

УДК 576.895.425

© 1994

**ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ЛИЧИНОЧНО-ПРОТОНИМФАЛЬНОЙ ЛИНЬКИ
У КРАСНОТЕЛКОВОГО КЛЕЩА
HIRSUTIELLA ZACHVATKINI (ACARIFORMES: TROMBICULIDAE)**

А. Б. Шатров

Впервые приводится подробное электронно-микроскопическое описание последовательных этапов личиночного процесса у напитавшихся личинок *Hirsutiella zachvatkini* при их трансформации в первую нимфальную стадию покоящейся регрессированной протонимфы. Показано, что в отличие от большинства других членистоногих, гиподерма личинок разрушается, а гиподерма протонимфы строится заново из островков зачатковых клеток. Поэтому аполизис имеет нетипичное выражение. Формирование кутикулы протонимфы также имеет свои особенности, но в целом происходит стандартно — у вершин микроворсинок (plaques) апикальной поверхности гиподермальных клеток. Гиподермальный пласт протонимфы характеризуется бедностью специализированными органеллами. Поскольку экдизиса у покоящихся стадий краснотелок нет, завершением линьки можно считать формирование кутикулы протонимфы в составе основных ее компонентов. Весь процесс линьки от обездвиживания личинок занимает около 4 сут. Обсуждаются электронно-микроскопические особенности и эволюционное значение личиночно-протонимфальной линьки у краснотелковых клещей.

Представители субкогорты Parasitengonae (подотряд Actinedida), к которой принадлежат краснотелковые клещи (сем. Trombiculidae), отличаются сложным развитием с чередованием активных и покоящихся регрессированных стадий (Johnston, Wacker, 1967). В ходе их онтогенеза линьки являются основным формообразующим процессом и, как и у других членистоногих, маркируют переход от одного онтогенетического состояния к другому. Гетероморфные паразитические личинки этих клещей после однократного продолжительного питания на животном-прокормителе сильно увеличиваются в объеме и до достижения взрослой фазы испытывают ряд последовательных превращений, проходя через нимфальную фазу развития с двумя покоящимися стадиями — прото- и тритонимфы.

До недавнего времени считалось, однако, что краснотелки и представители других семейств субкогорты Parasitengonae в своем развитии не претерпевают линек при переходе от активных к покоящимся стадиям жизненного цикла (Böttger, 1977) и что следующая активная стадия вылупляется непосредственно из оболочки предшествующей. Полагали также, что в процессе трансформации покоящихся стадий, которые рассматривали в качестве куколок (Jones, 1954), у них развивается особая временная (provisional) кутикула.

Исследования онтогенеза краснотелковых клещей с использованием электронно-микроскопических методов, а также наблюдения в культуре показали, что их покоящиеся стадии, в частности прото- и тритонимфа, являются индивидуальными перелинявшими организмами, а следовательно, и обособленными стадиями развития (Шатров, 1991).

Линочные процессы у краснотелковых клещей, как и у других Parasitengonae, на электронно-микроскопическом уровне ранее не были исследованы. Это касается как их активных, так и покоящихся стадий. В связи с этим целью настоящей работы явилось электронно-микроскопическое изучение последовательных этапов линьки у напитавшихся личинок *Hirsutiella zachvatkini* (Schluger, 1948) при их трансформации в первую нимфальную стадию — покоящуюся протонимфу.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исходным материалом послужили напитавшиеся личинки *H. zachvatkini*, собранные с рыжих полевков в Псковской обл. осенью 1990 г. Наблюдения над живыми клещами показывают, что через 2—5 сут после отпадения с хозяина личинки обездвиживаются, что обозначает начало линочных преобразований. Процесс линьки не имеет выраженного завершения, т. е. экдисиса или вылупления покоящейся протонимфальной стадии, а подсохшая линочная шкурка (личиночная кутикула) сходит внешне почти незаметно, что вводило в заблуждение предшествующих авторов. Наоборот, дейтонимфа активно вылупляется из протонимфальной оболочки после следующего линочного цикла.

Для электронно-микроскопического исследования линяющих личинок фиксировали целиком только что обездвиженных личинок, а также личинок, обездвиженных в течение 12, 16 ч, 1—4 сут. Методы фиксации и дальнейшей обработки объектов изложены в предыдущих публикациях (Шатров, 1992). Ультратонкие срезы изучали в электронном микроскопе Tesla BS-500 при ускоряющем напряжении 60—90 кВ и первичных увеличениях от 3 до 50 тыс. Контрольные полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим и просматривали в световом микроскопе. В целях исследования внешнего строения линяющих клещей проводили их спиртовую фиксацию через промежутки времени в 1 сут с момента обездвиживания личинок. Затем после проводки через спирты возрастающей концентрации и ацетон клещей высушивали методом перехода критической точки на установке Hitachi HCP-2 с использованием жидкой углекислоты в качестве рабочего агента, напыляли платиной в вакуумной установке Eiko-5 и исследовали в растровом электронном микроскопе Hitachi S-570 при напряжении 20 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Процесс личиночно-протонимфальной линьки у краснотелок имеет весьма постепенный характер, причем может варьировать по длительности у разных особей. Основными его этапами могут являться: быстрое разрушение личиночной гиподермы (12 ч), длительное формирование гиподермы протонимфы (2—3 сут) и формирование ее кутикулы (1—2 сут). Однако для удобства изложения и восприятия мы будем отталкиваться от временных интервалов, заключающих последовательные морфологические состояния линяющих организмов.

0—12 ч о б е з д в и ж и в а н и я. В эти сроки состояние покровов напитавшихся личинок одинаково.

Кутикула на срезах преимущественно ровная, иногда со слегка волнистой поверхностью (рис. 1, 1; см. вкл.), что указывает на сохраняющуюся от голодных особей гребневидность эпикутикулы, которая хорошо заметна при изучении внешней структуры покровов в растровом электронном микроскопе (рис. 1, 4). Общая толщина кутикулы варьирует от 0.88 до 2.15 мкм и в среднем составляет 1.53 мкм. Прокутикула не подразделена на экзо-

и эндокутикулы, слабослоистая, с отчетливыми хитинопротеиновыми фибриллами лишь в верхней ее части (рис. 1, 2). Базальные области прокутикулы — более электронноплотные. Четырехслойная эпикутикула имеет развитую светлую протеиновую или внутреннюю эпикутикулу. Поровые каналы в прокутикуле широкие, неправильной формы, не содержат выростов гиподермальных клеток и заполнены светлым слабоструктурированным веществом (рис. 1, 2). Собственно поры в эпикутикуле имеют чашевидную форму и дно, изолирующее полость канала от внешней среды. В дальнейшем подобная организация кутикулы личинки не изменяется. В изученный период линьки она лишь немного уплотняется и растягивается в результате давления экзувиальной жидкости.

Гиподерма чрезвычайно варьирует по ширине от 0.61 до 9.44 мкм на поперечных срезах и состоит из одного, реже двух рядов неупорядоченно расположенных клеток. Гиподермальные клетки обнаруживают деструктивные преобразования различной степени интенсивности. Так, часть клеток содержит пикноморфные ядра и расширенные светлые профили цистерн-гранулярного эндоплазматического ретикулума, нередко ориентированные параллельными рядами или кольцами или же, наоборот, фрагментирующиеся (рис. 1, 1). В таких клетках наблюдаются также крупные, очевидно, аутофагические и более мелкие светлые вакуоли, подходящие к апикальной плазматической мембране и сливающиеся с ней. Кроме того, всегда выявляется то или иное количество округлых электронноплотных включений диаметром 0.31—0.74 мкм (рис. 1, 3), по-видимому, липопротеидной природы (Mothes-Wagner, Seitz, 1984).

Другая часть клеток демонстрирует изменения иного рода. Разбухшие ядра, претерпевающие, вероятно, кариолиз, лежат в электронно-прозрачной плазме сильно увеличенных в объеме клеток с фрагментирующимися элементами цитоплазмы, а также немногочисленными митохондриями и электронноплотными включениями. Иногда между описанными состояниями клеток можно выявить подобие переходных форм (рис. 1, 3). Субкутикулярное пространство не выражено.

Гиподерма вплотную граничит со средней кишкой или другими тканями либо подостлана гемоцитами, которые также могут обнаруживать явления деструкции. Некоторые гемоциты встраиваются в гиподермальный пласт, приходя в соприкосновение с кутикулой.

16 ч—1 сут без движения. В этот период от интегумента личинки остается только кутикула, под которой наблюдается хорошо выраженная экзувиальная полость (рис. 2, 1; см. вкл.). Туловищные мышцы отсоединяются от кутикулы, а мышечные клетки уходят в глубь тела, приобретая характер миобластических элементов. В передней области туловища клещей до уровня мозга происходит разрушение большинства тканей личинки, поэтому покровы здесь представляют собой кутикулярный чехол, содержащий экзувиальную жидкость с массой гемоцитов.

Покровы будущей протонимфы представлены тонким нецельным эпителиальным пластом, состоящим из сильно вытянутых часто неправильной конфигурации гиподермальных клеток (рис. 2, 1). Их высота колеблется от 0.60 до 4.29 мкм. В отдельных участках покровов, например в вентральной стенке тела или в формирующихся конечностях протонимфы, гиподерма обнаруживает двурядность или столбчатость. В тех же участках покровов, где гиподермальных клеток протонимфы нет, полость тела объединяется с экзувиальной полостью, а соседние гиподермальные клетки, истончаясь, как бы движутся навстречу друг другу (рис. 2, 2).

Апикальная и в меньшей степени вентральная поверхности гиподермальных клеток, как правило, чрезвычайно неровные и образуют длинные изгибающиеся выросты, однако явлений экзо- или эндоцитоза не обнару-

жено (рис. 2, 4). Ядра имеют овальную, вытянутую или несколько угловатую форму и мелкие глыбки хроматина, равномерно распределенные в нуклеоплазме и у ядерной оболочки. Размеры ядер составляют в среднем 3.20×2.03 мкм. Крупные ядрышки расположены преимущественно эксцентрично. Иногда в составе эпителия можно обнаружить локальные зоны со значительно более мелкими тесно расположенными клетками и ядрами, в которых крупные массы гетерохроматина локализируются у оболочки (рис. 2, 3). Эти зоны, по-видимому, можно рассматривать как зачатковые, откуда происходит распространение гиподермальных клеток протонимфы. Деления клеток выявлены не были. В местах покровов со сформированным эпителием между соседними клетками наблюдаются короткие септированные десмосомы.

В гиподермальных клетках высоко содержание свободных рибосом и полисом. В клетках также имеются одиночные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, реже объединяющиеся в рыхловатые стопки, особенно в окооядерной зоне. Мелкие, относительно немногочисленные митохондрии расположены неупорядоченно (рис. 2, 4). Комплексы Гольджи встречаются крайне редко и не обладают выраженной специализацией (рис. 2, 5). В гиподермальных клетках наблюдаются, кроме того, разновеликие округлые электронноплотные включения, не связанные с деятельностью комплексов Гольджи. Диаметр некоторых из них может превышать высоту клеток (рис. 3, 1; см. вкл.). Эти включения расположены как в базальной, так и в апикальной зонах клеток, однако, наружу не выводятся.

Для этого периода линьки характерно большое количество гемоцитов около формирующейся гиподермы протонимфы по всему периметру покровов. Два типа гемоцитов, различающиеся по характеру гранул, нередко достигают гигантских размеров и одинаково представлены в личиночном процессе. Они находятся как под гиподермой в полости тела, так и в экзувиальной полости (рис. 2, 1; 3, 1). Если в полости тела представлены нативные клетки или даже молодые их формы с формирующимися гранулами из пузырьков комплексов Гольджи, то в экзувиальной полости гемоциты часто вплотную подходят к личиночной кутикуле и обнаруживают явления деградации с высвобождением гранул.

При внешнем изучении линяющих особей личиночный процесс через 1—2 сут после обездвиживания личинок не обнаруживается, а личинки в целом ничем не отличаются от обычных напивавшихся (рис. 3, 2).

2—3 сут обездвиживания. В эти сроки линьки организация покровов формирующихся протонимф близка к вышеописанной. Гиподермальный пласт более цельный. Нередко наблюдаются митозы гиподермальных клеток как в стенке тела, так и в конечностях, формирующихся вентрально.

Апикальная и базальная поверхности гиподермальных клеток становятся менее изрезанными (рис. 3, 1, 3). В клетках чаще встречаются мелкие комплексы Гольджи. У особей на 3-и сутки обездвиживания некоторые из электронноплотных включений формируются из конденсирующих вакуолей комплексов Гольджи (рис. 3, 4). Между клетками, помимо септированных десмосом, можно выявить плотные контакты (tight junction). Гиподерма лежит на тонкой светлой рыхловатой базальной мембране.

В этот период в экзувиальной полости наблюдается большое количество разрушенных и разрушающихся гемоцитов, высвобождающих свои гранулы в экзувиальное пространство. Разрушающиеся гемоциты можно видеть также и в полости тела под гиподермой, где часто находятся гигантские вытянутые клетки, особенно в латеральных областях тела между кишкой и гиподермой (рис. 3, 1).

4 сут обездвиживания. К этому времени состояние покровов линяющих особей значительно меняется. Прежде всего наблюдается развитая в той или иной степени у разных особей новая кутикула, что однозначно определяет данный организм как протонимфальную стадию развития. Вместе с тем личиночная кутикула, толщиной 1.37—1.59 мкм, отделенная от интегумента протонимфы обширной экзувиальной полостью с разрушающимися гемоцитами, сохраняет свою целостность и заметно не истончается в сравнении с более ранними сроками линьки. Она становится значительно тоньше и начинает отсоединяться от покровов протонимфы только на 8—9-е сутки с момента обездвиживания личинок или еще позже (рис. 4, 3; см. вкл.), когда протонимфа претерпевает уже следующий личиночный цикл. Отсутствие выраженного экдизиса у покоящихся стадий краснотелок затрудняет точную идентификацию личиночных процессов, а также самих этих стадий при внешних наблюдениях. Поэтому в данном случае при электронно-микроскопическом исследовании завершением личиночно-протонимфальной линьки можно считать формирование кутикулы протонимфы в составе основных ее компонентов.

Покровы протонимфы в этот период складчатые. Кутикула имеет разную толщину у разных особей — от 0.13 до 0.92 мкм, поскольку находится в стадии формирования (рис. 3, 5; 4, 1). Она следует складкам гиподермы, однако сама по себе ровная. Исследование покровов в растровом электронном микроскопе, помимо складок, выявляет мелкие бугорки на поверхности тела протонимфы (рис. 4, 4), что, однако, не отражает какой-либо специфики внутренней организации интегумента.

Прокутикула светлая, гомогенная, слабослоистая, без отчетливых хитино-протеиновых фибрилл. Она пронизана многочисленными узкими, сложной конфигурации поровыми каналами с однородным тонкогранулярным веществом (рис. 4, 2), которые достигают эпикутикулы либо открываются на поверхность (рис. 4, 4), что отличает кутикулу протонимфы от таковой личинок, поровые каналы которой несквозные. Эпикутикула слегка волнистая и включает цементный, восковой и кутикулиновый слои (рис. 4, 2). Протеиновая эпикутикула дифференцируется с трудом либо не выявляется. Толщина эпикутикулы не превышает 0.03—0.05 мкм.

Гиподермальное пласт, как правило, многорядный и состоит из тесно расположенных клеток неправильной формы, претерпевающих митозы. Ширина гиподермы колеблется от 3.43 до 7.73 мкм. Ядра имеют округлую или неправильную форму и расположены без видимой ориентации. Их размеры составляют в среднем 2.79×1.95 мкм и оказываются несколько меньшими, чем у особей на 16 ч—1-е сутки обездвиживания, очевидно, вследствие деления клеток. В клетках выявляется большое количество рибосом и полисом, однако плотность их меньше, чем у особей на предыдущем сроке линьки. Если некоторые клетки лишены развитого гранулярного эндоплазматического ретикулума, то в других клетках, напротив, наблюдаются длинные одиночные цистерны либо стопки цистерн иногда с расширенными профилями (рис. 4, 1, 2). Комплексы Гольджи выявляются крайне редко. Некрупные, овальные митохондрии собраны обычно в группы, часто расположенные у апикальной поверхности клеток. Электронноплотные включения имеются далеко не во всех клетках, могут достигать очень больших размеров и тяготеют к базальным областям гиподермального пласта (рис. 4, 1). Апикальная поверхность гиподермальных клеток несет невысокие микроворсинки с уплотнением под апикальной мембраной (plaques), формируя, таким образом, зону отложения (deposition zone) нижних слоев прокутикулы (рис. 3, 5; 4, 2). Никаких специальных гранул или пузырьков в апикальной зоне клеток нет.

Гемоциты в составе гиподермы в этот период линьки уже не встре-

чаются, а их активность в районе покровов низка, что может свидетельствовать о завершении в целом линочного процесса. Таким образом, процесс личиночно-протонимфальной линьки у краснотелковых клещей *H. zachvatkini* занимает около 4 сут, и к этому времени формируется индивидуальный организм первой покоящейся нимфальной стадии — протонимфы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Рассмотренный процесс личиночно-протонимфальной линьки у краснотелок обнаруживает крайне редкое для членистоногих явление разрушения гиподермы одной стадии и формирование заново гиподермы последующей стадии из островков зачатковых клеток.

Это явление на первый взгляд трудно объяснить. Однако у некоторых насекомых таких, как высшие мухи, *Cyclorhapha* (Whitten, 1968), при метаморфозе личиночная гиподерма также разрушается и заменяется на гиподерму взрослой фазы из островков имагинальных клеток в личиночной гиподерме (Snodgrass, 1963). Это происходит, очевидно, вследствие того, что специализированная гиподерма личинок не может осуществлять функции гиподермы взрослого организма по формированию собственной кутикулы, ее дериватов и т. д. Вероятно, то же самое происходит и у краснотелок. Каждая из последовательных стадий жизненного цикла у них различается по характеру покровов, в частности по строению кутикулы, что вынужденно диктует необходимость обновления гиподермы в целях осуществления новых функций. Следовательно, у краснотелковых клещей в покровной ткани при каждой из линек происходят своего рода метаморфические изменения, тогда как большинство внутренних органов существенно не трансформируются. Если у насекомых для осуществления полного метаморфоза необходимы две линьки, то у краснотелок все изменения совершаются в процессе одной линьки. Глубина линочных преобразований организма краснотелок в ходе их онтогенеза на данном этапе эволюции обусловлена степенью редукции покоящихся стадий — предличинки, прото- и тритонимфы. Чем больше их отличие от активных стадий, тем, по-видимому, глубже личинные трансформации. Можно полагать, что в исторический период до возникновения покоящихся стадий в жизненном цикле краснотелок, замена гиподермы в процессе линьки у них не имела места. Таким образом, редукция части функций у определенных стадий развития краснотелковых клещей и превращение их в покоящиеся повлекла за собой вместе с тем усложнение линочного процесса, возможно, с его одновременным удлинением. Формирование гиподермального пласта заново у каждой из стадий несомненно обусловило наблюдаемое значительное удлинение периода *pharate*, что особенно существенно для активных стадий этих клещей с их дифференцированными покровами. Некоторое подобие метаморфических изменений в покровах краснотелок определяется не изменением специализации у разных стадий их жизненного цикла, как у голометаболических насекомых, а, наоборот, редукцией отдельных стадий в их онтогенезе с изменением (ослаблением или усилением) функциональной нагрузки покровов. Возможное эволюционное исчезновение покоящихся стадий из их жизненного цикла, несомненно вызовет соответствующие изменения и в характере линьки.

В связи с этим тезис Вайнштейна (1978) о том, что именно редукция ряда стадий в ходе онтогенеза *Parasitengonae* вызывает их метаморфоз, с известным допущением верен в отношении их покровной ткани, но остается абсолютно неверным в отношении внутренних органов, а также общих принципов их индивидуального развития.

При обычной линьке у акароидного клеща *Caloglyphus boharti* проис-

ходит значительная дедифференциация тканей в конечностях (Woodring, 1969), от которых остаются пустые кутикулярные оболочки, а новые конечности вырастают от гиподермальных почек, расположенных в коксах. Значительные разрушения тканей наблюдаются в передней области тела, а также в ногах при линьках иксодовых клещей (Балашов, 1967). Это свидетельствует о сходных механизмах линочных процессов всей этой ветви паукообразных, а также о потенциальной способности большей или меньшей части гиподермы претерпевать дедифференциацию и разрушение. Как и в случае краснотелок, у *C. boharti* сразу вслед за обездвиживанием происходит аполизис, а гемоциты выселяются в экзувиальную полость (Woodring, 1969). Причем линька у акарид из одного дифференцированного состояния организма (тритонимфа) в другое (имаго) при одинаковой их специализации завершается очень быстро и занимает чуть более суток. Длительность линек у краснотелок особенно при переходе от покоящихся регрессированных стадий к активным, высокоспециализированным целиком обуславливается дифференциацией их онтогенеза.

Чрезвычайно существенно, что классический аполизис при линьке у краснотелок не происходит вследствие разрушения гиподермальных клеток напитавшихся обездвиженных личинок, лишенных микроворсинок на апикальной поверхности и не секретирующих экдизиальных капель в субкутикулярное пространство, что обычно предшествует аполизису у насекомых (Locke, Krishnan, 1973; Locke, Huie, 1979) и иксодовых клещей (Атлас . . ., 1979). Гиподермальные клетки претерпевают в целом типичную деструкцию (некроз) и не имеют поэтому функционирующего синтетического аппарата.

При разрушении гиподермы легко объяснимо массовое выселение гемоцитов в экзувиальную полость. Однако гемоциты способны встраиваться в гиподерму и перемещаться через неповрежденный гиподермальный пласт, как это показано в отношении акариодного клеща *Caloglyphus berlesei*, у которого деградация гиподермы не происходит (Kanungo, 1969). И в том, и в другом случаях поведение и роль гемоцитов при линьке в экзувиальной полости, очевидно, сходны — фагоцитоз различных фрагментов клеток и высвобождение ферментов — хитиназ и протеаз (Jones, 1954) в целях разрушения старой кутикулы.

У краснотелок первоначальная роль гемоцитов, по-видимому, связана с формированием самой экзувиальной полости. Проникая сквозь гиподерму к кутикуле, гемоциты далее оттесняют ее от гиподермальных клеток, нарушая нативную структуру покровной ткани и способствуя разрушению эпителиального пласта. Этот процесс наиболее интенсивно протекает в области гнатосомы и конечностей, где, как и у *C. berlesei*, происходит полное разрушение мышечных клеток и других тканей (Kanungo, 1971), а обездвиживание близко соотносится с отделением кутикулы, т. е. процессом, физиологически эквивалентным аполизису других членистоногих.

В линьке краснотелок нет необходимости выделять отдельные периоды такие, как предлинька, собственно линька и постлинька, как это показано в отношении *Hydrozetes* sp. (Hydrozetidae) (Baker, 1985), поскольку все линочные процессы происходят постепенно, а само обездвиживание уже свидетельствует об их начале. По длительности периоды линек краснотелок и орибатид, составляющие около 4 сут, близко соотносятся друг с другом.

Поскольку до настоящего времени единого взгляда на объем и продолжительность процесса линьки у членистоногих, в том числе клещей, нет (Snodgrass, 1963; Wigglesworth, 1973; Hinton, 1976; Zacharuk, 1976; Locke, 1981, 1985; Sehna, 1985), мы будем понимать под линькой весь процесс, связанный с замещением кутикулярного покрова при переходе от одного последовательного онтогенетического состояния организма к другому. По-

этому в общих чертах линька начинается с обездвиживания какой-либо стадии развития и завершается формированием кутикулы последующей стадии в составе основных ее компонентов вне зависимости от того, сохраняется ли еще кутикула предшествующей стадии или нет. Ввиду этого собственно вылупление новой стадии или экдизис нельзя рассматривать в качестве эквивалента линьки (Hinton, 1958, 1971, 1973, 1976; Snodgrass, 1960, 1963; Jenkin, Hinton, 1966). Это особенно важно при рассмотрении личиных процессов у Parasitengonae, у которых экдизис у покоящихся стадий отсутствует.

После относительно длительного периода формирования гиподермального пласта протонимфы у *H. zachvatkini* происходит быстрое отложение кутикулы, которое также имеет свои особенности.

Эпикутикула, по-видимому, полностью формируется в самый начальный период отложения протонимфальной кутикулы, механизм которого пока неясен. Единовременность появления эпикутикулы отличает красотелок от большинства других членистоногих (Mothes-Wagner, 1984; Hepburn, 1985, и др.), у которых липидный или же восковой, слой откладывается позднее кутикулинового, а самый наружный — цементный образуется позднее липидного, часто уже после экдизиса (Nackman, 1982). При линьке *Tetranychus urticae* (Tetranychidae) и восковой, и цементный слои откладываются после экдизиса (Mothes-Wagner, 1984), который автор отождествляет с линькой. При этом процессы, связанные с обновлением кутикулы, как и у *Hydrozetes* sp., подразделяются на три фазы: pre-ecdysis, ecdysis и post-ecdysis.

Наличие липидного слоя в эпикутикуле членистоногих связывают с водонепроницаемостью кутикулы и пассивным транспортом воды через нее в условиях воздушной среды (Hepburn, 1985; Sehnal, 1985). Обнаружение воскового слоя в эпикутикуле протонимф красотелок с самого начала ее формирования, а также отсутствие пиноцитозных пузырьков в апикальной зоне гиподермальных клеток, по-видимому, исключают активное всасывание ими экзувиальной жидкости. Последняя в большей своей массе скорее всего просто испаряется через образовавшиеся разрывы личинной оболочки уже в значительно более поздний период после линьки. У других членистоногих с дифференцированными активными стадиями развития процессы резорбции старой кутикулы и всасывания экзувиальной жидкости гиподермальными клетками непосредственно предшествуют активному вылуплению новой стадии.

Как показывают электронно-микроскопические исследования, прокутикула красотелковых клещей имеет различную организацию у разных стадий их онтогенеза. Так, в противоположность фибриллярной прокутикуле голодных личинок и гетерогенной прокутикуле дейтонимф, и взрослых клещей (Шатров, 1992) у протонимф прокутикула однородная, слабослоистая. В отличие от иксодид (Атлас ..., 1979; Nackman, 1982) и ряда других членистоногих, апикальная поверхность гиподермальных клеток протонимф красотелок не образует выростов, вследствие чего формирование поровых каналов, вероятно, обусловлено особыми физическими свойствами самой формирующейся прокутикулы. Последняя, как и у большинства исследованных членистоногих (Locke, 1966, 1976, 1981; Filshie, 1970, 1976, 1982), образуется над мембранными пятнами (plaques) невысоких и редких микроворсинок апикальной поверхности гиподермальных клеток. Однако отсутствие у них активно работающих комплексов Гольджи, что обычно сопутствует формированию как эпи-, так и прокутикулы (Locke, 1969, 1976), указывает на нетипичность этого процесса у покоящихся стадий красотелок и редукцию ряда функций у их гиподермальных клеток.

Таким образом, личиночно-протонимфальная линька у красотелковых

клещей по ряду принципиальных особенностей стоит особняком и выделяет их из прочих исследованных в этом отношении паукообразных. Можно полагать, однако, что личинные процессы у других представителей Parasitengonae, имеющих покоящиеся стадии в жизненном цикле, будут обладать сходным характером.

Список литературы

- А т л а с электронно-микроскопической анатомии иксодовых клещей. Ред. Ю. С. Балашов. Л.: Наука, 1979. 256 с.
- Б а л а ш о в Ю. С. Кровососущие клещи (Ixodoidea) — переносчики болезней человека и животных. Л.: Наука, 1967. 317 с.
- В а й н ш т е й н Б. А. Система, эволюция и филогения тромбидиформных клещей. Определитель обитающих в почве клещей. Trombidiformes. М.: Наука, 1978. С. 228—244.
- Ш а т р о в А. Б. Некоторые проблемы онтогенеза тромбидиформных клещей (Acariformes : Actinedida) // Паразитология. 1991. Т. 25, вып. 5. С. 377—387.
- Ш а т р о в А. Б. Ультраструктура гиподермы и мягкой кутикулы взрослых фаз краснотелковых клещей // Цитология. 1992. Т. 34, № 6. С. 21—29.
- В а к е р Г. Т. Feeding, moulting, and the internal anatomy of *Hydrozetes* sp. (Oribatida : Hydrozetidae) // Zool. Jb. Anat. 1985. Bd 113, hf. 1/2. S. 77—83.
- В ö t t g e r К. The general life cycle of fresh water mites (Hydrachnellae, Acari) // Acarologia. 1977. Т. 18, fasc. 3. P. 496—502.
- Filshie B. K. The fine structure and deposition of the larval cuticle of the sheep blowfly (*Lucilia cuprina*) // Tissue and Cell. 1970. Vol. 2, N 3. P. 479—498.
- Filshie B. K. The structure and deposition of the epicuticle of the adult female cattle tick (*Boophilus microplus*) // The insect integument. Ed. H. R. Hepburn. Amsterdam: Elsevier, 1976. P. 193—206.
- Filshie B. K. Fine structure of the cuticle of insects and other Arthropods // Insect Ultrastructure. Eds. R. C. King, H. Akai. N. Y., L.: Plenum Press, 1982. Vol. 1. P. 281—312.
- Н а к м а н R. H. Structure and function in tick cuticle // Ann. Rev. Entomol. 1982. Vol. 27. P. 75—95.
- Н е п б у р н H. R. Structure of the integument // Comp. Insect physiol. biochem. pharmacol. Eds. G. A. Kerkut, L. I. Gilbert. L.: Pergamon Press, 1985. Vol. 3. P. 1—58.
- Hinton H. E. Concealed phases in the metamorphosis of insects // Sci. Progr. (Lond.). 1958. Vol. 46, N 182. P. 260—275.
- Hinton H. E. Some neglected phases in metamorphosis // Proc. R. Ent. Soc. Lond. (C). 1971. Vol. 35. P. 55—64.
- Hinton H. E. Neglected phases in metamorphosis: a reply to V. B. Wigglesworth // J. Ent. (A). 1973. P. 1. P. 57—68.
- Hinton H. E. Notes on neglected phases in metamorphosis, and a reply to J. M. Whitten // Ann. Ent. Soc. Amer. 1976. Vol. 69, N 3. P. 560—566.
- Jenkin P., Hinton H. E. Apolysis in arthropod moulting cycle // Nature, Lond. 1966. Vol. 211, N 5051. P. 871.
- Johnston D. E., Wacker R. R. Observations on postembryonic development in *Eutrombicula splendens* (Acari — Acariformes) // J. Med. Ent. 1967. Vol. 4, N 3. P. 306—310.
- Jones B. M. On the role of the integument in acarine development and its bearing on pupation // Quart. Journ. Microsc. Sci. 1954. Vol. 95, p. 2. P. 169—181.
- Kanungo K. Acarine moulting — the migration of hemocytes through the epidermis of *Caloglyphus berlesei* // Ann. Ent. Soc. Amer. 1969. Vol. 62, N 1. P. 155—157.
- Kanungo K. Histology of nymphal muscles during molting of an acarid mite *Caloglyphus berlesei* // Ann. Ent. Soc. Amer. 1971. Vol. 64, N 1. P. 195—202.
- Locke M. The structure and formation of the cuticulin layer in the epicuticle of an insect, *Calpodes ethlius* // J. Morph. 1966. Vol. 118, N 4. P. 461—494.
- Locke M. The structure of an epidermal cell during the development of the protein epicuticle and the uptake of molting fluid in an insect // J. Morph. 1969. Vol. 127, N 1. P. 7—40.
- Locke M. The role of plasma membrane plaques and Golgi complex vesicles in cuticle deposition during the moult-intermoult cycle // The Insect Integument. Ed. H. R. Hepburn. Amsterdam: Elsevier, 1976. P. 237—258.
- Locke M. Cell structure during insect metamorphosis // Metamorphosis. A problem in developmental biology. Eds. L. I. Gilbert, E. Frieden. N. Y., L.: Plenum Press, 1981. P. 75—103.
- Locke M. A structural analysis of post-embryonic development // Comp. Insect physiol. biochem. pharmacol. Eds. G. A. Kerkut, L. I. Gilbert. L.: Pergamon Press, 1985. Vol. 2. P. 87—149.
- Locke M., Huie P. Apolysis and the turnover of plasma membrane plaques during cuticle formation in an insect // Tissue and Cell. 1979. Vol. 11, N 2. P. 277—291.

- Locke M., Krishnan N. The formation of the ecdysial membrane in an insect // *Tissue and Cell*. 1973. Vol. 5, N 3. P. 441—450.
- Mothes-Wagner U. Fine structure of the cuticle and structural changes occurring during moulting in the mite *Tetranychus urticae*. II. Moulting process (Chelicerata, Acarina) // *Zoomorphology*. 1984. Vol. 104, N 1. P. 105—110.
- Mothes-Wagner U., Seitz K. A. Fine structure of the cuticle and structural changes occurring during moulting in the mite *Tetranychus urticae*. I. Fine structure of the cuticle // *Acarologia*. 1984. T. 25, fasc. 3. P. 253—258.
- Sehnal F. Growth and life cycles // *Comp. Insect physiol. biochem. pharmacol.* Eds. G. A. Kerkut, L. I. Gilbert. L.: Pergamon Press, 1985. Vol. 2. P. 2—86.
- Snodgrass R. E. Some words and their ways in entomology // *Proc. Ent. Soc. Wash.* 1960. Vol. 62, N 4. P. 265—270.
- Snodgrass R. E. A contribution toward an encyclopedia of insect anatomy // *Smithson. Misc. Coll.* 1963. Vol. 146, N 2. P. 1—48.
- Whitten J. Metamorphic changes in insects // *Metamorphosis. A problem in developmental biology*. Eds. W. Etkin, L. I. Gilbert. Amsterdam: North-Holland, 1968. P. 43—105.
- Wigglesworth V. B. The significance of «apolysis» in the moulting of insects // *J. Ent. (A)*. 1973. Vol. 47, p. 2. P. 141—149.
- Woodring J. P. Preliminary observations on moulting and limb regeneration in the mite *Caloglyphus boharti* // *J. Insect Physiol.* 1969. Vol. 15, N 10. P. 1719—1728.
- Zacharuk R. Y. Structural changes of the cuticle associated with moulting // *The Insect Integument*. Ed. H. R. Hepburn. Amsterdam: Elsevier, 1976. P. 299—321.

ЗИН РАН, Санкт-Петербург

Поступила 22.04.1993

ELECTRON-MICROSCOPICAL INVESTIGATION OF LARVAL-PROTONYMPHAL
MOULTING IN TROMBICULID MITE *HIRSUTIELLA ZACHVATKINI* (ACARIFORMES:
TROMBICULIDAE)

A. B. Shatrov

Key words: Trombiculidae, moulting, larva, protonymph, cuticle, hypodermis

SUMMARY

For the first time the detailed electron microscopical investigations of sequential steps of larval-protonymphal moulting of trombiculid mite *Hirsutiella zachvatkini* are carefully considered. In contrast with most other arthropods the hypodermis of larvae is destroyed by necrosis during the initial steps of moulting process (12h), and so the hypodermis of quiescent regressive protonymph is built up anew from small locuses of prospective hypodermal cells. That is why, the apolysis has the atypical form. The deposition of homogeneous procuticle take place at the outer surface of apical plasma membrane plaques of short microvillus-like projections of protonymphal hypodermal cells. The epicuticle, which is composed of cement, wax and cuticulin layers, is formed quickly during the short period at the beginning of deposition of new cuticle. The newly formed hypodermis of protonymph is characterized by mitosis of its cells, which usually have no any specialized organelles, so as Golgy complexes and specific granules in apical cytoplasm. Since the ecdysis of quiescent protonymph does not occur, the end of moulting process may be marked by deposition of new cuticle in all of its components (epi- and procuticle). This process is continued up to 4 days. The old larval cuticle is retained much more than this time, and is lost quite imperceptibly in external observations. Electron microscopical peculiarities and evolutionary meaning of such type of larval-protonymphal moulting in trombiculid mites are also discussed.

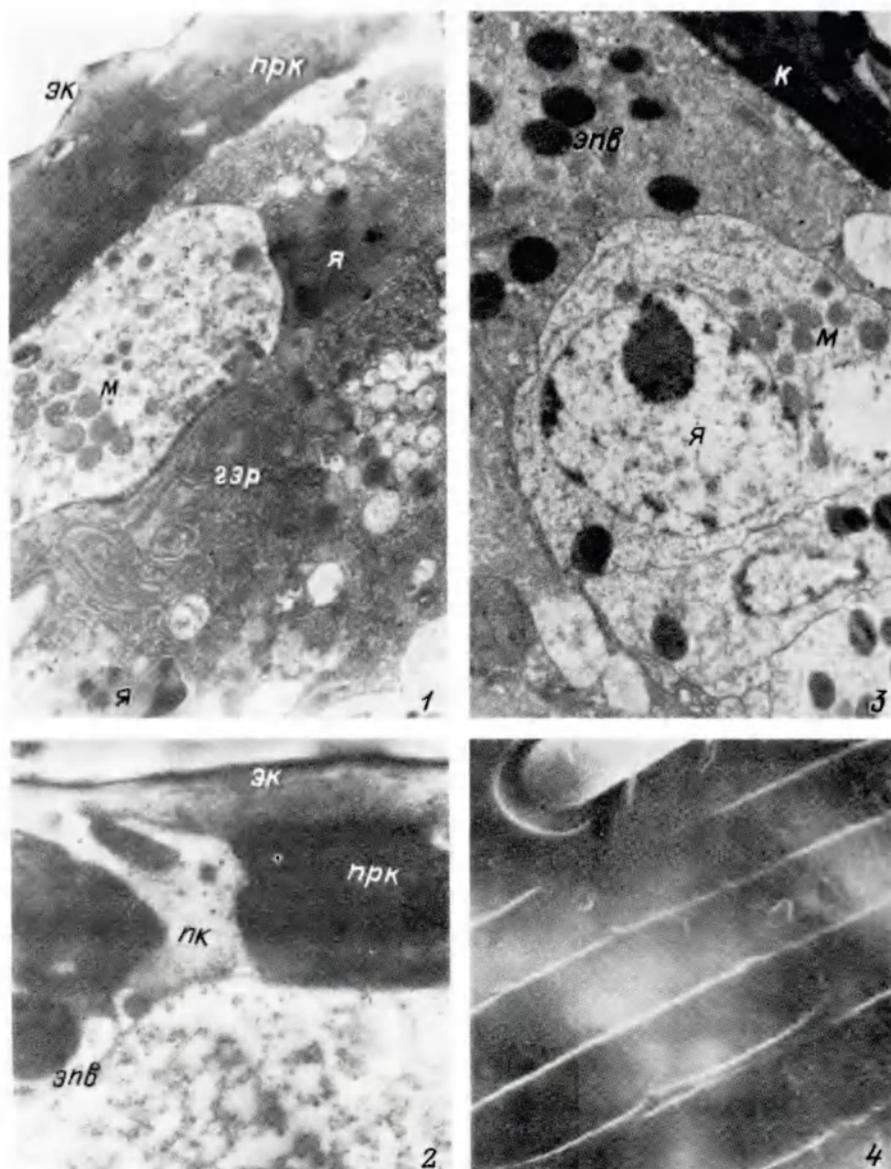


Рис. 1. Электронно-микроскопическая организация покровов краснетелковых клещей *Hirsutiella zachvatkini* в процессе личиночно-протонимфальной линьки: 1—3 — только что обездвиженные личинки, просвечивающий электронный микроскоп; 4 — 1—2 сут после обездвиживания личинок, растровый электронный микроскоп.

1 — участок покровов вентральной стенки тела между коксами с сохраняющейся гребневидностью поверхностью кутикулы и деградирующими гиподермальными клетками, $\times 5000$; 2 — поровый канал в кутикуле личинки и апикальная зона гиподермальной клетки, претерпевающей цитоллиз, $\times 16\ 000$; 3 — деградирующие гиподермальные клетки личинки в вентральной стенке тела рядом с экскреторной порой, $\times 5000$; 4 — участок поверхности кутикулы дорсальной стенки тела обездвиженной личинки, $\times 5000$. Указано первичное увеличение на негативах. гэр — гранулярный эндоплазматический ретикулум; к — кутикула; м — митохондрии; ПК — поровый канал; прк — прокутикула; эк — эпиктикула; эпв — электронноплотные включения; я — ядро.

Fig. 1. Fine structure of the integument of trombiculid mite *Hirsutiella zachvatkini* during larval-protonymphal moulting: 1—3 — 0 hour quiescent larvae, transmission electron microscope (TEM); 4 — 1—2 days quiescent larva, scanning electron microscope (SEM).

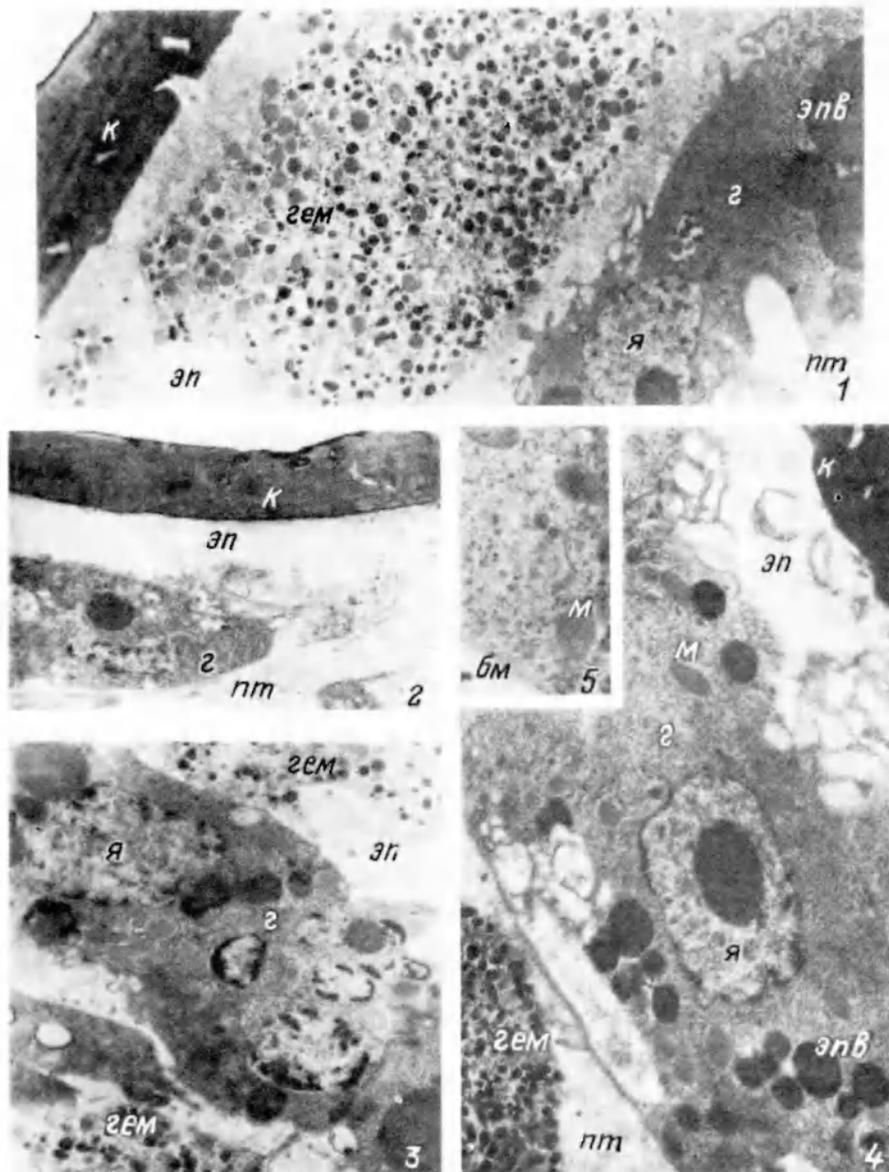


Рис. 2. Электронно-микроскопическая организация покровов краснотелковых клещей *Hirsutiella zachvatkini* в процессе личиночно-протонимфальной линьки: 16 ч после обездвиживания личинок, просвечивающий электронный микроскоп.

1 — кутикула личинки, экзувиальная полость с гемоцитом и формирующаяся гиподерма протонимфы в вентральной области тела, $\times 4000$; 2 — участок перфорированной гиподермы протонимфы и кутикула личинки дорсально, $\times 5000$; 3 — зачатковые клетки гиподермы протонимфы в вентролатеральной области тела, $\times 4000$; 4 — гиподермальная клетка протонимфы дорсально в передней части тела, $\times 5000$; 5 — комплекс Гольджи в срединной зоне гиподермальной клетки протонимфы в латеральной области тела, $\times 12\ 000$. Указано первичное увеличение на негативах. бм — базальная мембрана; г — гиподерма протонимфы; гем — гемоцит; к — кутикула личинки; нт — полость тела; эп — экзувиальная полость. Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. Fine structure of the integument of trombiculid mite *Hirsutiella zachvatkini* during larval-protonymphal moulting: 16 h quiescent larvae, TEM.

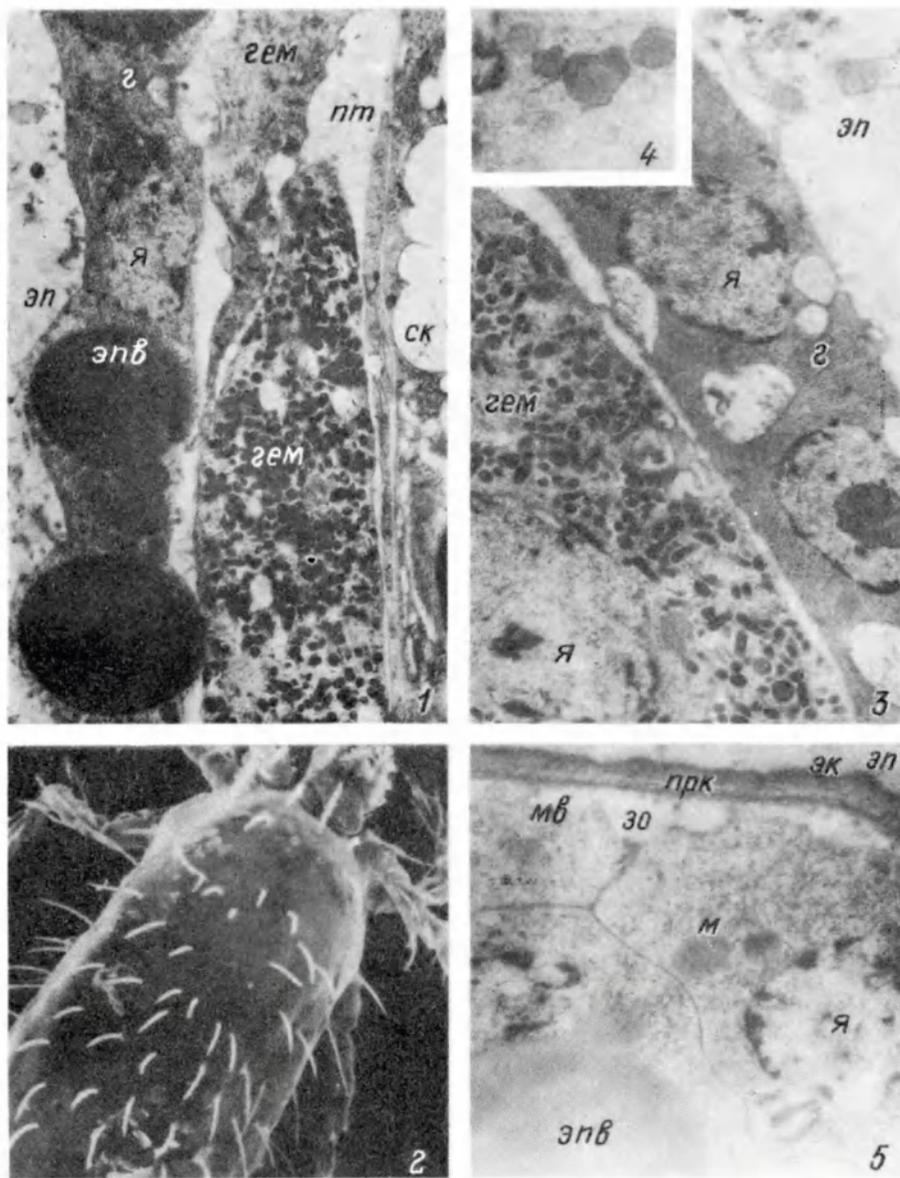


Рис. 3. Электронно-микроскопическая организация покровов краснотелковых клещей *Hirsutiella zachvatkini* в процессе личиночно-протонимфальной линьки в более поздние сроки после обездвиживания личинок: 1, 3—5 — просвечивающий электронный микроскоп; 2 — растровый электронный микроскоп.

1 — 2 сут после обездвиживания; гиподерма протонимфы и гемоциты в полости тела на границе с кишкой латерально, $\times 4000$; 2 — общий вид обездвиженной личинки сверху через 1—2 сут после обездвиживания, $\times 170$; 3 — 3 сут после обездвиживания; гиподерма протонимфы и участок гемоцита в полости тела латерально, $\times 7000$; 4 — 3 сут после обездвиживания, комплекс Гольджи в надядерной зоне гиподермальной клетки протонимфы вентролатерально в передней части тела, $\times 12\,000$; 5 — 4 сут после обездвиживания; апикальная зона гиподермы и формирующаяся кутикула протонимфы вентролатерально в задней части тела, $\times 12\,000$. Указано первичное увеличение на негативах. зо — зона отложения; мв — микроворсинки; ск — средняя кишка.
Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 3. Fine structure of the integument of trombiculid mite *Hirsutiella zachvatkini* during larval-protonymphal moulting; more late periods of moulting process; 1, 3—5 — TEM, 2 — SEM.

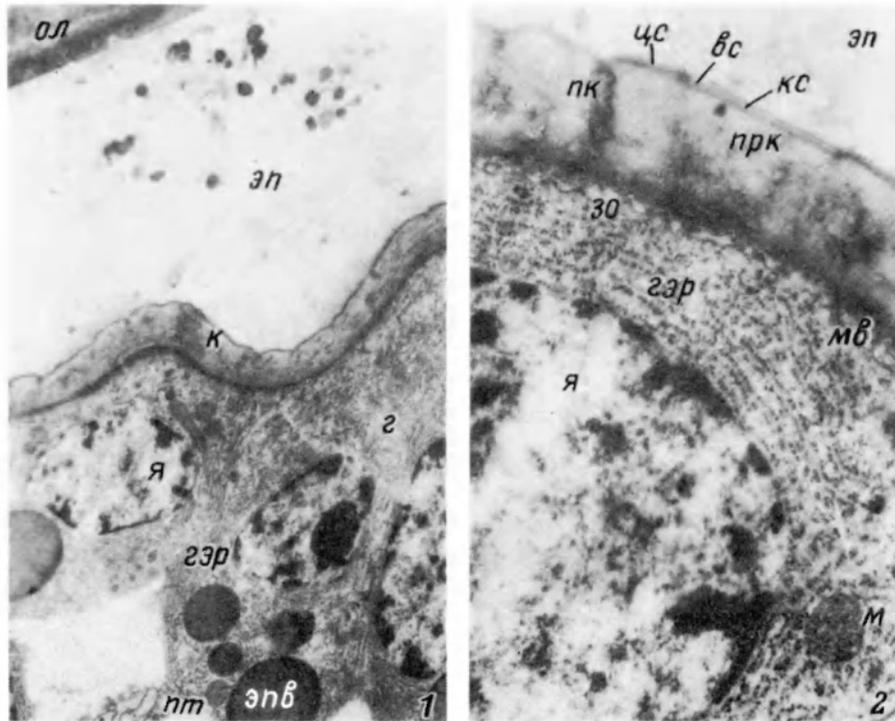


Рис. 4. Электронно-микроскопическая организация покровов краснотелковых клещей *Hirsutiella zachvatkini* в процессе личиночно-протонимфальной линьки: 1—2 — 4 сут после обездвиживания личинок, просвечивающий электронный микроскоп; 3—4 — 11—12 сут после обездвиживания личинок, растровый электронный микроскоп.

1 — складчатые покровы протонимфы со сформированной кутикулой вентролатерально, экзувальная полость с разрушенными гемоцитами и оболочка личинки, $\times 5000$; 2 — отложение прокутикулы у вершин микроворсинок апикальной поверхности гиподермальных клеток протонимфы латерально, $\times 22\,000$; 3 — общий вид протонимфы сбоку с остатками оболочки личинки, $\times 170$; 4 — участок поверхности кутикулы протонимфы с бугорком и терминальными отверстиями поровых каналов, $\times 7000$. Указано первичное увеличение на негативах. ол — оболочка личинки; к — кутикула протонимфы; цс — цементный слой; вс — восковой слой; кс — кутикулиновый слой эпикутикулы.
Остальные обозначения такие же, как на рис. 1—3.

Fig. 4. Fine structure of the integument of trombiculid mite *Hirsutiella zachvatkini* during larval-protonymphal moulting: 1—2 — 4 days quiescent larvae, TEM; 3—4 — 11—12 days quiescent larvae, SEM.



Рис. 4 (продолжение).