

**КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ**

**РАЗМНОЖЕНИЕ ПАРТЕНИТ ТРЕМАТОД *LEUCOCHLORIDIUM PARADOXUM* (TREMATODA: LEUCOCHLORIDIIDAE)**

© Г. Л. Атаев, А. А. Добровольский, А. С. Токмакова

РГПУ им. А. И. Герцена, кафедра зоологии,  
наб. р. Мойки, 48, С.-Петербург, 191186,  
E-mail: ataev@herzen.spb.ru  
Поступила 13.02.2013

Представитель сем. *Leucochloridiidae* характеризуются наличием в их жизненном цикле совершенно уникальных ветвящихся спороцист, в которых протекают начальные этапы формирования особей гермафродитного поколения. Полученные данные подтвердили имеющиеся в литературе сведения, согласно которым формирование новых эмбрионов приурочено к центральному отделу спороцисты — столону. Показано, что именно в столоне локализуются многочисленные герминальные массы, которые и являются центрами пролиферации генеративных клеток.

*Ключевые слова:* спороцисты трематод, *Leucochloridium paradoxum*, размножение, герминальные массы, репродуктивная зона.

История исследования трематод *Leucochloridium* насчитывает около двух столетий (Rudolphi, 1803; Ahrens, 1810; Carus, 1835). На протяжении XX в. были выполнены многочисленные исследования партенит этого рода (Wesenberg-Lund, 1931; Woodhead, 1935; Hsu, 1936; Bakke, 1980, 1982; Начева и др., 1981, 1983; Pojmanska, Machaj, 1991, и др.). Однако в этих работах отсутствует информация о механизме размножения спороцист — отмечается только, что закладка и формирование новых эмбрионов приурочено к центральной части спороцисты — собственно столону (Pojmanska, Machaj, 1991). Для решения этого вопроса нами было проведено гистологическое изучение спороцист *L. paradoxum*.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА**

Сбор моллюсков *Succinea putris* (Pulmonata), зараженных *L. paradoxum*, проводился в районе пос. Вырица (Ленинградская обл.) в 2011—2012 гг. Определение вида трематод основывалось на морфологических критериях (Carus, 1835, Woodhead, 1935, Bakke, 1980) и данных молекулярно-генетического анализа рДНК спороцист (Жукова и др., 2012).

Зараженные моллюски и отпрепарированные спороцисты были зафиксированы в жидкости Буэна или в 10%-ном формалине. По стандартной

методике были изготовлены парафиновые срезы толщиной 5 мкм. Для окрашивания использовали гематоксилин Эрлиха с последующей подкраской водным раствором эозина. Изучение и фотографирование срезов проводили на микроскопе Leica DM-5000.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования в значительной мере подтвердили данные Пойманской и Махайи (Pojmanska, Machaj, 1991), которые выделяли в спороцисте *Leucochloridium paradoxum* 3 морфофункциональные зоны (рис. 1, см. вкл.). Центральная ее часть, или столон (1-я зона), локализуется в гепатопанкреасе моллюска-хозяина и характеризуется сильной разветвленностью (рис. 1, Б). Здесь закладываются эмбрионы личинок гермафродитного поколения — церкариеумы (метацеркарии). Эти эмбрионы по системе тонких трубочек (2-я зона) (рис. 1, В) поступают в мешковидные отростки спороцисты (3-я зона) (рис. 1, А), окрашенные у *L. paradoxum* в ярко зеленый цвет. Метацеркарии попадают в организм окончательного хозяина (птицы) в результате склеивания зрелых (окрашенных и подвижных) отростков.

Согласно полученным нами данным, размножение спороцист действительно приурочено к центральной части столона («репродуктивная зона»). Именно здесь локализуется по крайней мере несколько герминальных масс — универсальных органов размножения партенит (Dobrovolskij, Ataev, 2003). В состав последних входят недифференцированные клетки, способные к делению и соответствующие первичным гониям женской гонады, а также находящиеся на разных стадиях специализации генеративные клетки. Они уже утратили способность к пролиферации, но еще не приступили к дроблению. Именно они дают начало эмбрионам особей гермафродитного поколения, начальные стадии развития которых в той или иной степени ассоциированы с герминальными массами. Самые ранние просто входят в состав последних, более поздние, уже после завершения формирования на их поверхности зародышевой мембраны, иногда остаются связанными с герминальной массой пластинчатыми отростками эндоцисты. Но в любом случае новые эмбрионы формируются только в герминальных массах.

Герминальные массы закладываются в тесной связи со стенкой тела спороцисты, фактически в субтегументальном слое. У зрелых особей их строение и клеточный состав заметно варьируют. Это позволяет несколько условно выделить несколько морфологических типов этих образований (рис. 2, см. вкл.). По-видимому, эти варианты отражают разные этапы формирования и функционирования этих образований. 1) Молодые герминальные массы, состоящие в основном из недифференцированных и нескольких созревающих генеративных клеток (рис. 2, А, Б). 2) Зрелые герминальные массы, в составе которых развиваются эмбрионы (рис. 2, В). На более ранних этапах своего существования они часто сохраняют связь со стенкой тела спороцисты, однако позднее эта связь нарушается, и активно функционирующие герминальные массы переходят к свободному флотированию в схизоцеле. 3) Дегенерирующие герминальные массы (рис. 2, Г, Д) характеризуются значительными нарушениями структуры и

клеточного состава. Плотность упаковки клеток заметно уменьшается, некоторые из них разрушаются, другие превращаются в пикнотические тельца; почти полностью исчезают нормальные зрелые генеративные клетки, остающиеся в составе герминальной массы эмбрионы также часто демонстрируют признаки дегенерации. В них увеличивается количество пикнотирующихся бластомеров, постепенно полностью прекращается деление клеток, о чем свидетельствует полное исчезновение митотических картин и т. п.

Развитие эмбрионов в составе герминальной массы продолжается до стадии примерно 15—30 бластомеров. К этому времени на их поверхности формируется зародышевая мембрана (рис. 3, *А*, см. вкл.), после чего они покидают герминальную массу и переходят к самостоятельному существованию в схизоцеле материнского организма. Часто созревающие эмбрионы отделяются от герминальной массы группами по несколько штук, и в дальнейшем эти ассоциации, связанные цитоплазматическими пластинками эндоциты, могут сохраняться некоторое время (рис. 3, *Б*).

На протяжении жизни спороцисты в столоне периодически имеет место обновление репродуктивных зон. В то же время как одни участки, исчерпавшие свой репродуктивный потенциал, претерпевают регрессивные изменения, другие, напротив, активизируются и берут на себя реализацию генеративной функции. В первом случае стенки деградирующих участков истончаются — субтегументальные клетки подвергаются значительной дегенерации. Одновременно с этим нарушается и работа герминальных масс, в которых практически полностью прекращаются нормальные процессы функционального созревания генеративных клеток и их последующего дробления. Однако вместо них к этому времени развиваются новые активные участки столона, которые позднее и становятся центрами репродукции. В них появляются молодые герминальные массы, в которых поначалу присутствуют только дифференцирующиеся генеративные клетки и практически отсутствуют эмбрионы.

В июльских спороцистах (в это время последние достигают максимальной репродуктивной активности) насчитывается примерно 11—13 герминальных масс. Из них только 2—3 являются молодыми, 3—4 дегенерирующими, а остальные относятся к зрелым.

Некоторое время за счет пластинчатых структур зародыши могут сохранять связь с герминальными массами, либо со стенкой тела спороцисты, однако позднее переходят к свободному флотированию в схизоцеле. В дальнейшем наблюдается быстрый рост эмбрионов, о чем свидетельствуют многочисленные митозы в бластомерах (рис. 3, *В*). В полости центральной части столона локализуются зародыши на разных стадиях — вплоть до завершения основных морфогенетических преобразований (иногда на их поверхности уже формируется циста) (рис. 3, *Г*).

Разновозрастные эмбрионы поступают через узкие трубчатые участки в формирующиеся отростки (рис. 4, *А*, см. вкл.). Механизм этого перемещения остается неясным. Можем лишь предположить, что этот процесс является однонаправленным благодаря клапану, расположенному в дистальной части отростков. Этот клапан изображен на рисунке Везенберга-Лунда (Wesenberg-Lund, 1931). Само перемещение, возможно, связано с мышечными сокращениями трубчатых участков спороцисты.

В результате обширный схизоцель зрелых отростков заполняется многочисленными зародышами (в среднем по 100—250), которые в конечном счете достигают стадии зрелой метацеркарии. Так как зародыши при этом заметно вырастают, а на их поверхности формируются толстые полупрозрачные цисты, весь отросток оказывается заполнен очень плотно упакованными личинками (рис. 4, В, Г). Благодаря этому весь отросток приобретает известную упругость.

Полностью сформированные личинки имеют овальную форму (размер  $1.2 \times 0.8$  мм), а их количество сильно варьирует (в отростке размером  $13.7 \times 2.6$  мм нам удалось обнаружить 373 личинки). Различно и количество зрелых отростков. Обычно их не более 2—4, однако в некоторых улитках насчитывалось до 10—12 отростков (максимум 19!), однако подобные случаи, вероятно, обусловлены множественной инвазией моллюсков. Одна спороциста может иметь не более 4—5 зрелых отростков.

Очень редко вместе с эмбрионами в отросток может попасть флотирующая герминальная масса (рис. 4, Б). Такие находки позволяют предположить, что сами отростки обладают собственной генеративной активностью. Однако во всех подобных случаях герминальные массы, часто демонстрирующие признаки дегенерации, поступили в отростки из центральной части столона вместе с потоком молодых личинок. Пролиферации генеративных элементов в отростках не происходит. Функционально отростки представляют собой лишь выводковые и накопительные камеры, в которых накапливаются завершившие свой морфогенез личинки.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в Лаборатории экспериментальной зоологии РГПУ им. А. И. Герцена, при поддержке гранта Министерства образования и науки № 4.8040.2013.

#### Список литературы

- Жукова А. А., Прохорова Е. Е., Цымбаленко Н. В., Токмакова А. С., Атаев Г. Л. 2012. Генотипирование трематод рода *Leucochloridium*, обитающих на территории Ленинградской области. *Паразитология*. 46 (5) : 414—419.
- Начева Л. В., Соболева Т. Н., Осиповская Л. Л. 1981. Сравнительная гистология спороцист *Leucochloridium paradoxum* и *L. problematicum*. *Паразиты — компоненты водных и наземных биоценозов Казахстана*. Алма-Ата: Наука. 147—155.
- Начева Л. М., Соболева Т. Н., Осиповская Л. Л. 1983. Гистологические исследования взаимоотношений в системе паразит-хозяин на примере спороцист трематод рода *Leucochloridium* (Carus, 1835). II Всесоюз. съезд паразитологов. Тез. докл. Киев: Наукова думка. 230—231.
- Ahrens A. 1810. Abhandlung über Würmer, welche in einer Erdschnecke entdeckt worden sind. *Mag. Ges. Naturf. Fr. Berlin*. 4 : 292—295.
- Bakke T. A. 1980. A revision of the family Leucochloridiidae Poche (Digenea) and studies on the morphology of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835. *System. Parasitology*. 1 : 189—202.
- Bakke T. A. 1982. Histology and biology of the larval stages of *Leucochloridium* Carus, 1835 (Trematoda, Digenea) as revealed by light and electron microscopy. *Fauna Norvegica Series A*. 3 : 41—56.

- Carus C. G. 1835. Beobachtungen über einen merkwürdigen schongefärbten Eingeweidewurm, *Leucochloridium paradoxum* mihi, und dessen parasitische Erzeugung in einer Landschnecke, *Succinea amphibian* Drap. *Helix putris* Linn. Nova Acta Phys.-Med. Acad. Nat. Curios. 17.
- Dobrovolskij A. A., Ataev G. L. 2003. The nature of reproduction of Trematodes Rediae and Sporocysts. Taxonomy, Ecology and Evolution of Metazoan Parasites. Press Universitaires de Perpignan. 1 : 249—272.
- Hsü H. 1936. Studien zur Systematik und Entwicklungsgeschichte der Gattung *Leucochloridium* Carus. II. Über zwei *Leucochloridium*—arten der Kurischen Nehrung sowie über Fütterungsversuche mit grünen Sporocysten dieser Gattung. Ztschr. Parasitenk. 8.
- Pojmanska T., Machaj K. 1991. Differentiation of the ultrastructure of the body wall of the sporocyst of *Leucochloridium paradoxum*. Int. Journ. Parasitol. 21 (6) : 651—659.
- Rudolphi C. A. 1803. Neue Beobachtungen über die Eingeweidewürmer. Arch. F. Zool. Zoot. Brnshwg. 3 (2) : 1—32.
- Wesenberg-Lund C. 1931. Contribution to the development of the Trematoda Digena ea. Pt. I. The biology of *Leucochloridium paradoxum*. Kong. Dansk. Vidensk. Selk. Skr. Nat. math. Afd. 9 : 90—142.
- Woodhead A. E. 1935. The mother sporocysts of *Leucochloridium*. Journ. Parasitol. 21 : 337—346.

REPRODUCTION OF TREMATODE *LEUCOCHLORIDIUM PARADOXUM*  
SPORO CYSTS (TREMATODA: LEUCOCHLORIDIIDAE)

G. L. Ataev, A. A. Dobrovolskij, A. S. Tokmakova

*Key words:* trematoda sporocysts, *Leucochloridium paradoxum*, reproduction, germinal masses, reproductive zone.

SUMMARY

The histological study of the trematoda sporocysts *Leucochloridium paradoxum* confirmed the presence of three morphological zones in it: 1) central part (reproductive), where embryos are forming, 2) narrow tubes through which the embryos penetrate in colored broodsacs (3), where the development of metecercaria completes. It was found that germinal mass only is the reproduction organ of the sporocysts, located in reproductive zone. There are young (without embryos), mature (with embryos) and degenerated germinal masses. So, in the process of sporocysts development the centre of multiplication of germinal elements was changed. The old parts of central part are degenerated, but the new ones with young germinal masses appear. The multiplication of generative elements does not take place in the broodsacs which are breeding cameras functionally.



Рис. 1. Спороциста *Leucochloridium paradoxum* (A—B).  
A — общий вид; B — центральная часть столона; B — трубчатые части спороцисты.  
Fig. 1. *Leucochloridium paradoxum* sporocyst (A—B).

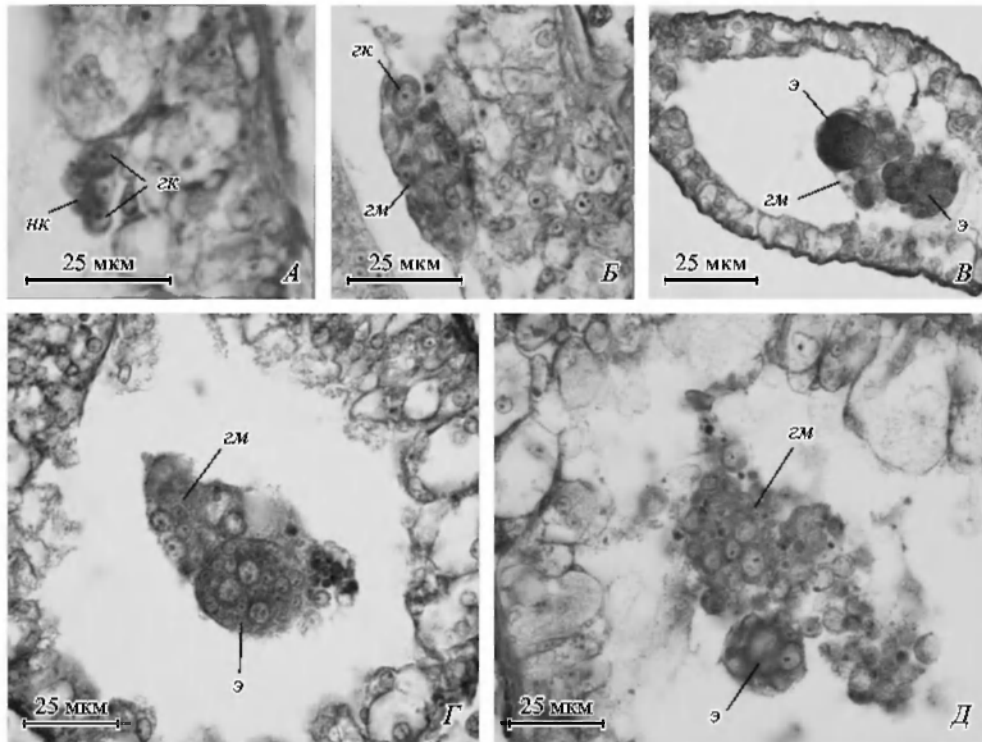


Рис. 2. Гистологические срезы через спороцисту *Leucochloridium paradoxum* в районе герминальной массы.

*А, Б* — молодые герминальные массы; *В* — зрелая герминальная масса; *Г, Д* — дегенерирующие герминальные массы. *зк* — генеративные клетки, *зм* — герминальная масса, *нк* — недифференцированные клетки, *э* — эмбрион.

Fig. 2. Histological sections of germinal masses of *Leucochloridium paradoxum* sporocyst.

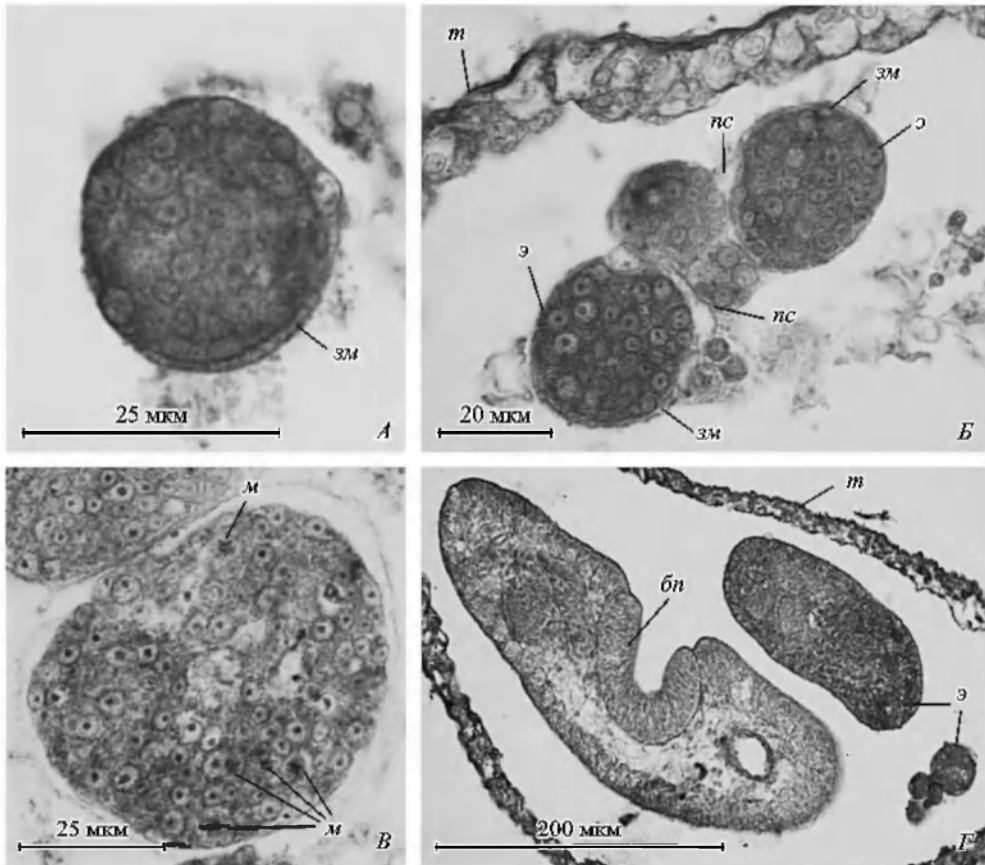


Рис. 3. Эмбрионы метацеркарий *Leucochloridium paradoxum* (А—Г).  
эм — зародышевая мембрана, бп — брюшная присоска метацеркарии, м — делящая клетка (метафаза),  
пс — пластинчатые структуры, т — тегумент, э — эмбрион.

Fig. 3. Embryos of *Leucochloridium paradoxum* metacercariae.



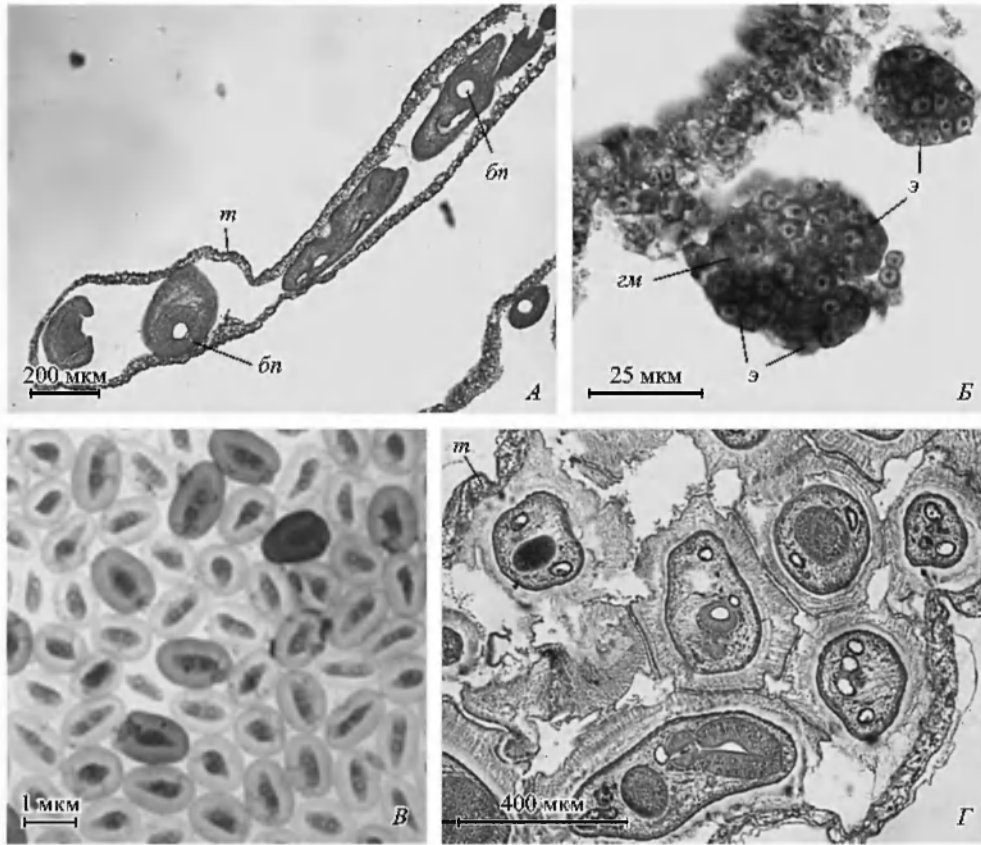


Рис. 4. Метацеркарии *Leucochloridium paradoxum* (A—B).

A — метацеркарии в формирующемся отростке; B — герминальная масса (zm) в отростке; B — отпрепарированные метацеркарии из зрелого отростка спорцисты; Г — гистологический срез через зрелый отросток спорцисты. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2, 3.

Fig. 4. *Leucochloridium paradoxum* metacercariae (A—B).