

Паразитологическое Общество Российской Академии Наук

Зоологический институт Российской Академии Наук

ФГУП Атлантический научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии (АтлантНИРО)



**МАТЕРИАЛЫ  
IV ВСЕРОССИЙСКОЙ ШКОЛЫ  
ПО ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ  
И МОРСКОЙ ПАРАЗИТОЛОГИИ**

*Калининград, пос. Лесное  
21-26 мая 2007 г.*

Научный редактор Ч.М. Нигматуллин

Е.В. Дмитриева, Н.В. Пронькина  
Институт биологии южных морей НАНУ,  
г. Севастополь, Украина, evadmitr@optima.com.ua;  
П.И. Герасев, О.Н. Пугачев  
Зоологический институт РАН,  
г. Санкт-Петербург, Россия

## **МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МОНОГЕНЕЙ (MONOGENEA) КАК ИНСТРУМЕНТЫ ПОЗНАНИЯ ИХ ФАУНЫ, БИОЛОГИИ И СИСТЕМАТИКИ**

### **METHODS OF STUDY OF MONOGENEANS (MONOGENEA) AS TOOLS FOR KNOWING OF THEIR FAUNA, BIOLOGY AND SYSTEMATIC**

«Моногенеи - одна из наиболее трудных для сбора и исследования групп паразитов... На начальных этапах изучения группы исследователю обычно кажется все ясным и понятным. Однако поспешность столь же вредна в науке, как и какие-либо иные цели, кроме стремления познать истину» (Гусев 1983, с. 41, 43). Моногенеи широко распространены на жабрах, поверхности тела (реже во внутренней полости) обычно рыб, иногда других водных позвоночных животных. В этих местах достаточно просто увидеть и снять препаровальными иглами крупных (от одного до десятков миллиметров длиной) высших клапанарных (Mazocraeidea), низших с блюдцеобразным диском (Monocotylidea, Capsalidea) или червей с присосками на диске (Polystomatidea). Они фиксируются под покровным стеклом в уплощенном виде для последующей окраски. У червей с клапанами рекомендуется отрезать прикрепительный диск и готовить из него отдельные глицерин-желатиновые препараты. Только при таких условиях возможно корректное определение этих материалов до вида. Несоблюдение этих правил и определение «по хозяину» приводит к образованию так называемых complex species. Например, по нашим данным, к ним относится широко регистрируемый у кефалей вид *Microcotyle mugilis* s.l.

На жабрах и коже рыб обитают многочисленные мелкие (в среднем 500-700 мкм) дактилогиридеи и гиродактилидеи, обнаружение и сбор которых уже представляют определенные трудности. Здесь важно учитывать особенности их биологии, например, гиродактилюсы холодолюбивы и летом малочисленны. Кроме того, эти моногенеи могут насчитывать до десятка видов на одной рыбе. Сбор, изготовление препаратов,

диагностика и описание новых видов у этих моногеней представляют значительные трудности для начинающих исследователей.

А, В, Гусев (1983) рекомендовал изготавливать из низших, мелких моногеней препараты с использованием глицерин-желатина или пикрата аммония. При глицерин-желатиновой методике необходимо сильно давить на покровное стекло, расплющивая червей «в дым», но иногда при этом ломаются и прикрепительные образования. При подведении пикрата аммония под покровное стекло это давление осуществляет атмосферный столб, и эти препараты более качественные, но как правило, недолговечны. Для получения наилучшего результата мы рекомендуем полностью высушивать каплю воды, в которой находятся черви. Причем, если это морской паразит, его лучше поместить в каплю пресной воды. После высыхания черви уплощаются до столь тонкого слоя, которого при давлении на них не удастся достичь никогда, и при этом сохраняют свою целостность. Использование для изготовления препаратов винилового спирта, жидкости Берлезе и т.д. со временем приводит к полной утрате материала, с чем мы, к сожалению, неоднократно сталкивались у представителей средиземноморских школ по изучению моногеней.

Для исследования биологии живородящих гиродактилид принципиально важным является подсчет на препаратах в теле этих червей числа эмбрионов. А для анализа жизненного цикла имеет значение определение наличия или отсутствия у них цирруса, увидеть который не так-то просто на плохих препаратах. Одним из основных диагностических признаков гиродатилид является форма краевого крючка (в среднем его тело равно 5-7 мкм), приступать к зарисовке которого без качественных препаратов бессмысленно. Все краевые крючья одной особи гиродактилид *a-priori* имеют одинаковую форму и формируются из одного пула онхобластов. Но на препаратах, изготовленных из целых, плохо раздавленных червей, только несколько краевых крючьев могут быть пригодными для изучения. Изучение краевых крючьев гиродактилюсов, лежащих в ракурсе, привело к: 1) описанию фенотипической изменчивости, при которой не целый организм обладает одним фенотипом, а каждый краевой крючок характеризуется отдельным феном, и как следствие - к 2) синонимизации нескольких видов. Укажем, что все 16, одинаковых краевых крючьев гиродактилюсов наиболее качественно просматриваются на препарате, изготовленном из прикрепительного диска, отрезанного у живого червя. Необходимо также учитывать доказанную многочисленными исследованиями (например: Dmitrieva, Dimitrov, 2002) их внутривидовую изменчивость. Для того, чтобы избежать ошибок в видовой идентификации мелких дактилогирид и гиродактилид необходимо иметь хорошо раздавленных червей, использовать увеличение не менее 1500x и фазово-контрастное устройство или оптику Номарского.

Для правильного описания таксономических признаков низших моногеней, хитиновых структур прикрепительного диска и половой системы необходимо правильно представлять их функционирование. Так например, описание морфологии прикрепительных структур представителей рода *Ligophorus*, без учета особенностей их функций, приводит к: 1) использованию новых, неоправданных терминов для обозначения отростков срединных крючьев; 2) описанию в качестве двух морф вен-тральной пластинки ее вида с брюшной и спинной сторон тела; 3) описанию различной формы и размеров краевых крючьев у разных видов, которые, однако, как личи-ночный признак не растут у взрослых червей, не имеют адаптивного значения и по-этому *a-priori* имеют одинаковую форму у всех представителей рода.

Недопустимым является применение для диагностики видов этого рода пред-ставлений о жестком, неподвижном соединении поддерживающей части копулятив-ного органа с его трубкой, что противоречит его функциональной морфологии (Llewel-lyn, Anderson, 1984). В результате, в качестве видового признака предлагается ис-

пользовать степень выдвинутости и закрученности трубки копулятивного органа по отношению к его поддерживающей части, т.е. по сути своей степень его эрекции. Совершенно очевидно, что без копуляции дистальный конец трубки копулятивного органа всегда находится внутри тела и не выдвигается через его поддерживающую часть. Все эти артефактные отношения копулятивного органа и его поддерживающей части являются следствием давления исследователем на покровное стекло и не более того. С одной стороны, сильное давление на копулятивный орган меняет естественное взаимоотношение его частей, а с другой, «недодавленность» препаратов приводит к такому расположению срединных крючьев, когда острие крючка направлено от или к наблюдателю, т.е. крючок находится в ракурсе. И тогда при описании видов рода *Ligophorus* вариабельность угла между острием и стрежнем срединного крючка может составлять у *L. mediterraneus* разницу в 12 градусов ( $79^\circ$  [ $72-84^\circ$ ]), у *L. cephalis*  $21^\circ$  ( $87,1^\circ \pm 5,5$  [ $74-95^\circ$ ]), а у *L. chabaudi* и того больше -  $26^\circ$  ( $89^\circ \pm 8,9$  [ $76-102^\circ$ ]). Данные вариации ранее никогда и никем не были отмечены для срединных крючьев ни дактилогиридей, ни гиродактилидей. Наоборот, этот угол постоянен и является видовой характеристикой.

Проблемами диагностики и систематики дактилогиридей является разнородность промеров, применяемых при их описании различными авторами. Анализ признаков, описывающих структуры прикрепительного диска и полового комплекса представителей рода *Ligophorus*, показал, что некоторые из них являются высоко скоррелированными. Методами многомерной статистики были проанализированы все признаки с точки зрения их стабильности и вклада в дифференциацию видов.

В развитие идей А.В. Гусева о корректном описании дактилогиридей и использовании промеров, отражающих собственно функциональную морфологию их срединных крючьев, была предложена новая схема их промеров (Dmitrieva et al., 2007). Принципиально новым в ней является функциональный подход к обоснованию промеров крючка, деление крючка на функционально различные проксимальную и дистальную части, использование точки вращения крючка (при вонзании или вынимании крючка из ткани хозяина), как точки отсчета для большинства промеров этой структуры. Данный подход к анализу функциональной морфологии срединных крючьев был обоснован О.Н. Пугачевым (1988). Кроме того, предлагаемая схема состоит из 9 промеров, составляющих треугольники, тем самым задавая не только линейные размеры и пропорции крючка, но и углы наклона всех его частей. Совокупность этих 9 промеров задает единственно возможную пространственную конфигурацию крючка. Последнее очень важно при использовании методов многомерной статистики таких, как канонический дискриминантный анализ, метод главных компонент, множественная регрессия или кластерный анализ.

В последнее время, в связи с широкой компьютеризацией методы многомерной статистики широко используются в паразитологических исследованиях. Они позволяют не только корректно разделять виды, но и объективно и в одном масштабе оценивать степень их морфологической дивергенции (Dmitrieva, Dimitrov, 2002). Но, во-первых, они корректны только при достаточно большом количестве промеренных особей, во-вторых, выбор самих методов должен определяться конкретными задачами исследования. Например, дискриминантный анализ, при котором минимизируются внутривидовые и максимизируются межвидовые различия не корректно применять для дифференцировки видов. Напротив, он анализирует степень сходства различных видов, т.е. является методом классификации, кластеризации, группировки т.д. Для того, чтобы показать, что исследуемые виды достоверно различаются, применяется метод главных компонент.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 06-04-48236.

### Список литературы

1. Гусев, А.В. Методика сбора и обработки материалов по моногенам, паразитирующим у рыб / А.В. Гусев. - Л.: Наука, 1983. - 47 с.
2. Пугачев, О.Н. О принципах морфофункционального анализа срединных крючьев низших моногеней / О.Н. Пугачев // Труды ЗИН АН СССР. - 1988. - Т. 177. - С. 49-59.
3. Dmitrieva E.V., Dimitrov G. Variability in the taxonomic characters of Black Sea gyrodactylids // Systematic Parasitology. - 2002. - V 51. - P. 199-206.
4. Dmitrieva E.V., Gerasev P.I., Pron'kina N.V. *Ligophorus llewellyni* n. sp. (Monogenea: Ancyrocephalidae) from the redlip mullet *Liza haematocheilus* (Timminck & Schlegel) introduced into the Black Sea from the Far East // Systematic Parasitology. - 2007. - V. 67 (1). (in press).
5. Llewellyn J., Anderson M. The fractional morphology of the copulatory apparatus of *Ergenstrema labrosi* and *Ligophorus angustus*, monogeneans gill parasites of *Chelon labrosus* // Parasitology. - 1984. - V. 88. - P. 1-7.