

Санкт-Петербургский государственный университет

На правах рукописи

ИСАКОВА
Надежда Петровна

**РАЗМНОЖЕНИЕ ПАРТЕНИТ
РЕДИОИДНЫХ ВИДОВ ТРЕМАТОД**

03. 00. 08 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург

2008

Работа выполнена на кафедре зоологии факультета биологии
Российского государственного педагогического университета имени А. И. Герцена

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор **Геннадий Леонидович Атаев**

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор **Кирилл Владимирович Галактионов**

доктор биологических наук, профессор **Георгий Сергеевич Слюсарев**

Ведущее учреждение:

Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства

Защита диссертации состоится « _____ » _____ 2008 г. в _____ часов на заседании совета Д.212.232.08 по защите кандидатских и докторских диссертаций при Санкт-Петербургском государственном университете по адресу: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9, ауд. 133.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. А. М. Горького Санкт-Петербургского государственного университета.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2008 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета,
кандидат биологических наук

С. И. Сухарева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. На протяжении многих десятилетий остаются дискуссионными вопросы, связанные со становлением классов паразитических платод и их филогенетические отношения между собой и с турбелляриями. Положение трематод в системе Neodermata определяется, в первую очередь, взглядами на природу и происхождение их жизненного цикла.

Дефицит данных о размножении и развитии партенит сильно затрудняет анализ природы жизненного цикла трематод. Особенно актуальным является решение вопроса о способе и месте закладки генеративных клеток (ГК) редий и спороцист. Ряд авторов признает возможность их возникновения в любом участке стенки тела (Cary, 1909; Dubois, 1929; и др.). Другие считают, что единственным органом размножения спороцист/редий, в котором происходит пролиферация ГК, является герминальная масса (ГМ) (см.: Dobrovolskij, Ataev, 2003). При этом встает вопрос об источнике ГК. Одни исследователи считают возможным развитие ГК редий/спороцист из любых недифференцированных клеток (НК). В противовес этой точке зрения утверждается, что ГК редий и спороцист специализируются из НК полового зачатка. В этом случае признается гомологичность ГМ партенит и яичника мариты. Для подтверждения или опровержения этого мнения необходимо детальное изучение закладки, структуры и функционирования ГМ материнского и дочерних поколений партенит.

Особенности функционирования ГМ определяют динамику размножения партенит, и, соответственно, характер роста их численности в моллюске. Соответственно, возникают вопросы, связанные со стратегией паразитирования партенит в моллюске-хозяине и устойчивостью образуемых ими инфрапопуляций. Один из самых важных вопросов: каков механизм поддержания численности длительно существующих микрогемипопуляций редий/спороцист? Данные по этому вопросу противоречивы и крайне фрагментарны.

Цель работы: изучение размножения партенит редоидных видов трематод.

Для достижения поставленной цели в рамках диссертационного исследования потребовалось решить следующие **задачи**: 1) исследовать состав герминального материала на всех этапах развития партенит; 2) изучить структуру ГМ партенит всех генераций (на примере представителей таксона Echinostomata); 3) выяснить возможность перехода дочерних редий (ДР) с отрождения партенит на формирование церкарий (на примере представителей таксона Echinostomata); 4) изучить регуляцию численности партенит в инфрапопуляции, основанную на изменении типа формируемых эмбрионов; 5) изучить сезонную динамику состояния инфрапопуляций партенит в спонтанно зараженных моллюсках *Bithynia tentaculata*.

Научная новизна. Впервые детально изучена динамика функционирования ГМ материнской и дочерних генераций партенит трематод. Доказано, что ГК партенит трематод редиоидных видов формируются только в составе ГМ. Впервые показано, что формирование ГК в материнских спороцистах (МС) *Echinostoma caproni* и редиях сем. Echinostomatidae, Psilostomatidae и Notocotylidae завершается ко времени отрождения первой особи следующего поколения. Показано, что явление аутотомии переднего конца тела МС *Echinostoma caproni* обусловлено отсутствием у них родильной поры и не сопровождается гибелью организма, который сохраняет жизнеспособность вплоть до полного завершения репродукции. Подтверждена основополагающая роль молодых редий в регуляции численности партенит в инфрапопуляции.

Теоретическая и практическая значимость. Представленное диссертационное исследование кроме теоретического значения для понимания природы размножения партенит и механизмов устойчивости в данной паразито-хозяинной системе имеет большое практическое значение, так как современные профилактические меры направлены на борьбу с паразитами вне организма человека и ценных видов животных. Соответственно, моллюски – обязательные промежуточные хозяева трематод – является важнейшим звеном, на котором возможно эффективное применение мер биологического контроля над распространением опасных инвазий.

Реализация работы. По материалам диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 5 статей и 8 тезисов.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены и обсуждены на: международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения акад. А. В. Иванова «Проблемы эволюционной морфологии животных» (Санкт-Петербург, 2006), на межвузовской конференции «Герценовские чтения» (Санкт-Петербург, 2001–2006), на заседаниях научного семинара кафедры зоологии РГПУ им. А. И. Герцена (2004–2007).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 196 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 173 наименования. Работа содержит 83 рисунка и 11 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Глава посвящена анализу литературных данных о размножении и развитии партенит. Приводится подробный анализ взглядов на природу жизненного цикла трематод. Особое внимание в этой главе уделено становлению и поддержанию численности инфрапопуляций партенит трематод. В конце главы коротко рассмотрены вопросы, связанные с сезонной динамикой экстенсивности инвазии моллюсков партенитами трематод.

Вместе с тем, обзор литературных источников не исчерпывается данной главой. Значительное внимание анализу литературы уделено при обсуждении полученных результатов.

Глава II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования (звездочкой отмечены виды, изучение которых осуществлялось на лабораторной линии). **Виды трематод** – *Echinostoma caproni* (Echinostomatidae)*, *Psilotrema tuberculata*, *Sphaeridiotrema globulus* (Psilostomatidae), *Notocotylus imbricatus* (Notocotylidae), *Metorchis intermedius* (Opisthorchidae), *Holostephanus volgensis* (Cyathocotylidae), *Pleurogenoides medians*, Plagiorchidae gen. sp. (Plagiorchida). **Виды моллюсков** – *Biomphalaria glabrata** и *B. pfeifferi** (Planorbidae)¹, *Bithynia tentaculata* (Hydrobiidae). Моллюсков *B. tentaculata* собирали в пруду (площадь около 3000 м²), находящемся на территории Санкт-Петербурга. Было вскрыто 1692 битинии. Гистологические препараты были приготовлены из 103 моллюсков, зараженных одним из четырех видов: *Psilotrema tuberculata*, *Sphaeridiotrema globulus*, *Notocotylus imbricatus*, *Metorchis intermedius*.

Всего было просмотрено 192 серии срезов моллюсков (приблизительно 38400 срезов). Подробно было изучено строение партенит, организация ГМ и характер развивающихся эмбрионов у более чем 700 спороцист и редий.

Основные методы исследования. Строение партенит изучалось *in vivo*, на тотальных препаратах, окрашенных кармином, и на парафиновых срезах, окрашенных различными красителями. Для исследований были использованы биноккуляр МБС-10, микроскоп Микмед-2. Фотографии выполнены с помощью цифровой фотокамеры Nikon “Coolpix 4500”. В работе также использованы методы сканирующей и трансмиссионной микроскопии. Для компьютерной обработки данных применялись Photoshop, Word XP и Excel XP.

Глава III. РЕЗУЛЬТАТЫ

III. 1. Развитие и размножение партенит *Echinostoma caproni*

III. 1. 1. Размножение материнских спороцист

Зрелый мирацидий *Echinostoma caproni* содержит от 3 до 5 НК и 5–7 ГК, 1–2 из которых немного опережают в развитии остальные. Именно эти ГК первыми приступают к дроблению на паразитической фазе развития МС. Пролиферация НК и последующая их специализация в ГК начинается на 2 сутки после заражения (п. 3.).

¹ Фиксированные моллюски *Biomphalaria glabrata* и *B. pfeifferi*, содержащие разные сроки инвазии *Echinostoma caproni*, были предоставлены Г. Л. Атаевым.

Через 2 дня п. з. большая часть МС содержит по 2–4 эмбриона, состоящих из 5–10 бластомеров, от 2 до 5 зрелых ГК, 3–5 созревающих ГК и несколько НК. В зоне пролиферации НК, созревания и дробления ГК, расположенной в задней части спороцисты, сохраняется паренхима². Учитывая генеративную функцию этого участка, мы обозначаем его как центр пролиферации генеративных элементов – ГМ, которая в этом случае морфологически не обособлена от окружающих тканей.

Через 5 дней п. з. все спороцисты имеют общую зародышевую полость. С расширением схизоцеля, ГМ остается в паренхиме, сохраняющейся в каудальной части тела. Отсутствие заметной структурной обособленности ГМ от окружающих соматических клеток, а иногда отсутствие прямого контакта со схизоцелем затрудняют выход эмбрионов в зародышевую полость. Для облегчения их высвобождения в паренхиме вблизи ГМ образуется углубление со стороны схизоцеля, а в ряде случаев широкий канал, доходящий до каудальной стенки тела и пронизывающий при этом ГМ насквозь. Вероятно, именно это явление приводит к фрагментации ГМ на два или даже три участка, которые ошибочно могут быть описаны как самостоятельные центры мультипликации генеративных элементов, сформированные независимо друг от друга.

Важно отметить, что каудальное положение ГМ характерно только для молодых МС. В процессе развития она смещается на боковую стенку задней трети тела. Разделение ГМ на фрагменты часто приводит к еще большему удалению от заднего конца тела. К 10 дню п. з. она уменьшается в размере, в ее составе насчитывается меньшее количество клеточных элементов. У трети 10-дневных спороцист не удалось обнаружить ГМ.

Формирование ГК у спороцист *E. caproni* прекращается приблизительно через 7 дней п. з. Процесс закладки новых эмбрионов у большинства МС заканчивается через 9–10 дней п. з.

Через 7 дней п. з. в МС развиваются от 16 до 33 зародышей, 3–4 из которых уже готовы покинуть материнский организм. Отрождение первых редий отмечается на 8 день п. з. Эмбрионы покидают МС через отверстие, образующееся на месте теребраториума. К этому времени на переднем конце спороцисты образуется перетяжка, отделяющая утративший целостность покровов участок. Изолированная таким образом часть составляет около четверти тела. В области перетяжки скапливаются многочисленные пластинчатые структуры, которые закупоривают канал, связывающий функционирующую часть МС с

² Паренхима, как особого типа соединительная ткань, у партенит отсутствует. Однако на начальных этапах развития эти организмы обладают паренхиматозным строением, поэтому здесь и далее в тексте мы будем использовать этот термин, понимая под ним скопление малодифференцированных клеток, цитонов тегумента и тел мышечных клеток.

дегенерирующим участком тела. Затем в течение 10–12-го дня п. з. происходит аутономия переднего конца тела МС.

В течение репродуктивного периода МС, развивающиеся в *Biomphalaria glabrata*, формируют до 50 зародышей, в *B. pfeifferi* от 25 до 45 эмбрионов.

III. 1. 2. Развитие и размножение материнских редий

Большинство материнских редий *Echinostoma caproni* после рождения мигрируют к вершине висцерального мешка. Для передвижения они используют артерии и синусы, главным образом, висцеральную аорту и ее ответвления. На завершающих этапах миграции материнские редии могут перемещаться по поверхности гепатопанкреаса или, реже, между его ацинусами.

Материнские редии имеют хорошо развитую глотку и мешковидную кишку, достигающую у молодых особей до уровня середины тела. В задней части тела расположены два локомоторных выроста. На переднем конце имеется воротничок и родильная пора.

Эмбриональное развитие материнской редии длится 6–7 дней. Размер новорожденной особи составляет около 210×50 мкм. В ней насчитывается 8–18 эмбрионов следующей генерации. ГМ обособлена звездчатыми клетками от окружающих ее структур. Она располагается в паренхиматозном участке позади локомоторных выростов. В основании ГМ располагается от 2 до 6 НК, вокруг которых лежит от 4 до 9 ГК.

К моменту отрождения первой ДР в материнской редии развивается до 55 эмбрионов, большинство из которых располагается в схизоцеле. ГМ представлена компактной группой клеток, в которой с краю располагается от 2 до 5 эмбрионов. ГМ покрыта снаружи пластинчатыми структурами. Ими же она связана со стенками тела. Рядом с ГМ располагается от 3 до 6 мелких эмбрионов. Важно отметить, что в материнских редиях этого возраста редко отмечаются зародыши на стадии 2–5 бластомеров, что свидетельствует о замедлении процесса закладки эмбрионов.

Материнские редии начинают отрождать дочерних партенит в 4-х дневном возрасте. К этому времени в ГМ уже нет НК, а все ГК, не приступившие к дроблению, подверглись дегенерации. ГМ уменьшается, в ней появляются многочисленные пикнотические тельца.

Дегенерация редий всех генераций протекает сходно. Пикнотизация клеток начинается обычно с переднего конца, далее этот процесс распространяется на всю стенку тела. Продолжительность жизни материнских редий не превышает 15 дней.

Герминальная масса материнских и дочерних редий E. caproni всегда занимает каудальное положение. Она закладывается еще в процессе морфогенеза. У новорожденных особей ГМ выглядит как компактная группа клеток, среди которых преобладают НК и ГК. При этом количество НК уменьшается по сравнению с зародышами редий. Далее в процессе

развития происходит постепенное выдвижение ГМ в схизоцель. В результате она оказывается в зародышевой полости, сохраняя связь со стенкой тела посредством короткой ножки, образованной пластинчатыми структурами. Кроме этого от ГМ к стенке тела отходят дополнительные пластинчатые структуры. К этому времени в ГМ истощается запас НК (их либо нет, либо 1–2). В состав этого образования входят только ГК и эмбрионы. Последние располагаются на поверхности ГМ со стороны схизоцеля.

Только у очень молодых особей (до начала морфогенетических преобразований у самых крупных эмбрионов) в ГМ сохраняется запас НК. Далее постепенно уменьшается количество ГК, часть из которых дегенерирует (еще до начала воспроизводства). Образование новых эмбрионов прекращается вскоре после отрождения первых зародышей. Уменьшаются размеры ГМ. В них увеличивается количество пикнотических телец и дегенерирующих клеток. У большинства зрелых редий ГМ представлена небольшим количеством рыхло расположенных клеток, между которыми лежат зародышевые шары.

Формирование схизоцеля редий всех генераций протекает сходно. Зачаток схизоцеля в виде узких щелей в паренхиме появляется у зародышей редий, обладающих оформленными зачатками глотки и кишки, после начала дробления 2 ГК. Далее по мере роста эмбрионов и увеличения их количества, вокруг наиболее крупных из них формируются микрополости. Слияние последних в результате разрушения пластинчатых структур и дальнейшей специализации малодифференцированных клеток паренхимы приводит к образованию полости общей для нескольких зародышей. У новорожденных редий почти все эмбрионы лежат в едином схизоцеле, в котором, однако, еще присутствуют многочисленные звездчатые клетки. У молодых партенит пластинчатые структуры сохраняются в заднем конце тела, где формируют сеть, обеспечивающую защиту мелких зародышевых шаров.

III. 1. 3. Размножение дочерних редий *Echinostoma caproni*

Развитие редий всех генераций протекает сходно. К началу отрождения церкарий ДР достигают максимальных размеров (1600×250–2400×280 мкм). К этому времени в них развивается более 50 зародышей. Причем большая часть из них – эмбрионы церкарий. Зародышевых шаров насчитывается менее 22. Количество эмбрионов редий, если они есть, не превышает 3. В дальнейшем, также как у МС и материнских редий, наблюдается уменьшение размеров ДР. Зрелые особи не превышают 1500×185 мкм. В них развиваются от 12 до 29 эмбрионов. До 9 из них – это зрелые зародыши церкарий. Количество зародышевых шаров не превышает 6. Мультипликация генеративных элементов завершается до отрождения первых зародышей. У трети изученных зрелых редий ГМ обнаружить не удается.

Отрождение зрелыми ДР не только церкарий, но и партенит возможно. Это подтверждается обнаружением эмбрионов редий в крупных ДР, продуцирующих церкарий. Однако такие случаи встречаются очень редко: обычно зрелые ДР содержат только эмбрионы церкарий, а эмбрионы партенит развиваются в молодых ДР.

Локализация дочерних редий. Крупные ДР *E. caproni* встречаются по всему организму моллюска-хозяина, но большинство паразитирует в области гонады и печени. Мигрируют только новорожденные и молодые особи.

III. 2. Развитие партенит в природно-зараженных моллюсках *Bithynia tentaculata*

III. 2. 1. Общая характеристика зараженности *Bithynia tentaculata* партенитами трематод

Исследование динамики зараженности *Bithynia tentaculata* проводилось в пруду на территории лесопарка «Сосновка» (г. Санкт-Петербург). Несмотря на изменения демографического состава популяции хозяев, нестабильные климатические условия и возрастающий антропогенный пресс видовой состав трематодофауны битиний на протяжении 15 лет сохранился: все 7 видов (*Shpaeridiotrema globulus*, *Psilotrema tuberculata*, *Notocotylus imbricatus*, *Metorchis intermedium*, *Holostephanus volgensis*, *Pleurogenoides medians* и Plagiorchiidae gen. sp.), выявленные в 1991–1996 гг. (Атаев и др., 2002) были обнаружены нами в 2005–2007 гг.

С августа 2005 года по апрель 2007 года общая экстенсивность инвазии битиний партенитами трематод колебалась от 17 до 48 %. Максимальные ее значения были отмечены в конце сентября.

III. 2. 2. Размножение и развитие партенит редиоидных видов трематод, паразитирующих в *Bithynia tentaculata*

III. 2. 2а. *Shpaeridiotrema globulus*

В зрелой инфрапопуляции *S. globulus* насчитывается $172,5 \pm 86,8$ редий (n=28), среди которых присутствуют особи разных возрастов. Соотношение последних меняется в течение года.

В большинстве случаев ДР в зрелой инфрапопуляции отрождают только церкарий. Тем не менее, некоторые из них вначале жизни формируют одну или несколько редий, после чего обычно не наблюдается возврата к отрождению партенит. Однако анализ гистологических срезов (26 моллюсков) и результаты вскрытий зрелых редий *in vivo* показывают, что в ДР могут формироваться эмбрионы партенит после начала продукции церкарий. Такие находки позволяют высказать предположение о возможности вторичной закладки эмбрионов редий после начала продукции церкарий.

В редиях *S. globulus* всегда присутствует только одна **герминальная масса**. Она представлена компактным образованием, покрытым пластинчатыми структурами. У новорожденных и очень молодых редий ГМ располагается за кишкой. У редий старших возрастов она локализуется непосредственно позади кишки, либо сбоку от ее заднего конца.

У эмбрионов редий и новорожденных особей зачаток ГМ впаян в паренхиму. Он представлен группой НК и ГК. Дробление последних наблюдается после рождения редии. Формирование зародышевой полости происходит так же, как у *Echinostoma caproni*. Параллельно с этим процессом наблюдается обособление ГМ от паренхимы пластинчатыми структурами. Оба эти события у редий *S. globulus* отнесены на постэмбриональный период развития. У партенит, содержащих многочисленные зародышевые шары, ГМ имеет вид компактных образований, выступающих в схизоцель. По мере созревания эмбрионов ГМ увеличивается в размерах. В ней заметны более 3 НК и до 10 ГК, а также ранние эмбрионы (до 10). Последние располагаются по периферии ГМ со стороны схизоцеля.

В зрелых редиях крупные эмбрионы церкарий прижимают ГМ к стенке. В ней уменьшается число ГК, растет количество пикнотизирующихся клеток. Постепенно ГМ разрушается. Мультипликация генеративных элементов в ГМ редий *S. globulus* завершается вскоре после начала отрождения церкарий.

III. 2. 26. *Psilotrema tuberculata*

В зрелых инфрапопуляциях в среднем насчитывается $212,0 \pm 90,6$ особей ($n=51$). Соотношение разновозрастных редий меняется в течение года.

Полученные данные показали принципиальную возможность формирования зародышей партенит в ДР, приступивших к отрождению церкарий, однако, это не частое явление. Соответственно, основной вклад в пополнение численности инфрапопуляции вносят редии, не приступившие к продукции личинок особей гермафродитного поколения.

Герминальная масса редий *P. tuberculata* может быть расположена дорсально – непосредственно позади кишки, сбоку от ее заднего конца или вентрально. В любом случае закладывается ГМ в заднем конце тела. У эмбрионов редий зачаток ГМ представлен только НК и созревающими ГК. Первые эмбрионы появляются после отрождения редии. По мере расширения схизоцеля ГМ оказывается на границе паренхимы и зародышевой полости.

У молодых редий, содержащих многочисленные зародышевые шары, ГМ имеет вид компактного образования, в котором всегда присутствуют НК, созревающие и зрелые ГК, а также структурные клетки. Межклеточного матрикса мало. ГМ выступает в схизоцель. По ее периферии располагается от 3 до 9 эмбрионов.

В дальнейшем зародыши церкарий придавливают ГМ к стенке, в ней уменьшается количество клеток, многие из которых пикнотизируются. Завершается мультипликация

генеративных элементов. ГМ зрелых редий состоит из небольшого числа клеток (около 58), расположение которых становится менее плотным, чем у молодых особей.

III. 2. 2в. *Notocotylus imbricatus*

В зрелых инфрапопуляциях *N. imbricatus* преобладают партениты, формирующие личинок гермафродитного поколения. Однако всегда присутствуют также новорожденные и молодые особи. Редии, формирующие партенит, встречаются редко (в среднем 1–2 особи на инфрапопуляцию). Во всех случаях это молодые ДР, в которых нет крупных зародышей церкарий.

Герминальная масса редий *N. imbricatus* расположена каудально. Она соединена со стенками тела многочисленными пластинчатыми структурами. Генеративные элементы в ГМ ранжированы по степени зрелости: в основании лежат НК, далее 2–3 ГК, за которыми следуют эмбрионы, состоящие из 2–6 бластомеров, и далее зародышевые шары. У размножающихся редий ГМ уменьшается в размерах. Она прижата к стенке крупными зародышевыми шарами. У некоторых зрелых редий не удается обнаружить ГМ.

III. 2. 2г. *Metorchis intermedius*

По *Metorchis intermedius* получены данные принципиально сходные с предыдущими видами.

Глава IV. ОБСУЖДЕНИЕ

IV. 1. Механизм размножения партенит

Партениты, несмотря на кажущуюся простоту организации, поражают своим морфологическим разнообразием. Тем не менее, среди них можно выделить два основных морфотипа: редии и спороцисты. Подробный анализ организации партенит позволил выделить две тенденции, определяющие основные направления их эволюции. С одной стороны, это повышение уровня целостности, приводящее к формированию строго *унитарного организма*, а с другой — усиление морфофункциональной дезинтеграции и переход к модульной организации. Развитие унитарного организма связано с возрастанием централизации. Последнее определяет наличие единственной ГМ, фрагментация которой если и наблюдается, то уже на заключительных этапах существования. Противоположное эволюционное направление, заключающееся в повышении уровня дезинтеграции организма и становлении модульной организации, свойственно только спороцистам, причем как материнским (диплостоматиды, плагиорхиды, буцефалиды), так и дочерним (некоторые стригейды). Одним из главных проявлений эволюционной тенденции партенит, обладающих длинным, а иногда и разветвленным телом, становится полимеризация ГМ. Переход спороцист к модульному типу организации позволяет продлить их репродуктивный период и увеличить плодовитость. Вероятно, самые начальные этапы

снижения уровня организменной целостности партенит трематод мы видим у МС *Echinostoma caproni*. Описанная нами аутономия переднего конца тела, необходимая для отрождения особей следующего поколения, не сопровождается гибелью организма, который сохраняет жизнеспособность вплоть до полного завершения репродукции.

Говоря о репродукции партенит, мы имеем в виду два тесно связанных, но принципиально разных процесса: «размножение» и «отрождение». Первый включает пролиферацию ГК, их «созревание» и в какой-то мере начальные этапы эмбриогенеза. Второй – собственно процесс отрождения уже завершивших свое эмбриональное развитие особей следующего поколения. Часто размножение завершается намного раньше, чем прекратится процесс отрождения.

Уже было показано, что органом размножения партенит является ГМ (см. Dobrovolskij, Ataev, 2003). Мы подтвердили универсальность этого образования. Полученные нами данные позволяют обсудить вопрос о месте и времени закладки ГМ. Ранее эти проблемы в литературе не затрагивались.

Анализ литературных данных и результаты собственных исследований показали, что у партенит всех генераций ГМ закладывается в заднем конце тела (Cort et al., 1948, 1949; Ameel et al., 1949, 1953; Guilford, 1958; Donges, 1973, 1964; Madhavi, 1980; Добровольский и др., 1983; и другие).

В подавляющем большинстве случаев обособление зачатка ГМ наблюдается в процессе морфогенеза партенит. У материнского поколения пролиферация НК и специализация их в ГК начинается, а в ряде случаев и завершается (Cyclocoelida, Philophthalmidae, Fasciolidae и другие) во время развития мирацидия. Функционально зрелая личинка обладает сформированной ГМ, клеточный состав которой может варьировать. Исключением являются мирацидии наиболее специализированных представителей плагиорхид: они обладают зачатком ГМ, представленным только НК. Пролиферация и специализация последних переносятся на паразитическую фазу развития МС. У дочерних поколений партенит, для которых характерно прямое развитие, закладка ГМ всегда приурочена к процессам морфогенеза.

Спорен вопрос об источнике ГК партенит и, соответственно, самих ГМ. Идея непрерывности зачаткового пути, выдвинутая в свое время Бруксом (Brooks, 1930), не нашла своего подтверждения, так же как и высказанные Кортом (Cort, 1953 и другие) представления о возможности мультипликации зрелых ГК. Альтернативной взглядом Брукса и Корта была гипотеза о возможности формирования ГК непосредственно из НК зародыша (Добровольский и др., 1983, рис 22, стр. 92). Полученные нами данные позволяют обсудить эту проблему.

В теле развивающегося зародыша присутствуют многочисленные НК. Большая часть из них дает начало соматическим клеткам. Параллельно с этим процессом в заднем конце тела зародыша довольно рано начинают дифференцироваться ГК. Они вместе с несколькими НК обособляются в половой зачаток. В дальнейшем формирование ГК и структурных клеток ГМ происходит только в результате специализации НК входящих в состав этого образования. Об этом, в частности, свидетельствует тот факт, что мультипликация генеративных элементов в редиях возможна только в рамках ГМ. НК, входящие в состав ГМ, мы выделяем в особую субпопуляцию малодифференцированных клеток, способных к пролиферации, но имеющих ограниченные потенции к дифференциации.

Все выше описанные процессы наиболее ярко выражены у редий. Однако даже у представителей этой группы ГМ отличаются локализацией и особенностями строения. У одних редий в период активного размножения ГМ сохраняет исходное заднее положение. У других партенит с возрастом ГМ оказывается смещенной вперед.

На основе анализа собственных и литературных данных мы выделили несколько типов организации ГМ редий.

1) Наиболее примитивный тип организации ГМ присущ отдельным представителям семейства Echinostomatidae. Их ГМ весь период функционирования остается «впаянной» в паренхиму заднего конца тела. Она ничем не отделена от окружающих ее мышечных клеток и цитонов тегумента. Учитывая архаичность эхиностоматид (см. Galaktionov, Dobrovolskij, 2003), можно предположить, что подобный тип организации герминального материала имели предковые формы, перешедшие к паразитизму в моллюсках. Другим доказательством этого утверждения является сходство структуры и положения ГМ «погруженного» типа и примитивного гермария некоторых архаичных турбеллярий (Гинецинская, 1968; Dobrovolskij, Ataev, 2003).

Стадию «погруженной» в паренхиму ГМ редии большинства трематод проходят на начальных этапах развития.

2) Для редий ряда Echinostomatidae, Psilostomatidae, Paramphistomatidae и Opisthorchidae характерно обособление ГМ от паренхимы пластинчатыми структурами и перемещение ее в сторону зародышевой полости. При этом ГМ вплотную прилегает к стенке тела. Для такой ГМ характерна гетерополярность в расположении зон пролиферации, созревания и дробления.

3) ГМ редий Notocotylidae имеет четкую гетерополярность. Она располагается в схизоцеле и соединена со стенками пластинчатыми структурами.

4) ГМ редий некоторых Echinostomatidae и Psilostomatidae имеют округлую форму и прикрепляются к стенке тела широким основанием. Они выступают в схизоцель. Генеративные элементы в них ранжированы концентрически.

5) У редий Halipegidae и некоторых Echinostomatidae ГМ свободно располагается в схизоцеле и связана со стенкой тела одной или несколькими ножками, образованными пластинчатыми структурами.

У редий, обладающих ГМ третьего, четвертого и пятого типа, зачаток ГМ, представленный группой НК и ГК, закладывается в толще паренхимы, занимающей заднюю треть тела зародыша. По мере развития редии ГМ обособляется от паренхимы пластинчатыми структурами. Далее, уже после рождения редии, ГМ постепенно выдвигается в схизоцель, сохраняя связь со стенками тела посредством многочисленных пластинчатых структур.

Приведенный выше ряд отражает эволюционную схему преобразований ГМ. Исходно предки партенит обладали гонадой погруженного типа (созревающие и зрелые ГК непосредственно контактировали с паренхимой). Далее в процессе развития ГМ стала обособляться от окружающих ее соматических структур благодаря появлению звездчатых клеток. На этом этапе эволюции мы застаем большинство представителей семейств Echinostomatidae, Psilostomatidae, Paramphistomatidae, Opisthorchidae. Выдвижение ГМ в схизоцель, вероятно, привело к появлению флотирующих ГМ, характерных для дочерних спороцист (отр. Strigeida и многие Plagiorchida). В этом случае полностью утрачивается связь ГМ со стенкой тела, и она переходит к свободному перемещению в зародышевой полости.

Таким образом, редии наиболее полно отражают черты организации предковых форм партенит.

Результаты наших исследований показали, что у партенит ряда семейств трематод, дочерние генерации которых представлены редиями, еще до начала отрождения первых зародышей исчерпывается запас НК в ГМ, соответственно, прекращается формирование ГК и новых эмбрионов. У наиболее изученного нами вида *Echinostoma caproni* раннее завершение размножения характерно как для МС, не имеющих специализированной родильной поры, так и для редий, обладающих таким образованием. При этом к моменту рождения в редии уже содержится до 18 эмбрионов следующего поколения и до 9 ГК. То есть к этому времени реализована уже половина репродуктивного потенциала. Далее интенсивно происходит закладка остальных зародышей и ГМ, как орган размножения перестает функционировать. Она лишь позволяет развиваться последним эмбрионам. Подобная судьба герминального материала отмечается у партенит семейства

Psilostomatidae. Несколько дольше НК в составе ГМ сохраняются у редий специализированного семейства Notocotyliidae, что можно рассматривать как вторичное явление. У большинства дочерних спороцист способность к пролиферации НК, входящих в состав ГМ, сохраняется в течение всей жизни. Сходная картина отмечается и в отношении остальных НК партенит. У редий архаичных семейств (Psilostomatidae и Echinostomatidae) возобновление клеток стенки тела завершается до начала отрождения партенит и церкарий. У многих дочерних спороцист такие клетки сохраняются дольше.

Таким образом, явление завершения размножения партенит до начала отрождения особей следующего поколения характерно для семейств архаичных трематод, причем присуще всем поколениям партенит этих семейств. Все это говорит о первичности явления раннего завершения размножения партенитами трематод. Вероятно, в эволюции трематод к симбиотическим отношениям с моллюсками переходили зрелые черви с развитой половой системой. Для этих организмов была характерна небольшая продолжительность жизни и малая плодовитость.

IV. 1. 2. Формирование инфрапопуляций партенит

Редии/спороцисты формируют инфрапопуляции двух типов: «лимитированного» и «продолженного» (Атаев, 2000). В первом случае количество поколений партенит генетически детерминировано. Характер роста численности такой инфрапопуляции определяется особенностями размножения МС. В случае синхронного развития герминального материала этого поколения количество партенит возрастает одновременно, что часто приводит к гибели моллюска-хозяина. Если же период воспроизводства спороцистой особей следующего поколения растянут во времени, то рост численности будет плавным.

При формировании инфрапопуляции «продолженного типа» число редий/спороцист растет по экспоненциальной кривой, что достигается размножением МС и материнских редий. Далее численность инфрапопуляции выходит на плато, то есть колеблется вокруг среднего уровня, определяемого паразитоемкостью моллюска.

Для раскрытия механизмов регуляции численности партенит в зрелой инфрапопуляции важен ответ на вопрос: возможен ли возврат к формированию редий зрелыми партенитами, продуцирующими церкарий? Нет единого мнения относительно возможности такого переопределения типа формируемых эмбрионов. Результаты трансплантаций партенит в незараженных моллюсков и экспериментов *in vitro* противоречивы. В ряде работ показано, что редии способны переопределять тип формируемых эмбрионов в зависимости от плотности инфрапопуляции и в случае необходимости возвращаться к отрождению партенит (Donges, Gotzelmann, 1975, 1977 и другие). Результаты

трансплантаций зрелых редий (Zischke, 1968; Тихомиров, 1980; Атаев, Добровольский, 1990) и экспериментов *in vitro* (Loker et al., 1999) позволяют утверждать, что в зависимости от плотности инфрапопуляции молодые редии отрождают определенное количество партенит, после чего необратимо переходят к продукции церкарий (Атаев, 2000).

Для получения новых сведений нами было проведено гистологическое изучение ДР нескольких видов. Согласно полученным данным в зрелой инфрапопуляции особи с эмбрионами редий встречаются редко. Как правило, это партениты в начале репродуктивного периода. Тем не менее, нам удалось обнаружить редкие случаи развития редий в партенитах, отрождающих личинок. Однако вопрос о направлении развития конкретного эмбриона решается раньше, так как зрелые редии уже не образуют новых зародышей, а только обеспечивают развитие имеющихся. Таким образом, процесс регулирования численности редий основан на характере закладки эмбрионов в начале развития.

Возможность поддержания численности инфрапопуляции на оптимальном для данной паразито-хозяинной системы уровне позволяет продлить сроки ее существования и обеспечить постоянное поступление инвазионного начала в окружающую среду.

ВЫВОДЫ

1. Генеративные клетки партенит трематод редиоидных видов формируются только в составе герминальной массы. Последняя у партенит материнской и дочерних генераций закладывается в задней части тела. Все случаи нахождения множественных центров мультипликации генеративных клеток связаны с фрагментацией единственной герминальной массы.

2. Формирование ГК в материнских спорцистах *Echinostoma caproni* и редиях семейств Echinostomatidae, Psilostomatidae и Notocotylidae завершается к началу отрождения особей следующего поколения. Соответственно, в дальнейшем герминальная масса только обеспечивает развитие последних эмбрионов.

3. Переход дочерних редий с формирования эмбрионов партенит на отрождение церкарий, как правило, не обратим. Следовательно, регулирование численности инфрапопуляции партенит изученных видов преимущественно связано с интенсивностью отрождения ими эмбрионов партенит в начале репродуктивного периода. Это, однако, не исключает потенциальной возможности развития эмбрионов партенит в редиях, приступивших к отрождению церкарий.

4. Явление аутономии переднего конца тела материнской спорцисты *Echinostoma caproni* связано с процессом отрождения и обусловлено отсутствием у них родильной

поры. Выход зародышей происходит через разрыв тегумента в терминальной части тела спороцист. Это приводит к разрушению покровов, а аутономия предотвращает нарушение постоянства внутренней среды партенит. Вероятно, эти процессы можно рассматривать в качестве первого шага на пути становления модульной организации у МС.

5. Изучение сезонной динамики трематодной инвазии *Bithynia tentaculata* подтвердило многолетнюю стабильность их паразитофауны. Учитывая состав дефинитивных хозяев данных видов трематод (большинство из которых – перелетные птицы), можно предположить, что именно внутримоллюсковые стадии развития партенит обеспечивают стабильность жизненных циклов изучаемых паразитов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Атаев Г. Л., Добровольский А. А., Исакова Н. П. 2005. Формирование инфрапопуляции партенит *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). Паразитология, 39 (3). 221–232 с.
2. Атаев Г. Л., Исакова Н. П., Добровольский А. А. 2006. Развитие материнских спороцист *Echinostoma caproni* (Trematoda: Echinostomatidae). Паразитология 40 (1). 47–56 с.
3. Атаев Г. Л., Исакова Н. П., Добровольский А. А. 2007. Размножение партенит трематод *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). Паразитология 41 (6). 512–527 с.

Другие публикации:

4. Атаев Г. Л., Гвоздев М. А., Исакова Н. П. 2003. Влияние возраста и размеров моллюска на развитие трематодной инвазии. Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ им. А.И. Герцена. Выпуск 3. СПб. 4–11 с.
5. Атаев Г. Л., Исакова Н. П. 2007. Герминальные массы партенит *Echinostoma caproni* (Trematoda: Echinostomatidae). В сборнике: Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ им. А. И. Герцена. Выпуск 7. СПб: ТЕССА. 62–69 с.
6. Аванесян А. В., Исакова Н. П. 2001. Организация и работа амебоцитопродуцирующего органа моллюсков *Biomphalaria glabrata* в условиях трематодной инвазии. Герценовские чтения: Материалы межвуз. конф. молодых ученых. Выпуск 1. СПб. 4–5 с.
7. Исакова Н. П. 2002. Жизненный цикл *Echinostoma caproni* (Trematoda) в лабораторных условиях. Герценовские чтения: Материалы межвуз. конф. молодых ученых 15–19 апреля 2002 г. Выпуск 2. СПб. 39–40 с.

8. Исакова Н. П. 2004. Новые данные о размножении дочерних редий *Echinostoma caproni* (Trematoda). Герценовские чтения: Материалы межвуз. конф. молодых ученых 13–16 апреля 2004 г. Выпуск 4. СПб. 39–40 с.
9. Исакова Н. П. 2005. Новые данные о строении герминальных масс материнских спороцист *Echinostoma caproni* (Trematoda). Герценовские чтения: Материалы межвуз. конф. молодых ученых 19–21 апреля 2005 г. Выпуск 5. СПб. 44–46 с.
10. Исакова Н. П., Хрупина М. А. 2005. Динамика роста моллюсков *Biomphalaria glabrata* в лабораторных условиях. Герценовские чтения: Материалы межвуз. конф. молодых ученых 19–21 апреля 2005 г. Выпуск 5. СПб. 46–47 с.
11. Исакова Н. П., Берлин О. А. 2006. Изучение герминального материала материнских спороцист *Echinostoma caproni* (Trematoda). Герценовские чтения: Материалы межвуз. конф. молодых ученых 11–13 апреля 2006 г. Выпуск 6. СПб. 132–134 с.
12. Исакова Н. П., Котельникова Н. С., Курочкина Е. А. 2006. Зараженность моллюсков *Bithynia tentaculata* партенитами трематод. Герценовские чтения: Материалы межвуз. конф. молодых ученых 11–13 апреля 2006 г. Выпуск 6. СПб. 134–135 с.
13. Атаев Г. Л., Исакова Н. П. 2006. Размножение партенит трематод *Echinostoma caproni*. «Проблемы эволюционной морфологии животных». Тезисы международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения акад. А. В. Иванова. СПб. 14–15 с.

Благодарности

Пользуясь случаем, хочу выразить глубокую благодарность моим учителям и коллегам, за помощь и поддержку. Искренняя признательность заведующему кафедрой зоологии М. А. Гвоздеву, а также всем моим преподавателям с факультета биологии РГПУ им. А. И. Герцена. Отдельная благодарность А. А. Добровольскому за многолетнее внимание к моим исследованиям и помощь в подготовке диссертации.

Настоящая работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 05-04-48520 и гранта правительства Санкт-Петербурга для молодых ученых.