетосомы располагаются под углом 65°. Апикальный конец клетки несет полярное кольцо, субпелликулярные микротрубочки, роптрии, микронемы, коноид. Пелликула состоит из трех мембран. Микропоры не отмечены. Субпелликулярные микротрубочки проходят лентами по 2—11. В пелликуле обнаружены участки, образованные одной мембраной (плазмалеммой). Комплекс Гольджи и крупные вакуоли располагаются около коноида.

Таким образом, появляется возможность сравнить строение колподеллид и *Perkinsus* с остальными споровиками — Gregarinea и Coccidea. Все эти организмы (*Colpodella*, *Dinomonas*, *Perkinsus*, *Gregarinea*, *Coccidea*) имеют только им присущие уникальные сочетания признаков: пелликула состоит у расселительных стадий из плазматической мембраны и внутреннего мембранного комплекса; плазматическая мембрана и внутренний мембранный комплекс формируют микропору(ы), на апикальном и в ряде случаев на дистальном полюсах имеются полярные кольца, под пелликулой от апикального конца к дистальному идут субпелликулярные микротрубочки; на апикальном и в ряде случаев на дистальном полюсах располагаются роптрии и микронемы; митохондриальные кристы трубчатые.

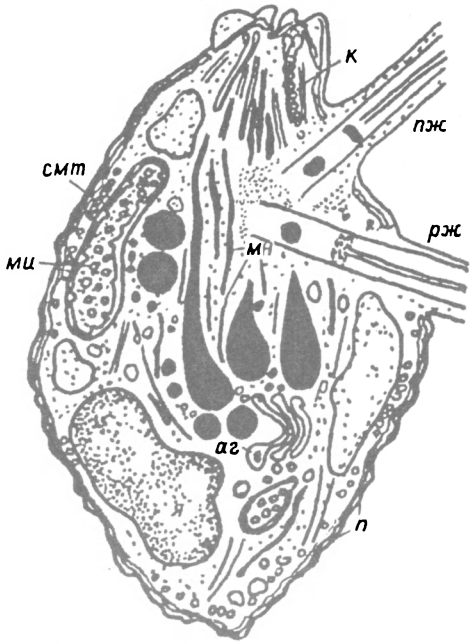

Рис. 5. Схема строения клетки *Perkinsus atlanticus* (по: Azevedo, 1989).
АГ — аппарат Гольджи.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Рис. 5. The scheme of the ultrastructure organisation of *Perkinsus atlanticus* (from Azevedo, 1989).

Общий план строения у колподеллид, перкинсий и споровиков указывает на общность их происхождения. В соответствии с принципами построения естественной системы (Старобогатов, 1989) эти организмы ранее были объединены нами в один тип Sporozoa (Крылов, Добровольский, 1980; Крылов, 1992, 1994, 1996). Анализ морфофункциональной организации представителей типа Sporozoa позволяет в пределах типа выделить 3 крупные группы этих организмов.

Первая группа — свободноживущие хищники или паразиты, имеющие в жизненном цикле вегетативные двужгутиковые стадии развития, половой процесс не найден.

Вторая группа — облигатные паразиты беспозвоночных и низших хордовых животных, половому процессу предшествует объединение мужских и женских гамонтов в сизигий и формирование гамонтоцисты, гаметогенез протекает сходно у обоих полов, формируется равное число гамет, обычно изогамия или слегка выраженная анизогамия, реже оогамия; обычно гомоксенны.

Третья группа — паразиты беспозвоночных и позвоночных животных, гаметогенез протекает по-разному у мужских и женских гамонтов, в разных клетках хозяина, один макрогамонт формирует одну макрогамету, один микрогамонт образует несколько (много) микрогамет, характерна оогамия; сизигии и гамонтоцисты отсутствуют, гомоксенны и гетероксенны.

Таксономический ранг каждой из этих групп соответствует классу. В первый класс входят колподеллиды (= спиромонадиды) и перкинсии; во второй — грегарины; в третий — кокцидииды. Во всех трех группах, объединяемых в тип Sporozoa, имеются представители, в жизненных циклах которых имеются жгутиковые стадии. Жгутик сформировался на ранних этапах эволюции эукариот, поэтому можно предположить, что предки споровиков имели жгутики. Наличие жгутиков у свободноживущих хищных колподеллид подтверждает эту мысль. Можно предположить, что предки

колподеллид (= спиромонадид), попадая с водой и пищей в организм многоклеточных животных, атаковали клетки их пищеварительного тракта. Все более и более глубокая адаптация паразитов к организму хозяина завершилась переходом к внутритканевому, внутриклеточному и кровепаразитизму. По мере адаптации к хозяину происходила постепенная утрата жгутика и, как мы видим у части паразитических споровиков, это привело сначала к утрате жгутиковых вегетативных стадий (Coccidiida и Gregarinida), а затем и к полной утрате всеми стадиями жизненного цикла (Piroplasmida, многие Eugregarinida).

Дивергентные процессы в пределах каждого из трех классов можно проследить по трансформации отдельных структур (признаков), например коноида.

Постепенная трансформация коноида, вплоть до его утраты в первом классе, наблюдается в ряду *Colpodella angusta—C. edax—Dinomonas vorax—C. perforans*; во втором классе в ряду Archigregarinida—Eugregarinida; в третьем классе в ряду Coccidiida—Adeleida—Haemosporida—Piroplasmida.

Аналогичные изменения затрагивают и покровы споровиков. Паразитический образ жизни и глубокая адаптация к хозяину, особенно к внутриклеточной локализации, сопровождались утратой покровами трофозоитов внутреннего мембранного комплекса. Типичная пелликула сохраняется у большинства споровиков только у расселительных стадий.

Анализ морфофункциональной организации и дивергентных процессов показывают, что Coccidea, по-видимому, не происходят прямо от Gregarinea. Вероятнее всего, Coccidea и Gregarinea имели общих предков — протоколподеллид.

В пределах типа Sporozoa ранее (Крылов, Добровольский, 1980; Крылов, 1992, 1994, 1996) были выделены три класса: 1-й — Perkinsea, 2-й — Gregarinea (Archigregarinida, Eugregarinida, Neogregarinida), 3-й — Coccidea (Coccidia, Piroplasmia).

В последнее время некоторыми молекулярными биологами оспаривается целесообразность объединения перкинсей в один таксон с остальными споровиками (Siddall e. a., 1997; Ellis e. a., 1998; Cavalier-Smith, 1998). Основываясь на данных главным образом сиквенса генов 18S рРНК, их сближают с динофлагеллятами, помещая в тип или подтип Dinozoa. Наше исследование не подтверждает эту точку зрения.

Таксономический ранг колподеллид и положение их в системе представляется нам в настоящее время следующим образом:

Тип Sporozoa Leuckart, 1879; em. Krylov, Mylnikov, 1986.

Syn.: Apicomplexa Levine, 1970.

Диагноз. Хищники либо паразиты. Имеют общий план строения: пелликулу, состоящую у расселительных стадий из плазматической мембраны и внутреннего мембранного комплекса, микропору(ы), субпелликулярные микротрубочки, коноид (у части редуцирован), роптрии и микронемы (у части редуцированы), трубчатые кристы в митохондриях.

Класс Perkinsea Levine, 1978.

Диагноз. Хищники или паразиты, имеющие в жизненном цикле вегетативные двужгутиковые стадии развития.

Подкласс 1. Colpodellia nom. nov.

Syn.: Spiromonadia Krylov, Mylnikov, 1986.

Диагноз. Хищники; питание путем перетекания «цитоплазмы жертвы»; два гетеродинамных жгутика; мастигонемы трубчатые (если имеются); цисты 2—4-ядерные; стрекательные органеллы — трихоцисты.

Подкласс 2. Perkinsia Levine, 1978.

Диагноз. Все виды — паразиты; зооспоры имеют два гетеродинамных жгутика; мастигонемы (если имеются) нитевидные и в виде щетинок.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, гранты: 99-04-49579 и 99-04-48613.

Список литературы

Жуков Б. Ф., Мыльников А. П. Фауна зоофлагеллят очистных сооружений // Простейшие активного ила. Л.: Наука, 1983. С. 27—42.

Крылов М. В. Происхождение гетероксенности у Sporozoa // Паразитология.1992. Т. 26, вып. 5. С. 361—368.

Крылов М. В. Возбудители протозойных болезней домашних животных и человека (в 2 томах). СПб., 1994. 552 с.

Крылов М. В. Определитель паразитических простейших. СПб., 1996. 603 с.

Крылов М. В., Добровольский А. А. Макросистема и филогения споровиков // Принципы построения макросистемы одноклеточных животных. Т. 94. Л.: Изд-во ЗИН АН СССР, 1980. С. 62—74.

Крылов М. В., Мыльников А. П. Новые таксоны в типе Sporozoa, Spiromorphina subcl. n., Spiromonadida ordo n. // Паразитология. 1986. Т. 20, вып. 6. С. 425—430.

Мыльников А. П. Питание хищных зоофлагеллят // Биология внутренних вод. Инф. бюл. 1983. № 60. С. 33—37.

Мыльников А. П. Биология хищного жгутиконосца Bodo edax Klebs // Биология внутренних вод. Инф. бюл. 1988. № 77. С. 28—31.

Мыльников А. П. Ультраструктура и биология некоторых представителей отряда Spiromonadida (Protozoa) // Зоол. журн. 1991. Т. 70, вып. 7. С. 5—15.

Мыльников А. П., Крылов М. В. Положение сем. Spiromonadidae Hollande, 1952 в системе Sporozoa // Современные проблемы протозоологии. Л.: Наука, 1987. С. 12.

Райков И. Б. Ядро простейших. Морфология и эволюция. Л.: Наука, 1978. 326 с.

Старобогатов Я. И. Естественная система, искусственные системы и некоторые принципы филогенетических систематических исследований // Принципы и методы зоологической систематики. Л., 1989. С. 191—222. (Тр. ЗИН АН СССР. Т. 206).

Фролов А. О. Мировая фауна грегарин. Семейство Monocystidae. Тр. ЗИН АН СССР. 1991. Т. 229. 126 с.

Шревель Ж. Питание у грегарин // Успехи протозоологии. Л.: Наука, 1969. С. 84.

Aikawa M., Huff C. G., Sprinz H. The fine structure of the asexual stages of Plasmodium elongatum // J. Cell Biol. 1967. Vol. 34. P. 229—249.

Aikawa M., Sterling C. Intracellular Parasitic Protozoa. N. Y., 1974. 65 p.

Alexeieff A. Materiaux pour servir a l'etude des protistes coprozoites // Arch. Zool. exp. et gen. 1929. Vol. 68. P. 609—698.

Azevedo C. Fine structure of Perkinsus atlanticus n. sp. (Apicomplexa, Perkinsea) parasite of the clam Ruditepes decussatus from Portugal // J. Parasitol. 1989. Vol. 75, N 4. P. 627—635.

Cavalier-Smith T. Kingdom Protozoa and its 18 Phyla // Microbiol. Rev. 1993. Vol. 57, N 4. P. 953—994.

Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life // Biol. Rev. 1998. Vol. 73. P. 203—266.

Cienkowski L. Beitrage zur kenntnis der Monaden // Arch. Mikr. Anat. 1865. Bd 1. S. 203—232.

Ellis J. T., Morrison D. A., Jeffries A. C. The phylum Apicomplexa: an update on the molecular phylogeny // Evolutionary Relationships Among Protozoa. Eds Coombs G. H., Vickerman K., Sleigh M. A. and Warren A. London, 1998. P. 255—274.

Garnham P. C. C., Bird R. G., Baker I. R. Electron microscope studies of motile stages of malaria parasites. II. The fine structure of the Sporozoites of Haemamoeba (Plasmodium) gallinacea // Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 1960. Vol. 54. P. 274—278.

Garnham P. C. C., Baker I. R., Bird R. G., Bray R. S. Electron microscope studies of motile stages of malaria parasites. III. The fine structure of the sporozoites of Laverania (Plasmodium) falcipara // Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 1961. Vol. 55. P. 98—102.

Gustafson P. V., Agar H. D., Cramer D. An electron microscope study of Toxoplasma // Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1954. Vol. 3. P. 1008—1021.

Hollande A. Ordre des Bodonides // Traite de Zoologie. T. 1, f. 1. Paris: Masson, 1952. P. 669—693.

Jacobs L. Toxoplasma and toxoplasmosis // Advances in parasitology. 1967. Vol. 5. P. 1—45.

Langreth S. G. Feeding mechanisms in extracellular Babesia microti and Plasmodium lophurae // J. Ptorozool. 1976. Vol. 23. P. 215.

Levine N. D. Perkinsus gen. n. and other new taxa in the protozoan phylum Apicomplexa // J. Parasitol. 1978. Vol. 64, N 3. P. 549.

Mehlhorn H., Schein E. Electron microscopic studies of the development of kinetes in Theileria annulata Dschunkowsky et Lugs, 1904. (Sporozoa, Piroplasmea) // J. Protozool. 1977. Vol. 24, N 2. P. 249—257.

Patterson D. J., Zölffel M. Heterotrophic flagellates of uncertain taxonomic position // The biology of free-living beterotrophic flagellates. Oxford: Clarendon Press, 1991. P. 427—476.
Perkins F. O. Zoospores of the oyster pathogen Dermocystidium marinum. I. Fine structure of the conoid and other sporozoanlike organelles // J. Parasitol. 1976. Vol. 62, N 6. P. 959—974.
Scholtyseck E., Mehlhorn H. Ultrastructural study of characteristic organelles (paired organelles, micronemes, micropores) of Sporozoa and related organisms // Z. Parasitenk. 1970. Bd 34, H. 2. S. 97—127.
Schrevel J., Vivier E. Étude de l'ultrastructure et du role de la région anterieure (mucron et epimerite) des Gregarines parasites d'annelides plychetes // Protistologica. 1966. Vol. 2, f. 3. P. 17—28.
Senaud J. Cotribution a l'etude des sarcosporides et des toxoplasmes (Toxoplasea) // Protistologica. 1967. T. 3. P. 167—232.
Siddall M. E., Reece K. S., Graves J. E., Burreson E. M. «Total evidence» rejects the inclusion of Perkinsus species in the phylum Apicomplexa // Parasitology. 1997. Vol. 115. P. 165—176.
Simpson A. G. B., Patterson D. J. Ultrastructure and identification of the predatory flagellate Colpodella pugnax Cienkowski (Apicomplexa) with a description of Colpodella turpis n. sp. and a review of the genus // Systematic Parasitology. 1996. Vol. 33. P. 187—198.
Vivier E., Hennere E. Etude a'laide du microscope electronique des trophozoites de la coccidie Coeltropha durchni // J. Microscopie. 1964. T. 3. P. 57—58.
Vivier E., Petitprez A. Donnees ultrastructurales compl'émentaires morphologigues et cytochimiques sur Toxoplasma gondii // Protistologica. 1972. Vol. 8. P. 199—221.

ЗИН, Санкт-Петербург, 199034 Поступила 20.06.1999

TAXONOMIC RANK AND PLACE OF COLPODELLIDA IN A SYSTEM

A. P. Mylnikov, M. V. Krylov, A. O. Frolov

Key words: Apicomplexa, Sporozoa, system, ultrastructure, Colpodella, Dinomonas, Colpodellida, Colpodellia nom. n.

SUMMARY

The analysis of ultrastructure organisation and divergent processes in Colpodellida, Perkinsida, Gregarinea and Coccidea has confirmed the presence of unique basic structures in all of these organisms and the necessity to combine them into the single phylum Sporozoa. A taxonomic rank and place of Colpodellida in the system of living organisms is represented as follows:

Phylum Sporozoa Leuckart, 1879; em. Krylov, Mylnikov, 1986.

(Syn.: Apicomplexa Levine, 1970).

Predators or parasites. Common basic structure: pellicular membranes, subpellicular microtubules, micropores, conoid, rhoptries and micronemes, tubular mitochondrial cristae.

Class Perkinsea Levine, 1978. Predators or parasites, vegetative stages with two heterodynamic flagella.

Subclass 1. Colpodellia nom. nov.

(Syn.: Spiromonadia Krylov, Mylnikov, 1986).

Predators, two heterodynamic flagella with string-like mastigonemes (if presents), division is exclusively within a cyst, with 2—4 daughter cells being produced, extrusomes are trichocyst-like.

Subclass 2. Perkinsia Levine, 1978.

Parasites, zoospores with two heterodynamic flagella, mastigonemes (if presents) bristle-like or string-like.

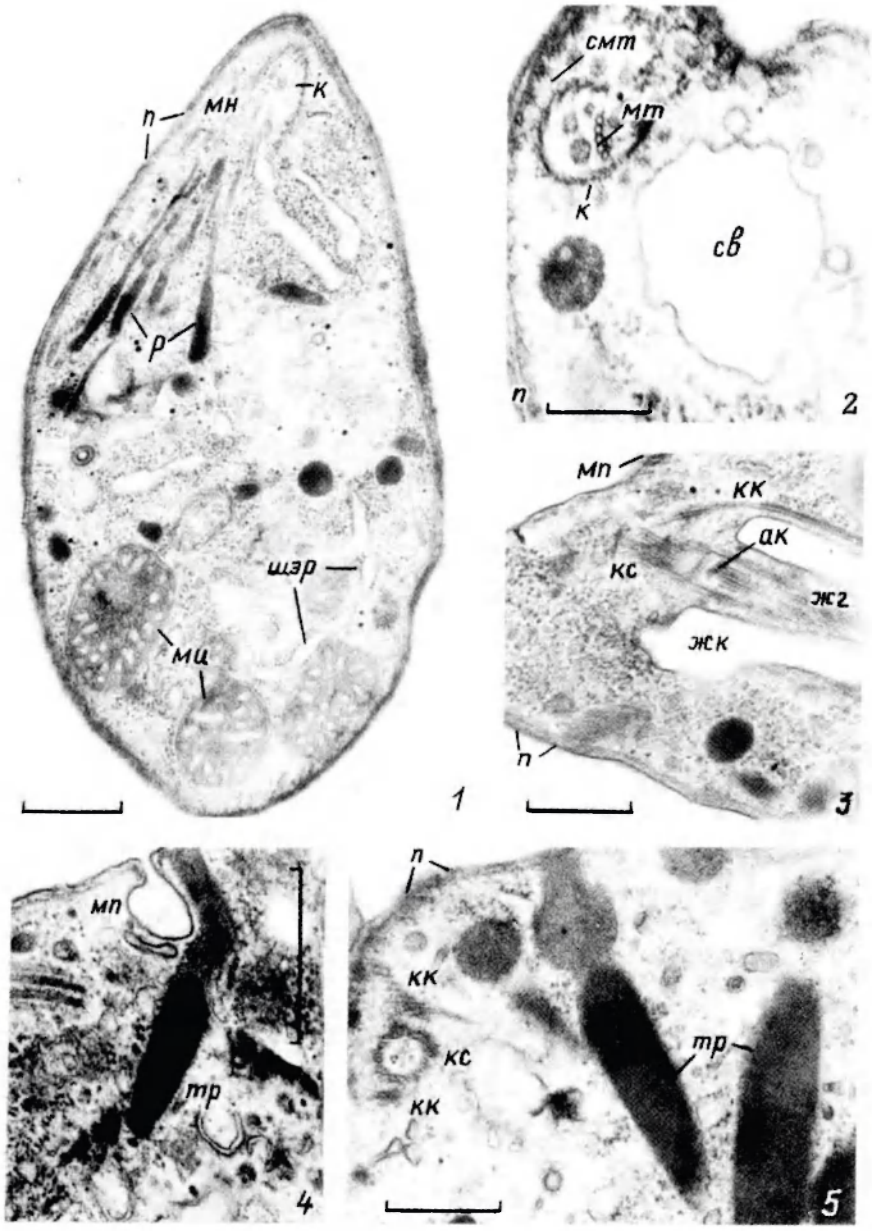

Рис. 2. Ультраструктура *Colpodella edax*.

1 — продольный срез трофозоита; *2* — поперечный срез трофозоита на уровне основания коноида и сократительной вакуоли; *3* — продольный срез через жгутиковый карман трофозоита; *4* — микропора и трихоциста; *5* — кинетосома с микротрубочковыми корешками и трихоцисты; *АК* — аксосома; *ЖГ* — жгутик; *ЖК* — жгутиковый карман; *К* — коноид; *КК* — микротрубочковые кинетосомальные корешки; *МИ* — митохондрия; *МН* — микронемы; *МП* — микропора; *МТ* — лента микротрубочек; *П* — пелликула; *Р* — роптрии; *СМТ* — субпелликулярные микротрубочки; *ТР* — трихоцисты; *ШЭР* — шероховатый эндоплазматический ретикулум. Масштаб: рис. 1 — 1 мкм, рис. 2 — 0.2, рис. 3—5 — 0.5 мкм.

Fig. 2. The ultrustructure of *Colpodella edax*.

Рис. 3. Ультраструктура *Dinomonas vorax*.

1 — продольный срез трофозоита; *2* — поперечный срез трофозоита на уровне основания коноида и жгутикового кармана; *3* — роптрии и микронемы; *4* — микропора; *5* — трихоциста; *АЛ* — альвеолы. Масштаб: рис. 1—3, 5 — 0.5 мкм, рис. 4 — 0.2 мкм.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1, 2.

Рис. 3. The ultrustructure of *Dinomonas vorax*.