

УДК 576.893.19:593.191.2(268.46)

**DIFFICILINA CEREBRATULI GEN. ET SP. N. (EUGREGARINIDA:
LECUDINIDAE) — НОВЫЙ ВИД ГРЕГАРИН ИЗ НЕМЕРТИНЫ
CEREBRATULUS BARENTSI (NEMERTINI: CEREBRATULIDAE)**

© Т. Г. Симдянов

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Воробьевы горы, Москва, 119992, Россия
E-mail: tim@soil.msu.ru; tgsim@pochta.ru
Поступила 12.05.2009

Описывается новый вид асептатных грегариин *Difficilina cerebratuli* sp. n. из беломорской немертины *Cerebratulus barentsi* Bürger, 1895 (Heteronemertini: Cerebratulidae). Приводятся данные по морфологии и ультраструктуре трофозоитов. Обсуждаются систематическая принадлежность описываемого вида и возможности использования некоторых признаков строения эпицита в систематике грегариин.

Грегарины (Apicomplexa: Sporozoa: Gregarinomorpha) — облигатные паразиты беспозвоночных животных. Их хозяевами могут быть полихеты, олигохеты, турбеллярии, немертины, сипункулиды, эхиуриды, моллюски, членистоногие, иглокожие, полухордовые, низшие хордовые — оболочники (Tunicata) и, возможно, бесчерепные (Ascrania). Не описаны с достоверностью грегарины из кишечнополостных, «первичнополостных червей», форонид, мшанок и брахиопод. Большинство грегариин паразитирует в кишечнике хозяев, хотя в ряде случаев наблюдается переход от кишечного паразитизма к паразитизму в полости тела хозяина и находящихся там органах (семенные мешки олигохет, гонады, гемоцель и жировое тело насекомых). Грегарины обычно паразитируют внеклеточно, прикрепляясь к тканям хозяина передним концом, на котором часто формируются для этой цели специальные прикрепительные приспособления. Грегарины — крупные протисты, обычные размеры которых 200—600 мкм, максимальные — до 15 мм. На сегодняшний день описано более 1700 видов грегариин.

Исходным для грегариин является типичный для споровиков трехзвенный жизненный цикл, в котором закономерно чередуются мерогония, гамогония и спорогония и всегда есть характерная стадия инвазионного зоита (спорозоиты, мерозоиты), имеющая единый план строения у грегариин и кокцидий. Специфической особенностью жизненных циклов грегариин является стадия сизигия — соединение гамонтов, обычно попарное, предшествующее половому процессу. Сизигий инцистируется, превращаясь в гаметоцисту, внутри которой происходит образование гамет (гамогония) и их копуляция, а также формирование и созревание ооцист (спорогония).

Большинство грегаринов утратило фазу бесполого размножения — мерогонию, хотя у некоторых она все же есть. По этому признаку вслед за П.-П. Грассе (Grassé, 1953) принято выделять 3 отряда грегаринов — Archigregarinida (мерогония присутствует, паразиты морских беспозвоночных, преимущественно полихет), Eugregarinida (мерогония отсутствует, паразиты самых разных групп беспозвоночных, см. выше) и Neogregarinida (мерогония присутствует, паразиты насекомых). Жизненный цикл архигрегаринов считается исходно примитивным, тогда как неогрегарины, по мнению Грассе, произошли от эугрегаринов и приобрели мерогонию вторично.

Эволюция грегаринов шла в основном по пути перехода к внеклеточному паразитизму. В связи с этим трофозои грегаринов являются наиболее сложными и разнообразно устроенными стадиями жизненного цикла. Клетки трофозоитов обычно сильно поляризованы, что связано с дифференциацией переднего конца, несущего прикрепительную функцию. Тело трофозоитов может быть несегментированным — таких грегаринов называют моноцистидными, либо поделено на отделы одной или несколькими внутренними фибриллярными перегородками — септами. Это полицистидные формы. Моноцистидное строение характерно для Archigregarinida и Neogregarinida, а также для низших Eugregarinida (подотряд Aseptata). Полицистидные или септатные формы — это представители подотряда Septata отряда Eugregarinida. Они в свою очередь могут быть дицистидными, трицистидными и многосегментными. Покровы трофозоитов представлены типичной для спорозоитов трехмембранной пелликулой, состоящей из плазмалеммы с гликокаликсом и внутреннего мембранного комплекса, образованного слившимися мембранными альвеолами, в формировании которых принимают участие цистерны ЭПР и пузырьки, продуцируемые аппаратом Гольджи (Prensier, 1970a, b). Поверхность клетки трофозоитов грегаринов устроена в разных отрядах по-разному (Крылов, Добровольский, 1980; Schrével, Philippe, 1993). Для архигрегаринов характерны регулярные широкие продольные складки пелликулы, под которой упорядоченно расположены, обычно в 2—3 слоя, продольные субпелликулярные микротрубочки. Поверхность большинства неогрегаринов, по-видимому, лишена гребней и борозд. Для эугрегаринов характерен особый тип строения поверхности — эпицит. Он представляет собой совокупность узких продольных гребней, образованных пелликулой и несущих в своих вершинах особые электронно-плотные структуры — апикальные арки и апикальные филаменты (Vivier, 1968). Для эугрегаринов характерны также не продольные, а кольцевые кортикальные микротрубочки, лежащие не непосредственно под пелликулой, а на некотором от нее удалении. Трофозоиты грегаринов, как правило, имеют единственное довольно крупное ядро.

Отряд Eugregarinida — самый крупный отряд грегаринов, к которому принадлежит около 95 % видов. Самые примитивные из них — представители семейств Lecudinidae и Urosporidae, относящиеся к подотряду Aseptata, — паразитируют преимущественно в морских беспозвоночных (кроме членистоногих). Высшие эугрегарины (подотряд Septata) — паразиты водных и наземных членистоногих. Все они, как правило, не вызывают сильной патологии у своих хозяев и, таким образом, не имеют существенного экономического значения. По всей видимости, именно по этой причине грегарины до сих пор остаются относительно плохо изученной группой, несмотря на свое широкое распространение и очевидную важность для понимания филогении и путей эволюции Apicomplexa в целом.

Большинство исследований грегаринов, в том числе и описаний видов, выполнено только на светооптическом уровне, а этих данных явно недостаточно

но для построения естественной филогенетической системы грегарин. Недовлетворительную степень разработанности системы отмечают все авторы крупных сводок, посвященных этой группе протистов (Grassé, 1953; Levine, 1985, 1988; Perkins et al., 2000). Электронно-микроскопические исследования грегарин, хотя и содержат много интересной информации, в целом фрагментарны и не дают полной картины — разные таксоны изучены с неодинаковой степенью подробности. Поэтому, несмотря на большое количество данных, ультраструктурные признаки пока не могут быть в полной мере использованы для целей систематики, в особенности систематики на уровне семейств и ниже, хотя немногочисленные попытки в этом направлении и предпринимались (Vavra, 1969; Desportes et al., 1977; Ormierès et al., 1977). Исследования нуклеотидных последовательностей грегарин также немногочисленны и пока не позволяют сделать какие-либо однозначные выводы (Leander et al., 2003a, b, 2006).

Плохая разработанность систематических критериев затрудняет изучение фауны грегарин морских беспозвоночных, поскольку идентификация вновь обнаруженных трофозоитов грегарин с неизвестным жизненным циклом, а это наиболее частый случай, становится затруднительной. Таким положением вещей, в частности, наверное, можно объяснить и плохую изученность фауны грегарин морей России. Исследования, посвященные данному вопросу, очень немногочисленны (Dogiel, 1906, 1909, 1910; Мавродиади, 1908, 1914; Ssokoloff, 1914; Боголепова, 1953; Найденова, 1990; Белофастова, 1996; Паскерова, 2002; Паскерова и др., 2003; Dyakin, Simdyanov, 2005).

Эта статья продолжает серию работ по изучению фауны и морфологии грегарин морских беспозвоночных Белого моря, в которых автор помимо традиционных светооптических описаний пытается использовать для диагностики родов и видов ультраструктурные данные (Симдянов, 1992, 1995а, б, 1996, 2004).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

1 августа 1990 г. в ближайшей окрестности Беломорской биологической станции МГУ (Еремеевский порог, пролив Великая Салма, Кандалакшский залив Белого моря) при легководолазном погружении была поймана крупная темно-коричневая немертина (~150 мм в полусокращенном состоянии) со светлой окантовкой головных щелей, впоследствии идентифицированная как *Cerebratulus barentsi* Bürger, 1895 (det. S. A. Maslakova). Так как впоследствии эти немертины более не попадались, был исследован только 1 экз. хозяина, в котором находилось более 100 экз. описываемых паразитов.

Световая микроскопия. Живых грегарин, помещенных в каплю морской воды под покровное стекло, изучали с использованием светового микроскопа МБС-1. Для приготовления постоянных препаратов объекты фиксировали жидкостью Буэна с последующей отмывкой 70%-ным спиртом и после окраски гематоксилином Делафильда заключали в канадский бальзам по стандартной методике.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). Для исследования при помощи сканирующего электронного микроскопа часть грегарин была зафиксирована 4%-ным формалином на морской воде, а затем постфиксирована 2%-ным раствором OsO₄. После восходящей спиртовой проводки (35°, 50°, 70°, 80°, 96°) объекты переводили в смесь 96%-ного спирта и ацетона в соотношении 1:1, далее следовали три смены 100%-ного ацетона по 1 часу и

сушка в критической точке. Вслед за этим объекты подвергали золото-палладиевому напылению и изучали в сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-405A.

Трансмиссионная (просвечивающая) электронная микроскопия (ТЭМ). Для получения ультратонких срезов грегарин фиксировали 1.5%-ным глютаровым альдегидом на 0.1 М какодилатном буфере, постфиксировали 2%-ным раствором OsO₄ на том же самом буфере, а затем заливали в эпон-аралдит по стандартной методике. Полученные блоки резали на ультратоме ЛКВ-III. Продольные и поперечные ультратонкие срезы, окрашенные уранил-ацетатом и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе JEM-100B (Jeol). Все электронно-микроскопические исследования выполнены в межкафедральной лаборатории электронной микроскопии биологического факультета МГУ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В процессе вскрытия немертина сначала была разрезана вдоль средней линии, а затем обе половинки были расчленены на мелкие кусочки препаративными иглами. При этом многочисленные грегарины выпали в морскую воду, в которой проводилась препаровка объекта. Хотя материала, пригодного для гистологических исследований хозяина после такого способа вскрытия не осталось, с большой долей вероятности можно предположить, что грегарины паразитировали в кишечнике, так как, во-первых, это их обычная локализация, а во-вторых, из паренхимы такие крупные организмы не смогли бы выпасть наружу.

Световая микроскопия (рис. 1; рис. 2, А, см. вкл.). Размеры трофозоитов достигают 250 мкм в длину и 70 мкм в ширину. Тело моноцистидное, удлиненное, слегка изогнутое, задний конец заостренный. Передний конец как живых, так и окрашенных гематоксилином грегарин прозрачный, закругленный, не отделен от остального тела какой-либо перетяжкой, однако у фиксированных экземпляров видна четкая граница, выражающаяся в исчезновении зернистости. Ядро относится к типу пузырьковидных по классификации Райкова (1978), сферическое, диаметром до 26 мкм, лежит посередине или в передней трети тела и содержит 1—2 округлых кариосомы. Один из живых трофозоитов производил впечатление двуядерного (рис. 2, А, 2), однако его не удалось зафиксировать и окрасить, дабы подтвердить или опровергнуть это предположение. Живые трофозоиты передвигаются, медленно скользят по предметному стеклу. Другие стадии жизненного цикла не обнаружены.

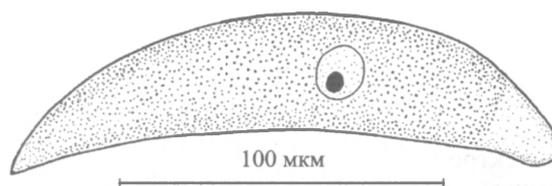


Рис. 1. Свободный трофозоит *Difficilina cerebratuli* sp. n. (фиксация — жидкость Буэна, окраска — гематоксилин Делафилда).

Fig. 1. Free trophozoite of the *Difficilina cerebratuli* sp. n. (fixation — Bouin's fluid, staining — Delafield's haematoxylin).

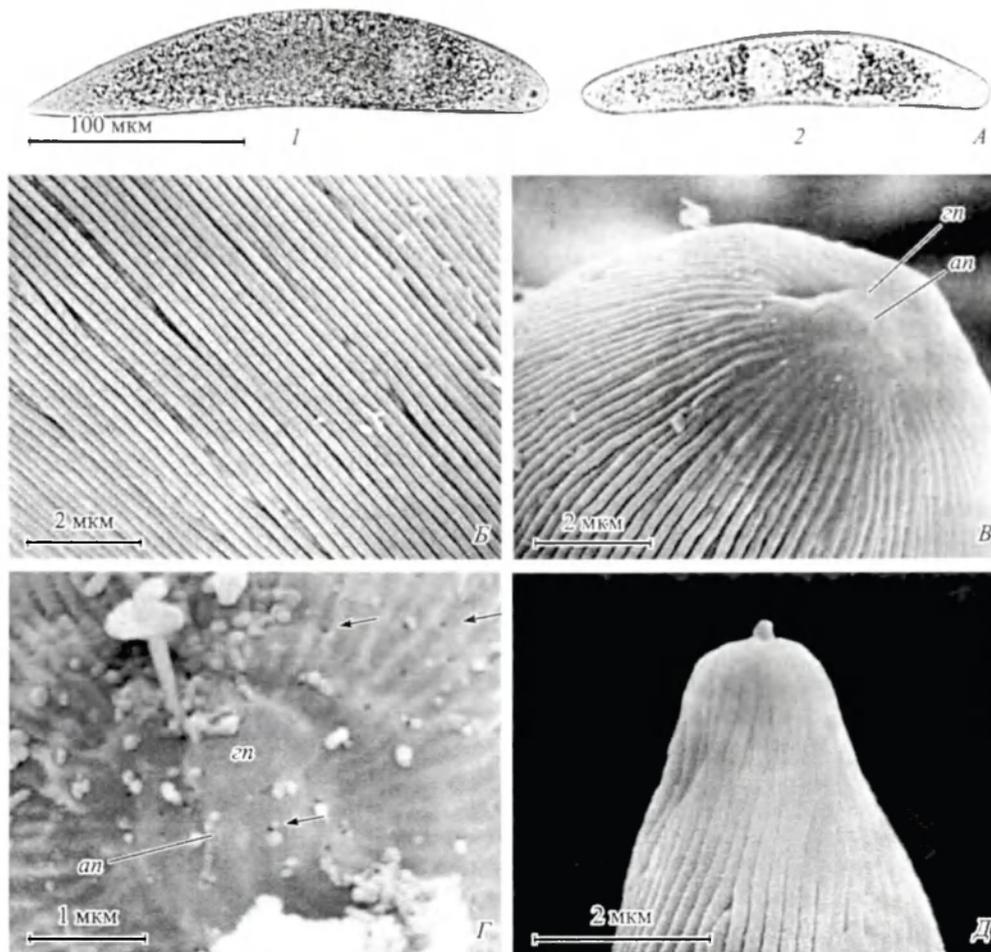


Рис. 2. Морфология трофозитов *Difficilina cerebratuli* sp. n. и их поверхностные структуры (А — световая микроскопия; Б—Д — сканирующий электронный микроскоп).

А — живые трофозиты (1 — типичный, 2 — двуядерный); Б — эпицит *Difficilina cerebratuli*; В, Г — передний конец разных особей *Difficilina cerebratuli*; Д — задний конец *Difficilina cerebratuli*. an — апикальная папилла; zn — гладкая площадка, стрелки указывают на поры.

Fig. 2. General morphology and surface structure of the *Difficilina cerebratuli* sp. n. trophozoites (A, light microscopy; Б—Д, SEM).

Сканирующая электронная микроскопия (рис. 2, Б—Д, см. вкл.). На фотографиях со сканирующего электронного микроскопа хорошо видны гребни эпидита, время от времени скрывающиеся соседними гребнями и появляющиеся вновь, так что создается впечатление изгибания этих гребней в вертикальной (медиальной) плоскости (рис. 2, Б). Несколько не доходя до переднего конца тела, гребни уменьшаются в высоте и сходят на нет, в результате чего формируется терминально расположенная гладкая площадка с очень слабо выраженной апикальной папиллой в центре (рис. 2, В). У одного из двух изученных экземпляров на гладкой площадке и вокруг нее обнаружены многочисленные поры (рис. 2, Г). На заднем конце тела (рис. 2, Д) также находится папилла, но гораздо лучше выраженная и заостренной формы. Большая часть гребней при этом обрывается, не достигая заднего конца.

Трансмиссионная электронная микроскопия (рис. 3—5, см. вкл.). Изучение ультратонких поперечных срезов на уровне середины тела показало наличие типичной для трофозоитов грегариин трехмембранной пелликулы (Vivier et al., 1970) толщиной ~30 нм, покрытой мощным слоем гликокаликса (~30 нм) и формирующей многочисленные эпидитарные гребни (рис. 3), имеющие на поперечном срезе одинаковую пальцевидную форму — с параллельными боковыми сторонами и закругленной вершиной. Их средняя высота 280 нм, средняя максимальная толщина 160 нм, среднее расстояние между боковыми поверхностями гребней в нижней трети 130 нм. Апикальные арки выражены нечетко, их количество 3. Апикальных филаментов также 3, они толстые (18—25 нм) и сплющены в сечении. Кроме того, в верхушках гребней залегает дополнительная электронно-плотная осевая структура — средняя ось (рис. 3, Г), описанная ранее у некоторых грегариин ракообразных, а также у *Gonospora beloneides* (Urosporidae) и двух видов рода *Lankesteria* из сем. Lecudinidae (Desportes et al., 1977; Corbel et al., 1979; Симдянов, 1995б). Средняя ось имеет в поперечнике дугообразную форму.

Снизу к пелликуле прилегает подстилающий слой (рис. 3, Г) толщиной около 35 нм, образующий в основании гребней перемычки, которые отделяют внутренние полости гребней от остальной цитоплазмы. В своей нижней части подстилающий слой переходит в сеть из рыхлых фибрилл толщиной около 16 нм, пронизывающих всю цитоплазму, в том числе и внутренний объем эпидитарных гребней (рис. 3, В, Г).

Обнаружены микропоры. Они расположены между гребнями эпидита и имеют типичное для споровиков строение (Scholtyseck, Mehlhorn, 1970).

Разграничение на экто- и эндоплазму (Vivier, 1968), проводимое у грегариин по признаку наличия или отсутствия зерен запасного углевода — парагликогена, или, вернее, амилопектина (Mercier et al., 1973), не вполне четкое: толщина эктоплазматического слоя всего лишь около 0.4—0.5 мкм (рис. 3, А). Примерно на расстоянии 60 нм ниже пелликулы залегают отдельные кольцевые микротрубочки (рис. 3, А, Г). В кортикальной зоне обнаружены многочисленные структуры, напоминающие митохондрии (рис. 3, В), однако качество фиксации не позволяет утверждать это с полной уверенностью. Встречаются отдельные вакуоли с рыхлым фибриллярным содержимым и электронно-плотные тела (до 400 × 270 нм). Часть из них контактирует с пелликулой, что хорошо видно на продольном срезе в области передней трети тела грегарины (рис. 3, Д), при этом создается впечатление экструзии из клетки части их вещества. Такие включения встречаются также и в эндоплазме, где они, судя по меньшим размерам, зарождаются (рис. 4, А—В). Следует отметить, что подобные электронно-плотные тела обычны и для других эугрегариин. Они имеют полисахаридную природу (Corbel et al., 1979; Philippe

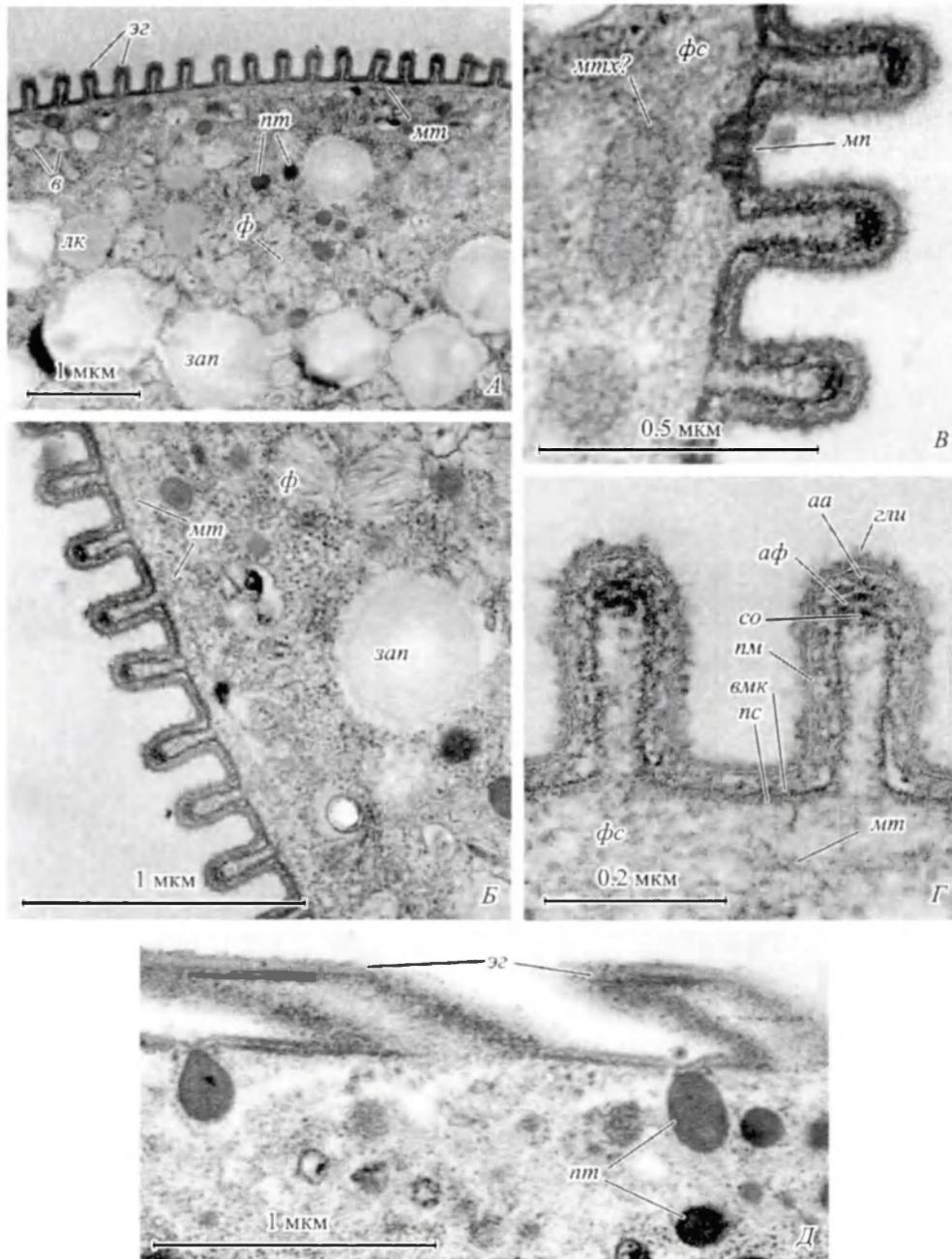


Рис. 3. Ультраструктура трофозоитов *Difficilina cerebratuli* sp. n. (ТЭМ).

А–Г — фрагменты поперечных срезов через среднюю часть тела, фотографии сделаны при разных увеличениях; Д — кортикальная зона передней трети тела на продольном срезе. *аа* — апикальные арки; *аф* — апикальные филаменты; *в* — вакуоли; *вмк* — внутренний мембранный комплекс пелликулы; *гли* — гликокаликс; *зап* — зерна амилопектина; *лк* — липидные капли; *мп* — микропора; *мт* — кольцевые кортикальные микротрубочки; *мтх?* — возможно, митохондрии; *пм* — плазматическая мембрана (плазмалемма), *пс* — подстилающий слой пелликулы; *пт* — плотные тела (возможно, мукоцисты); *со* — «средняя ось» (дополнительная электронно-плотная структура в вершинах гребней); *ф* — фибриллярный материал эндоплазмы; *фс* — фибриллярная сеть цитоплазмы, ассоциированная с подстилающим слоем; *эг* — эпицитарные гребни.

Fig. 3. Fine structure of the *Difficilina cerebratuli* sp. n. trophozoites (TEM).

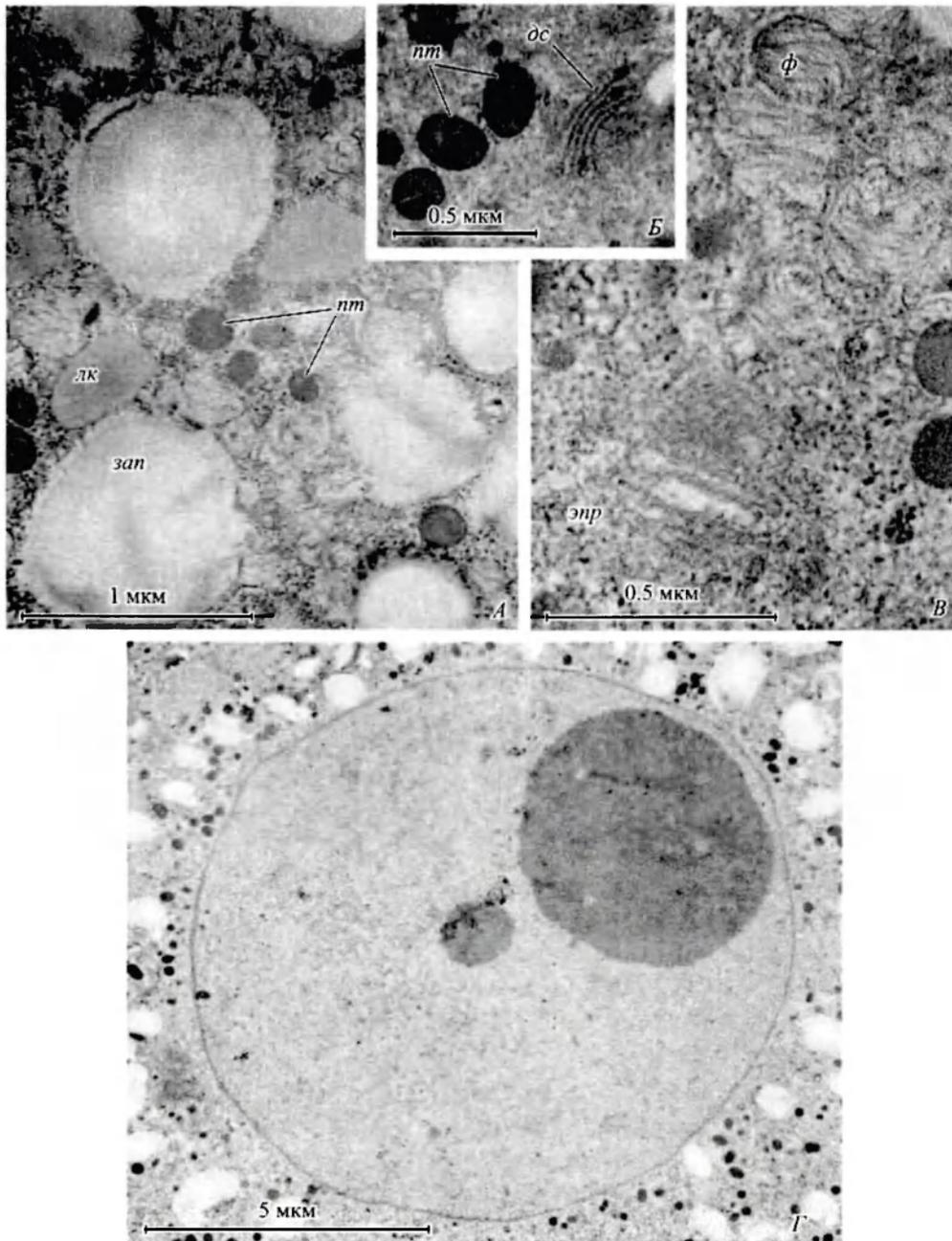


Рис. 4. Эндоплазма (А—В) и ядро (Г) трофозоитов *Difficilina cerebratuli* sp. n. (ТЭМ).
 dc — диктиосома аппарата Гольджи, эпр — эндоплазматический ретикулум. Остальные обозначения те же,
 что и на рис. 3.

Fig. 4. Endoplasm (A—B) and nucleus (Г) of the *Difficilina cerebratuli* sp. n. trophozoites (TEM).

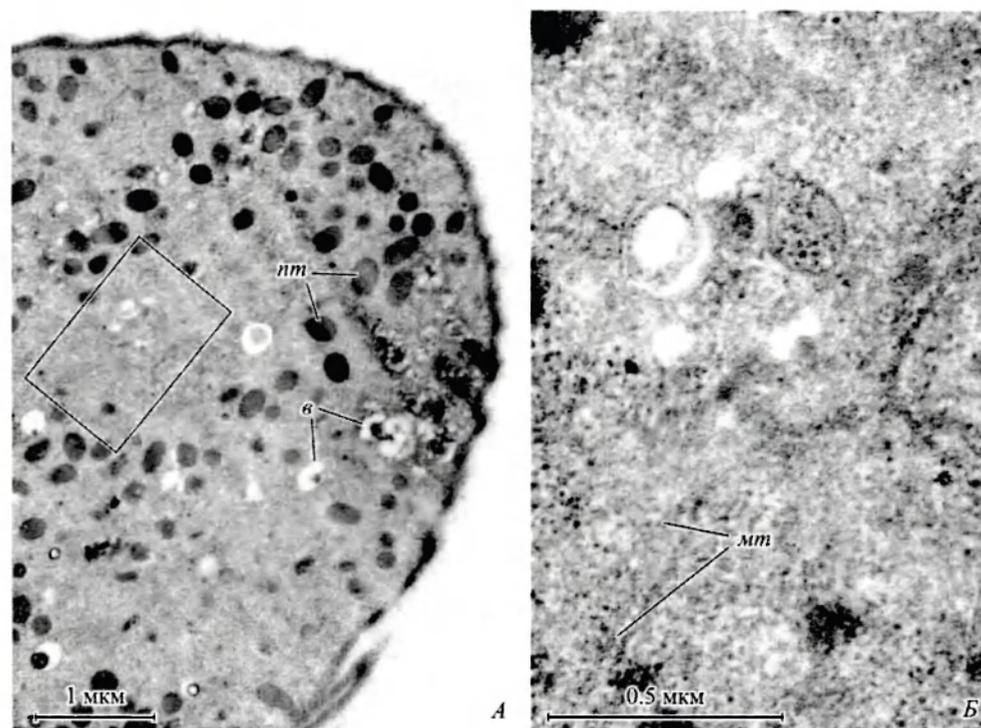


Рис. 5. Продольный срез переднего конца свободного трофозонта *Difficilina cerebratuli* sp. n. (A) и его участок (прямоугольник) при большем увеличении (B) (ТЭМ).

Обозначения те же, что и на рис. 3.

Fig. 5. Longitudinal section of the anterior end of the *Difficilina cerebratuli* sp. n. free trophozoite (A) and its region (rectangle) under higher magnification (B) (TEM).

et al., 1982) и, по всей видимости, представляют собой *мукоцисты* — экструсомы, выделяющие на поверхность клетки либо слизь, либо компоненты гликокаликса (Corbel et al., 1979; Philippe et al., 1982; Симдянов, 1995б).

Эндоплазма содержит в большом количестве зерна амилопектина округлой формы, размерами порядка 0.9×1 мкм, в которых выявляются радиально расположенные зоны повышенной электронной плотности, иногда соединяющиеся друг с другом (рис. 3, А, Б; 4, А). Кроме них и описанных выше плотных гранул обнаружены многочисленные скопления фибриллярного материала неизвестной природы (рис. 4, В). Скопления часто имеют вид округлых структур диаметром до 0.4—0.6 мкм. Из клеточных органелл в эндоплазме обнаружены отдельные диктиосомы аппарата Гольджи (рис. 4, Б).

Ядро на срезе имеет типичную для грегариин структуру. Ядерная оболочка не несет выростов. Внутри ядра видны 2 кариосомы.

Цитоплазма переднего конца (рис. 5) полностью лишена гранул амилопектина. Здесь присутствуют вакуоли, содержащие электронно-плотные включения, а также большое число плотных гранул и продольных микротрубочек. Поры, отмеченные на фотографиях с СЭМ (рис. 2, Г), на срезах не обнаружены. Возможно, им соответствуют места контакта электронно-плотных тел с пелликулой, тем более что рядом с порами часто находятся комочки вещества, возможно слизи.

ОБСУЖДЕНИЕ

1. Обоснование нового вида. В литературе описано два вида грегариин, паразитирующих в немертинах: грегариин из кишечника немертины *Amphiporus* sp. (Hoplonemertini) (Аверинцев, 1909) и *Lecudina linei* (Vinckier, 1972) из кишечника *Lineus viridis* (Heteronemertini). Первая из них, по всей видимости, относится к архигрегариинам, так как, согласно данным автора, обладает продольной исчерченностью (борозды пелликулы) и бесполом размножением. Описание второй грегариины лишено иллюстраций, однако из текста ясно, что она крупнее, обладает значительно более удлиненным телом ($300\text{—}400 \times 40\text{—}50$ мкм) и, согласно первоописанию, имеет заостренный передний и округлый задний концы (Vinckier, 1972). Так или иначе, в нашем случае мы явно имеем дело с новым видом, тем более что речь идет о другом хозяине, *Cerebratulus barentsi*, а не *Amphiporus* и не *Lineus*. Систематическое положение хозяина по сию пору играет важную роль в систематике грегариин (см. пункты 3 и 4 данного обсуждения).

2. Обоснование отрядной и подотрядной принадлежности. Ультраструктура изученных трофозоитов в целом типична для отряда Eugregarinida, за исключением обилия компактных скоплений фибриллярного материала в эндоплазме. Ничего подобного у грегариин до сих пор не отмечалось. Химический состав и функции этих фибрилл представляют собой загадку. По совокупности основных морфологических и ультраструктурных признаков (отсутствие септы и элементов апикального комплекса, наличие эпицита характерного строения) описываемая грегариина без сомнения должна быть отнесена к отряду Eugregarinida, подотряду Aseptata.

3. Обоснование семейственной принадлежности. Дальнейшее определение систематического положения описываемой грегариины связано с известными затруднениями, обычными, впрочем, при изучении грегариин морских беспозвоночных. Дело в том, что стадия сизигия у многих морских асептатных грегариин, в частности представителей сем. Lecudinidae, по всей

видимости, очень кратковременна, а едва образовавшиеся в задней кишке гаметоцисты тут же выводятся во внешнюю среду, где и проходит их дальнейшее развитие (Grassé, 1953). В некоторых случаях во внешнюю среду выводятся даже еще неинцистированные сизигии, как это имеет место у *Lecythion* и *Hentschelia* (Lecudinidae) из эхиуриды *Thalassema neptuni* (Mackinnon, Ray, 1931). Поэтому в большинстве подобных случаев изученными оказываются лишь трофозоиты, тогда как другие стадии жизненного цикла остаются неизвестными.

Тем не менее одно из двух семейств морских асептатных грегаринов Urogroidea в обязательном порядке характеризуется особой формой ооцист, снабженных выростами на одном из полюсов. Поэтому асептатные грегарины морских беспозвоночных, у которых ооцисты неизвестны, автоматически попадают в другое семейство — Lecudinidae, имеющее следующий диагноз: «трофозоиты удлинённые, движение скользящее; начальные стадии развития обычно внутриклеточные; сизигии латеральные или фронтальные; ооцисты эллипсоидальные или овоидные со слабым утолщением стенки на одном конце» (Perkins et al., 2000). Хотя в диагнозе помимо признаков трофозоитов указаны также признаки других стадий жизненного цикла, на самом деле в этом семействе, включающем около 30 родов, более половины родов описаны лишь по трофозоитам, а все стадии известны лишь у считанных видов, причем ооцисты — только у небольшой части видов из 8 родов. По мнению Левайна (Levine, 1977), с которым мы в данном случае полностью согласны, семейство это, скорее всего, сборное. Истинное систематическое положение и родственные связи его представителей должны прояснить будущие исследования. Можно сказать, что сем. Lecudinidae в систематике грегаринов отчасти аналогично классу Несовершенных грибов (Deuteromycetes) в микологии — т.е. исполняет роль «свалки». Таким образом, в соответствии со всем вышесказанным описываемый вид грегаринов приходится также отнести к сем. Lecudinidae.

4. Обоснование нового рода на основе анализа светооптических и ультраструктурных признаков; родовой и видовой диагнозы. Светооптическая морфология трофозоитов лекудинид гораздо менее богата по сравнению с таковой септатных грегаринов, обладающих расчленённым телом и эпимеритом, который часто бывает сложной формы. Поэтому систематика сем. Lecudinidae базируется не только на морфологии трофозоитов, но и на таксономической принадлежности хозяина, которая в случае отсутствия ясных морфологических различий выходит на первый план и учитывается как в родовых диагнозах, так и при описании новых видов (Walsh, Olson, 1976; Levine, 1976, 1977, 1985, 1988; Perkins et al., 2000). Так, представители рода *Lankesteria* паразитируют в оболочниках, а морфологически сходные с ними паразиты турбеллярий выделяются в род *Monocystella*. С другой стороны, к типовому роду семейства — роду *Lecudina*, объединяющему около 40 видов, помимо паразитов полихет, составляющих основную часть, относятся также отдельные виды, паразитирующие в эхиуридах, щетинкочелюстных и немертинах. Диагноз рода *Lecudina* следующий: «мукрон [передний конец, см. ниже пункт 5 обсуждения] простой, без крючьев или выростов; трофозоиты без продольной исчерченности; ооцисты овоидные, утолщенные на одном конце; паразиты полихет и других морских беспозвоночных» (Levine, 1976; Perkins et al., 2000). У представителей рода *Lecudina* «мукрон» округлый и явным образом обособлен в виде папиллы, вздутия, головки или даже иногда приобретает вид хоботка (*Lecudina heterocephala*, *L. polydoraе*, *L. legeri* и др.).

Вследствие довольно расплывчатого диагноза границы рода *Lecudina* оказываются обозначенными нечетко. Так, Шревель (Schrével, 1969) указывает, что представителей этого рода можно разбить на 2 группы: формы с удлиненными трофозоидами и формы с «массивными», округлыми трофозоидами. Часть этих удлиненных форм ранее объединялась в род *Ophiodina* Mingazzini, 1891, однако в дальнейшем их объединили с родом *Lecudina* (Mingazzini, 1891) (Caullery, Mesnil, 1914; Watson Kamm, 1922). Левайн, проводя ревизию сем. Lecudinidae (Levine, 1977), восстанавливает род *Ophiodina* для единственного представителя — *O. bonelliae* Frenzel, 1885 из эхиуриды *Bonellia viridis* со следующим диагнозом: «тело трофозоида сильно вытянуто в длину, цилиндрическое, одинаковой толщины на всем протяжении; передний конец более или менее обрубленный (truncated — усеченный); мукрон отсутствует [!]; гаметоциты и ооциты неизвестны; в кишечнике эхиурид».

Два вышеупомянутых рода являются, казалось бы, наиболее подходящими кандидатами для помещения в один из них описываемого вида грегариин, тем более что специального рода для паразитов немертин нет. Несмотря на отсутствие внешней морфологической обособленности мукрона, исследованные трофозоиды плохо подходят под диагноз рода *Ophiodina*, поскольку обладают хотя и удлиненной, но не цилиндрической или змеевидной формой тела, а и их передний конец, хотя явно не обособлен от остального тела, но имеет менее зернистую цитоплазму. Кроме того, он не обрублен, а округлой формы. Таким образом, в соответствии с используемыми в настоящее время диагностическими признаками (светооптическая морфология трофозоидов, таксономическая принадлежность хозяина) описываемую грегариину следовало бы поместить в род *Lecudina*.

Следует отметить, однако, что результаты исследования трофозоидов данного вида грегариин с помощью СЭМ и ТЭМ выявили, с одной стороны, значительные отличия в структуре эпицита от исследованного в этом отношении типового вида рода *Lecudina* — *Lecudina pellucida*, а с другой — определенное сходство с относящимися к роду *Lankesteria* паразитами асцидий (рис. 2, Б).

У описываемой грегарины на переднем конце есть гладкая площадка с очень слабо выраженной апикальной папиллой в центре, гребни ундулируют в вертикальной (медиальной) плоскости, мономорфные, в поперечнике пальцевидные, без перехватов в основании и с параллельными боковыми стенками, число апикальных арок и филаментов — 3, апикальные филаменты сплющены в сечении, толстые (18—25 нм), средняя ось в вершинах гребней присутствует (рис. 6, А).

У двух изученных на ТЭМ и СЭМ представителей рода *Lankesteria* на переднем конце есть гладкая площадка с хорошо выраженной апикальной папиллой в центре; гребни ундулируют в горизонтальной (тангентальной) плоскости, одинаковой формы на срезе (мономорфные), в поперечнике пальцевидные (рис. 6, Б, В), без перехватов в основании и с параллельными боковыми стенками, число апикальных арок и филаментов — 3, апикальные филаменты сплющены в сечении, толстые (12—25 нм), средняя ось в вершинах гребней присутствует (Симдянов, 1995б).

У *Lecudina pellucida* есть апикальная папилла, но отсутствует гладкая площадка на переднем конце тела; гребни ундулируют в горизонтальной (тангентальной) плоскости, в поперечнике ампуловидные (рис. 6, Г), с перехватами в основании, при этом их форма на срезе варьирует (полиморфные), число апикальных арок и филаментов — 6—8, апикальные филаменты круглые в сечении, толщиной 7—8 нм, средняя ось в вершинах гребней отсутствует (Vivier, 1968; Симдянов, 1995б, 2004).

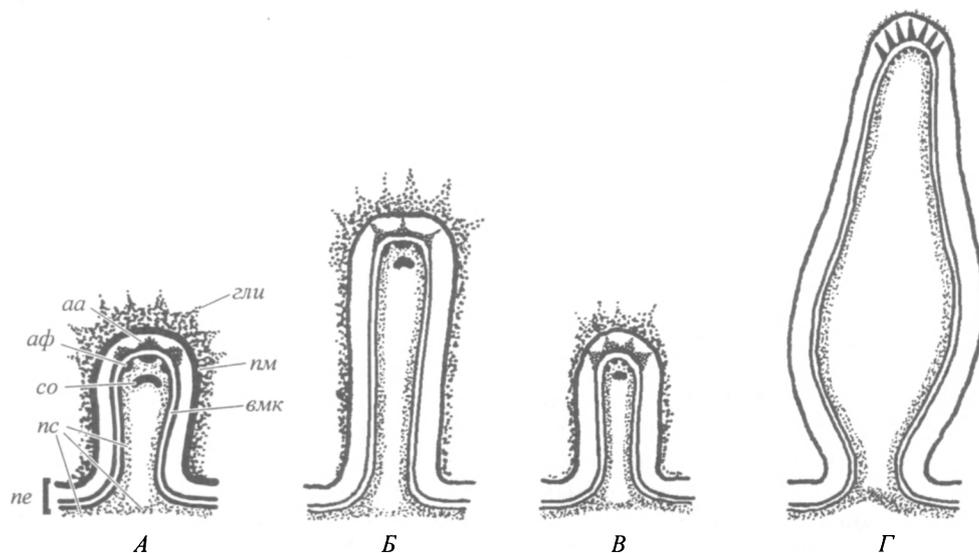


Рис. 6. Сравнение строения эпицитарных гребней *Difficilina cerebratuli* sp. n. (А), *Lankesteria levinei* Simdyanov, 1995 (Б), *L. cyrtocephala* Simdyanov, 1995 (B) и *Lecudina pellucida* Kolliker, 1848 (Г). ne — пелликула. Остальные обозначения те же, что и на рис. 3.

Fig. 6. Comparison of the epicytic fold structure in *Difficilina cerebratuli* sp. n. (A), *Lankesteria levinei* Simdyanov, 1995 (B), *L. cyrtocephala* Simdyanov, 1995 (B) and *Lecudina pellucida* Kolliker, 1848 (Г).

Таким образом, по строению переднего конца и эпицита описываемая грегарины имеет больше общих черт с представителями рода *Lankesteria*, чем с *Lecudina pellucida*.

Из всего вышесказанного ясно, что традиционно имеющее место в систематике Lecudinidae чисто габитуальное сравнение трофозоитов в совокупности с «хозяйным подходом» явно недостаточны для убедительных систематических построений.

Поскольку трофозоиты — это наиболее сложно устроенные стадии жизненного цикла грегарины, ультраструктурные признаки, казалось бы, могли прояснить многие вопросы систематики этой группы, особенно в условиях слабой изученности жизненных циклов. На деле же, на уровне родов и семейств ультраструктурные признаки используются очень мало, что связано с относительной трудоемкостью и, как следствие, далеко не полной изученностью грегарины электронно-микроскопическими методами. Тем не менее Депорт и др. (Desportes et al., 1977) на основании анализа ультраструктуры эпицита грегарины семейств Ganymedidae и Porosporidae высказали предположение о родстве этих семейств, а также учредили новый род в сем. Ganymedidae, куда перенесли один из видов сем. Porosporidae. Следует отметить, что в сем. Lecudinidae в той или иной степени известна ультраструктура лишь 10 видов, принадлежащих к 8 родам. При этом структура эпицита известна для 7 видов из 5 родов (Schrével, Vivier, 1966; Vivier, 1968; Hoshide, 1973; Ouassi, Porchet-Henneré, 1978; Porchet, 1978; Desportes, Théodorides, 1986; Симдянов, 1995а, б, 1996, 2004). На основе резких различий в строении эпицита я в свое время обосновал выделение 3 новых родов (Симдянов, 1995а, 2004).

Итак, различия, выявленные в строении эпицита *Lecudina pellucida* и описываемой грегарины, вызывают сильные сомнения в принадлежности последней к роду *Lecudina*. На основании всей совокупности признаков тро-

фозоитов кажется более правильным учредить отдельный род, куда и отнести описываемую грегариину. Таким образом, систематическое положение описываемой грегариины будет выглядеть так:

Отряд EUGREGARINIDA Léger, 1900

Подотряд *Aseptata* Chakravarty, 1960

Сем. LECUDINIDAE Kamm, 1922

Род *Difficilina* gen. nov.

Диагноз. Признаки семейства. Свободные трофозоиты удлиненные, передний конец округлый, без крючьев или отростков, не отделен от остальной части тела, с хорошо развитой терминальной гладкой площадкой. Гребни эпицита ундулируют вертикально, на поперечном срезе мономорфные, пальцеобразные, с сильно развитым гликокаликсом; в вершинах гребней дополнительная осевая структура — «средняя ось»; апикальных арок и филламентов 3, последние утолщены и слегка сплющены в поперечнике.

Дополнение к диагнозу. Структура гребней сходна с таковой рода *Lankesteria*. Кишечные паразиты немертин. Другие стадии жизненного цикла неизвестны.

Типовой вид. *Difficilina cerebratulii*.

Дифференциальный диагноз. Новый род отличается от рода *Lecudina* наличием гладкой площадки на апикальном полюсе тела, вертикально ундулирующими пальцеобразными гребнями, уменьшением количества апикальных арок и филламентов, развитием «средней оси». От рода *Lankesteria* отличается формой тела, вертикальной ундуляцией гребней, а также паразитированием не в Tunicata.

Этимология. Название рода от латинского *difficile* — «с трудом», отражает некоторые особенности процедуры таксономической идентификации данного объекта, понятные из обсуждения.

Difficilina cerebratulii sp. nov.

Диагноз. Признаки рода. Свободные трофозоиты слегка изогнутые, максимальные размеры 250 × 70 мкм. Цитоплазма переднего конца менее зернистая; апикальная папилла в центре гладкой площадки выражена слабо. Задний конец заостренный. Средняя высота эпицитарных гребней 280 нм, толщина 160 нм, среднее расстояние между гребнями 130 нм. В эндоплазме большое количество скоплений фибриллярного материала. Ядро сферическое, диаметром 14—26 мкм, лежит посередине или в передней трети тела, содержит 1—2 кариосомы разного размера.

Другие стадии жизненного цикла не обнаружены.

Типовая серия. Микроскопический препарат с 7 трофозоидами (фиксация жидкостью Буэна, окраска гематоксилином Делафиляда) хранится в Зоологическом музее МГУ, № Z-2. Помимо этого два синтипа изучены на ТЭМ и два других синтипа изучены на СЭМ.

Типовой хозяин. *Cerebratulus barentsi* Bürger, 1895 (Nemertini: Cerebratulidae).

Локализация. Кишечник (?).

Типовое местонахождение. Беломорская биостанция МГУ, Еремеевский порог, пролив Великая Салма, Кандалакшский залив, Белое море.

В диагнозы рода и вида включены некоторые ультраструктурные признаки, которые кажутся важными. В основном это ряд особенностей тонкого

строения эпизита. Возможно, в результате будущих планомерных исследований ультраструктурные признаки будут шире применяться в систематике грегариин, и тогда станет более понятным, какие из них действительно могут использоваться в качестве диагностических, а какие нет. Вместо термина «мукрон» в диагнозах использован термин «передний конец» по причинам, обсуждаемым ниже.

5. О термине «мукрон». Левайн в своей статье «Uniform terminology for the protozoan phylum Apicomplexa» (Levine, 1971) указывает, что мукрон — это «прикрепительная органелла асептатных грегариин. Он похож на эпимерит, но не отделен от остального тела чем-то, кажущимся в световом микроскопе септой». В современной литературе мукроном называют служащий для прикрепления передний конец любых моноцистидных грегариин, как эу- и архигрегариин. Цитоплазма мукрона в отличие от остального тела обычно лишена зернистости, вызванной большим количеством зерен амилопектина, а его форма варьирует от небольшого бугорка до подобия хоботка.

Следует подчеркнуть, однако, что мукрон архигрегариин и мукрон асептатных эугрегариин имеют разное строение и, по всей видимости, не гомологичны друг другу, по крайней мере, в ряде случаев. В мукроне Archigregarinida, подобно спорозоидам, располагаются органеллы апикального (мукронального) комплекса: коноид, полярное кольцо, роптрии и микронемы, а также формируется цитостом-цитофарингеальный комплекс, при помощи которого поглощается цитоплазма клетки хозяина (Schrével, 1968, 1971). Мукрон трофозоитов архигрегариин в общих чертах сохраняет свое строение долгое время после открепления, включая стадию сизигия (Kuvardina, Simdyanov, 2002), и полностью гомологичен переднему концу спорозоида.

У Eugregarinida мукрональный комплекс на переднем конце отсутствует. Септатные грегарины (подотряд Septata) часто снабжены особым временным прикрепительным приспособлением — эпимеритом, который формируется как новообразование впереди исчезающего в процессе развития апикального комплекса спорозоида, и, таким образом, не гомологичен мукрону архигрегариин и переднему концу инвазионных зоитов (Tronchin, Schrével, 1977). Прикрепление к кишечной стенке хозяина асептатных Eugregarinida (подотряд Aseptata) осуществляется передним концом (мукроном), который обычно, по мнению ряда исследователей, функционирует как присоска (Schrével, Vivier, 1966; Ouassi, Porchet-Henneré, 1978) и, по-видимому, сохраняется в малоизмененном виде у свободных, открепившихся взрослых особей. Некоторые исследователи указывают на то, что мукрон как архи-, так и эугрегариин — это прикрепительное приспособление на основе «простой трансформации» органелл апикального комплекса, тогда как эпимерит представляет собой новообразование, возникающее впереди коноида (Ortières, Daumal, 1970). К сожалению, эта точка зрения достаточно умозрительна, так как трансформация апикального комплекса в «мукрон» асептатных эугрегариин не прослежена, а следовательно, и не доказана. Некоторые асептатные эугрегарины (*Cygnicollum lankesteri*, *Loxomorpha harmothoe* и др.) могут иметь прикрепительные приспособления подобные эпимериту Septata, т. е. структурно дифференцированные отделы тела, отбрасываемые при созревании (Desportes, Théodorides, 1986; Hoshida, 1988; Симдянов, 2004). Подобные прикрепительные приспособления в старой литературе, как и вообще прикрепительные приспособления эугрегариин, также назывались эпимеритами (например, Watson Kamm, 1922). В современной литературе и эти структуры тоже обозначают термином «мукрон», оставляя термин «эпимерит» только для септатных грегариин (Perkins et al., 2000). Свободные трофо-

зоиты вышеупомянутых асептатных грегариин, утратившие прикрепительное приспособление, обычно имеют передний конец тела с менее зернистой цитоплазмой. Учитывая плохую изученность жизненных циклов, можно предположить, что у впервые описываемых видов грегариин за «мукрон» легко может быть принят передний конец тела таких взрослых трофозоитов.

Таким образом, в настоящее время термин «мукрон» используется или может правомерно использоваться для обозначения следующих образований:

- прикрепительное и питающее приспособление архигрегариин, возникшее на основе апикального комплекса органелл;
- передний конец трофозоитов асептатных эугрегариин — независимо от его генезиса (неотбрасываемое прикрепительное приспособление; отбрасываемое прикрепительное приспособление, передний конец взрослых, свободных трофозоитов, уже отбросивших свое прикрепительное приспособление).

Употребление одного и того же термина по отношению к структурам, имеющим совершенно различное строение и в ряде случаев, видимо, даже различный генезис (ср. персистирующий мукрон архигрегариин и отбрасываемый эпимеритоподобный хоботок *Loxomorpha*), является, на наш взгляд, не вполне корректным и вводящим в заблуждение, особенно когда речь идет об одной группе организмов. Во избежание путаницы мукроном лучше называть только прикрепительное приспособление на основе апикального комплекса органелл, т. е. мукрон архигрегариин и, возможно, некоторых неогрегариин. В отношении асептатных эугрегариин, по-видимому, корректнее применять понятия «передний конец», «прикрепительное приспособление» или «мукрон» в кавычках до выяснения генезиса соответствующих образований. Тем не менее следует подчеркнуть еще раз, что в современной литературе термин *мукрон*, переключившись из эпохи световой микроскопии, продолжает употребляться равным образом по отношению как к архигрегариинам, так и ко всем асептатным эугрегариинам. При прочтении диагнозов следует, таким образом, иметь в виду, что под «мукроном» часто понимается просто передний конец тела трофозоитов моноцистидных грегариин.

Список литературы

- Аверинцев С. А. 1909. Исследования над паразитическими простейшими. Тр. СПб. общ-ва естествоисп. 39 (9).
- Белофастова И. П. 1996. Грегарины рода *Nematopsis* (Eugregarinida, Porosporidae) — паразиты черноморских беспозвоночных. Паразитология. 30 (2): 159—173.
- Боголепова И. И. 1953. Грегарины из залива Петра Великого. Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 13: 38—56.
- Крылов М. В., Добровольский А. А. 1980. Макросистема и филогения споровиков. Принципы построения макросистемы одноклеточных животных. Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 94: 62—74.
- Мавродиadi П. П. 1908. Черноморские баяны и паразитирующие в них грегарины // Зап. Новороссийского общ-ва естествоисп. Одесса. 32: 101—133.
- Мавродиadi П. П. 1914. Наблюдения над строением и развитием грегариин. Работы из зоотомической лаборатории Варшавского университета. 43. Варшава: Типография Варшавского учебного округа. 164 с.
- Найденова Н. Н. 1990. Грегарины — причина нематопсидоза у черноморских мидий. Рыбное хозяйство. 10: 27—29.
- Паскорова Г. Г. 2002. Грегарины Дальнезеленецкой губы Баренцева моря. Тез. докл. на Всерос. конф. молодых ученых, посвященной 140-летию Н. М. Книповича. 23—25 апреля 2002 г. Мурманск. 159—161.

- Паскерова Г. Г., Дякин А. Ю., Гусева Ю. В. 2003. Фауна грегаринов Белого моря. Междунар. конф. «Проблемы современной паразитологии» и III съезд Паразитологического общества при РАН. Петрозаводск, 6–12 октября, 2003. 51–53.
- Райков И. Б. 1978. Ядро простейших: морфология и эволюция. Л.: Наука. 328 с.
- Симдянов Т. Г. 1992. *Selenidium pennatum* sp. n. — новый вид архигрегаринов из *Flabelligera affinis* (Polychaeta: Flabelligeridae). Паразитология. 29 (4): 344–347.
- Симдянов Т. Г. 1995а. Два новых вида грегаринов с aberrantным строением эпицита из полихет Белого моря. Паразитология. 29: 305–315.
- Симдянов Т. Г. 1995б. Ультраструктура двух видов грегаринов рода *Lankesteria* (Eugregarinida: Lecudinidae). Паразитология. 29 (5): 424–432.
- Симдянов Т. Г. 1996. Морфология и ультраструктура грегарины *Loxomorpha harmothoe* из Белого моря. Паразитология. 30 (2): 174–177.
- Симдянов Т. Г. 2004. *Difficilina cerebratuli* gen. n., sp. n. (Eugregarinida: Lecudinidae) — новый вид грегаринов из *Phyllodoce citrina* (Polychaeta: Phyllodocidae). Паразитология. 38 (4): 322–332.
- Caulleury M., Mesnil F. 1914. Sur l'existence de Gregarines dicystidees chez les Annelides polychetes. C. R. Soc. Biol. 77: 316–320.
- Corbel J.-C., Desportes I., Théodoridès J. 1979. Etude de *Gonospora beloneides* (Ming.) (= *Lobianchella beloneides* Ming.) (Gregarine, Urosporidae), parasite coelomique d'une Alciopidae (Polychaeta) et remarques sur d'autres Grégariines d'Alciopidae. Protistologica. 15 (1): 55–65.
- Desportes I., Vivarès Ch. P., Théodoridès J. 1977. Intérêt taxinomique de l'ultrastructure épicytaire chez *Ganymedes* Huxley, *Porospora* Schneider et *Thiriota* n.g. Eugregarines parasites de Crustacés. Ann. Sci. natur. (Zool. et Biol. anim. Ser. 12). 19 (3): 261–277.
- Desportes I., Théodoridès J. 1986. *Cygnicollum lankesteri* n. sp., Gregarine (Apicomplexa, Lecudinidae) parasite des Annelides Polychetes *Laetmonice hystrix* et *L. producta*; particularités de l'appareil de fixation et implications taxonomiques. Protistologica. 22 (1): 47–60.
- Dogiel V. 1906. Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. I. *Cystobia chiridotae* nov. sp. Arch. Protistenk. 7: 106–130.
- Dogiel V. 1909. Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. III. Ueber die Sporocysten der Coelom-Monocystidae. Arch. Protistenk. 16 (2): 194–208.
- Dogiel V. 1910. Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. IV. *Callynthrochlamys phronimae* Frenz. u. a. m. Arch. Protistenk. 20 (1): 60–78.
- Dyakin A. Y., Simdyanov T. G. 2005. The cortical zone of skittle-like cells of *Urospora chiridotae*, a gregarine from an apode holothuria *Chiridota laevis*. Protistology. 4 (2). P. 97–105.
- Grasse P.-P. 1953. Classe des Gregarinomorphes. Traité de Zoologie. Paris: Masson et Cie. 1 (2): 550–690.
- Hoshide K. 1973. Studies on the fine structure of gregarines. Observation on *Ferraria cornucephala iwamusi*. Bulletin of the Faculty of Education, Yamaguchi University. 23 (2): 87–91.
- Hoshide K. 1988. Two gregarines found in polychaetes from the Hokkaido coast of Japan. Proceed. Jap. Soc. Systematic Zool. 37: 45–53.
- Kuvardina O. N., Simdyanov T. G. 2002. Fine structure of syzygy in *Selenidium pennatum* (Sporozoa, Archigregarinida). Protistology. 2 (3): 169–177.
- Leander B. S., Clopton R. E., Keeling P. G. 2003a. Phylogeny of gregarines (Apicomplexa) as inferred from SSU rDNA and beta-tubulin. Intern. Journ. System. Evol. Microbiol. 53: 345–354.
- Leander B. S., Harper J. T., Keeling P. G. 2003b. Molecular phylogeny and surface morphology of marine aseptate gregarines (Apicomplexa): *Selenidium* spp. and *Lecudina* spp. Journ. Parasitol. 89 (6): 1191–1205.
- Leander B. S., Lloyd S. A. J., Marshall W., Landers S. C. 2006. Phylogeny of marine gregarines (Apicomplexa) — *Pterospora*, *Lithocystis* and *Lankesteria* — and the origin(s) of coelomic parasitism. Protist. 157 (1): 45–60.
- Levine N. D. 1971. Uniform terminology for the protozoan subphylum Apicomplexa. Journ. Protozool. 18 (2): 352–355.
- Levine N. D. 1976. Revision and checklist of the species of the aseptate gregarine genus *Lecudina*. Trans. Amer. Micr. Soc. 95 (4): 695–702.
- Levine N. D. 1977. Revision and checklist of the species (other than *Lecudina*) of the aseptate gregarine family Lecudinidae. Journ. Protozool. 24 (1): 41–52.
- Levine N. D. 1985. Phylum 2. Apicomplexa Levine, 1970. An Illustrated Guide To The Protozoa (1st Edition). Kansas. 322–374.

- Levine N. D. 1988. The protozoan phylum Apicomplexa. Boca Raton, USA: CRC Press. 1: 203 p.
- Mackinnon D. L., Ray H. N. 1931. Observations on dicystid gregarines from marine worms. *Quart. Journ. Microscop. Sci.* 74: 439–466.
- Mercier C., Schrével J., Stark J. R. 1973. The storage polysaccharide (paraglycogen) of the gregarine (*Gregarina blaberae*): cytology and biochemistry. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*. 44 (4): 1001–1010.
- Mingazzini P. 1891. Le gregarine monocistidee dei tunicata e della capitellas. *Atti (Rend.) Acc. Rom.* 4: 407–414.
- Ormières R., Daumal J. 1970. Étude ultrastructurale de la partie antérieure d'*Epicavus araeoceri* Ormières et Daumal, Eugregarine parasite du Coleoptère Anthribidae *Araeocerus fasciculatus* de Geer. *Protistologica*. 6: 97–111.
- Ormières R., Marques A., Puissegur C. 1977. *Trichorhynchus pulcher* Schneider, 1882, Eugregarine parasite du *Scutigera coleopterata* L. Cycle, ultrastructure, systématique. *Protistologica*. 13 (3): 407–417.
- Ouassi M. A., Porchet-Henneré E. 1978. Étude ultrastructurale de mucron d'une Grégarine du genre *Lecudina*, parasite intestinal d'*Audoinia tentaculata* (Annelide Polychète) et de ses rapports avec la cellule hôte. *Protistologica*. 14 (1): 39–52.
- Perkins F. O., Barta J. R., Clopton R. E., Peirce M. A., Upton S. J. 2000. Phylum Apicomplexa. An Illustrated Guide to the Protozoa (2nd Edition). Lawrence, KS (USA). 1: 190–370.
- Philippe M., Vinckier D., Dubremetz J. F., Schrével J. 1982. The three cortical membranes of the gregarines (parasitic Protozoa). III. Comparative studies of the membrane proteins among different sporozoan species during their vegetative phase. *Journ. Protozool.* 29 (3): 424–430.
- Porchet E. 1978. Étude de cinq Sporozoaires parasitant un même hôte: l'Annelide Polychète *Notomastus latericeus*. *Protistologica*. 14 (1): 59–76.
- Porchet-Henneré E., Fischer A. 1973. *Diplauxis schréveli*, n. sp., Grégarine parasite du coelome de l'Annelide Polychète *Platynereis dumerilli*: cycle et étude ultrastructurale préliminaire. *Protistologica*. 9 (4): 437–454.
- Prensier G. 1970a. Premières observations ultrastructurales sur la formation des sporozoïtes à partir du sporoblaste chez *Diplauxis hattii*. *Compt. Rend. l'Acad. Sci., Paris (Serie D)*. 270: 100–103.
- Prensier G. 1970b. Structure de la paroi du sporoblaste et origine du complexe membranaire interne du sporozoïte de *Diplauxis hattii* (gregarine monocystidée), démontrées par la microscopie électronique. *Compt. Rend. l'Acad. Sci., Paris (Serie D)*. 271: 2329–2331.
- Scholtyssek E., Mehlhorn H. 1970. Ultrastructural study of characteristic organelles (paired organelles, micronemes, micropores) of Sporozoa and related organisms. *Zeit. Parasitenk.* 34: 97–127.
- Schrével J. L'ultrastructure de la région antérieure de la Grégarine *Selenidium* et son intérêt pour l'étude de la nutrition chez les Sporozoaires // *Journ. de Microscopie, Paris*. 1968. Vol. 7. P. 391–410.
- Schrével J. 1969. Recherches sur le cycle des Lecudinidae Grégarines parasites d'Annelides Polychètes. *Protistologica*. 5: 561–588.
- Schrével J. 1971. Observations biologiques et ultrastructurales sur les Selenidiidae et leurs conséquences sur la systématique des Grégarinomorphes. *Journ. Protozool.* 18: 448–479.
- Schrével J., Philippe M. 1993. The Gregarines. Parasitic Protozoa. San Diego et al.: Academic Press. 4: 133–245.
- Schrével J., Vivier E. 1966. Étude de l'ultrastructure et du rôle de la région antérieure (mucron et épimérite) de Grégarines parasites d'Annelides Polychètes. *Protistologica*. 2 (3): 17–28.
- Sokoloff B. 1914. *Cystobia intestinalis* nov. sp. *Arch. Protistenk.* 32: 221–228.
- Tronchin G., Schrével J. 1977. Chronologie des modifications ultrastructurales au cours de la croissance de la *Gregarima blaberae*. *Journ. Protozool.* 24: 67–82.
- Vavra J. 1969. *Lankesteria barretti* n. sp. (Eugregarinida, Diplocystidae), a parasite of the mosquito *Aedes triseriatus* (Say) and a review of the genus *Lankesteria* Mingazzini. *Journ. Protozool.* 16: 546–570.
- Vinckier D. 1972. Sur le cycle et ultrastructure de la Grégarine *Lecudina linei* n. sp., parasite du nemerte *Lineus viridis*. *Journ. Protozool.* 19, suppl.: 73–74.
- Vivier E. 1968. L'organisation ultrastructurale corticale de la Grégarine *Lecudina pellucida*; ses rapports avec l'alimentation et la locomotion. *Journ. Protozool.* 15 (2): 230–246.

- Vivier E., Devauchelle G., Petitprez A., Porchet-Henneré E., Prensier G., Schrevel J., Vinckier D. 1970. Observations de cytologie comparée chez les Sporozoaires. I. Les structures superficielles chez les formes végétatives. *Protistologica*. 6 (1): 127—150.
- Walsh R. D., Olson J. K. 1976. Observations on the susceptibility of certain culicine mosquito species to infection by *Lankesteria culicis* (Ross). *Mosquito News*. 36 (2): 154—160.
- Watson Kamm M. E. 1922. Studies on gregaines. II. III. *Biol. Monogr.* 7: 102 p.

DIFFICILINA CEREBRATULI GEN. ET SP. N.
(EUGREGARINIDA: LECUDINIDAE) — A NEW GREGARINE SPECIES
FROM THE NEMERTEAN CEREBRATULUS BARENTSI
(NEMERTINI: CEREBRATULIDAE)

T. G. Simdyanov

Key words: Apicomplexa, Eugregarinida, Lecudinidae, *Difficilina cerebratuli* gen. et sp. n., ultrastructure, White Sea.

SUMMARY

A new species of aseptate gregarine, *Difficilina cerebratuli* gen. et sp. n. (order Eugregarinida Leger, 1900; suborder Aseptata Chakravarty, 1960; family Lecudinidae Kamm, 1922) from the gut of the White Sea nemertean *Cerebratulus barentsi* Bürger, 1895, has been described. The electron and light microscopic data on trophozoites are presented. Their general morphology resembles the representatives of the genus *Lecudina*, but the features of the epicyte ultrastructure are different from *Lecudina* and similar to those of the *Lankesteria* spp. Taxonomy of the described species is discussed. Certain ultrastructural characters are included in its generic and specific diagnoses.

Genus *Difficilina* gen. n.

Type species: *Difficilina cerebratuli* sp. n.

Diagnosis. Characters of the family. Free trophozoites elongated, anterior end rounded, without hooks or exfoliations, not separated from the rest of the body, with well-developed terminal smooth area. The epicytic folds undulating vertically, in cross sections — monomorphic, finger-shaped, with strongly developed cell-coat, with additional electron-dense axial structure («middle axis») at the tops; number of rippled dense structures and apical filaments 3, the furthers are thick and slightly flattened in diameter. Other stages unknown. In testinal parasites of nemerteans.

Differential diagnosis. The new genus differs from *Lecudina* by presence of smooth area at the apical pole of the body and the epicyte structure: vertically undulating monomorphic finger-shaped (in cross section) epicytic folds, oligomerization of the rippled dense structures and apical filaments, and development of the «middle axis». It also differs from *Lankesteria* by the shape of the body, vertical undulation of the folds, and non-tunicate host.

Difficilina cerebratuli sp. n.

Diagnosis. Characters of the genus. Free trophozoites slightly bent, up to 250 × 70 μm. Anterior end with less granular cytoplasm; with feebly marked apical papilla encircled by the smooth area. Posterior end pointed. The average height of the epicytic folds is 280 nm, thickness — 160 nm, average distance between folds is 130 nm. Endoplasm contains a number of accumulations of the fibrillar matter. Nucleus spherical 14—26 μm in diameter, localized in the middle or in the fore third of the body, carries 1—2 karyosomes of various size. Other stages unknown.

Type series. Microscopical slide with 7 trophozoites (Bouin, Delafield's haematoxylin) is kept in the Zoological museum of the Moscow State University (collection number: Z-2). In addition, two syntypes are observed with TEM and two other syntypes — with SEM.

Type host. *Cerebratulus barentsi* Bürger, 1895 (Nemertini: Cerebratulidae).

Localization. Intestine (?).

Type locality. White Sea Biological Station of the Moscow State University, Yeremeyevsky Rapid, Velikaya Salma Strait, Kandalaksha Bay, White Sea.