

УДК 576.893.19

**ОПИСАНИЕ И ЛАБОРАТОРНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ
LEPTOMONAS REPENTINUS SP. N.
(KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATIDAE) —
ПАРАЗИТА КЛОПА-ВОДОМЕРКИ GERRIS RUFOSCUTELLATUS**

© М. Н. Малышева, А. О. Фролов

Из пищеварительной системы клопа-водомерки *Gerris rufoscutellatus* выделен в лабораторную культуру и описан новый вид гомоксенных трипаносоматид — *Leptomonas repentinus*. Изучено ультратонкое строение культуральных стадий *L. repentinus*. Отмечены необычная организация митохондрия и кинетопласта. Обсуждаются особенности культивирования *L. repentinus*.

Клопы-водомерки (Hemiptera, Gerridae) давно известны как хозяева гомоксенных трипаносоматид. Впервые жгутиконосцы из пищеварительной системы водомерок были описаны Паттоном в 1908 году (Patton, 1908) и названы им *Crithidia* (= *Blastocrithidia*) *gerridis*. Годом позже вышла работа Поте (Porter, 1909) с описанием стадий сложного жизненного цикла этого жгутиконосца. Однако, по мнению Уоллеса (Wallace e. a., 1960, 1965), в этих работах разные виды трипаносоматид были ошибочно описаны как стадии жизненного цикла одного вида — *Blastocrithidia gerridis*. Необходимо отметить, что для трипаносоматид — паразитов клопов-водомерок вообще характерен полиморфизм стадий развития, что всегда затрудняет определение видового состава в каждой конкретной популяции. Кроме того, известно, что клопы из рода *Gerris* могут служить хозяевами для разных видов гомоксенных трипаносоматид. К настоящему времени из водомерок описано 6 видов этих жгутиконосцев, относящихся к трем различным родам — *Blastocrithidia*, *Crithidia* и *Leptomonas* (количество зарегистрированных находок значительно больше; Подлипаев, 1990). Между тем в лабораториях мира имеется лишь 2 изолята жгутиконосцев, выделенные из водомерок: *Leptomonas collosoma* (Wallace e. a., 1960) и *Blastocrithidia gerricola* (Подлипаев, 1985). Возможно, однако, что в последнем случае в культуру были выделены стадии развития не *B. gerricola*, а другого рода трипаносоматид (Vulat e. a., 1999).

Исследование трипаносоматид, паразитирующих в геридах, представляет несомненный интерес с точки зрения изучения фауны, специфичности и филогении гомоксенных трипаносоматид, а их лабораторные культуры могут служить удобными модельными объектами, например, при изучении уникальной организации ядерного и митохондриального геномов этих протистов.

Целью данной работы было описание нового вида трипаносоматид из пищеварительного тракта клопа-водомерки *Gerris rufoscutellatus*, получение стабильной лабораторной культуры жгутиконосцев и предварительное изучение их ультраструктуры.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Клопы-водомерки *Gerris rufoscutellatus* Latreille, 1807, были собраны 30.09.2000 г. в Ленинградской обл. в окрестностях поселка Комарово. Насекомых усыпляли хлороформом и затем вскрывали. Содержимое кишечника водомерок изучали на прижиз-

ненных препаратах и на сухих мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза (рН 6.8). Фрагменты кишечника насекомых, зараженных жгутиконосцами, помещали в пробирки с различными питательными средами. Были использованы следующие среды: среда Грейса (Grace's Insect Cell Culture Medium) для культивирования клеток насекомых фирмы Gibco BRL, среда Brain Heart Infusion (BHI) фирмы Difco, а также смесь этих сред в соотношении 1 : 1. В среды добавляли гемина (25 мкг/мл) и раствор антибиотиков бензилпенициллина (500 ед./мл) и стрептомицина (500 мкг/мл). Для исследований в световом и электронном микроскопах использовали культуру в возрасте 3 сут.

Светооптические исследования были выполнены на микроскопе Jenaval contrast Jena. Микрофотографии были получены с использованием телекамеры CCD и системы видеозахвата Asus V3800. Размеры клеток жгутиконосцев измеряли с использованием программы UTHSCSA Image Toole v. 2.0.

Для исследований в электронном микроскопе очищенную от сопутствующих организмов культуру жгутиконосцев осаждали центрифугированием (3000 об/мин), надосадочную жидкость сливали, а осадок фиксировали 1.5 %-ным глутаральдегидом на 0.1 М какодилатном буфере (1 ч). После этого клетки промывали в 0.1 М растворе какодилатного буфера, содержащем 5 % сахарозы и постфиксировали 2 %-ным раствором OsO₄ на 0.1 М какодилатном буфере (30 мин). Затем материал обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и ацетоне и заключали в смесь аралдита с эпоном. Срезы получали на ультрамикротоме LKB III, окрашивали водным раствором уранил-ацетата и цитратом свинца и просматривали в микроскопе Jeol 100 C.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получение культур жгутиконосцев. При исследовании содержимого кишечника клопов-водомерок *Gerris rufoscutellatus* на прижизненных препаратах у двух из четырех вскрытых особей была обнаружена инвазия жгутиконосцами *Blastocrithidia gerriidis* (Patton, 1908). Из содержимого кишечника зараженных особей были приготовлены сухие мазки, а его фрагменты были помещены в пробирки с искусственной питательной средой. Фрагменты кишечника первой особи были помещены в среду ВНИ с добавлением гемина, среду Грейса с гемом и на смесь этих сред в соотношении 1 : 1. Фрагменты кишечника второй водомерки были помещены в чистую среду Грейса без гемина, а также в те среды, которые перечислены выше для первой водомерки, но под слой стерильного вазелинового масла (для создания дефицита кислорода) (Фролов, Малышева, 1989).

Ни один из посевов, выполненных с использованием фрагментов кишечника второй водомерки, не дал роста жгутиконосцев. Напротив того, из первой водомерки были получены культуры трипаносоматид на всех типах сред. В них, однако, не были выявлены жгутиконосцы с эпимастиготной организацией, присущей представителям рода *Blastocrithidia*. На 7-е сутки на смеси сред ВНИ и Грейса с добавлением гемина были обнаружены удлиненные крупные промастиготы с длинным жгутом (рис. 1, 1). Культура жгутиконосцев была контаминирована дрожжеподобными грибами. С культивированием этих трипаносоматид сразу возникли затруднения: с исходной культуры, содержащей фрагменты кишечника водомерки, удавалось получить не более двух пассажей. Третий пассаж уже не давал роста. Посев исходной культуры на смесь сред ВНИ и Грейса, но без добавления гемина дал большую численность жгутиконосцев, но также выдержал лишь два пересева. Положительный результат был достигнут при следующей модификации культуральной среды: к среде Грейса была добавлена инактивированная сыворотка крови плода коровы из расчета 10 % от общего объема среды. После чего непосредственно перед пассажем эта среда смешивалась со средой ВНИ в соотношении 1 : 1. На такой среде культура дала стабильный рост.

Попытки очистить полученную культуру от дрожжеподобных грибов в приборе, разделяющем клетки по подвижности (Подлипаев, Фролов, 1987), не увенчались

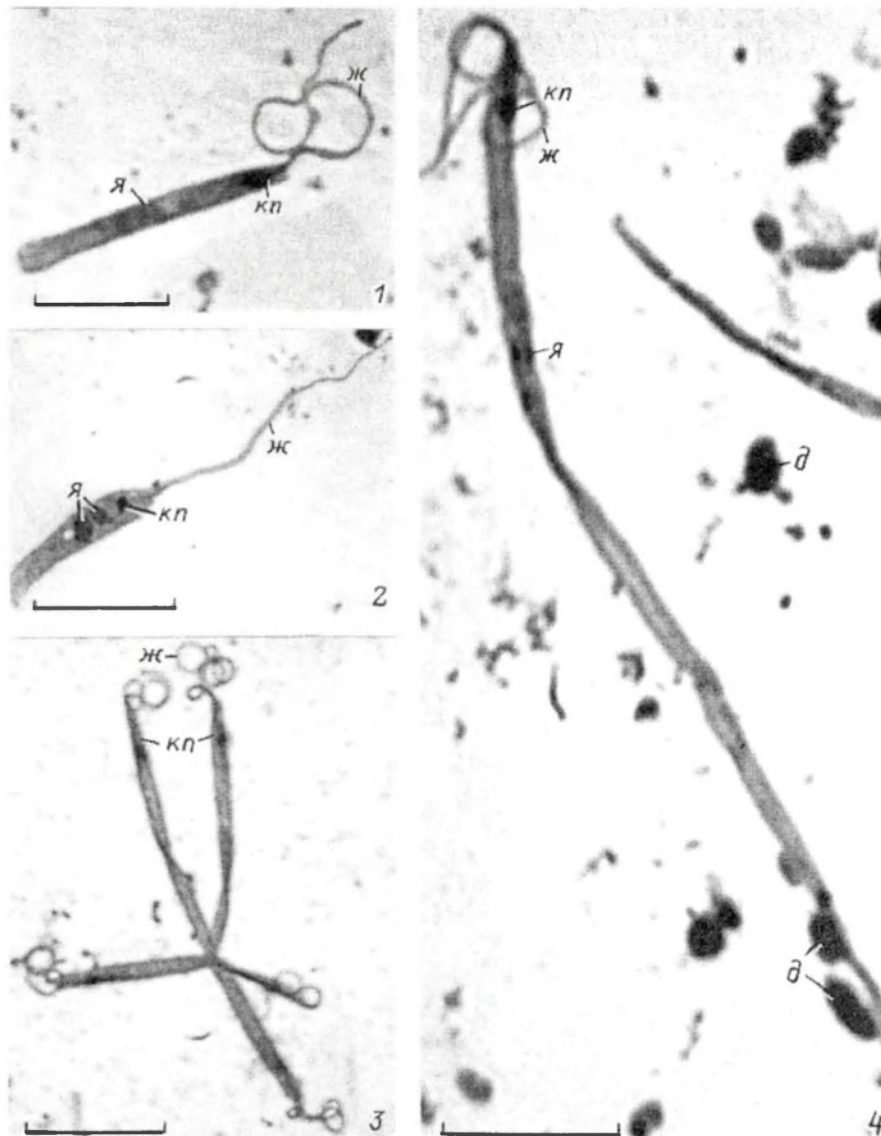


Рис. 1. Строение жгутиконосцев *Leptomonas repentinus* в культуре (под световым микроскопом).

1 — общий вид жгутиконосца в молодой культуре; 2 — делящаяся клетка *L. repentinus*; 3 — розетка жгутиконосцев; 4 — «гигантская» клетка в старой культуре, контаминированной дрожжеподобным грибом; *д* — дрожжеподобный грибок; *ж* — жгутик; *кп* — кинетоласт; *я* — ядро; линейка: 10 мкм.

Fig. 1. The structure of the flagellates *Leptomonas repentinus* in the culture. Light microscope micrograph.

успехом, так как к жгутикам многих промастигот прикреплялись дрожжи и сами жгутиконосцы переносили их в пробирку с чистой средой. Культура была очищена от дрожжеподобных грибов с помощью микроманипулятора. Под световым микроскопом (об. 20х, ок. 10х) отлавливали клетки, не несущие на поверхности тела и на жгутиках дрожжи, и отсаживали их на стерильную среду. Очищенную культуру вели на смеси сред ВНИ и Грейса с сывороткой, без добавления гемина, так как он не оказывал заметного воздействия на рост жгутиконосцев. Пересевы чистой культуры проводили

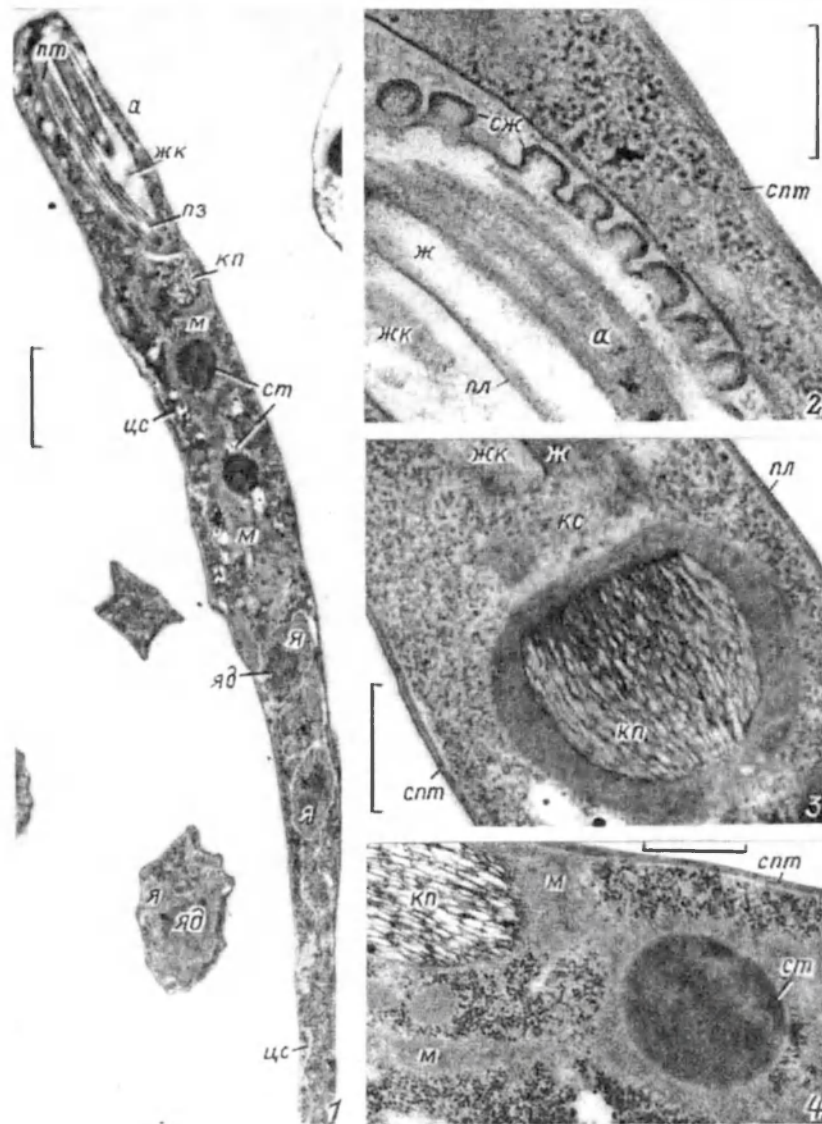


Рис. 2. Ультраструктура *Leptomonas repentinus*.

1 — продольный срез через делящуюся клетку *L. repentinus* (общий вид); 2 — продольный срез, который прошел через жгут и жгутиковый карман; 3 — продольный срез через кинетопласт; 4 — продольный срез через митохондрию с заключенным в нем симбионт-подобным тельцем; а — аксонема жгутика; жк — жгутиковый карман; кс — кинетосома; м — митохондрия; лз — переходная зона жгутика; пл — плазмалемма; nt — параксиальный тяж; сжк — складки плазмалеммы жгутика; спт — субпелликулярные микротрубочки; ст — симбионт-подобные тельца; цс — цистерны эндоплазматического ретикулума; яд — ядрышко; линейка: 1 — 2 мкм, 2 — 0.3 мкм, 3, 4 — 0.5 мкм.

Остальные обозначения, как на рис. 1.

Fig. 2. The ultrastructure of *Leptomonas repentinus*.

не реже чем раз в 5—6 дней, поскольку на 7—8-е сутки в аксеничной культуре все жгутиконосцы погибали. Пробирки с культурами инкубировали в термостате при 24°. В культуре постоянно присутствовало большое количество (до 70—80 %) делящихся клеток (рис. 1, 2), в том числе было много розеток жгутиконосцев, в которых 4—8 дочерних клеток оставались соединенными задними концами (рис. 1, 3). Попытки перевести культуру на чистую среду ВНИ или на среду Грейса с сывороткой оказались безуспешными. Параллельно с очищенной культурой вели культуры, контаминированные дрожжеподобными грибами.

Контаминированные культуры пересевали раз в 10 дней. Культуры с дрожжеподобными грибами выживали в холодильнике (5—6°) в течение 1—2 мес и дольше. Характерно, что в старых культурах (от 3 недель и больше), контаминированных дрожжеподобным грибом, появляются в большом количестве «гигантские» клетки, достигающие в длину 70 мкм и более (рис. 1, 4), тело которых часто закручено на 2—3 оборота вокруг своей продольной оси. Задний конец у таких жгутиконосцев нередко нитевидно оттянут, а положение ядра нестабильно — иногда оно расположено в средней части клетки, но чаще сдвинуто к переднему или заднему ее концу. Длина жгутика в 2—3 раза меньше длины тела жгутиконосца (рис. 1, 4). У «гигантских» клеток часто наблюдаются неравные деления, причем цитокинез в таких случаях обычно начинается с заднего конца клетки. В результате жгутиконосцы могут иметь 3—4 «хвоста» разной длины. При пересеве старой культуры на свежую среду получали культуру *L. repentinus* без «гигантских» промастигот. В чистых культурах и культурах, случайно контаминированных другим видом дрожжеподобного грибка (с более крупными клетками), образования «гигантских» жгутиконосцев не происходит.

Морфология лептонад в световом микроскопе. При исследовании сухих мазков содержимого кишечника зараженных водомерок *Gerris rufoscutellatus* наряду с многочисленными эпимастиготами *Blastocrithidia gerridis* удалось обнаружить лишь несколько плохо сохранившихся клеток с промастиготной организацией. Поэтому описание нового вида трипаносоматид выполнено по стадиям развития этих жгутиконосцев на искусственной питательной среде. Жгутиконосцы в культуре относительно мономорфны и представлены только удлинненными промастиготами, что говорит об их принадлежности к роду *Leptomonas*.

Leptomonas repentinus Malysheva et Frolov sp. n.

Хозяин: *Gerris rufoscutellatus* Latreille, 1807 (Hemiptera, Gerridae).

Локализация: кишечник.

Место обнаружения: северо-запад России, Ленинградская обл., пос. Комарово.

Диагноз. В культуре и в кишечнике хозяина представлены промастиготами. Цистоподобные стадии не обнаружены. Промастиготы имеют более или менее одинаковую ширину на всем своем протяжении, задний конец клетки закруглен. Часто тело жгутиконосцев делает 1—2 винтовых оборота вокруг своей продольной оси. Ядро крупное, овальное, плохо окрашиваемое по Романовскому-Гимза, расположено обычно в средней части тела жгутиконосца (рис. 1, 1). Кинетопласт крупный, округлый, интенсивно окрашиваемый, смещен к переднему концу тела (рис. 1, 1). На живых клетках между кинетопластом и ядром видны округлые светопреломляющие тельца, которые иногда имеются и в постъядерной области, но в меньшем количестве. Жгутиковый карман неглубокий, открывается на переднем конце клетки. Жгутик длинный, равен длине тела жгутиконосца или несколько превышает ее.

Промастиготы 21.9 (16.6—29) мкм длины, 2 (1.5—2.6) мкм ширины, расстояние между ядром и кинетопластом 4.7 (3.3—8.2) мкм, свободная часть жгута 25.5 (18.8—32.8) мкм длины.

Leptomonas repentinus хорошо отличается от 2 видов рода *Leptomonas*, ранее описанных из водомерок. От *L. collosoma*, длина которого 11.4 (7—14) мкм, шири-

на — 1.8 (1.5—2.5) мкм, жгутиконосцы *Leptomonas repentinus* отличаются почти вдвое большей длиной клеток и формой тела. Клетка *L. collosoma* расширена в передней четверти и постепенно сужается к заднему концу; кроме того, у *L. collosoma* ядро расположено в передней четверти клетки, а кинетопласт относительно небольшой (Wallace e. a., 1960).

L. repentinus отличается от *L. costoris* формой тела (передний конец *L. costoris* округлый и расширенный, задний — заостренный); расположением ядра — у *L. costoris* ядро находится в передней половине тела; локализацией кинетопласта — у *L. costoris* он расположен на расстоянии 1/4 длины тела от переднего конца; взаиморасположением ядра и кинетопласта — у *L. costoris* они сильно сближены; отсутствием диагональных линий у основания жгута (Wallace e. a., 1965).

Тонкое строение лептонад. Клетки *L. repentinus* имеют удлинённую форму и характерное для лептонад взаиморасположение органелл. В непосредственной близости от дна жгутикового кармана располагается кинетопласт, позади которого в средней части клетки находится ядро (рис. 2, 1). Снаружи жгутиконосцы покрыты плазмалеммой, которая выстилает их жгутиковый карман и переходит на жгутик (рис. 2, 2, 3). Плазмалемму подстилает слой продольно ориентированных субпелликулярных микротрубочек (рис. 2, 2—4). Внутри жгутикового кармана плазмалемма жгутика формирует характерные глубокие складки (рис. 2, 2), а иногда, возможно, и выросты, как правило, хорошо выраженные с одного края жгутика. Складки располагаются чуть выше уровня терминальной пластинки переходной зоны жгутика. Каких-либо контактов между плазмалеммой жгутика и стенкой жгутикового кармана в этой области не отмечено (рис. 2, 2). Небольшая складчатость плазмалеммы жгутика может наблюдаться и за пределами жгутикового кармана. По выходе из жгутикового кармана жгутик слегка расширяется. Между мембранами жгутика и жгутикового кармана формируются десмосомоподобные контакты. Выше переходной зоны жгутика параллельно его аксомере расположен хорошо развитый параксиальный тяж (рис. 2, 1, 2). Кинетопласт крупный и имеет нетипичную для большинства гоноксенных трипаносоматид структуру (рис. 2, 1, 3, 4). Нити кинетопластной ДНК рыхло расположены, вытянуты вдоль продольной оси тела жгутиконосца и заполняют собой практически всю капсулу кинетопласта (рис. 2, 3). Нуклеоид имеет четкий передний край — прямой или слегка вогнутый. Боковые края нуклеоида округлые, задний край обычно также округлый. Нуклеоид по переднему краю 750—850 нм длины и 800—920 нм ширины. Между кинетопластом и дном жгутикового кармана расположены кинетосомы (рис. 2, 3). Митохондрион разветвленный (рис. 2, 1, 4), плотный внутримитохондриальный матрикс маскирует собой немногочисленные кристы. В тесном контакте с митохондрионом, а также внутри последнего сразу за кинетопластом обнаружены крупные округлые симбионт-подобные тельца (рис. 2, 1, 4). Снаружи их окружает оболочка, а внутри заполняет неодинаковый по плотности матрикс. Диаметр этих телец около 800 нм. Ядро крупное, неправильной формы, вытянутое вдоль продольной оси тела жгутиконосца (рис. 2, 1). Ядрышко также крупное, неправильной формы. Пристеночный хроматин не выражен. Цитоплазма заполнена многочисленными рибосомами. Цистерны эндоплазматического ретикулула часто подстилают субпелликулярные микротрубочки (рис. 2, 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Культура жгутиконосцев *L. repentinus* поддерживается в лаборатории протозоологии ЗИН РАН уже более года, причем для культивирования этого вида предложено ранее не используемое сочетание сред — среды Грейса с сывороткой плода коровы и среды ВНИ в объемном соотношении 1 : 1. Следует заметить, что в отличие от большинства известных культур гоноксенных трипаносоматид выделенная нами культура не нуждается в гемине. Это еще раз подтверждает отличие данного вида от *L. collosoma*, культура которого была получена на кровесодержащей среде (Wallace e. a., 1960).

До настоящего времени к гемин-независимым видам относились только симбионт-содержащие жгутиконосцы (Mundim e. a., 1974; Chang e. a., 1975; De Menezes, Roitman, 1991) и *Phytomonas serpens* (De Souza, Attias, 1991), все остальные культуры гомоксенных трипаносоматид вели на кровесодержащих средах или на средах с обязательным добавлением гемина. Обращает на себя внимание тот факт, что жгутиконосцы *L. repentinus* лучше всего выживали в культурах, контаминированных дрожжеподобным грибом, высеванным вместе с трипаносоматидами из кишечника водомерки. Это позволяет предположить, что трипаносоматиды использовали для своей жизнедеятельности какие-то продукты метаболизма сопутствующих дрожжей. Примеры такого рода уже были описаны для трипаносоматид ранее. Так, присутствие в среде мицелия плесневого гриба (или его отвара), выделенного из кишечника той же особи хозяина, что и жгутиконосцы, было необходимым условием роста для *Leptomonas mucophilus* в лабораторной культуре (Фролов, Скарлато, 1991).

Тонкое строение *L. repentinus* в целом типично для гомоксенных трипаносоматид, хотя имеются и некоторые присущие данному виду особенности. В первую очередь это касается строения жгутика, плазмалемма которого образует правильные и необычайно глубокие складки внутри жгутикового кармана. У трипаносоматид подобное строение жгутика ранее не описывали. Тонкие и более длинные выросты, формирующиеся на жгутиках, обнаружены у *Blastocrithidia gerridis* из кишечника водомерки (Frolov, Karlov, 1995), но такие выросты располагаются за пределами жгутикового кармана и служат для прикрепления паразита к стенкам кишечника хозяина. Функциональное назначение складок плазмалеммы жгутика у *L. repentinus* пока остается неясным.

Необычным для трипаносоматид является строение кинетопласт-митохондриального комплекса *L. repentinus*. Компактный нуклеоид у этих жгутиконосцев отсутствует — нити кинетопластной ДНК упакованы рыхло и заполняют собой всю капсулу кинетопласта. Похожая структура кинетопласта ранее была описана у *Herpetomonas muscarum ingenoplastis* (Wallace e. a., 1973), у которого нити к-ДНК еще больше, чем у *L. repentinus*, вытянуты вдоль продольной оси тела жгутиконосца и спирально закручены. Рыхло упакованная к-ДНК, заполняющая собой практически всю капсулу кинетопласта, характерна также для симбионт-содержащих видов трипаносоматид (Freymuller, Camargo, 1981). Кроме того, сходные изменения в структуре кинетопласта, сопровождающиеся уплотнением митохондриального матрикса и сокращением количества крист, отмечены у подвергшихся высушиванию эндомастигот *Proteomonas inconstans* (Фролов, Малышева, 1992), а также у *Blastocrithidia triatomae* при образовании «цист» (Mehlhorn e. a., 1979; Reduth, Schaub, 1988).

Выяснение природы симбионт-подобных сферических телец, обнаруженных в митохондриальном матриксе *L. repentinus*, требует дополнительного исследования. Возможно, именно эти включения видны на живых жгутиконосцах, как светопреломляющие тельца. Ранее у *L. mucophilus* были описаны в митохондрии плотные включения, диаметр которых не превышал 200 нм (Фролов, Скарлато, 1990), однако природа этих включений авторами не обсуждалась. Внутримитохондриальные включения *L. repentinus* имеют оболочку и неодинаковый по плотности матрикс, что говорит о возможной симбиотической природе этих образований. Однако помимо строения кинетопласта мы не обнаружили никаких других ультраструктурных особенностей, присущих симбионт-содержащим видам трипаносоматид (отсутствия параксиального тяжа, особенностей расположения субпелликулярных микротрубочек и ветвей митохондрия) (Freymuller, Camargo, 1981). Кроме того, все до сих пор описанные у трипаносоматид симбионты представлены так называемыми диплосомами, или биполярными телами, и локализованы в цитоплазме жгутиконосцев (Ossipov e. a., 1997). Известны всего несколько примеров локализации симбионтов у Protista в тесном контакте с митохондриями или в перимитохондриальном пространстве (Подлипаев, Осипов, 1983) и один не подтвержденный случай локализации симбионтов внутри хлоропластов и митохондрий (Ossipov e. a., 1997). Поэтому вопрос о природе внутримитохондриальных включений у *L. repentinus* представляет особый интерес.

Отсутствие пристеночного хроматина в ядрах *L. repentinus* может быть связано с высокой пролиферативной активностью культуры. Ядра подавляющего большинства клеток находятся в состоянии митоза. А в свое время было показано, что в митотических ядрах трипаносоматид конденсированный хроматин отсутствует (Frolov, Karpov, 1995). Этим, возможно, объясняется и плохая окраска ядер по Романовскому-Гимза на светооптических препаратах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, гранты № 99-04-49489, 99-04-49572, а также с использованием оборудования центра коллективного пользования «Таксон».

Список литературы

- Подлипаев С. А. Новые виды низших трипаносоматид из полужесткокрылых (Heteroptera) семейств Gerridae и Nabidae: стадии их жизненных циклов в природе и при культивировании в лаборатории // Тр. ЗИН АН СССР. 1985. Т. 129. С. 35—47.
- Подлипаев С. А. Каталог мировой фауны простейших семейства Trypanosomatidae // Тр. ЗИН АН СССР. 1990. Т. 217. 177 с.
- Подлипаев С. А., Осипов Д. В. Клетка Protozoa как среда обитания симбионтов // Тр. Биол. науч.-исслед. ин-та. 1983. № 34. С. 73—112.
- Подлипаев С. А., Фролов А. О. Описание и лабораторное культивирование *Blastocrithidia miridarum* sp. n. (Mastigophora, Trypanosomatidae) // Паразитология. 1987. Т. 21, вып. 6. С. 545—552.
- Фролов А. О., Малышева М. Н. Цикл развития паразитического жгутиконосца *Crithidia brevicula* (Trypanosomatidae) в лабораторной культуре // Цитология. 1989. Т. 31. С. 971—975.
- Фролов А. О., Малышева М. Н. Эндомастиготы — особый тип расселительных стадий трипаносоматид рода *Proteomonas* // Паразитология. 1992. Т. 26, вып. 4. С. 351—353.
- Фролов А. О., Скарлато С. О. Дифференцировка цистоподобных клеток паразитического жгутиконосца *Leptomonas mусophilus* in vitro // Цитология. 1990. Т. 32. С. 985—992.
- Фролов А. О., Скарлато С. О. Описание *Leptomonas mусophilus* sp. n. (Trypanosomatidae) — паразита клопа *Phytocoris* sp. (Miridae) // Паразитология. 1991. Т. 25, вып. 2. С. 99—103.
- Bulat S. A., Mokrousov I. V., Podlipaev S. A. Classification of trypanosomatids from insects and plants by the UP-PCR (universally-primed PCR) technique and cross dot blot hybridisation of PCR products // Eur. J. Protistol. 1999. Vol. 35. P. 319—326.
- Chang K. P., Chang C. S., Sassa S. Heme biosynthesis in bacterium-protozoan symbioses: enzymic defects in host hemoflagellates and complementary role of their intracellular symbionts // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1975. Vol. 72. P. 2979—2983.
- De Menezes M. C., Roitman I. Nutritional requirements of *Blastocrithidia culicis*, a trypanosomatid with an endosymbiont // J. Protozool. 1991. Vol. 38. P. 122—123.
- De Souza W., Attias M. Cell biology of *Phytomonas*, trypanosomatids parasites of plants // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1991. Vol. 86. P. 275—284.
- Freymuller E., Camargo E. P. Ultrastructural differences between species of trypanosomatids with and without endosymbionts // J. Protozool. 1981. Vol. 28, N 2. P. 175—182.
- Frolov A. O., Karpov S. A. Comparative morphology of kinetoplastids // Cytology. 1995. Vol. 37. P. 1072—1096.
- Mehlhorn H., Schaub G. A., Peters W., Haberkorn A. Electron microscopic studies on *Blastocrithidia triatomae* Cerisola et al., 1971 (Trypanosomatidae) // Tropenmed. Parasit. 1979. Bd 30. S. 289—300.
- Mundim M. N., Roitman I., Hermans M. A., Kitajima E. W. Simple nutrition of *Crithidia deanei*, a reduviid trypanosomatid with an endosymbiont // J. Protozool. 1974. Vol. 21. P. 518—521.
- Ossipov D. V., Karpov S. A., Smirnov A. V., Rautian M. S. Peculiarities of the symbiotic systems of Protists with diverse patterns of cellular organization // Acta Protozoologica. 1997. Vol. 36. P. 3—21.
- Patton W. S. The life cycle of a species of *Crithidia* parasitic in the intestinal tract of *Gerris fossarum* Fabr // Arch. für Protistenk. 1908. Bd 12. S. 131—146.
- Porter A. The morphology and life-history of *Crithidia gerridis*, as found in the british water-bug, *Gerris paludum* // Parasitology. 1909. Vol. 2. P. 348—366.

- Reduth D., Schaub G. A. The ultrastructure of the cysts of *Blastocrithidia triatomae* Cerisola et al., 1971 (Trypanosomatidae): a freeze-fracture study // *Parasitol. Res.* 1988. Vol. 74. P. 301—306.
- Wallace F. G., Clark T. B., Dyer M. I., Collins T. Two new species of flagellates cultivated from insects of the genus *Gerris* // *J. Protozool.* 1960. Vol. 7. P. 390—392.
- Wallace F. G., Todd S. R., Rogers W. Flagellate parasites of water streiders with a description of *Leptomonas costoris*, n. sp. // *J. Protozool.* 1965. Vol. 12, N 3. P. 390—393.
- Wallace F. G., Wagner M., Rogers W. E. Varying kinetoplast ultrastructure in two subspecies of *Herpetomonas muscarum* (Leidy) // *J. Protozool.* 1973. Vol. 20. P. 218—222.

ЗИН РАН, Санкт-Петербург, 199034
e-mail: frolal@online.ru

Поступила 8.01.2002

THE DESCRIPTION AND LABORATORY CULTIVATION
OF *LEPTOMONAS REPENTINUS* SP. N. (KINETOPLASTIDA: TRYPANOSOMATIDAE) —
A PARASITE OF THE WATER STRIDER *GERRIS RUFOSCUTELLATUS*

M. N. Malysheva, A. O. Frolov

Key words: *Leptomonas*, Trypanosomatidae, Kinetoplastida, culture, ultrastructure.

SUMMARY

A new homoxenos trypanosomatide, *Leptomonas repentinus* sp. n., is described from the digestion tract of the water strider *Gerris rufoscutellatus*. The laboratory culture of *L. repentinus* has been obtained. Cultural stages of *L. repentinus* have been studied with TEM. The mitochondrion and kinetoplast have unusual structure. Large symbiont-like spherical bodies have been found in the mitochondrial matrix.