

УДК 576.895.122

РАЗВИТИЕ МАТЕРИНСКИХ СПОРОЦИСТ *ECHINOSTOMA CAPRONI* (TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE)

© Г. Л. Атаев, И. П. Исакова, А. А. Добровольский

В результате детального изучения материнских спороцист *Echinostoma caproni* получены новые данные об их миграции и развитии в двух видах моллюсков рода *Biomphalaria*. Особое внимание в работе было уделено размножению партенит. Подтверждено, что формирование первичных и вторичных генеративных клеток (см.: Атаев et al., 1997; Dobrovolskij, Атаев, 2003) происходит только в результате пролиферации недифференцированных клеток и последующей дифференциации части из них. Эти процессы и у мирацидиев, и у паразитической фазы развития материнской спороцисты протекают в особом органе — герминальной массе, занимающей в обоих случаях каудальное положение. Начало формирования герминальной массы приурочено к ранним этапам морфогенеза мирацидия. Эти данные подтверждают предположение о том, что герминальная масса является универсальным центром мультипликации и развития генеративных элементов всех поколений партенит *Echinostoma caproni* (Атаев и др., 2005).

Формирование новых эмбрионов в герминальной массе материнской спороцисты завершается через 10 дней после заражения. Через 2 недели после заражения спороциста отрождает последнюю редию, хотя в ее шизоцеле остаются 4–8 эмбрионов. Всего спороциста за время своей жизни (около 3 недель при 26 °С) формирует около 20 партенит. Таким образом, материнские спороцисты реализуют свой репродуктивный потенциал не полностью — степень его реализации зависит от условий, складывающихся в организме моллюска-хозяина.

Echinostoma caproni — один из наиболее интенсивно изучаемых видов трематод. Их партеногенетические поколения — спороцисты и редии упоминаются в большом количестве работ (Fried, Huffman, 1996; Fried, Graczyk, 2000; Атаев и др., 2005, и др.) и тем не менее наши знания об этих фазах развития эхиностом еще далеки от исчерпывающей полноты. Появление новых данных о различных поколениях партенит, в том числе о развитии и размножении материнской спороцисты (МС), обусловило тему настоящей статьи. Основное внимание в проведенном исследовании придавалось размножению спороцист — формированию генеративных клеток (ГК), развитию из них редиоидных эмбрионов, а также организации центров мультипликации генеративных элементов — герминальных масс. Для этого пришлось детально проследить судьбу МС, начиная с мирацидия.

Характеристика мирацидиев *Echinostoma caproni* была приведена нами в предыдущих работах (Атаев et al., 1997, 2001; Атаев и др., 2001). В частности, в задней половине личинки были отмечены характерные крупные клетки, которые, как выяснилось позднее, при внешнем сходстве имеют совершенно разную природу. Часть из них оказалась секреторными клетками,

часть недифференцированными и только примерно 6 — созревающими и зрелыми генеративными клетками (ГК). Последние получили название «первичные» генеративные клетки в отличие от «вторичных», которые образуются только после перехода материнской спороцисты к паразитированию в моллюске-хозяине (Атаев et al., 1997). Ранее была также описана и общая схема размножения МС и отмечено, что единственным центром мультипликации радиоидных эмбрионов является герминальная масса (Dobrovolskij, Атаев, 2003; Атаев и др., 2005). В настоящей работе прослежена преемственность центра пролиферации генеративных элементов мирацидиев и герминальной массы МС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Экспериментальная часть работы была выполнена в лаборатории биологии животных Перпеньянского университета (Франция). Объектом исследования стали трематоды *Echinostoma caproni*, которыми экспериментально были заражены 2 вида рода *Biomphalaria* — *B. glabrata* и *B. pfeifferi* (оба являются природными хозяевами *E. caproni*). Для заражения были взяты 2-месячные моллюски: диаметр раковины *B. glabrata* составил 9—11 мм (доза заражения составила 10 мирацидиев), а *B. pfeifferi* — 5—6 мм (доза заражения — 4 мирацидия).

Зараженные улитки содержались в аквариумах при 26 °С и фоторежиме 12 : 12 ч. В аквариумах с *B. glabrata* вода постоянно аэрировалась. В аквариумах с *B. pfeifferi* постоянная аэрация не проводилась. Кормом для моллюсков обоих видов служили листья салата, но для второго вида они предварительно высушивались.

Развитие редий было изучено как на живом материале, полученном непосредственно в процессе вскрытия моллюсков, так и на тотальных и гистологических препаратах, приготовленных из фиксированного в жидкости Буэна материала. Тотальные препараты окрашивали кармином. Срезы толщиной 5—6 мкм окрашивали гематоксилином Эрлиха с последующей подкраской водным раствором эозина.

Перед фиксацией для СЭМ объекты промывали в растворе Чернина. В качестве фиксатора использовали 3%-ный глютаральдегид на 0.1 М фосфатном буфере. Для просмотра препаратов использовали микроскоп «ISI super III-A».

Для приготовления ультратонких срезов материал также промывали в растворе Чернина, а затем фиксировали в глютаральдегиде и четырехокиси осмия. Просмотр препаратов осуществляли на электронном микроскопе «Hitachi HU 12».

Фотографии выполнены на микроскопе «Биомед» с помощью цифровой камеры «Nikon Coolpix 4500».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Миграция материнских спороцист *E. caproni*

После нахождения промежуточного хозяина-моллюска рода *Biomphalaria* мирацидии *E. caproni* прикрепляются к его покровам с помощью теребраториума (рис. 1, А; см. вкл.). Местом проникновения мирацидия в моллюсков

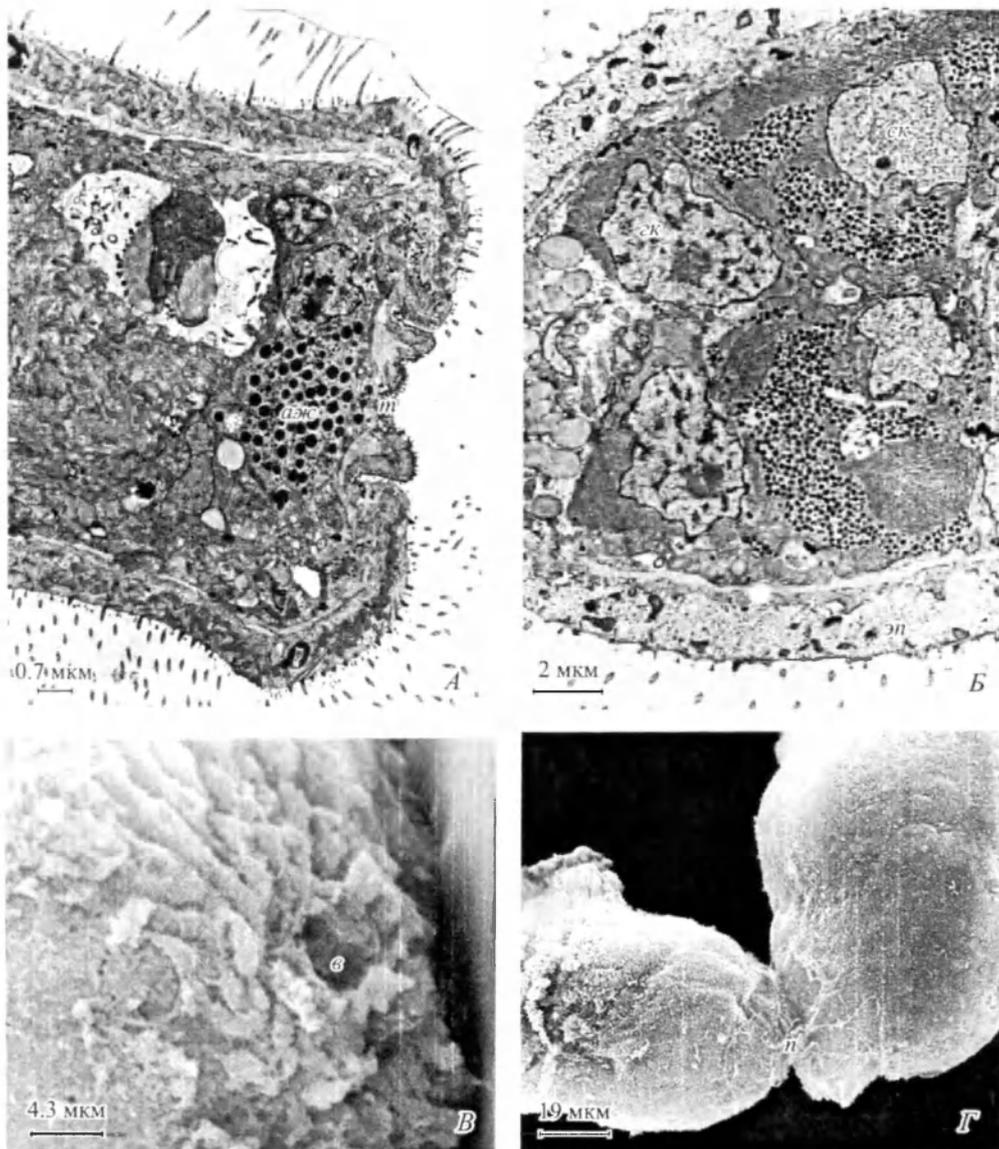


Рис. 1. Трансмиссионные и сканирующие фотографии мирацидия (А–Б) и материнской спороцисты (В–Г) *Echinostoma caproni*.

А – ТЭМ фотография передней части мирацидия; Б – ТЭМ фотография задней части мирацидия; В – СЭМ фотография 8-дневной спороцисты в районе выходного отверстия; Г – СЭМ фотография 10-дневной спороцисты в районе перегородки. аж – апикальная железа, в – выходное отверстие, гк – генеративная клетка, п – перегородка, ск – секреторная клетка, т – теребраториум, эп – эпителиальная пластинка.

Fig. 1. Photographs of miracidium (А–Б) and mother sporocyst (В–Г) of *Echinostoma caproni* by transmission and scanning electron microscopes.

могут быть различные участки его тела: поверхность головы, ноги (включая подошву); кроме того, личинки иногда внедряются в эпителий мантийной или ротовой полости. Для облегчения проникновения используется секрет четырехядерной апикальной железы (рис. 1, А). У обоих изучаемых видов моллюсков характер миграции МС сходен — различия связаны в основном со временем, затрачиваемым на ее осуществление. Вначале будут приведены данные о миграции в *B. pfeifferi*, а затем отмечены особенности этого процесса в *B. glabrata*.

Во время внедрения в моллюска мирацидий сбрасывает эпителиальные пластинки. Под ними обнажается тонкая базальная пластинка, усиленная за счет материала, секретиремого крупными субтегументарными клетками, расположенными под слоями мышц.

Формирование первичных покровов происходит очень быстро, тем не менее они оказываются еще слишком нежными для осуществления спорочистой миграции. Поэтому после заражения моллюска партениты некоторое время остаются вблизи от места пенетрации мирацидия. Эта остановка представляет собой короткий (около 3 ч), но важный этап их онтогенеза. Ранее мы определили его как «период покоя» (Ataev et al., 1997). В течение этого времени основным признаком метаморфоза личинки остается формирование тегумента. В остальном МС сохраняют структуру и клеточный состав мирацидия.

В ходе миграции в материнских спороцистах становятся заметными дегенерационные процессы, обусловленные регрессивным метаморфозом и направленные на разборку ставших ненужными провизорных органов, однако развитие собственно спороцистоидных, соматических и генеративных элементов начнется уже после достижения ими места окончательного поселения — сердца моллюска.

Направление и длительность миграции МС зависят от места пенетрации мирацидия (Ataev et al., 1997). Спороцисты, оказавшиеся после внедрения под эпителием ноги, в начале пути вынуждены преодолевать толщу последней и лишь затем попадают в кровеносные синусы. В случае пенетрации мирацидиев в области щупалец МС сразу оказывались в кровеносной системе (центральной артерии или периферическом синусе), откуда быстро попадали в синусы висцеральной части головы. Сюда же направляются спороцисты, мигрирующие из-под эпителия головы.

Иногда мирацидии в процессе заражения оказываются в ротовой полости. Здесь они внедряются в эпителий губ, стенку буккальной полости или радулярного мешка. Дальнейшее их продвижение осуществляется либо по полостям синусов, либо под *tunica propria* различных органов. Обычно их путь лежит вдоль генитального или ректального комплексов органов. По мере достижения уровня перикарда партениты направляются к дорсальной поверхности тела моллюска, а далее под мантийным эпителием — к сердцу моллюска.

Более детерминировано направление миграции партенит, оказавшихся в процессе заражения под покровами мантийной полости или в мантийном воротничке. Обычно мирацидии внедряются вблизи от входа в мантийную полость. При этом период покоя проходит непосредственно под респираторным эпителием, где имеется густая сеть синусов и сосудов кровеносной системы, среди которых выделяются направленные к основной вене почечные, ректальные и дорсальная вены. Эти сосуды не имеют собственных стенок и отделены от окружающих тканей только слоем фибробласто-подобных клеток, что делает их легкопроницаемыми для партенит.

Таким образом, для материнских спороцист наиболее сложной частью пути является прохождение плотных, мускульных тканей моллюска. После их преодоления движение спороцист заметно ускоряется. Соответственно скорость миграции зависит не только от расстояния от места пенетрации до сердца моллюска, но и от характера преодолеваемых тканей (Ataev et al., 1997). Так, через 9 ч после заражения (п. з.) спороцист не удается обнаружить в щупальцах и мантийном воротничке. В то же время на прохождение коллумеллярного мускула или букальной массы МС затрачивают на несколько часов больше.

Появление первой спороцисты вблизи предсердия было зарегистрировано через 12 ч п. з. Через 18 ч п. з. уже около 30 % мигрирующих спороцист достигли места окончательного поселения, а большинство остальных находилось в непосредственной близости от него — предсердии или в районе легочной вены. Остается добавить, что согласно полученным данным, непосредственно в желудочек спороцисты проникают со стороны предсердия. После прикрепления каудальным концом к стенкам желудочка или аорты спороцисты уже не меняют своей локализации. При этом участок прикрепления обрастает фиброзным материалом, образуемым амебоцитами. Следует отметить, что молодые МС как в ходе миграции, так и после ее завершения способны прикрепляться к тканям хозяина передним концом тела, возможно, используя при этом теребраториум. Однако с возрастом количество таких спороцист уменьшается. К началу размножения (8 дней п. з.) подобных случаев не отмечается.

Результаты регрессионного анализа (Ataev et al., 1997) показали для первых суток п. з. обратную зависимость между количеством спороцист и временем наблюдения (Т):

при заражении 3 мирацидиями: $n^{\circ} \text{ МС} = -0.05 \text{ Т} + 2.62$ ($\alpha = 0.02$). $R^2 = 0.23$.

при заражении 9 мирацидиями: $n^{\circ} \text{ МС} = -0.10 \text{ Т} + 6.49$ ($\alpha = 0.04$). $R^2 = 0.18$.

Важно отметить, что эта закономерность более выражена при высокой интенсивности инвазии. Так, при заражении моллюсков 1—3 мирацидиями не заканчивает миграции 30 % партенит, а при заражении 9 мирацидиями — 50 %.

Удалось проследить судьбу МС, которые по тем или иным причинам не смогли достичь сердца хозяина. Во всех случаях они оказались неспособными завершить развитие и отродить потомство (Ataev et al., 1997).

В заключение описания миграции МС отметим, что кроме места пенетрации на характер миграции (прежде всего ее скорость) влияет размер моллюска-хозяина. Это утверждение хорошо иллюстрируется данными о миграции *Echinostoma caproni* в более крупных улитках *Biomphalaria glabrata* (Ataev et al., 1998). Схема миграции здесь сходна с описанной для *B. pfeifferi*, но ее осуществление занимает больше времени — период покоя увеличивается до 6 ч, а массовое достижение партенитами области сердца зарегистрировано в *B. glabrata* только в середине вторых суток п. з.

Развитие материнских спороцист *E. caproni*

Через 6 ч п. з. размеры МС немного увеличиваются, хотя общее количество клеток практически не изменяется. В результате дифференциации части клеток образуются звездчатые клетки, характеризующиеся сильно

разветвленными цитоплазматическими отростками и обладающие ядром с плотно упакованным хроматином.

Через 12 ч п. з. МС заметно отличаются между собой по общему количеству клеток. В большинстве особей оно не превышает 50—60, что связано с дегенерацией части клеток мирацидия. Секреторные клетки принимают вытянутую форму, их края становятся неровными. Длинные цитоплазматические отростки части секреторных клеток вытягиваются к стенке тела. Через 3 дня п. з. этих клеток обнаружить не удастся. К концу миграции отмечается активизация клеток МС.

Через 18 ч п. з. количество клеток остается прежним, но многие из них находятся в состоянии деления. Наблюдается и дробление 1—2 первичных ГК: они увеличиваются в размерах, ядра становятся овальными и исчезают ядрышки.

В результате через сутки п. з. среднее количество клеток увеличивается до 100 (максимум до 150). Размер спороцист составляет 90×40 мкм. К этому времени происходит дробление первых ГК, в результате чего образуется 1—2 редиоидных эмбриона, состоящих из 2—4 бластомеров. Остальные 4—5 ГК находятся на завершающих стадиях митотического цикла. ГК и первые эмбрионы, так же как и у мирацидиев, занимают заднюю часть тела спороцисты.

Остаются хорошо заметными теребраториум и связанная с ним апикальная железа (остатки данных образований заметны до 6-го дня п. з.). Сохраняется нервная масса, но периферические нейроны дистанцируются от нейропиля и дегенерируют. Глаза распадаются на отдельные фрагменты. Заметно уплотняются покровы МС за счет пластинчатых структур, образуемых звездчатыми клетками. Спороцисты этого возраста, как и мирацидии, имеют по 2 циртоцита. В течение последующих дней количество последних постепенно увеличивается и у взрослых спороцист достигает 6—8.

Через 2 дня п. з. наиболее развитые редиоидные эмбрионы в материнских спороцистах состояли из 5—10 бластомеров (рис. 2, А; см. вкл.). Остальные первичные ГК к этому времени также приступили к дроблению. В это же время наблюдается пролиферация недифференцированных клеток, отмеченных ранее в задней части тела мирацидия. При этом часть этих клеток дифференцируется во «вторичные» ГК. Важно отметить, что именно в зоне пролиферации недифференцированных клеток и специализации возникающих из них ГК сохраняется довольно мощный участок паренхиматозного матрикса. Учитывая структуру и генеративную функцию этого образования, мы можем обозначить его как центр пролиферации генеративных элементов — герминальную массу (рис. 3; см. вкл.).

Продолжается процесс дегенерации соматических клеток мирацидия: появляются многочисленные пикнотические тельца; остатки глаз и нервной массы распадаются на мелкие фрагменты, которые обнаруживаются в разных частях тела спороцисты. В дальнейшем никаких следов нервной массы обнаружить не удастся. Однако мелкие скопления гранул пигмента глаз в отдельных случаях продолжали встречаться даже через 2 недели п. з.

Через 3 дня п. з. эмбрионы достигают стадии 20—30 бластомеров (рис. 3, А). Вокруг них за счет поверхностно расположенных макромеров начинается формироваться зародышевая мембрана. Ее образование знаменует достижение эмбрионом стадии «зародышевого шара».

Через 4 дня п. з. общее количество эмбрионов достигает 12—14 (рис. 2, Б). Самые крупные из них состоят примерно из 200—300 бластомер-

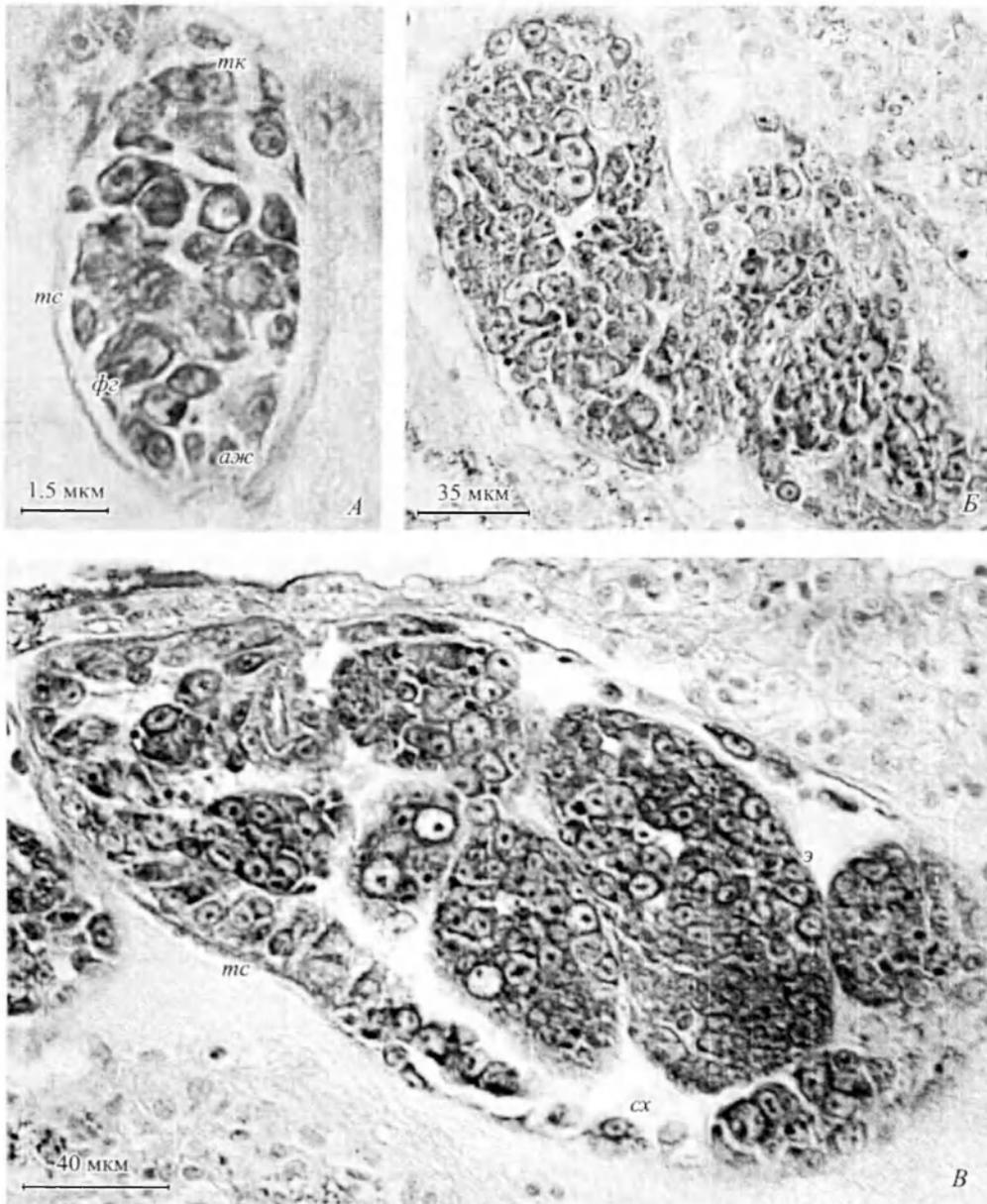


Рис. 2. Гистологические срезы материнской спороцисты *Echinostoma caproni*.
А — через 2 дня п. з.; Б — через 4 дня п. з.; В — через 6 дней п. з. сх — шизоцель, тс — тегумент спороцисты, фг — фрагмент глаза, э — эмбрион. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Fig. 2. Mounts of *Echinostoma caproni* mother sporocyst.

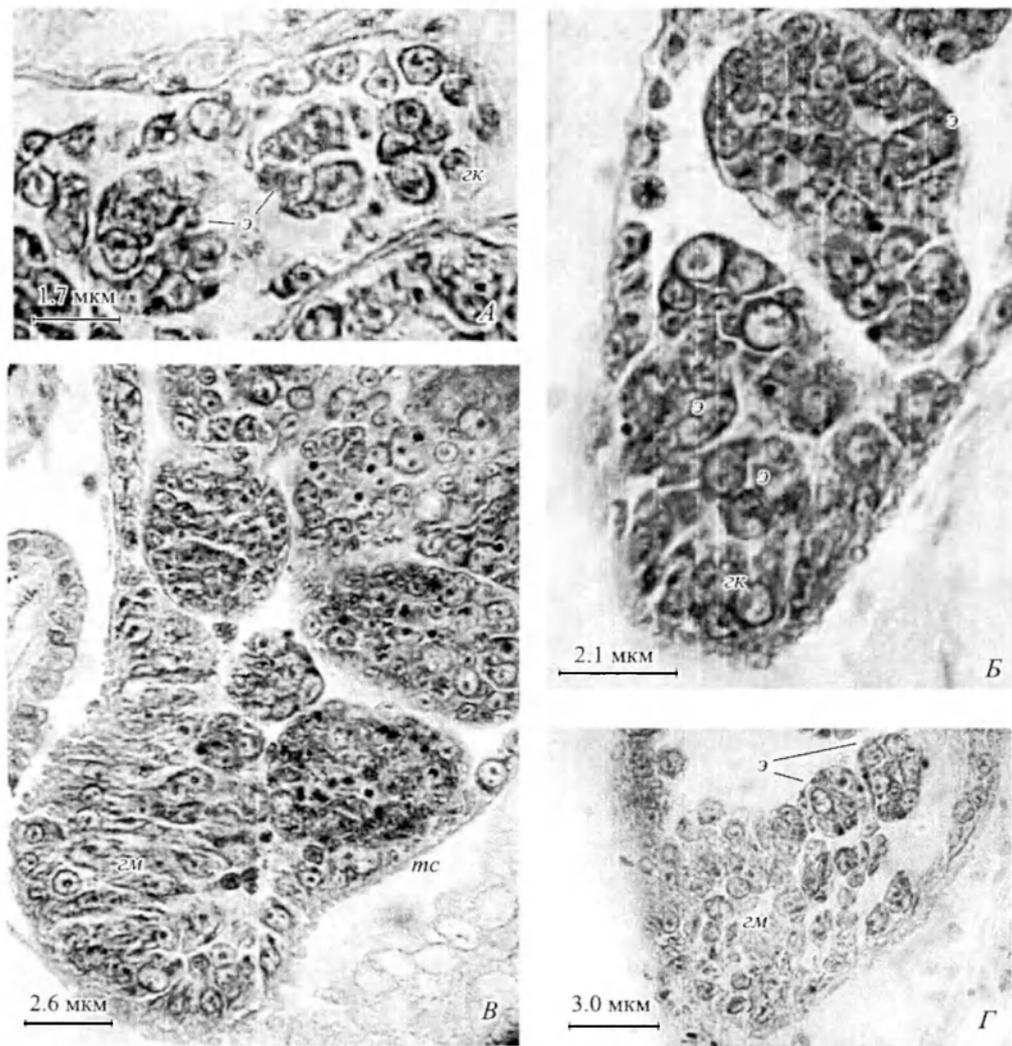


Рис. 3. Гистологические срезы через материнскую спороцисту *Echinostoma caproni* в районе герминальной массы.

А — через 3 дня п. з.; Б — через 5 дней п. з.; В — через 7 дней п. з.; Г — через 10 дней п. з. гм — герминальная масса. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1 и 2.

Fig. 3. Mounts of *Echinostoma caproni* mother sporocyst in the place of germinal mass' location.

ров. Интенсивный рост МС и редиоидных зародышей сопровождается началом дифференциации клеток, увеличивается количество пикнотических телец. В области герминальной массы появляются первые эмбрионы, развивающиеся из вторичных ГК.

Через 5 дней п. з. в наиболее крупных эмбрионах насчитывается уже до 500 клеток. Обычно на этой стадии усиливаются морфогенетические процессы, протекающие в зародыше. В частности, обособляется зачаток глотки. В самой материнской спороцисте постепенно дегенерируют участки паренхимы, до этого момента разделявшие эмбрионы, и начинается формирование общий шизоцель. Правда, часть «молодых» зародышевых шаров еще остается связанной пластинчатыми структурами между собой и остатками пристеночной паренхимы. В этот же период герминальную массу покидают первые эмбрионы, сформировавшиеся из вторичных ГК (рис. 3, *Б*).

В теле 6-дневной МС имеется единый шизоцель, в котором находятся до 14 эмбрионов (рис. 2, *В*). В 1—2 из них уже хорошо заметны морфогенетические преобразования (особенно хорошо виден зачаток глотки). Размер наиболее крупного зародыша достигает 130×70 мкм, а диаметр самых мелких зародышевых шаров не превышает 30 мкм. Кроме этих зародышей спороциста содержит 5—10 эмбрионов, еще впаянных в паренхиматозный матрикс и состоящих не более чем из 25 бластомеров.

Через 7 дней п. з. в спороцистах завершается формирование 3—6 редиоидных эмбрионов (рис. 4, *А*; см. вкл.), хотя по-прежнему 2 из них опережают в своем развитии остальные. В герминальной массе продолжается закладка и развитие новых эмбрионов (рис. 3, *В*).

На переднем конце тела спороцист становится заметным терминально расположенное небольшое углубление (рис. 1, *В*). На наш взгляд, оно связано в своем происхождении с теребраториумом мирацидия. Вероятно, в этом месте тегумент спороцисты оказывается наиболее тонким, и именно здесь происходит разрыв стенки тела при отрождении первой редии. Мы не можем применить к этому образованию термин «родильная пора», так как оно не обладает характерной структурой — отсутствуют мускульный сфинктер, одноклеточные железы и т. д. (Галактионов, Добровольский, 1998), поэтому предлагаем обозначать его как «выходное отверстие».

Отрождение первых материнских редий зарегистрировано через 8 дней п. з. При небольшой интенсивности инвазии они обычно остаются рядом со спороцистами. И лишь после заполнения полости желудочка и аорты вновь отрождаемые редии расселяются по телу хозяина.

В течение последующих 2—3 сут большинство эмбрионов, развивающихся из первичных ГК, покидает спороцисту. В ней остается не более 2 эмбрионов, образованных первичными ГК. Но спороциста уже содержит от 15 до 30 зародышевых шаров, сформировавшихся из вторичных ГК.

Через 10 дней п. з. спороцисты достигают максимальных размеров — 1.0×0.2 мм. В шизоцеле насчитывается до нескольких десятков эмбрионов, большинство из которых находится на стадии зародышевого шара (рис. 4, *Б*). В герминальной массе МС завершается развитие еще нескольких эмбрионов (рис. 3, *Г*). Однако к этому времени завершается процесс пролиферации недифференцированных клеток и соответственно образования ГК. Новые эмбрионы уже не закладываются, в дальнейшем герминальная масса утрачивает репродуктивную функцию. При этом она теряет характерную структуру и дегенерирует.

После отрождения нескольких материнских редий в передней части спороцист образуются пустоты, которые уже не заполняются эмбрионами.

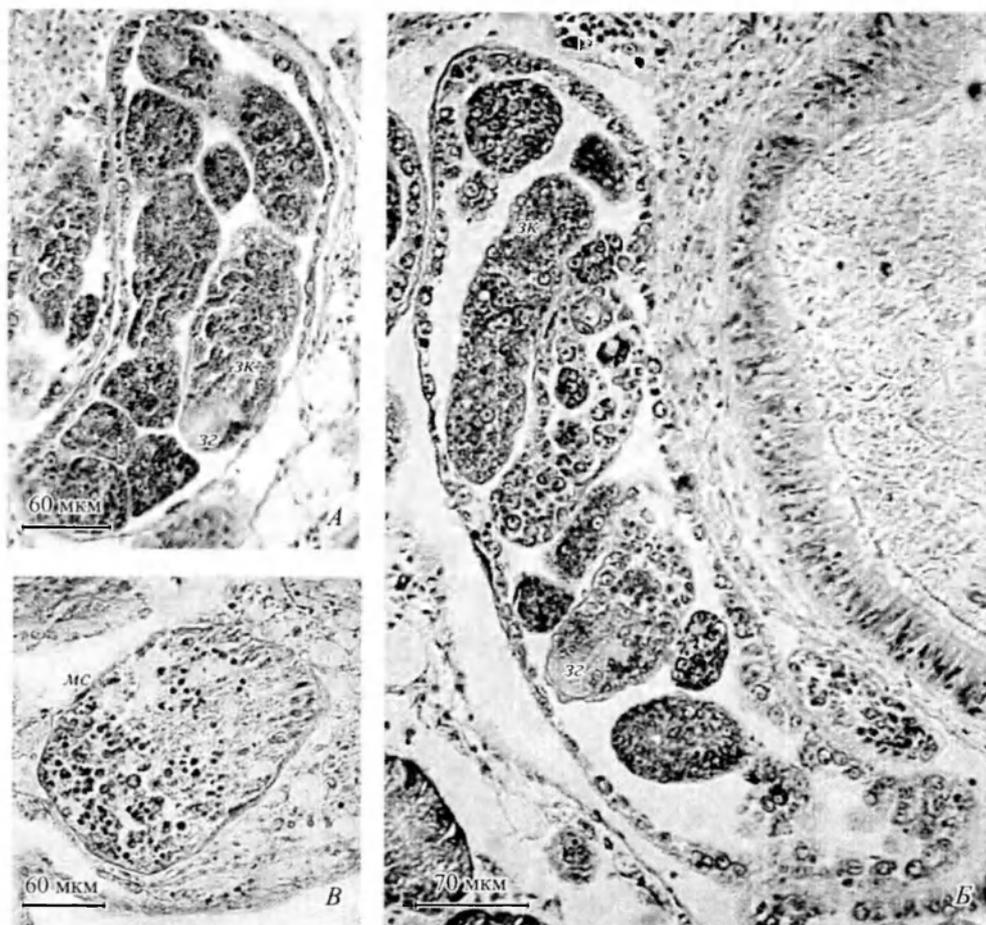


Рис. 4. Гистологические срезы материнской спороцисты *Echinostoma caproni*.
А — через 7 дней п. з.; Б — через 10 дней п. з.; В — через 21 дней п. з. зг — зачаток глотки, зк — зачаток кишки, лс — материнская спороциста.

Fig. 4. Mounts of *Echinostoma caproni* mother sporocyst.

На 10, 11 дни п. з. такие участки обособляются от остальной части тела глубокими перетяжками (рис. 1, Г). Еще через день наблюдается аутономия этих участков, занимающих до $1/4$ длины тела МС. Обычно это отделение происходит после отрождения последних эмбрионов, образованных первичными ГК. Это явление, очевидно, связано со снижением эластичности тегумента в процессе отрождения зародышей. Выходное отверстие закрывается уже недостаточно плотно, что создает угрозу нарушения целостности МС.

После отрождения последней редии, сформированной из первичной ГК, в размножении спороцист отмечается перерыв (около 10 ч), продолжающийся до созревания новых зародышей, образованных уже вторичными ГК. Возможно, спороцисты используют это время для образования на месте перетяжки нового выходного отверстия. Размеры спороцист при этом уменьшаются (см.: Ataev et al., 1997). По мере подрастания новых эмбрионов МС вновь увеличиваются, но прежних размеров они уже не достигают. Обычно размножение МС завершается через 2 недели п. з. Всего они отрождают 5—7 материнских редий, сформировавшихся из первичных и 10—25 — из вторичных ГК. Важно отметить, что все первичные ГК развиваются в эмбрионы в отличие от вторичных ГК, число которых может в несколько раз превышать число развивающихся из них редий. Следовательно, имеется достаточный запас герминального материала, степень реализации которого зависит от условий развития МС.

В дальнейшем наблюдается сокращение размеров спороцист. Как отмечалось ранее, после 10 дней п. з. новые редиоидные эмбрионы уже не образуются. Более того не все зародыши заканчивают свое развитие, так как усиливающиеся процессы возрастной дегенерации МС приводят к деструкции генеративных элементов. При этом размеры спороцист сокращаются до минимальных. На их поверхности образуются характерные глубокие складки. У многих спороцист вновь возникают перетяжки, но обособленные участки обычно не отшнуровываются. Если же это происходит, то фрагменты спороцисты принимают сферическую форму (рис. 4, В). Средняя продолжительность жизни МС при температуре 26 °С составляет 20—23 дня (минимальный срок жизни — 18, максимальный — 30 дней). Погибающая спороциста отделяется от стенки желудочка и быстро выносятся током гемолимфы за пределы сердца моллюска.

Ранее отмечалось, что миграция *Echinostoma caproni* в *Biomphalaria glabrata* занимает больше времени, чем в *B. pfeifferi*, и завершается на вторые сутки п. з. Только после этого наблюдается активизация митотических процессов соматических и генеративных клеток. Однако в дальнейшем спороцисты развиваются достаточно интенсивно, чтобы приступить к отрождению первых материнских редий, как и в *B. pfeifferi*, на 8-й день п. з. Сохраняется и последовательность развития герминального материала. Вначале в спороцистах из первичных ГК формируется около 6 редиоидных эмбрионов, 1—2 из которых опережают в своем развитии остальные. И только после их отрождения заканчивается формирование зародышей, развивающихся из вторичных ГК. По предварительным данным, количество таких эмбрионов в спороцистах из *Biomphalaria glabrata* может достигать 30 (у МС *B. pfeifferi* оно не превышало 25). Максимальные размеры, достигаемые материнскими спороцистами в обоих видах моллюсков, очень близки и обычно регистрируются на 10-й день п. з.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты позволяют достаточно полно реконструировать процесс развития МС *E. caproni*.

Закладка и обособление генеративных элементов начинается на самых ранних стадиях онтогенеза МС, — еще в процессе развития мирацидия. Зрелый мирацидий содержит 5—7 ГК, причем 1—2 из них в своей дифференцировке немного опережает остальные. Именно эти ГК первыми приступают к дроблению (как правило, сразу после завершения миграции спороцист). Кроме ГК, в каудальной части мирацидия располагаются 3—5 недифференцированных клеток. В совокупности все эти клеточные элементы можно рассматривать как герминальную массу. В течение первых суток развития МС наблюдается пролиферация недифференцированных клеток и их последующая дифференциация, в результате которой образуются вторичные ГК.

Последовательность событий, связанных с формированием зрелых ГК, определяет динамику размножения МС в моллюске. Сначала формируются эмбрионы из наиболее развитых ГК. Они первыми покидают материнский организм. Вслед за ними подрастают другие эмбрионы, также развивающиеся из первичных ГК. И только затем подходит очередь эмбрионов, развивающихся из вторичных ГК. Важно отметить, что количество первичных ГК достаточно строго определено (в среднем 6), и все они в норме развиваются в материнские реди. Количество же вторичных ГК может варьировать в широких пределах, но только около 10—25 из них разовьются в эмбрионы. Очевидно, число последних определяется многими факторами — интенсивностью заражения моллюска, его физиологическим состоянием и т. д.

Наши представления о природе партенит и механизмах их размножения, а также основных вариантах организации центров пролиферации ГК — герминальных масс было подробно изложено в предыдущих работах (Галактионов, Добровольский, 1998; Атаев, 2000; Добровольский и др., 2000; Dobrovolskij, Ataev, 2003; Galaktionov, Dobrovolskij, 2003, и др.). Выполненное исследование подтвердило один из главных выводов этих работ: герминальная масса является универсальным органом размножения партенит трематод. Однако ее локализация, динамика пролиферации ГК, а также характер их последующего развития могут существенно отличаться у разных видов. Герминальная масса МС *E. caproni* формируется в задней части мирацидия и обычно сохраняется здесь на протяжении всего репродуктивного периода жизни спороцист. Наблюдающиеся иногда отклонения от этого — наличие двух центров пролиферации, смещение их вдоль стенки тела в сторону переднего конца и т. п. — очевидно вызываются определенной «несогласованностью» процессов роста и дегенерации, которые сопровождают развитие партенит в моллюске, начиная с самого первого дня после заражения.

Полученные данные подтверждают высказанное ранее мнение о невозможности пролиферации зрелых ГК партенит (Добровольский и др., 1983). Эти клетки сразу приступают к дроблению, давая начало новым эмбрионам. Образование новых ГК у *E. caproni* возможно только в результате соответствующей специализации части недифференцированных клеток, входящих в состав герминальной массы, «впянной» в паренхиматозный матрикс, который частично сохраняется в задней части спороцисты.

Таким образом, размножение МС *E. caproni* носит пролонгированный характер. Этим обстоятельством, очевидно, и обусловлено наличие выходного отверстия для сформированных партенит. Предположение о том, что

редидные эмбрионы покидают МС только через терминально расположенное на переднем конце тела выходное отверстие подтверждается полным исчезновением остатков теребраториума и апикальной папиллы с началом размножения спороцист.

Все развитие МС *E. caproni* на паразитической фазе может быть разделено на несколько основных периодов, обязательных в онтогенезе каждой спороцисты.

1. Период покоя (5 ч п. з. — здесь и далее в скобках указано только начало каждого этапа). Небольшой по продолжительности, но важный этап в развитии МС, в течение которого происходит подготовка к миграции, прежде всего, формирование дефинитивных покровов.

2. Период миграции (20 ч п. з.). Основной целью миграции МС является достижение ими области сердца моллюска. Продолжительность этого периода ограничена во времени, и если спороциста не успеет закончить миграцию то, она будет развиваться в другой части тела хозяина, хотя, как правило, этот процесс так и не доводится до конца.

3. Период роста (8 дней п. з.). Наступает после достижения МС места окончательного поселения. Характеризуется увеличением числа соматических клеток и быстрым развитием герминального материала. В течение этого периода происходит интенсивный рост спороцисты.

4. Период размножения (14 дней п. з.). Характеризуется интенсивным развитием и отрождением редидных зародышей. В среднем одна спороциста отрождает за свою жизнь около 20—25 материнских редид. Немного меньше половины редидных эмбрионов развивается из первичных, а остальные — из вторичных ГК, образованных в результате специализации недифференцированных клеток.

5. Период дегенерации (22 дня п. з.). Отдельные проявления дегенерации наблюдаются довольно рано (например, дегенерация участков паренхимы, сопровождаемая образованием пикнотических телец и пластинчатых структур). Однако в полной мере она наступает непосредственно за отрождением последней материнской редиды. В то же время в ряде случаев начало дегенерации вызывает остановку размножения. Это приводит к тому, что не все редидные эмбрионы успевают закончить развитие.

В дополнение к предложенной схеме развития партенит важно отметить, что на протяжении первых 4 периодов наблюдаются процессы морфогенетической дегенерации сомы МС (резорбция или трансформация провизорных органов мирацидия, образование схизоцеля и пр.), а на завершающем этапе эти процессы сменяются «возрастной» дегенерацией, приводящей к разрушению спороцист.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 05-04-48520-а), программы «Университеты России» (грант УР 07.01.324) и правительства Санкт-Петербурга (грант для аспирантов вузов за 2005 г.).

Список литературы

- Атаев Г. Л. Развитие партенит трематод: Автореф. дис. д-ра биол. наук. СПб.: СПбГУ, 2000. 34 с.
- Атаев Г. Л., Аванесян А. В., Локер С., Добровольский А. А. Организация герминального материала и динамика размножения материнских спороцист рода *Echinostoma* (Trematoda: Echinostomatidae) // Паразитология. 2001. Т. 35, вып. 4. С. 307—318.

- Атаев Г. Л., Исакова Н. П., Добровольский А. А. Формирование инфрапопуляции партенит *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae) // *Паразитология*. 2005. Т. 39, вып. 2. С. 124–136.
- Галактионов К. В., Добровольский А. А. Происхождение и эволюция жизненных циклов трематод. СПб.: Наука, 1998. 402 с.
- Добровольский А. А., Галактионов К. В., Атаев Г. Л. Особенности организации генеративного материала и динамика размножения материнских спороцист трематод // *Паразитология*. 2000. Т. 34, вып. 1. С. 14–24.
- Добровольский А. А., Галактионов К. В., Мухамедов Г. К., Синха Б. К., Тихомиров И. А. Партеногенетические поколения трематод. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та 1983. 107 с. (Тр. Ленингр. общ-ва естествоисп. Т. 82, вып. 4).
- Ataev G. L., Dobrovolskij A. A., Avanessian A. V., Loker E. S. Germinal elements and their development in *Echinostoma caproni* and *Echinostoma paraensei* (Trematoda) miracidia // *Journ. Parasitol.* 2001. Vol. 87, N 5. P. 1160–1164.
- Ataev G. L., Dobrovolskij A. A., Fournier A., Jourddane J. Migration and development of mother sporocysts of *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae) // *Journ. Parasitol.* 1997. Vol. 83, N 3. P. 444–453.
- Ataev G. L., Fournier A., Coustau C. Comparison of *Echinostoma caproni* mother sporocysts development in vivo and in vitro using of *Biomphalaria glabrata* snails and a *B. glabrata* embryonic cell line // *Journ. Parasitol.* 1998. Vol. 84. P. 227–235.
- Dobrovolskij A. A., Ataev G. L. The nature of reproduction of Trematodes Rediae and Sporocysts // *Taxonomy, Ecology and Evolution of Metazoan Parasites*. Presses Universitaires de Perpignan. 2003. Т. 1. P. 249–272.
- Galaktionov K. V., Dobrovolskij A. A. The biology and evolution of Trematodes. An Essay on the biology, morphology, life cycles, transmissions and evolution of Digenetic Trematodes. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Academic Publishers, 2003. 592 p.
- Fried B., Huffman J. E. The Biology of Intestinal Trematode *Echinostoma caproni* // *Advances in Parasitology*. 1996. Vol. 38. P. 311–368.
- Fried B., Graczyk T. K. (eds). *Echinostomes as experimental models for biological research*. The Netherlands: Kluwer Academic publishers, 2000. 267 p.

Российский государственный
педагогический университет им. А. И. Герцена,
Санкт-Петербург,
Санкт-Петербургский государственный университет

Поступила 29 IX 2005

DEVELOPMENT OF MOTHER SPOROCASTS OF ECHINOSTOMA CAPRONI (TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE)

G. L. Ataev, N. P. Isakova, A. A. Dobrovolskij

Key words: Trematoda, Echinostomatidae, *Echinostoma caproni*, mother sporocyst.

SUMMARY

New data on the migration and development of *Echinostoma caproni* mother sporocysts in two mollusk species of the genus *Biomphalaria* are obtained. It is confirmed, that the formation of primary and second generative cells takes place only as a result of undifferentiated cells' proliferation and following differentiation of some of them. These processes in miracidium, as well as in the parasitic stage of mother sporocyst, take place in a special organ, germinal mass, which occupies caudal position in both cases. The supposition of the role of germinal mass as the universal centre of multiplication and development of generative elements in all generations of *Echinostoma caproni* parthenites is confirmed. It is established, that mother sporocysts do not realize their reproductive potential completely, and the degree of its realization depends on the conditions arising in the host organism.