

УДК 576.895.42

**ТАРЗАЛЬНАЯ ЖЕЛЕЗА ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ
IXODES PERSULCATUS И IXODES RICINUS
(IXODIDAE)**

© С. А. Леонович

Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, С.-Петербург, 199034
E-mail: leonnsa@mail.ru
Поступила 22.10.2009

Сложная многоклеточная железа располагается в тарзусах всех ног, занимая от одной трети до половины сегмента. Железистые клетки образуют однослойный мешок, внутренняя поверхность которого выстлана многослойной мембраной. В полости железы проходят кутикулярные «сухожилия» мышц, управляющих движениями коготка. Железистые клетки характеризуются присутствием многочисленных микроворсинок на апикальной поверхности и секреторных вакуолей. Базальная область содержит скопления липидных вакуолей и включения гликогена. Обсуждаются вопросы, связанные с возможной ролью тарзальной железы в продуцировании следового феромона.

Иксодовые клещи *Ixodes ricinus* и *I. persulcatus* известны как переносчики множества опасных трансмиссивных инфекций, таких, в частности, как клещевой энцефалит и болезнь Лайма. Современные методы защиты от нападения клещей заключаются в основном в применении защитной одежды или химических репеллентов. Подобные методы, очевидно, никак не влияют на численность клещей в природных популяциях и не могут ограничивать их распространения на новые территории, наблюдаемого в последнее время (Коротков и др., 2006). Перспективным инновационным методом, способным контролировать распространение указанных опасных переносчиков, представляется использование феромонов, в частности феромонов, обеспечивающих встречу полов в природе до нападения на хозяина (подробнее о наличии в природе голодных оплодотворенных самок *I. persulcatus* см.: Леонович, 1985). Присутствие половых феромонов, определяющих распознавание полов и аттрактивность самок, показано в ряде работ (см. обзор Sonenshine, 2006). В последнее время появились данные, что самки европейского лесного клеща *Ixodes ricinus* оставляют следовой феромон, позволяющий самцам отыскивать неоплодотворенных самок (Zemek et al., 2002), причем аттрактивность следов, оставленных питавшимися самками, была выше таковой, оставленной голодными самками. Же-

лезы, секретирующие продукты, которые могут оставлять следы на поверхности субстрата, включают: тарзальную железу, обслуживающую присоски (pulvilla) ног (Леонович, 1976); железы идиосомы; возможно также, железы поровых полей (area porosa). Никаких иных экзосекреторных образований у *I. ricinus* и *I. persulcatus* не имеется. В связи с этим обстоятельством нами было исследовано строение тарзальной железы у голодных и питавшихся самок *I. ricinus*, а также у голодных самок и самцов и питавшихся самок близкородственного вида *I. persulcatus* методами электронной микроскопии. Настоящее исследование важно по двум причинам. Во-первых, оно имеет самостоятельное значение, подробно описывая строение железы, малоизвестной (по сути, практически неизвестной) большинству акарологов, специалистов по иксодовым клещам, у практически важных видов, переносчиков энцефалита и болезни Лайма. Во-вторых, изменения в строении железы при питании самок могут служить косвенным признаком того, что именно секрет этой железы ответственен за выработку фактора, привлекающего самцов. Роль тарзальных желез в выработке следовых феромонов не является чем-то необычным и известна у некоторых насекомых, в частности муравьев (Hölldobler, Palmer, 1989).

Первое упоминание о многоклеточной железе в тарзальном членике ног иксодовых клещей содержится в кратком сообщении (Леонович, 1976), где наличие железы было отмечено у нескольких случайно выбранных видов, относившихся к разным родам и подсемействам иксодид (Леонович, 1976). В этой работе железа была названа автором тарзальной по месту расположения. Позднее железа была изучена автором у клеща *Hyalomma asiaticum*, относящегося к подсем. Amblyomminae. Материалы этого исследования опубликованы в Атласе ультраструктуры иксодовых клещей под редакцией Ю. С. Балашова (Атлас, 1979). Собственно этими двумя небольшими работами и ограничены все имеющиеся данные по тарзальной железе иксодовых клещей. Никаких данных по строению тарзальной железы у представителей подсем Ixodinae, к которому относятся *I. ricinus* и *I. persulcatus*, в литературе не имеется.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Клещи *Ixodes ricinus* (L.) были собраны автором в окрестностях г. Ческе Будейовице (Чехия) летом 2007 г. и тогда же зафиксированы с целью электронно-микроскопических исследований. Часть зафиксированных клещей была взята из лабораторной культуры Института паразитологии Чешской Академии наук. Учитывая тот факт, что данные по привлечению самцов к следам, оставленным питавшимися самками, были получены именно в указанном институте (Zemek et al., 2002), мы решили исследовать морфологию железистых образований именно этих клещей. Напитанные клещи *I. ricinus* были собраны в Ленинградской обл. (окрестности дер. Мерево, Лужский р-н) с бродячих собак летом 2008 г. Клещи *I. persulcatus* были собраны в районе ст. Лисий Нос (Курортный р-н, г. С.-Петербург).

Для исследования в трансмиссивном электронном микроскопе живых клещей препарировали под слоем фиксирующей жидкости (отрезали лапки ног) и фиксировали в 1%-ном растворе глутаральдегида в 0.1 М фос-

фатном буфере; после промывки в том же буфере дофиксировали 1%-ным раствором четырехокси осмия в 0.1 М фосфатном буфере. Заливку проводили в смесь смол Аралдит, тонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме LKB-III (Швеция). Материал исследовали и фотографировали в трансмиссивном электронном микроскопе Tesla-500.

Материал, собранный в Чехии, фиксировали непосредственно в 1%-ном растворе четырехокси осмия в 0.1 М фосфатном буфере.

С части блоков были изготовлены полутонкие срезы, окрашенные толудином и исследованные в светооптическом микроскопе Leica.

Для исследования в растровом электронном микроскопе использовали клещей, фиксированных в 70%-ном спирте. Спиртовой материал обезвоживали в серии спиртов, переводили в ацетон и высушивали в установке Critical Point Dryer HCP-2 (Япония) с использованием жидкой углекислоты в качестве агента. Все препараты предварительно очищали в ультразвуковой ванне (D-300, Россия). Высушенных клещей наклеивали на столики-подложки при помощи двусторонне-липкой ленты, напыляли платиной (Eiko-5, Япония) и исследовали в сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-570. Часть препаратов с целью изучения объемной структуры тарзальной железы были взяты из залитых в Аралдит материалов; смола удалялась щелочью (КОН) по описанной ранее методике (Балашов, Леонович, 1984). Запись осуществляли непосредственно на цифровые носители.

Настоящее исследование проиллюстрировано изображениями, полученными в растровом и трансмиссивном электронных микроскопах (рис. 1, 2, 7—9, см. вкл.), фотографиями гистологических срезов, изученных в светооптическом микроскопе (рис. 3—6, см. вкл.), а также рисунком (рис. 10).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Тарзальная железа располагается в лапках всех ног, занимая от половины до трети дистальной области членика (область, занимаемая железой, зависит от размера тарзального членика. Так, в длинных тарзусах передних ног, где расположен орган Галлера (рис. 1), железа занимает примерно дистальную треть сегмента; в остальных лапках — примерно половину). В области расположения железы членик практически полностью занят железистыми клетками (рис. 2, 3), образующими однослойный «мешок» (рис. 3), отделяющий полость самой железы от полости лапки, заполненной гемолимфой (рис. 3, 4). Мышцы, наблюдаемые в проксимальной части членика (рис. 5), дистальнее переходят в кутикулярные «сухожилия», проходящие в полости железы (рис. 3, 7). Ножной нерв проходит вне полости железы, смещаясь латерально к гиподермальным клеткам, находящимся ближе к внутренней, ближней к идиосоме, поверхности лапки (рис. 3, 5). В наиболее дистальной части тарзального сегмента железистых клеток не наблюдается, а центральная полость железы, идентифицируемая по ее внутренней выстилке (см. ниже), прослеживается до области присоски (рис. 6).

Железистые клетки формируют однослойный мешок (рис. 3, 4), выстланный мембраной. Мембрана на срезах имеет волокнистую структуру,

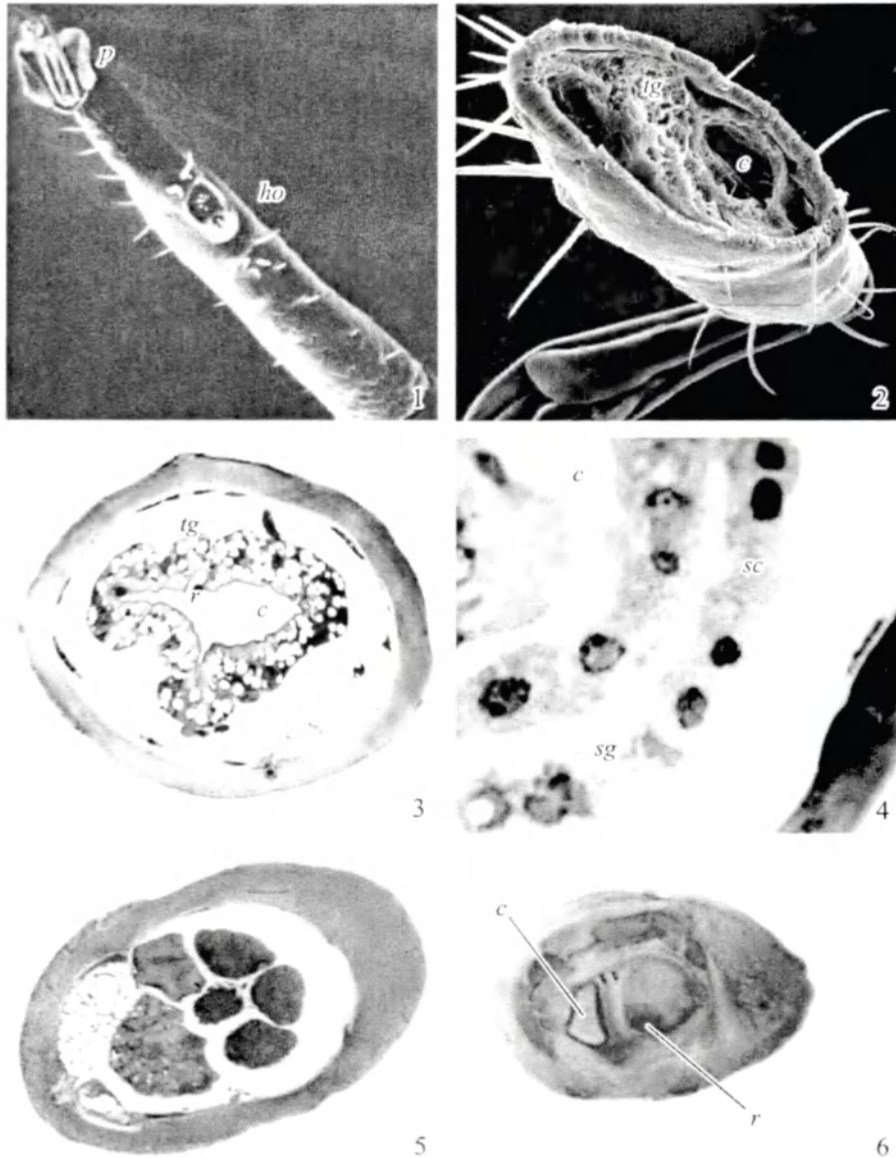


Рис. 1—6. Тарзальная железа в растровом электронном (1, 2) и световом (3—6) микроскопах.
1, 5, 6 — *I. persulcatus*; 2, 3, 4 — *I. ricinus*.

1 — передний тарзус. $\times 90$; 2 — тарзальная железа в полости передней лапки $\times 400$; 3 — поперечный срез через тарзус II. $\times 500$; 4 — участок железы в световой оптике. $\times 1200$; 5 — срез через тарзус I в наиболее проксимальном районе (видны мышечные пучки и нервной ножки). $\times 480$; 6 — срез через тарзус III в районе начала присоски. $\times 600$. c — полость железы; cu — кутикла; ho — орган Галлера; m — ножные мышцы; p — pulvillus; sc — секреторные клетки; sg — секреторные гранулы; r — кутикулярные «сухожилия», прикрепляющие мышцы к коготку.

Fig. 1—6. Tarsal gland in a scanning electron microscope (1, 2) and in an optical microscope (3—6).
1, 5, 6 — *I. persulcatus*; 2, 3, 4 — *I. ricinus*.

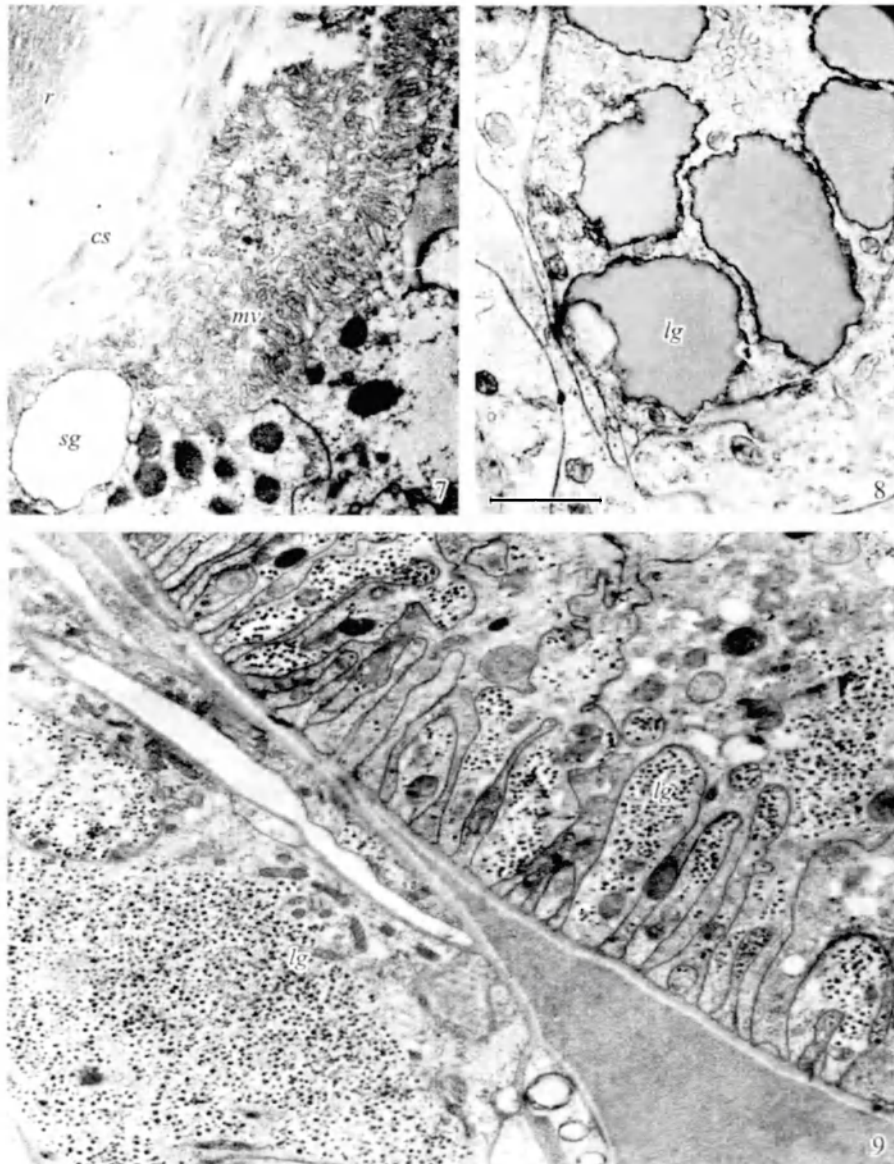


Рис. 7--9. Детали строения секреторных клеток, выявляемые в электронном микроскопе.
 7 — апикальная область секреторных клеток в районе контакта с мембранной выстилкой (*cs*) центральной полости железы с проходящим «сухожилием» (*r*). Видны микроворсинки (*mv*), митохондрии, и секреторные вакуоли (*sg*). $\times 19000$; 8 — скопление липидных гранул (*lg*) в базальной области клетки. $\times 26000$; 9 — гранулы гликогена (*gl*) в базальной области секреторных клеток. $\times 24000$. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1--6.

Fig. 7--9. Fine structural details of secretory cells (electron microscopy).

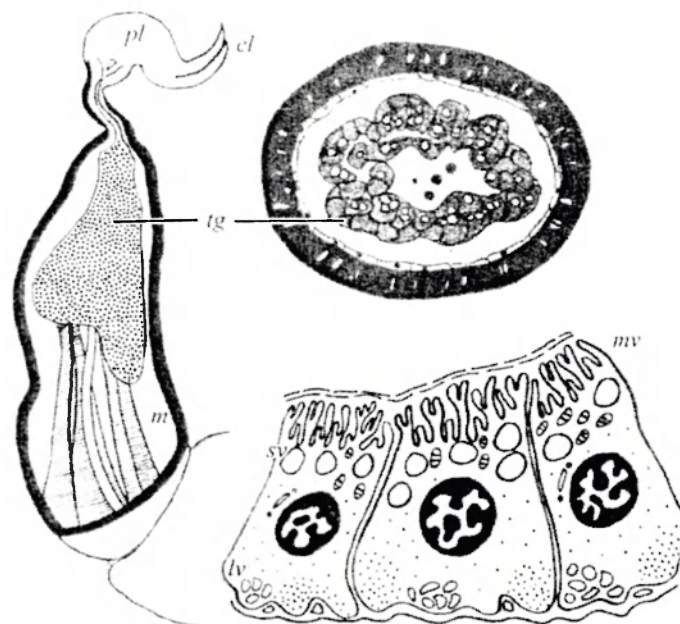


Рис. 10. Схема строения тарзальной железы по данным световой и электронной микроскопии.
cl — коготок; *pl* — pulvillus; *m* — тарзальные мышцы; *mv* — микроворсинки; *sv* — секреторные вакуоли;
tg — тарзальная железа.

Fig. 10. The structure of the tarsal gland in *Ixodes* ticks.

в которой более электронно-плотные волокна переплетаются с менее электронно-плотными (рис. 7). В наиболее проксимальной части железы мембрана практически не выражена. В проксимо-дистальном направлении волокна мембраны уплотняются, превращаясь в сплошной электронно-плотный слой (рис. 6). Апикальная область железистых клеток образует многочисленные микроворсинки; в районе микроворсинок наблюдается скопление митохондрий (рис. 7) — совокупность этих двух признаков общеизвестна как характерная черта клеток, обеспечивающих активный ионный транспорт. В апикальной области железистых клеток сосредоточены многочисленные секреторные гранулы (вакуоли) (рис. 3, 4, 7). И на срезах, исследованных в световой оптике (рис. 3, 4), и на электронограммах (рис. 7) секрет вакуолей прозрачен — либо он вымывается в процессе изготовления препаратов, либо обладает пониженной электронной плотностью. Интересно, что обнаруживаемые в базальной области железистых клеток липидные гранулы в процессе приготовления препаратов хорошо сохраняются (рис. 8). Шероховатый эндоплазматический ретикулум в клетках отсутствует, что говорит о небелковой природе секретируемого в полость железы материала. Также слабо выражены структуры комплекса Гольджи. Секреторные гранулы (вакуоли) окружены клеточной мембраной (рис. 7). Нам не удалось увидеть мест слияния мембран секреторных вакуолей с наружной мембраной секреторной клетки в апикальной области. Следует предположить, что секреция скорее осуществляется по мерокриноному типу, нежели по апокриновому, а вакуоли служат для накопления секрета,

возможно, для обеспечения непрерывной секреции. Базальные области железистых клеток содержат скопления гранул гликогена (рис. 9). Анатомия и гистология железы, а также ультраструктура железистых клеток схематически представлены на рис. 10.

Принципиальных отличий между самцами и самками в строении тарзальной железы не обнаружено. То же самое касается и различий между голодными и питавшимися самками клещей. Главные различия сводятся к следующему. Количество гранул гликогена и жировых включений в базальных областях железистых клеток у питавшихся особей значительно уменьшается по сравнению с особями голодными. В то же время средняя плотность и количество секреторных гранул сохраняются на том же уровне, что и у голодных клещей. Этот на первый взгляд неожиданный факт можно объяснить тем, что секрет железы вырабатывается, видимо, за счет энергии, запасенной питавшейся нимфой в виде гликогеновых гранул и жировых включений, и у напитанных особей (в целом более старых, чем собранные нами в природе клещи на ранних сроках выхода или свежее перелинявшие взрослые клещи из лабораторной культуры) запас этого ресурса в значительной степени истрачен. Таким образом, мы можем сделать достаточно обоснованный вывод о том, что питание не оказывает никакого влияния на функционирование тарзальной железы.

Вопрос о функции тарзальной железы остается в значительной степени открытым. Несомненным фактом представляется ее роль в работе присоски (pulvillum), так как проток железы заканчивается именно в пульвиллуме (рис. 6). У многих насекомых, например у мух, клейкий секрет выделяется в присоску, обеспечивая передвижение по гладким поверхностям (Sukontason et al., 2006). Однако существует и иной механизм. У некоторых перепончатокрылых насекомых (пчелы, муравьи) между коготками лапки находится подушечка (arolium), работа которой обеспечивается тарзальной железой. Железа секретирует жидкость в центральную полость, и вся железа с полостью напоминает замкнутый упругий пузырек. Мышцы,двигающие коготок, сжимают железу, нагнетая жидкость в arolium, либо расслабляются, ослабляя давление. Биомеханика этого процесса, обеспечивающего перемещение насекомых по гладким вертикальным поверхностям, исследована достаточно подробно (Federle et al., 2001). Интересно, что секрет такой железы не выводится наружу, а подушечка работает исключительно за счет гидравлики особой структуры кутикулы подушечки. Недавно подобный механизм работы подушечки (pad) между коготками обнаружен и у палочников (Scholz et al., 2008). В нашем случае такой механизм работы присоски представляется сомнительным, так как сокращение мышц не приведет к нагнетанию жидкости в присоску, а вызовет, скорее всего, изменение формы железы в тарзальном членике (рис. 3, 10).

Таким образом, мы можем достаточно обоснованно предположить, что тарзальная железа продуцирует секрет небелковой природы, обслуживающий присоску и обеспечивающий ее работу. При этом часть секрета неизбежно остается на субстрате и, возможно, такие следы могут распознаваться контактными хеморецепторами (Grenacher et al., 2001; Леонович, 2005). К сожалению, методы электронной микроскопии не позволяют судить о разнице в химической структуре секрета, продуцируемого самцами и самками. Можно высказать предположение, что восприятие следов, оставлен-

ных клещами обоих полов, способствует обеспечению контакта между особями в природе, при этом распознавание пола происходит уже после контакта однополых или разнополых особей за счет иных факторов, не связанных с работой тарзальной железы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Данное исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 09-04-00390-а), а также грантом поддержки ведущих научных школ (НШ-5563.2006.4).

Автор искренне благодарен коллегам, способствовавшим выполнению данной работы, в частности Эдвину Боуману (Edwin Bouman) из Института паразитологии Чешской академии наук (Ческе Будейовице, Чехия) за помощь в сборе клещей и инженерам группы электронной микроскопии Лаборатории паразитологии ЗИН РАН А. Э. Тенисону и Т. К. Цогоеву за техническое обеспечение электронно-микроскопических исследований.

Список литературы

- Атлас электронно-микроскопической анатомии иксодовых клещей / Под ред. Ю. С. Балашова. 1979. Л.: Наука. 256 с.
- Коротков Ю. С., Поутонен А. В., Иешко Е. П., Беспятова Л. А. 2006. Изменение эпидемической и эпизоотологической обстановки в очагах клещевого энцефалита республики Карелия на рубеже XX и XXI веков. Мед. вирусол. Тр. ИПВЭ им. М. П. Чумакова. РАМН. 23: 95—102.
- Леонович С. А. 1976. Тарзальная железа иксодовых клещей (Ixodidae). Паразитология. 10 (5): 457—458.
- Леонович С. А. 2005. Сенсорные системы паразитических клещей. СПб.: Наука. 236 с.
- Балашов Ю. С., Леонович С. А. 1984. Методы применения растровой электронной микроскопии в зоологии. Л.: Наука. 70 с.
- Леонович С. А. 1985. О возможности встречи полов в природе. Тажный клещ *Ixodes persulcatus* Sch. (Acarina, Ixodidae). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука. 248—249.
- Grenacher T., Krober T., Guerin P. M., Vlimant M. 2001. Behavioral and chemoreceptor cell responses of the tick, *Ixodes ricinus*, to its own faeces and faecal constituents. Experimental and Applied Acarology. 25: 641—660.
- Leonovich S. A. 2004. Phenol and lactone receptors in the distal sensilla of the Haller's organ in *Ixodes ricinus* ticks and its possible role in host detection. Experimental and Applied Acarology. 32: 89—102.
- Zemek R., Bouman E. A. P., Socha R., Dusbabek F. 2002. The effect of feeding status on sexual attractiveness of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) females. Experimental and Applied Acarology. 27: 137—149.
- Hölldobler B., Palmer J. M. 1989. A new tarsal gland in ants and the possible role in chemical communication. Naturwissenschaften. 76 (8): 385—386.
- Federle W., Drainerd L. B., McMahon T. A., Hölldobler B. 2001. Biomechanics of the movable pretarsal adhesive organ in ants and bees. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.111139928.
- Scholz I., Baumgartner W., Federle W. 2008. Micromechanics of smooth adhesive organs in stick insects: pads are mechanically anisotropic and softer towards the adhesive surface. Journ. of Comparative Physiology. 194 (4): 373—384.
- Sonenshine D. E. 2006. Tick pheromones and their use in tick control. Annual Review of Entomology. 51 (1): 557—580.

Sukontason K., Bunchu N., Methanitikorn R., Chaiwong T., Kuntalue B. 2006. Ultrastructure of adhesive device in fly in families Calliphoridae, Muscidae and Sarcophagidae, and their implication as mechanical carriers of pathogens. *Parasitology Research*. 98 (5): 477—481.

TARSAL GLAND OF THE TICKS *IXODES PERSULCATUS*
AND *IXODES RICINUS* (IXODIDAE)

S. A. Leonovich

Key words: Ixodidae, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus*, cytology, tarsal gland, SEM.

S U M M A R Y

A complicated multicellular gland is situated in tarsi of all the legs, occupying one third to half of the segment. Glandular cells form a single-layer sack; inner surface of the sack (gland cavity) is enveloped by a multilayer membrane. Cuticular rods connecting muscles with the claw pass inside this cavity. Glandular cells are characterized by the presence of numerous apical microvilli associated with accumulations of mitochondria, and secretory vacuoles enclosed in cellular membranes. The basal part of each cell contains lipid vacuoles and glycogen granules. The possibility of the track contact pheromone's production by the tarsal gland is discussed.