

УДК 591.12

### АНАЛИЗ ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЫХОДА ОРТОНЕКТИД ИЗ ИХ ХОЗЯЕВ

© Г. С. Слюсарев, А. С. Черкасов

Половые особи ортонектид не способны самостоятельно проходить через ткани хозяина для выхода из него, как это описывалось ранее. Выход самцов и самок может осуществляться по крайней мере двумя путями. Первый способ эмиссии заключается в том, что у некоторых видов ортонектид плазмодий образует узкие лопасти, которые прорастают через ткани хозяина к периферии и тем самым образуют каналы, по которым половые особи движутся из центральной части плазмодия к поверхности, используя при этом ресничный способ локомоции. У других видов ортонектид может иметь место замещение плазмодием практически всех тканей хозяина, и выход самцов и самок ортонектид в данном случае происходит за счет разрывов стенок тела хозяина. Тонкие механизмы выхода ортонектид из хозяина требуют детального и подробного изучения.

Ортонектиды — одна из самых загадочных групп паразитических беспозвоночных. С момента их первоописания (Giard, 1878) прошло уже более 120 лет, но наши знания о них остаются явно недостаточными. Подтверждением этому служит тот факт, что число оригинальных работ, посвященных им, не превышает нескольких десятков. В то же время ортонектиды представляют особый интерес как группа, помещаемая большинством зоологов в основание древа многоклеточных, что отражено практически во всех современных сводках и учебниках по зоологии беспозвоночных (Margulis, Schwartz, 1998; Westheide, Rieger, 1996).

Все известные виды ортонектид паразитируют в морских беспозвоночных животных. Круг их хозяев включает в себя турбеллярий (s. l.), немертин, полихет, брюхоногих и двустворчатых моллюсков, иглокожих и асцидий. Жизненный цикл ортонектид в настоящее время представляется достаточно простым: в хозяине паразитирует плазмодий, природа которого во многом остается неясной; внутри плазмодия развиваются половые особи — самцы и самки. Существуют виды ортонектид, плазмодии которых продуцируют одновременно оба пола, и виды, в плазмодиях которых развиваются только самцы или только самки. Половозрелые особи паразитов покидают плазмодий и выходят из хозяина. Во внешней среде они не способны питаться. Вскоре после выхода самки и самцы копулируют, после чего последние погибают. Внутри самок развиваются ресничные личинки. Созрев, личинки выходят из материнского организма и заражают нового хозяина.

Филогенетические связи ортонектид с другими таксонами беспозвоночных пока не установлены. Вопрос степени родства ортонектид и дициемид, а также правомерность объединения их в единый тип Mesozoa по-прежнему открыт для обсуждения.

Сведения о морфологии и биологии ортонектид, их взаимоотношениях с хозяином и природе плазмодия, а также знания об особенностях развития особей полового поколения весьма фрагментарны и зачастую сводятся к различного рода гипотезам и спекуляциям. В ряду перечисленных выше проблем стоит вопрос о механизме выхода

половозрелых ортонектид из плазмодия и соответственно из хозяина. В сводках, посвященных ортонектидам, их выход описывается как прорыв самцами и самками стенки плазмодия в толще тканей хозяина и самостоятельное продвижение к покровам последнего с последующим выходом во внешнюю среду (Caullery, 1961). Значительно чаще этот момент обходят стороной, ограничиваясь малоинформативной фразой — «созревшие самцы и самки покидают своего хозяина» (Margulis, Schwartz, 1998). Данная работа посвящена анализу возможных механизмов выхода половозрелых стадий ортонектид из их хозяев.

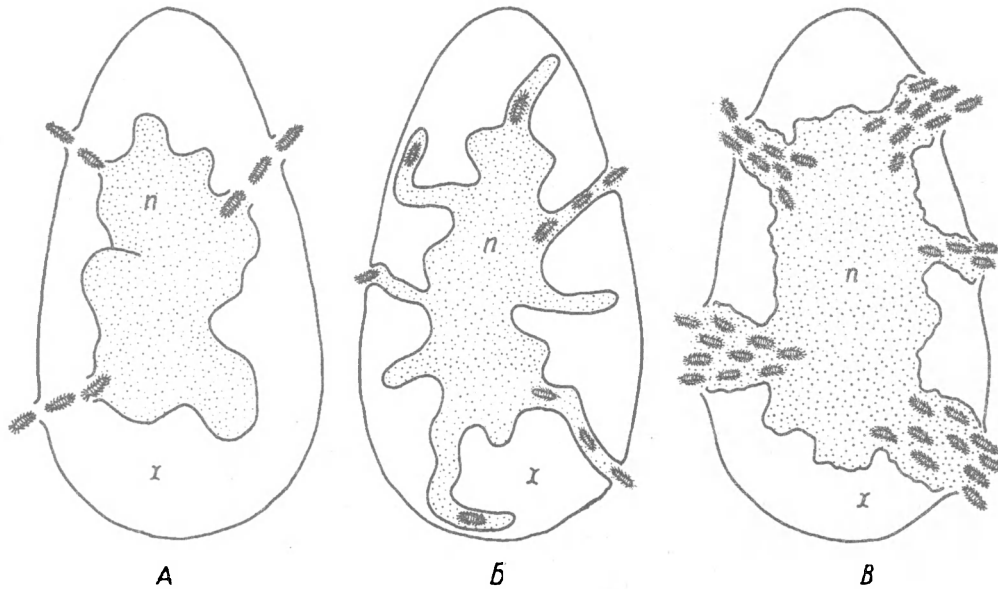
#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основным материалом для данной работы послужили наши прижизненные наблюдения над выходом ортонектид из их хозяев. Наблюдения проводились с 1989 по 2000 г. на Белом, Баренцевом и Северном морях. Исследовались четыре вида ортонектид: *Intoshia variabilis*, паразитирующая в турбеллярии *Macrorhynchus crocea*; *Rhopalura littoralis* из *Onoba aculeus* (Gastropoda); *Intoshia linei* — паразит немертины *Lineus ruber*; *Rhopalura philinae* из заднежаберного брюхоногого моллюска *Philine scabra*. В ходе сбора материала моллюски (*Onoba aculeus* и *Philine scabra*) и немертины собирались среди камней в средней литорали на глубине 0—1 м, а турбеллярии выбирались из смыва с зеленых нитчатых водорослей из зоны нижней литорали. Далее отбирались зараженные особи хозяев, которые по 3—4 штуки содержались в чашках Петри с морской водой, где и проводились наблюдения над выходом самцов и самок ортонектид. Часть зараженных немертин (предварительно разделенных на кусочки по 3—5 мм) и турбеллярий была зафиксирована после появления в воде первых вышедших половых особей до начала массовой эмиссии для дальнейшего изучения на срезах. Черви фиксировались в 4.2%-ном глутаральдегиде на 0.1М фосфатном буфере с 200 мОсм сахарозы. Далее проводилось осмирование 1%-ным OsO<sub>4</sub> на том же буфере. Заливка объектов осуществлялась в смолу Ероп 812 по стандартной методике. В качестве контрастера использовался цитрат свинца. Полутонкие срезы и срезы для трансмиссионного электронного микроскопа были получены на ультратоме АО Reichert Ultracut. Тонкие срезы просматривались с помощью микроскопа Jem 100, а полутонкие — на световом микроскопе Jenaval.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературных данных и наших собственных наблюдений позволяет предположить три возможных варианта эмиссии половозрелых особей ортонектид из своих хозяев. Все эти варианты отображены на рисунке.

Вариант 1. Зрелые и готовые к выходу самцы и самки ортонектид прорывают стенку плазмодия и самостоятельно перемещаются через ткани хозяина к его поверхности, нарушают целостность покровов и выходят во внешнюю среду (см. рисунок, А). В литературе, посвященной ортонектидам, рассматривается именно этот вариант. Такой механизм выхода ортонектид из хозяина представляется нам самым маловероятным и вряд ли имеющим место в природе. Причины, позволяющие утверждать это, заключаются в следующем. Направленные миграции многоклеточных паразитических беспозвоночных на разных стадиях их жизненного цикла через ткани хозяев известны и достаточно хорошо изучены (мирацидий трематод, онкосфера цестод, личинки 1-го или 2-го возраста нематод и т. д.). Причем в данном случае направление миграции в теле хозяина принципиального значения, по нашему мнению, не имеет. Во всех вышеперечисленных случаях передвижение паразита осуществляется только за счет мышечной локомоции или пассивно с током жидкости по сосудистым системам хозяина. В тех же случаях, когда паразит покрыт ресничками



Возможные механизмы выхода половозрелых стадий ортонектид и тела хозяина.

*A* — самостоятельное прохождение через ткани хозяина; *B* — выход по плазмодиальным выростам; *B* — эмиссия в результате разрывов стенок тела хозяина; *x* — хозяин; *n* — плазмодий.

Possible mechanisms of emission of adult orthonectids from the host body.

(мирацидий, онкосфера), перед началом продвижения ресничные локомоторные клетки обязательно сбрасываются. Очевидно, что ресничная локомоция многоклеточных паразитов в плотной среде, которую представляют собой ткани хозяина, невозможна.

Зрелые, находящиеся внутри плазмодия самцы и самки ортонектид всегда покрыты ресничками, работу которых можно наблюдать. Вначале у заканчивающих свое развитие особей биение ресничек осуществляется хаотично, однако позднее они начинают работать согласованно, но это видно только в пределах плазмодия. Незрелые самцы и самки характеризуются отсутствием сформированных ресничек, что и является определяющим их признаком (Slyusarev, Miller, 1998). Половые особи ортонектид, покидающие тело хозяина, всегда покрыты ресничками и никогда не обнаруживались нами на электронограммах самостоятельно перемещающимися в толще тканей. Таким образом, на наш взгляд, рассматриваемый механизм не может быть реализован именно в силу того, что ресничная локомоция в плотных тканях невозможна, а зрелые ортонектиды всегда покрыты ресничками.

**В а р и а н т 2.** Ортонектиды перемещаются не непосредственно через ткани, а по специальным выростам плазмодия, которые прорастают к покровам хозяина и контактируют с внешней средой (см. рисунок, *B*). В этом случае по мере созревания первых половых особей плазмодий начинает формировать пальцеобразные выросты, направленные к поверхности тела хозяина. Прободая ткани хозяина, выросты достигают покровного эпителия и тем самым служат своеобразными трубопроводами, по которым осуществляется перемещение самцов и самок и их выход во внешнюю среду.

Именно такой вариант мы наблюдали у *Intoshia linei*, паразитирующей в немертихах. При этом было установлено, что активные зрелые самцы и самки перемещаются по плазмодиальным выростам за счет работы ресничного аппарата. Следует, однако, отметить, что это перемещение осуществляется не плавно и равномерно, а рывками:

паразиты, согласованно работая ресничками, передвигаются по каналу на незначительное расстояние, а затем останавливаются на некоторое время, после чего движение снова возобновляется. Продолжительность этих остановок колеблется от 10—20 мин до нескольких часов. У неподвижных особей работа ресничного аппарата приостанавливается. При возобновлении движения его направленность не меняется. По предварительным данным, структура цитоплазмы плазмодиальных выростов отличается от таковой в основной части плазмодия. В выростах отсутствуют небольшие округлые митохондрии с плотным матриксом и трудноразличимыми кристами, липидные гранулы и мелкие везикулярные тельца, обычные для центральной части плазмодия. Каналы-трубопроводы у этого вида расходятся от основной массы плазмодия по направлениям, перпендикулярным к поверхности тела хозяина. Часть выростов, достигнув покровов, прободает их и открывается наружу. Другие же поворачивают в покровах и продвигаются на некоторое расстояние параллельно поверхности. В результате этого, когда плазмодий достигает терминальной стадии развития, поверхность тела немертины приобретает структуру, напоминающую древесину, изъеденную личинками жуков-короедов. Аналогичную картину у этого же вида наблюдали французские исследователи (Haloti, Vernet, 1994).

Такой же способ освобождения половых особей из хозяина используется и видом *Intoshia variabili* с той лишь разницей, что плазмодиальные выросты плазмодия в этом случае значительно короче, чем у *Intoshia linei*, и всегда направлены почти перпендикулярно к поверхности тела хозяина.

В процессе реализации описываемого варианта выход самцов и самок осуществляется постепенно, т. е. вначале число вышедших особей в единицу времени невелико, но постепенно оно начинает возрастать и, в конце концов, достигает своего пика, после чего интенсивность выхода резко сокращается и через непродолжительное время наступает гибель хозяина. Наиболее ярко это выражено у *I. linei*, где от момента начала эмиссии единичных половозрелых особей до гибели хозяина в результате массового выхода проходит от 6 до 9 дней. У *I. variabili* эмиссия самцов и самок не имеет ярко выраженного пика и растянута до 10—13 дней.

**В а р и а н т 3.** Выход подавляющего большинства половых стадий ортонектид из хозяина осуществляется практически одновременно на терминальной стадии развития плазмодия, когда оно замещает практически все внутренние органы хозяина и вызывает множественные разрывы покровов, через которые и осуществляется освобождение половозрелых особей (см. рисунок, В).

В случае реализации этого механизма развитие большинства самцов и самок должно протекать достаточно синхронно. В момент выхода основной массы самцов и самок или чуть ранее наступает гибель хозяина, что может облегчать этот процесс.

Такой вариант выхода наблюдался нами у *Rhopalura philinae*, паразитирующей в моллюске *Philine scabra*. Примерно за 24 ч до массового выхода можно наблюдать незначительное количество отдельных самцов и самок, уже покинувших моллюска. Далее следовал массовый выброс половозрелых особей из хозяина, который занимал 3—4 ч. В этот же период зараженный хозяин погибал. Первоописание и исследование данного вида ортонектид осуществил Ланг (Lang, 1954), и, хотя он подробно не описывает процесса выхода, из его текста следует, что зараженные моллюски с момента начала выхода ортонектид живут весьма ограниченный срок. Наши предварительные наблюдения над ортонектидой *Rhopalura littoralis*, паразитирующей в брюхоногом моллюске *Onoba aculeus*, позволяют предположить, что у этого вида, возможно, имеет место сходный вариант выхода половозрелых особей.

Вышеописанный механизм эмиссии самцов и самок реализуется с высокой степенью вероятности у видов ортонектид, хозяева которых обладают особенностями организации, которые по каким-либо причинам могут затруднить процесс выхода (раковина моллюсков, скелет иглокожих).

Также необходимо отметить, что мы совершенно не исключаем возможности существования механизмов выхода, сочетающих в себе черты 2-го и 3-го вариантов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в литературе существуют два различных взгляда на природу плазмодия ортонектид.

Первая точка зрения предложена Мечниковым (Metchnikoff, 1881) и поддержана позднее Коллери и Лавалем (Caullery, Lavalley, 1912), а также Слюсаревым и Миллером (Slyusarev, Miller, 1998). Их мнение заключается в том, что плазмодий ортонектид является независимым синцитиальным организмом внутри хозяина.

Вторая точка зрения была высказана американским исследователем Козловым (Kozloff, 1994), изучавшим плазмодии ортонектиды *Rhopalura ophiocomaе*, паразитирующей в офиуре *Amphiura squamata*. Он утверждает, что плазмодий представляет собой модифицированные клетки тканей хозяина, и только развивающиеся внутри эмбриональные клетки, по его мнению, являются собственно паразитическими агентами.

Мы придерживаемся первой точки зрения и находим ее наиболее обоснованной, а поскольку до сих пор все исследователи не пришли к единому мнению по данному вопросу, считаем необходимым привести дополнительные доводы в ее пользу. До сих пор в качестве доказательства той или иной природы плазмодия использовались исключительно морфологические данные: наличие или отсутствие вегетативных ядер в цитоплазме последнего, а также присутствие видоизмененных клеток хозяина, окружающих плазмодий (Kozloff, 1994; Slyusarev, Miller, 1998). На сегодняшний день, анализируя вышеописанные механизмы выхода половозрелых самцов и самок ортонектид из тела хозяина, мы можем сказать, что плазмодий обладает потенциальной способностью к направленному росту и способностью формировать определенные структуры. В случае образования плазмодиальных выростов хорошо видно, что этот процесс, без сомнения, скоординирован во времени и пространстве. Каналы-трубопроводы плазмодия ориентированы в тканях хозяина перпендикулярно поверхности, и рост их во времени связан с процессом созревания половых особей. Когда большинство самцов и самок ортонектид приобретают способность перемещаться за счет работы своего ресничного аппарата, система плазмодиальных выростов уже практически сформирована. Образование плазмодиальных выростов является элементом развития целостной интегрированной системы, которую представляет собой плазмодий ортонектид. Именно способность плазмодия к морфогенетическим перестройкам такого рода, на наш взгляд, представляет собой важное доказательство паразитарной природы последнего. Структура, обладающая перечисленными чертами, скорее, обнаруживает в себе свойства целого организма, а не совокупности модифицированных клеток хозяина.

Исследования осуществлены при поддержке гранта Университеты России—Фундаментальные исследования № 992665, гранта Администрации Санкт-Петербурга МОО-2.6Д-80 и гранта РФФИ № 01-04-49788.

## Список литературы

- Caullery M., Lavalley A. Recherches sur le cycle evolutif des Orthonectides // Bull. Scie. Fr. et Belg. 1912. T. 46. P. 139—171.
- Caullery M. Classe des Orthonectides // Traite de Zoology. T. 4. Paris, 1961. P. 695—706.
- Giard A. On the Orthonectida, a new class of animals parasitic on Echinodermata and Turbellaria // Ann. Mag. Natur. Hist. 1878. Ser. 5. Vol. 1. P. 181—183.
- Haloti S., Vernet G. Avanca dans la connaissance des mesozoaires. Etude de la specificite d'Intoshia linei (Orthonectide) par greffe interspecific de troncons de Lineus (Heteronemertes) parasites sur des sujets sains // Bull. Soc. Zool. Fr. 1994. T. 119, N 4. P. 357—363.
- Kozloff E. N. The Structure and Origin of the Plasmodium of *Rhopalura ophiocomaе* (Phylum Orthonectida) // Acta Zoologica. 1994. Vol. 75. P. 191—199.
- Lang K. On a new orthonectid, *Rhopalura philinae* n. sp., found as a parasite in the opisthobranch *Philina scabra* Muller // Ark. Zool. 1954. Vol. 6, N 36. P. 603—610.
- Margulis L., Schwartz K. V. Five kingdoms. N. Y.: Freeman, 1998. 357 p.

- Metchnikoff E. Untersuchungen über Orthonectiden // Zeitsch. wiss. Zoologie. 1881. Bd 35. S. 282—303.
- Slyusarev G. S., Miller D. M. Fine structure of the mature plasmodium of *Intoshia variabili* (Phylum Orthonectida), a parasite of the platyhelminth *Macrorhynchus crocea* // Acta Zoologica. 1998. Vol. 79, N 4. P. 319—327.
- Westheide W., Rieger R. M. Spezielle Zoologie. Teil 1: Einzeller und Wirbellasse Tiere. Stuttgart: G. Fischer, 1996. 909 S.

СПбГУ, 199034

Поступила 20.01.2001

#### ANALYSIS OF POSSIBLE MECHANISMS OF EMISSION OF THE ORTHONECTIDS FROM THEIR HOSTS

G. S. Slyusarev, A. S. Cherkasov

*Key words:* Orthonectida, plasmodium, parasite emission.

#### SUMMARY

In the present study authors claim that the adult orthonectids can not move through host tissues by themselves. In various species of these enigmatic parasites there are at least two different mechanisms of emission of males and females from the host body. *Intoshia linei*, the orthonectid from *Lineus ruber* (Heteronemertini), and *Intoshia variabili*, the parasite of a flatworm *Macrorhynchus crocea*, realize the first way of emission. The plasmodium of these species forms tube-like outgrowths, which pierce the host tissues reaching the host body surface. The cytoplasm structure of these outgrowths differs from the cytoplasm of the central mass of plasmodium. Small mitochondria with electron dense matrix, lipid granules and vesicular bodies being common in the central part are absent in these outgrowths. Plasmodial outgrowths reach the host body surface and adult orthonectids move inside them using their cilia and stopping from time to time. The plasmodial outgrowths penetrate the ciliated epithelium, then males and females leave the host. Duration of emission may vary in different species from 6 to 13 days.

The second mechanism of emission is common for the orthonectid parasites of mollusks. Our observations of *Rhopalura philinae* from the gastropod *Philina scabra* lead to the conclusion that males and females leave their host practically simultaneously. When the plasmodium attains the terminal stage of its development most of the host entrails are already displaced by plasmodial mass. It causes breaks in host body walls and hence to emission of sexual individuals. During this process, which lasts about 24 hours, the mollusk dies. The same mechanism was observed in *Rhopalura littoralis* — parasite of the gastropod *Onoba aculeus*.

Our investigations of emission ways reveal that the plasmodium of orthonectids has a potency of directing growth and can form certain structures. The process of forming the plasmodial outgrowths is coordinated in time and space. These outgrowths have certain directions inside the host body and the maturation of sexual individuals is clear related with the development of plasmodium outgrowth system. Our results suggest that forming of plasmodial outgrowths is an element of development of the united and highly integrated system. It is necessary to emphasize the capability of plasmodium to accomplish such morphogenetic transformations. This fact argues that plasmodium is a part of parasite organism and not host cells modified, like some experts supposed.