

УДК 576.895.122

**ФОРМИРОВАНИЕ ИНФРАПОПУЛЯЦИИ
ПАРТЕНИТ *ECHINOSTOMA CAPRONI*
(DIGENEA: ECHINOSTOMATIDAE)**

© Г. Л. Атаев, А. А. Добровольский, Н. П. Исакова

Первое поколение партенит *Echinostoma caproni* представлено материнскими спороцистами, развивающимися в сердце у моллюсков из рода *Biomphalaria*. На протяжении своей жизни они отрождают редий материнского поколения. Редии *E. caproni* всех генераций морфологически сходны. Первая генерация представлена материнскими редиями, которые формируют только редиоидные эмбрионы. Благодаря этому численность партенит в моллюске быстро увеличивается. Последующие генерации представлены дочерними редиями. В начале жизни они также отрождают редиоидные эмбрионы, но затем переходят к формированию церкарий. Количество редий, отрождаемых до перехода редий дочерних генераций на продуцирование личинок, зависит от плотности инфрапопуляций. В дальнейшем партениты сохраняют принципиальную способность к формированию редий, но реализуют ее лишь в исключительных случаях. Органами размножения редий всех генераций являются расположенные каудально герминальные массы. Здесь происходит мультипликация генеративных элементов и начальные этапы развития как редий, так и церкарий. Инфрапопуляция партенит *E. caproni* относится к «продолгованному» типу, т. е. представляет собой полноценную микрогемипопуляцию — ее существование ограничено продолжительностью жизни моллюска-хозяина.

Echinostoma caproni относится к наиболее интенсивно изучаемым видам дигеней (Huffman, Fried, 1990; Fried, Huffman, 1996; Fried, Graczyk, 2000). Тем не менее развивающиеся в моллюсках партеногенетические поколения этого вида остаются слабо изученными. Ранее при работе с микрогемипопуляцией редий *Philophthalmus rhionica* нами были разработаны приемы исследования динамики размножения партенит (Атаев, Добровольский, 1990). Позднее с использованием этой же методической основы было описано развитие материнских спороцист *Echinostoma caproni* (Атаев et al., 1997, 1998, 2001). Настоящая работа является продолжением ранее начатых исследований и посвящена результатам анализа индивидуального развития и размножения не только материнских, но и дочерних редий этого вида.

Для обозначения всей совокупности генераций, развивающихся в моллюске, т. е. материнской спороцисты и редий, в статье используется термин «партениты», потому что, на наш взгляд, он наиболее точно отражает свойственный этим поколениям тип размножения — амейотический партеногенез (апомиксис) (Dobrovolskij, Ataev, 2003).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Экспериментальная часть работы была выполнена в Лаборатории биологии животных Перпеньянского университета (Франция). В качестве объекта исследования были использованы трематоды *Echinostoma caproni*, мирацидиями которых были экспериментально заражены моллюски двух видов рода *Biomphalaria* — *B. glabrata* и *B. pfeifferi* (оба вида являются природными хозяевами *E. caproni*). Изучение развития партенит основано на материале, полученном в результате многократных заражений биомфаларий. Условия экспериментов во всех случаях были сходные. Для заражения были взяты 2-месячные моллюски с диаметром раковины: *B. glabrata* — 9–10 мм (доза заражения — 10 мирацидиев на одного моллюска), *B. pfeifferi* — 5–6 мм (доза заражения — 4 мирацидия). Прозрачная раковина молодых моллюсков позволяла контролировать процессы заражения и последующего развития паразитов.

Зараженных улиток содержали в аквариумах при 26 °С и фоторежиме 12 : 12 час. В аквариумах с *B. glabrata* вода постоянно аэрировалась. Кормом для моллюсков обоих видов служили листья салата. Моллюсков *B. pfeifferi* кормили свежими листьями, а для *B. glabrata* они предварительно сушились.

Развитие редий изучали как на живом материале, полученном непосредственно в процессе вскрытия моллюсков, так и на тотальных и гистологических препаратах, приготовленных из фиксированного в жидкости Буэна материала. Тотальные препараты окрашивали кармином. Срезы, толщиной 5 мкм, окрашивали гематоксилином Эрлиха с последующей подкраской водным раствором эозина.

Фотографии выполнены на микроскопе Биомед с помощью цифровой камеры Nikon Coorplex 4500.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Материнские спороцисты (МС) (рис. 1, А–Д, см. вкл.)

В процессе заражения мирацидии *Echinostoma caproni* (рис. 1, А) сбрасывают эпителиальные пластинки и проникают в субэпителиальную зону покровов моллюска. Местом пенетрации личинок могут стать любые незащищенные раковиной участки тела моллюска. Однако чаще они внедряются через покровы ноги, головы и щупальца. Реже мирацидии могут попадать в мантийную полость. В этом случае они проникают внутрь тела хозяина через респираторный эпителий (Атаев et al., 1997).

Независимо от района внедрения мирацидий в течение нескольких часов остается в субэпителиальной области. В течение этого времени он трансформируется в спороцисту. К концу «периода покоя» (Атаев et al., 1997) на его поверхности формируется тегумент, позволяющий МС мигрировать к месту окончательного поселения — сердцу моллюска. В зависимости от места пенетрации спороцисты могут продвигаться либо по лакунам и сосудам кровеносной системы (рис. 1, Б), либо вынуждены преодолевать паренхиматозные и мышечные тканевые барьеры. Продолжительность миграции зависит от ее направления и размеров моллюска-хозяина (Атаев et al., 1997, 1998). При этом непосредственно в сердце улитки МС проникают, как правило, со стороны предсердия. После этого

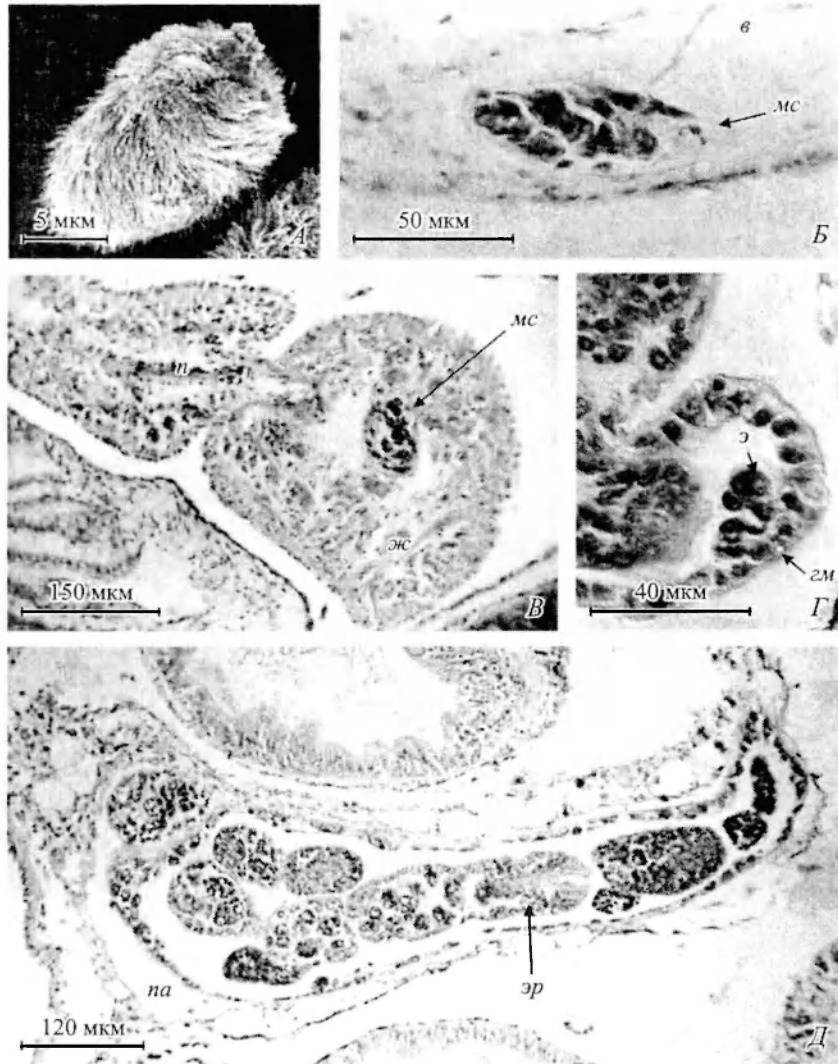


Рис. 1. Развитие материнской спороцисты (МС) *Echinostoma caproni*.
А — мирацидий (СЭМ-фотография); Б — срез через тело мигрирующей МС через сутки после заражения в просвете главной вены; Б' — МС, расположенная в сердце биомфаларии; Г — задний конец тела МС с герминальной массой; Д — срез через тело зрелой МС (через 10 дней после заражения). в — вена; гм — герминальная масса; ж — желудочек сердца; мс — материнская спороциста; н — предсердие; на — просвет аорты; э — эмбрион; эр — эмбрион реди.

Fig. 1. Development of the maternal sporocyst of *Echinostoma caproni*.

они прикрепляются задним концом тела к стенке желудочка или проксимальной части аорты и в дальнейшем своей локализации уже не меняют (рис. 1, В). В среднем миграция занимает около суток. Если в течение первых двух суток спороцисты ее не завершают, то выбирают в качестве места окончательного поселения другие участки тела моллюска. Как правило, в подобных случаях партениты проходят только первые этапы развития и не могут сформировать жизнеспособное потомство (Ataev et al., 1997).

Важно отметить, что в период миграции МС в целом сохраняют структуру мирацидия. На вторые, третьи сутки после заражения почти полностью завершается дегенерация провизорных органов, присущих мирацидию. Этот процесс сопровождается пролиферацией недифференцированных клеток, из которых формируются ткани и органы зрелой МС. В этот же период в теле спороцисты начинается закладываться зародышевая полость, в которой локализуются первые эмбрионы особой следующей поколения — редий. Последние развиваются из генеративных клеток, дифференцировка которых протекала еще в период завершения морфогенеза мирацидия («первичные генеративные клетки») (Ataev et al., 1997, 1998; Атаев и др., 2001). В дальнейшем количество «вторичных генеративных клеток» увеличивается за счет недифференцированных клеток, процесс мультипликации и дифференциации которых приурочен к герминальной массе, расположенной в каудальной части тела МС (рис. 1, Г). Здесь эмбрионы развиваются до стадии зародышевого шара. По мере формирования зародыши покидают герминальную массу и располагаются ближе к середине тела.

Вокруг этих более «молодых» зародышей формируются отдельные полости, поначалу выстланные отростками звездчатых клеток. Совокупность таких микрополостей представляет собой зачаток будущего единого схизоцеля. Усиливающиеся процессы дегенерации паренхимы приводят к появлению скоплений пикнотических телец. В результате паренхиматозный матрикс становится более рыхлым и постепенно вытесняется общей зародышевой полостью, в которой еще некоторое время сохраняются разделяющие ее пластинчатые структуры.

Морфогенетические преобразования становятся заметными у эмбрионов, состоящих из более чем 800 клеток. Выявляется представленный скоплением клеток зачаток глотки. Зачаток кишки на этой стадии морфогенеза имеет вид сплошного, лишённого просвета клеточного тяжа. Уже в этот период в развивающейся материнской редии (МР) заметен первый эмбрион, состоящий из 8 бластомеров. По мере созревания зародышей МР увеличиваются количество и размеры развивающихся в них эмбрионов дочерних редий (ДР). Наличие прямой зависимости между размерами (использовался объем тела) зародышей МР и количеством содержащихся в них эмбрионов подтверждается данными корреляционного анализа ($r = 0.803$, $n = 40$). Параллельно с развитием герминального материала формируются тегумент, пищеварительная система и схизоцель МР.

Размножение МС в обоих видах биомфаларий начинается на 8-й день после заражения. Этот процесс продолжается около недели (Ataev et al., 1997, 1998). За это время спороцисты отрождают в моллюсках *Biomphalaria pfeifferi* до 16, а в *B. grabrata* — до 20 МР.

Материнские редии (МР) (рис. 2, А—Г, см. вкл.)

Размер новорожденных МР в среднем составляет 0.2×0.05 мм. Диаметр глотки в это время — около 30 мкм (просвет — 10 мкм). Диаметр кишки достигает 20—25 мкм, ее стенки сложены из крупных клеток, а просвет остается щелевидным. Новорожденная редия уже обладает обширным схизоцелем, в котором локализуются несколько эмбрионов. Самые развитые из них состоят из 40—50 бластомеров (рис. 2, А). Всего в новорожденной МР находится до 13 эмбрионов.

Такое описание новорожденных редий носит очень усредненный характер, так как к моменту выхода из МС они могут достигать разного уровня развития. Поэтому по своим размерам они зачастую уступают наиболее крупным редиоидным эмбрионам, еще находящимся в МС.

Новорожденные МР обладают локомоторными выростами, с помощью которых могут передвигаться по телу моллюска. В основном они перемещаются по аорте и крупным артериям, после выхода из которых поселяются в различных органах хозяина (в основном в области вершины гепатопанкреаса и гермафродитной железы).

Зрелые МР *E. caproni* имеют типичное строение, присущее партенитам этого морфологического типа (рис. 2, Б, Г). Хорошо развитый фаринкс (диаметром 35 мкм) ведет в мешковидную кишку, достигающую у молодых редий уровня середины тела. Ее диаметр составляет 22 мкм, а ширина просвета — 18 мкм. Эпителиальная выстилка кишки представлена уплощенными клетками. В задней части тела дорсально расположены 2 локомоторных выроста (рис. 2, Б). На переднем конце имеется воротничок, позади которого на вентральной стороне расположена родильная пора. Максимальный размер единой материнской генерации достигает 2.4×0.3 мм.

Размножение МР *E. caproni* также осуществляется за счет мультипликации ГК в герминальной массе (рис. 2, В). Обычно в редии имеется один, реже два таких органа. Расположены они, как и у материнских спороцист каудально, в остатках паренхимы и представляют собой центры пролиферации недифференцированных клеток и дифференциации части из них в ГК. Развитие эмбрионов в составе герминальной массы протекает относительно недолго — до стадии 10—20 бластомеров. К этому времени на их поверхности начинается формироваться зародышевая мембрана, после чего они могут развиваться в схизоцеле.

Важно отметить, что на протяжении всей жизни в МР развиваются только редии. Одновременно в ней может присутствовать до 40—45 эмбрионов, из которых 10—12 находятся на различных стадиях морфогенеза, а остальные представлены разноразмерными зародышевыми шарами. После отрождения первых редий следующей генерации размеры МР уменьшаются примерно до 1.3×0.2 мм и в дальнейшем почти не изменяются. Это явление, характерное для партенит всех генераций, связано с тем, что к началу размножения в них накапливается большое количество крупных эмбрионов. В результате размеры МР достигают максимальных размеров. После начала размножения отрождение зародышей идет непрерывно, поэтому в большом количестве крупные эмбрионы в редиях больше не накапливаются. Кроме того, снижается интенсивность закладки новых эмбрионов, что также приводит к уменьшению их общего количества.

Первые признаки дегенерации МР становятся заметными на 7—8-й дни их самостоятельной жизни. Размеры партенит уменьшаются, их покровы утолщаются и приобретают характерную складчатость. Интенсивно желтый,

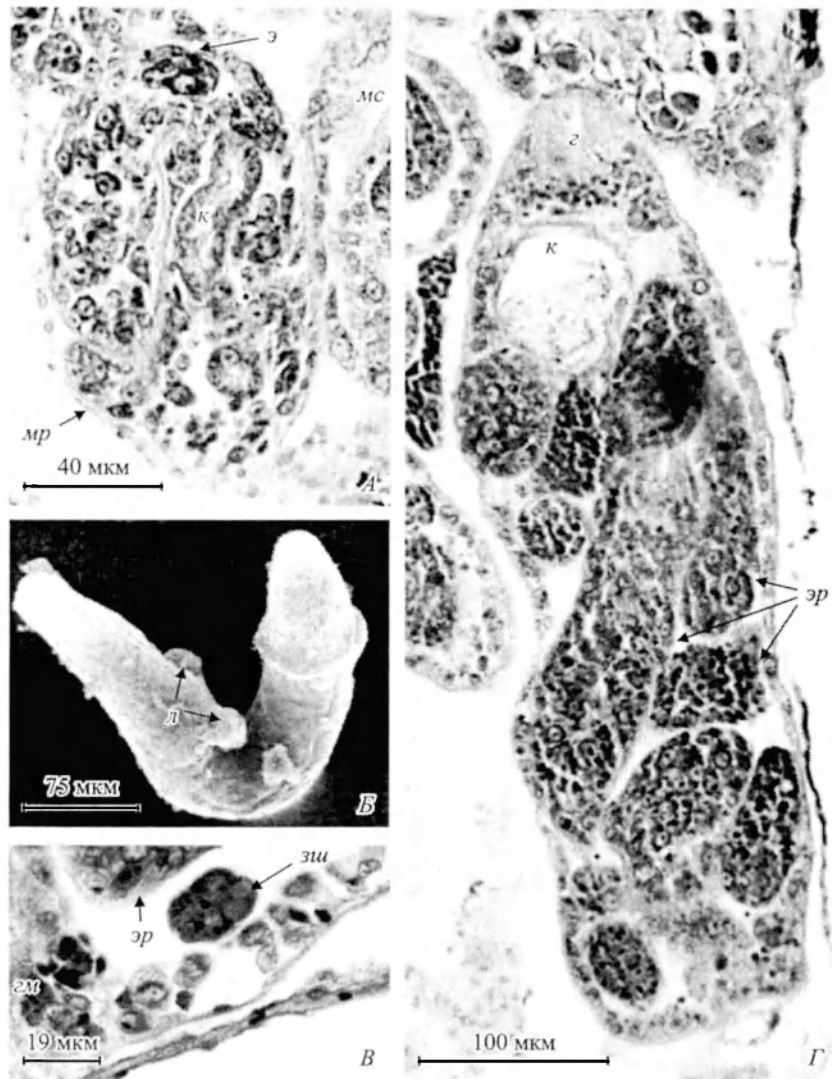


Рис. 2. Развитие материнской реди (MP) *Echinostoma caproni*.

А — срез новорожденной MP (через 10 дней после заражения); Б — внешний вид MP (СЭМ-фотография); В — срез MP в районе герминальной массы; Г — срез через тело зрелой MP (через 13 дней после заражения). э — глотка; зи — зародышевый шар; к — кишка; л — локомоторные выросты. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Fig. 2. Development of the maternal redia of *Echinostoma caproni*.

оранжевый или коричневый цвет свидетельствуют об отложении в тканях стареющих рений каратиноидов и меланинов (Гинецианская, 1968).

После отрождения последнего сформированного зародыша рении погибают и быстро резорбируются. При этом 5—10 ранних эмбрионов не успевают завершить развитие. Продолжительность жизни МР в обоих видах биомфаларий не превышает 15—20 дней.

Дочерние рении (ДР) (рис. 3, А—Г, см. вкл.)

Дочерние рении морфологически сходны с МР (рис. 2, Г; 3, Г). Все различия в размерах, цвете, относительной длине кишки и т. п. (рис. 3, А—В) обусловлены возрастными особенностями или условиями развития партенит. ДР в моллюсках *Biomphalaria glabrata* достигают 2.8×0.26 мм, а в *B. pfeifferi* — 2.4×0.28 мм.

Принципиальным отличием ДР от материнских является их способность продуцировать кроме себе подобных, т. е. рений же, еще и личинок особей гермафродитного поколения — церкарий (рис. 3, В, Г), эмиссия которых начинается через 3 недели после заражения. Зародыши обоих типов в ДР также образуются в герминальных массах (рис. 3, Б). При этом закладка и развитие редиоидных эмбрионов происходит еще в процессе морфогенеза самой ДР. Однако начало ее размножения отмечается не менее чем через сутки после выхода из материнского организма. Вначале отрождаются одна или несколько рений. Затем ДР переключаются на продуцирование эмбрионов церкарий и в дальнейшем к отрождению рений обычно не возвращаются.

В пользу этого утверждения свидетельствуют следующие данные. При просмотре многочисленных препаратов в молодых ДР (не начавшихся размножаться) обычно отмечались 1—2 крупных редиоидных эмбриона и 15—20 неразвитых эмбрионов церкарий (рис. 3, В). Кроме того, зрелые ДР любой генерации, как правило, содержат только эмбрионы церкарий (рис. 3, Г), число которых может достигать 45. Тем не менее нам удалось обнаружить несколько случаев, когда зрелые рении содержали кроме эмбрионов церкарий и зародыши рений, причем последние были менее крупными и развитыми, чем эмбрионы личинок особей гермафродитного поколения (рис. 4, А, Б, см. вкл.). Такие находки могут рассматриваться как доказательство принципиальной возможности вторичной закладки редиоидных эмбрионов после начала эмиссии партенитами церкарий.

Новорожденные ДР (рис. 3, А), как и МР, могут уступать по размерам и степени развития своего герминального материала зрелым редиоидным эмбрионам, еще не покинувшим зародышевую полость материнского организма. Это свидетельствует об отсутствии жестких критериев готовности зародышей к отрождению и последующему самостоятельному существованию в организме моллюска-хозяина.

ДР первых генераций обычно паразитируют в апикальной части гепатопанкреаса и гонаде, хотя часть из них сразу направляется в головной отдел. Столь значительные расстояния молодые рении покрывают, используя крупные кровеносные сосуды моллюска — висцеральную и головную арты, по которым перемещаются в какой-то мере пассивно благодаря токам гемолимфы. Расселение партенит следующих генераций приобретает более активный характер: например, при колонизации гепатопанкреаса рении продвигаются вдоль печеночных протоков, либо напрямую — между долями

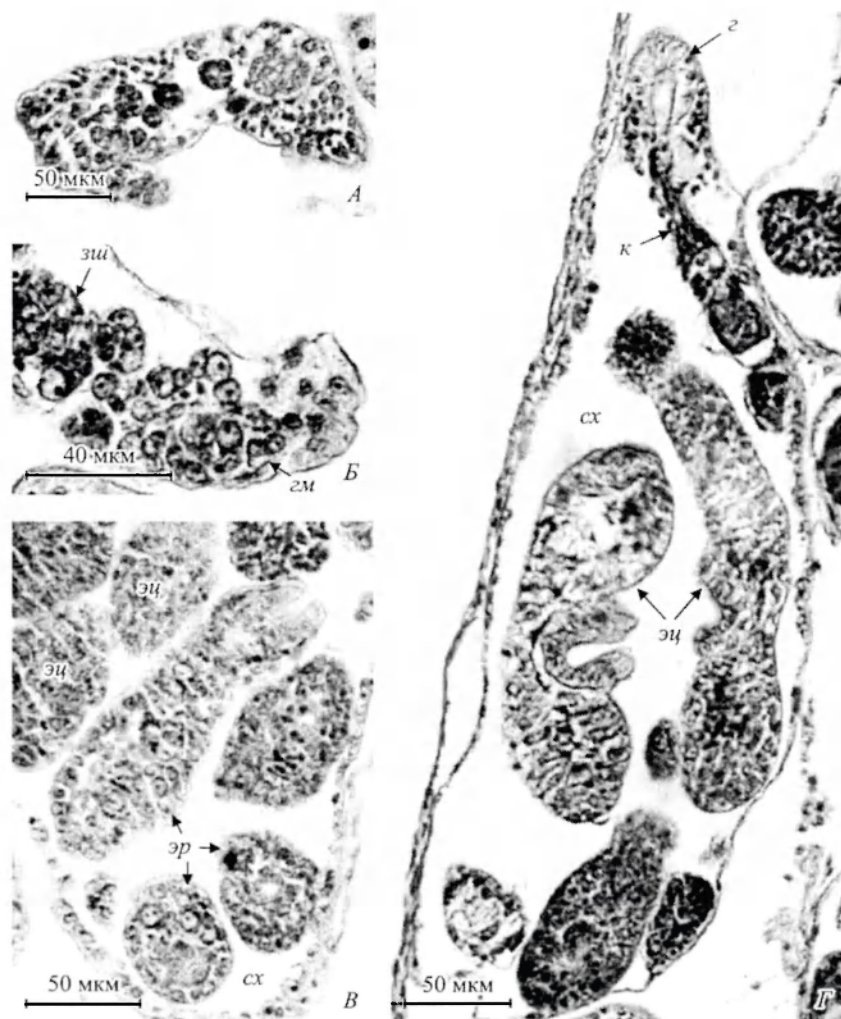


Рис. 3. Развитие дочерней редии (ДР) *Echinostoma caproni*.
 А — новорожденная ДР (37 дней после заражения); Б — герминальная масса ДР; В — ДР, содержащая эмбрионы реди; Г — зрелая ДР, содержащая эмбрионы церкарий. *бп* — брюшная присоска; *сх* — схизоцель; *эц* — эмбрион церкарии. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1 и 2.

Fig. 3. Development of the daughter redia of *Echinostoma caproni*.

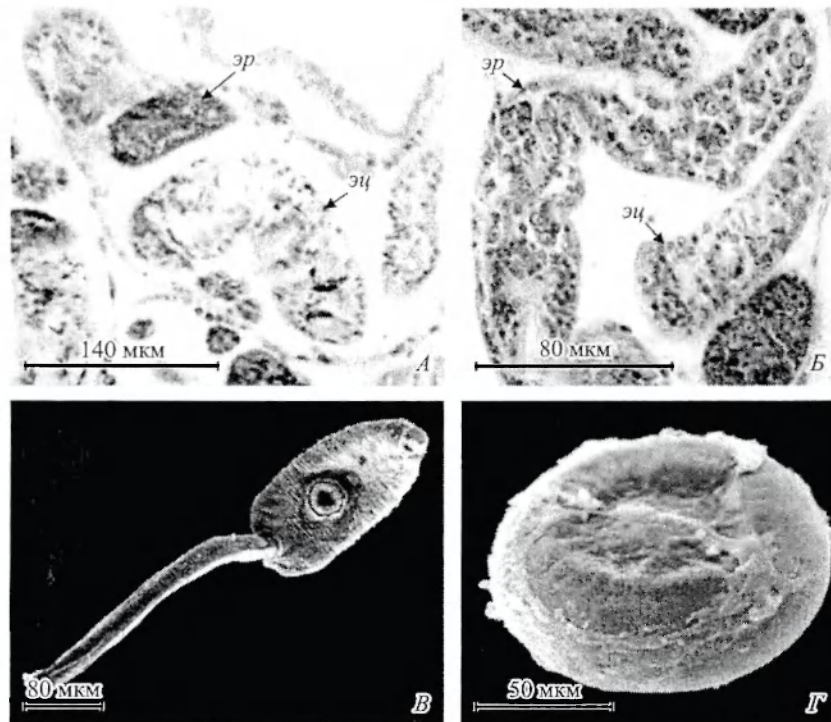


Рис. 4. Зрелые реди, церкария и метацеркария *Echinostoma caproni*.
А, Б — зрелые дочерние реди, в которых одновременно развиваются эмбрионы реди и церкарий (37 дней после заражения); В — церкария *E. caproni* (СЭМ-фотография); Г — метацеркария *E. caproni* (СЭМ-фотография). Обозначение те же, что и на рис. 1—3.

Fig. 4. Adult rediae, cercariae and metacercariae of *Echinostoma caproni*.

печени, преодолевая различные тканевые барьеры. Постепенно, на протяжении нескольких генераций, партениты полностью заселяют организм моллюска. Важно отметить, что на любом этапе расселения новорожденные редии стремятся покинуть зону локализации взрослых особей.

Интенсивное воспроизведение редий завершается в *Biomphalaria pfeifferi* через 24—27 дней после заражения, а в *B. grabrata* — через 33—34 дня. Примерно в это же время моллюски начинают активно эмитировать церкарий. В дальнейшем численность группировки партенит *Echinostoma caproni* в зараженном моллюске стабилизируется на определенном уровне, который достоверно коррелирует с размерами тела хозяина. Так, максимальная численность партенит в *B. pfeifferi* составляет 300, а в более крупных *B. grabrata* — 1085 особей.

В лабораторных условиях продолжительность жизни зараженных биомфаларий относительно невелика. После заражения мирацидиями *Echinostoma caproni* массовая гибель моллюсков *Biomphalaria pfeifferi* наблюдается через 30—35 дней после заражения, а моллюсков *B. grabrata* — через 45—50 дней. Соответственно в обоих случаях гибель зараженных улиток происходит вскоре после формирования зрелой инфрапопуляции партенит и начала эмиссии церкарий (рис. 4, В). Причиной этого явления, на наш взгляд, является автоинвазия биомфаларий вышедшими церкариями *Echinostoma caproni*, так как в условиях эксперимента они были лишены альтернативных объектов для внедрения. Именно накопление критического количества метацеркарий (рис. 4, Г) и приводит к скорой гибели моллюсков.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные подтверждают предположение о невозможности пролиферации зрелых генеративных клеток партенит (Добровольский и др., 1983). ГК сразу приступают к дроблению, давая начало новым эмбрионам. Образование новых ГК у *E. caproni* возможно только в результате соответствующей специализации части недифференцированных клеток, входящих в состав герминальной массы, «впянной» в паренхиматозный матрикс и сохраняющейся в задней части спороцисты. В схизоцеле зрелой МС одновременно развиваются разновозрастные эмбрионы. Такая растянутая во времени продукция особей следующей генерации оказывается возможной благодаря наличию у МС *E. caproni* родильной поры — специализированного отверстия, через которое молодые редии покидают материнский организм (Ataev et al., 1997). Этим МС рассматриваемого вида отличаются от МС таких видов, как *Fasciola hepatica*, у которых одновременно созревшие зародыши разрывают стенку тела спороцисты в нескольких местах, что ведет к гибели последней.

Все развитие МС *E. caproni* на паразитической фазе может быть разделено на несколько периодов. В скобках рядом с названием каждого периода указано среднее время его окончания при температуре 26 °С. Отправной точкой для начала отсчета служил момент заражения моллюска. Достоверные различия между данными, полученными для *Biomphalaria pfeifferi* и *B. grabrata* отмечены только для первых двух периодов. В последующем развитие паразитов в моллюсках этих двух видов в значительной мере синхронизируется.

1. Период покоя (5—6 ч после заражения в *B. pfeifferi* и 7—8 ч в *B. grabrata*). Небольшой по продолжительности, но важный этап в развитии МС, в

течение которого происходит подготовка к миграции, прежде всего, формирование дефинитивных покровов.

2. Период миграции (20—24 и 30—35 ч после заражения соответственно). Основной задачей, которую паразиты решают на этом этапе, является достижение места окончательного поселения. МС рассматриваемого вида локализуется в сердце моллюска. Продолжительность этого периода ограничена во времени и, если спороциста не успевает закончить миграцию, она может начать развиваться в каких-то других участках тела хозяина. Как правило, это завершается преждевременной гибелью паразита.

3. Период роста (8 дней после заражения). Этот этап начинается после достижения МС места окончательного поселения и характеризуется увеличением числа соматических клеток и быстрым развитием герминального материала. В течение этого периода происходит интенсивный рост спороцисты.

4. Период размножения (14 дней после заражения). Характеризуется интенсивным развитием зародышей и отрождением молодых редий. Одна спороциста отрождает за свою жизнь около 15 МР. Примерно половина особей следующего поколения развивается из первичных, а остальные — из вторичных ГК, образованных в результате специализации недифференцированных клеток в составе герминальной массы.

5. Период дегенерации (22 дня после заражения). Отдельные проявления дегенерации у развивающихся МС наблюдаются довольно рано (например, сопровождающая формирование шизоцеля дегенерации значительных участков паренхимы). В полной мере дегенеративные изменения, как правило, начинаются непосредственно вслед за отрождением последней материнской редии. Однако в ряде случаев раннее начало дегенерации вызывает остановку размножения. Это приводит к тому, что не все редиоидные эмбрионы успевают закончить развитие.

Важно отметить, что на протяжении первых четырех периодов, по сути дела, имеет место морфогенетическая дегенерация сомы МС (резорбция или трансформация провизорных органов мигриция, образование схизоцеля и т. д.), приводящая к формированию генеративно зрелого организма, а на заключительном этапе эти процессы сменяются «возрастной» дегенерацией, завершающейся гибелью паразита.

Изучение редий *Echinostoma caproni* различных генераций показало принципиальное сходство их развития. Все они формируются из генеративных клеток, дифференцирующихся в специализированных органах размножения — герминальных массах. Еще находясь в составе герминальной массы, генеративные клетки приступают к дроблению и развиваются до стадии «зародышевого шара». Дальнейшее развитие эмбрионов протекает в схизоцеле материнского организма. Четких морфологических критериев уровня готовности редиоидных эмбрионов к самостоятельному существованию в организме хозяина обнаружить не удалось — часто новорожденные редии, активно мигрирующие в гемоцеле моллюска, по своим размерам и степени развития заметно уступают крупным зародышам, еще находящимся в материнском организме.

Таким образом, момент достижения развивающимися редиями способности самостоятельно паразитировать в моллюске и выход их из материнского организма, по-видимому, далеко не всегда совпадают по времени. У редий, покинувших родительский организм (материнская спороциста, материнская редия и т. д.) на более ранних этапах онтогенеза, соответственно удлиняется период развития в тканях моллюска. Нечто подобное описа-

но и для церкарий многих видов дигеней. Эти личинки гермафродитного поколения очень часто выходят из партенит и переходят к самостоятельному паразитированию в моллюске, еще будучи морфологически незрелыми. В норме окончательное созревание церкарий завершается в хозяине, после чего они его покидают. Однако иногда, в первую очередь при резком ухудшении состояния хозяина, последний может эмитировать большое количество несформированных личинок. Эта своеобразная реакция бегства паразитов (в данном случае расселительных стадий) из погибающего хозяина, вероятно, может рассматриваться как своего рода адаптация, повышающая вероятность выживания хотя бы части особей.

Таким образом, разные поколения трематод (и партеногенетические, и гермафродитные) демонстрируют способность еще до полного завершения морфогенеза достигать стадии «функциональной зрелости», позволяющей им самостоятельно существовать в организме хозяина. Скорее всего, именно эта их особенность послужила основой для ювенилизации — одной из главных тенденций морфологической эволюции дигенетических сосальщиков (Galaktionov, Dobrovolskij, 2003).

Дальнейшее развитие новорожденных редий зависит, прежде всего, от условий обитания. Как правило, освободившиеся из материнского организма партениты расселяются по организму хозяина. Остается неясным, является ли эта способность совершать достаточно сложные «направленные» миграции, обеспечивающие постепенную колонизацию моллюска, генетически детерминированной или она вызывается дефицитом энергетических и пространственных ресурсов в участках гепатопанкреаса, уже заселенных особями предыдущей генерации. Эксперименты по изучению развития партенит *in vitro* не выявили случаев каннибализма — зрелые редии *E. caproni* не поедали более молодых особей собственного вида (Loker et al., 1999).

Ранее мы уже постулировали, что универсальным органом размножения партенит является герминальная масса (Dobrovolskij, Ataev, 2003). Важнейшими ее функциями являются пролиферация недифференцированных клеток и дифференциация части из них в герминальные клетки. Кроме того, здесь могут протекать ранние этапы развития эмбрионов. В этом случае в схизоцель поступает эмбрион, защищенный зародышевой мембраной (зародышевый шар).

Именно такой герминальной массой обладают МС и редии *E. caproni*. Ее локализация также обычна для многих дигеней — каудальная часть тела (Cort, 1953; Cort et al., 1954; Dobrovolskij, Ataev, 2003). Особенностью редий *E. caproni* является очень раннее поступление первых эмбрионов в схизоцель — на стадии 15—20 бластомеров. Формирование зародышевой мембраны вокруг них не закончено: она на этой стадии пока представлена лишь поверхностно расположенными макромерами. У редий герминальные массы характеризуются очень небольшими размерами, что затрудняет их обнаружение и идентификацию на срезах. Возможно, что в зрелых редиях *E. caproni* одновременно имеется несколько герминальных масс.

Способность редий (спороцист) регулировать собственную численность, изменяя тип развивающихся в них эмбрионов, отмечалась в работах многих исследователей (Dönges, 1963; Kendall, 1965; Dönges, Gotzelmann, 1977; Добровольский и др., 1983, и др.). Неоднократно было показано, что в зависимости от условий существования и возраста партенит (и редий, и дочерних спороцист) в них могут формироваться либо новые генерации партенит того же типа, либо церкарии. Наиболее убедительные данные получены с помощью метода трансплантации партенит в незараженного моллюска.

При пересадке редий (спороцист), продуцирующих церкарий (Dönges, 1963; Dönges, Gotzelmann, 1975, 1977; Jourdane, Theron, 1980; Nojima et al., 1982, и др.), подавлялась их способность отрождать личинок гермафродитного поколения и наблюдался возврат к отрождению партенит. Продуцирование церкарий возобновлялось только после формирования многочисленной инфрапопуляции паразитов. Иногда для этого требовалось несколько генераций партенит.

Еще одним доказательством способности к изменению типа формируемого потомства стали результаты, полученные при культивировании партенит *in vitro*. В частности, ДР *Echinostoma caproni* в искусственной среде на протяжении всего срока наблюдения могли отрождать только партенит, так и не переходя к продуцированию церкарий (Loker et al., 1999).

В природе механизм переориентации эмбриогенеза, по-видимому, лежит в основе сезонных изменений продуцирования церкарий. Например, при сезонном похолодании описан массовый выход личинок *Podocotyle atomon* из морских моллюсков *Littorina rudis*. Развитие новых личинок возобновляется только при потеплении (Русанов, Галактионов, 1984).

Вместе с тем ряд имеющихся в литературе данных сложно объяснить с позиций этой гипотезы. Так, трансплантация ДР *Echinostoma revolutum* (Zischke, 1968) и *Philophthalmus rhionica* (Атаев, Добровольский, 1990), уже перешедших к продуцированию церкарий, не вызывает изменения типа продуцируемого потомства — в новом хозяине они продолжали отрождать только личинок гермафродитного поколения. Кроме того, для многих дигеней отмечалось, что в партенитах, составляющих зрелую микрогемипопуляцию, могут развиваться только церкарии. Это явление было отмечено нами и для *Echinostoma caproni*. При просмотре многочисленных взрослых ДР *in toto* в них не удавалось обнаружить эмбрионы редий — все они содержали зародыши церкарий. И лишь детальный гистологический анализ зараженных моллюсков, результаты которого приведены выше, позволил в нескольких случаях обнаружить зрелых редий, в которых наряду с крупными зародышами церкарий содержались менее зрелые редиоидные эмбрионы (рис. 4, А). Этот факт подтверждает принципиальную способность ДР *E. caproni* переориентироваться с продукции церкарий на формирование партенит.

Способность к изменению типа отрождаемого потомства присуща партенитам многих видов сосальщиков. Однако реализуется эта способность у разных дигеней по-разному. У некоторых видов это, по-видимому, обычный механизм поддержания численности микрогемипопуляции. В зависимости от условий, складывающихся в конкретном хозяине, оптимальная численность локальной группировки паразитов поддерживается за счет преимущественного отрождения либо партенит, либо церкарий.

У других видов появляется отчетливо выраженная периодичность в продуцировании партенитами того или иного типа потомства. Редии многих трематод в самом начале периода размножения отрождают несколько редий, после чего продуцируют только церкарий. Возможен и альтернативный вариант, когда вначале партениты (дочерние спороцисты) производят личинок гермафродитного поколения, а в конце генеративного периода отрождают себе подобных. Во всех подобных случаях регулирование численности инфрапопуляции осуществляется за счет интенсивности отрождения партенит следующей генерации.

И, наконец, еще одну группу составляют сосальщики, для которых характерна жесткая детерминация числа поколений партенит: два или даже

одно. Дочерние, а иногда и материнские спороцисты в подобных случаях продуцируют исключительно церкарий.

Приведенная выше схема в значительной мере генерализована и, по-видимому, отражает лишь основные этапы изменения динамики реализации генеративной функции партенит трематод. На самом деле картина оказывается значительно более сложной, ибо партениты (редии или дочерние спороцисты) одного вида способны изменять тип отраждаемого потомства в зависимости от реальных условий, складывающихся в организме моллюска-хозяина. Могут варьировать такие важные характеристики процесса размножения, как количество генераций партенит и количество отраждаемых партеногенетических особей. Варьирует и возраст особей, когда они приступают к продукции новой генерации партенит. Более того, как было показано на примере некоторых шистосоматид, эта вариабельность проявляется не только у близких видов, но и у дочерних спороцист, являющихся потомками одной материнской спороцисты, т. е. у «сестринских» особей (Theron, Jourdan, 1979; Kechemir, Theron, 1980; Touassem, Theron, 1986).

Эти и другие подобные факты свидетельствуют, на наш взгляд, об отсутствии жесткой генетической детерминации динамики процесса размножения партенит у многих видов трематод. Об этом косвенно свидетельствуют и упоминавшиеся выше результаты экспериментальных работ (Loker et al., 1999): в условиях культуры реализуется только один тип онтогенеза — в дочерних и последующих поколениях редий развиваются исключительно редии. Партениты в этом случае реагируют на условия существования так же, как в период становления инфрапопуляции в моллюске — до момента насыщения паразитоемкости хозяина они продуцируют только себе подобных.

Обнаружение нами редиоидных эмбрионов в крупных партенитах, продуцирующих церкарий, свидетельствует, на наш взгляд, о том, что дочерние редии *E. caproni* сохраняют потенциальную способность изменять характер отраждаемого ими потомства. Эта способность реализуется далеко не всегда. В эксперименте, когда инвазированные партенитами моллюски постоянно подвергаются вторичному заражению продуцируемыми ими же церкариями, условия существования паразитов в хозяине заметно ухудшаются.

Значительная патогенность метацеркарий *E. caproni* для биомфаларий подтверждается данными Курриса и Варрена (Kurriss, Warren, 1980). В результате многочисленных экспериментов им удалось показать прямую зависимость смертности как зараженных, так и незараженных партенитами моллюсков *Biomphalaria glabrata* от интенсивности их инвазии метацеркариями *Echinostoma liei* (syn. *E. caproni*). Быстро возрастающее давление паразитарного пресса ухудшает состояние хозяина и в конечном счете приводит к его гибели. Необходимость в пополнении и пролонгировании существования группировки редий в моллюске в этом случае не возникает. Репродуктивные усилия инфрапопуляций партенит, у которых отсутствует жесткая предопределенность процессов размножения, в подобной ситуации целиком направляются на продукцию церкарий, ибо от этого в первую очередь зависит успех реализации жизненного цикла.

В природных условиях аккумуляции большого количества метацеркарий в биомфалариях, по-видимому, чаще всего не происходит. Этому препятствует и высокая смертность церкарий во внешней среде, и широкий круг беспозвоночных и даже позвоночных животных (например, амфибий), которые могут быть использованы паразитами рассматриваемого вида в качестве вторых промежуточных хозяев (Fried, Huffman, 1996), и наконец, относительно низкая концентрация в биотопе как потенциальных хозяев,

так и церкарий. Соответственно при заражении небольшим количеством метацеркарий увеличивается продолжительность жизни моллюсков, что обусловлено снижением давления паразитарного пресса. В свою очередь возрастает и длительность существования инфрапопуляций партенит *Echinostoma caproni* в улитках. Она значительно превышает сроки существования зараженных моллюсков в экспериментальных условиях. Это оказывается возможным благодаря реализации дочерними редиями способности продуцировать наряду с церкариями особей следующего партеногенетического поколения. Соответственно в природе зараженные моллюски суммарно эмитируют заметно большее количество церкарий.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют отнести инфрапопуляцию партенит *E. caproni* к микрогемипопуляциям «продолжительного» типа (Атаев, 2000), длительность существования которых определяется временем жизни моллюска-хозяина. На начальном этапе развития инвазии наблюдается быстрый рост численности редий, составляющих локальную группировку, затем она стабилизируется на оптимальном для конкретной паразито-хозяинной системы уровне, а ее последующее пополнение осуществляется за счет отрождения наряду с эмитируемыми из моллюска церкариями относительно небольшого количества новых партенит.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы «Университеты России» (грант УР 07.01.027).

Список литературы

- Атаев Г. Л. Развитие партенит трематод: Автореф. дис. докт. биол. наук. СПб., 2000. 34 с.
- Атаев Г. Л., Добровольский А. А. Развитие микрогемипопуляции партенит трематод *Philophthalmus ghionica* // Паразитология. 1990. Т. 24. С. 499–507.
- Атаев Г. В., Аванесян А. В., Локер С., Добровольский А. А. Организация герминального материала и динамика размножения материнских спороцист рода *Echinostoma* (Trematoda: Echinostomatidae) // Паразитология. 2001. Т. 35, вып. 4. С. 307–318.
- Гинецинская Т. А. Трематоды. Их жизненные циклы, биология и эволюция. Л.: Наука, 1968. 364 с.
- Добровольский А. А., Галактионов К. В., Мухамедов Г. К., Синха Б. К., Тихомиров И. А. Партеногенетические поколения трематод. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1983. 108 с.
- Русанов Н. И., Галактионов К. В. Сезонная динамика развития и размножения партенит *Podocotyle atomon* (Rudolfi, 1802) (Trematoda: Opascoelidae) в литоральных моллюсках Баренцева моря // Эколого-паразитологические исследования северных морей. Апатиты: АН СССР, Кольский филиал им. С. М. Кирова, 1984. С. 441–451.
- Ataev G. L., Dobrovolskij A. A., Avanesjan A. V., Loker E. S. Germinal elements and their development in *Echinostoma caproni* and *E. paraensei* (Trematoda) miracidia // Journ. Parasitol. 2001. Vol. 87, N 5. P. 1160–1164.
- Ataev G. L., Dobrovolskij A., Fournier A., Jourdan J. Migration and development of mother sporocysts of *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae) // Journ. Parasitol. 1997. Vol. 13, N 3. P. 444–453.
- Ataev G. L., Fournier A., Coustau C. Comparison of *Echinostoma caproni* mother sporocysts development in vivo and in vitro using of *Biomphalaria glabrata* snails and a *B. glabrata* embryonic cell line // Journ. Parasitol. 1998. Vol. 84. P. 227–235.
- Cort W. W. The germ cell cycle of the digenetic trematodes // Tappan Commemoration Volume. Lucknow (India): University of Lucknow, 1953. P. 41–50.
- Cort W. W., Ameel D. J., Van der Woude A. Germinal development in the sporocysts and rediae of the digenetic trematodes // Exper. Parasitol. 1954. Vol. 3, N 2. P. 185–225.

- Dobrovolskij A., Ataev G. The nature of reproduction of Trematodes Rediae and Sporocysts // Taxonomy, Ecology and Evolution of Metazoan Parasites. T. 1. Perpignan: Presses Universitaires de Perpignan, 2003. P. 249–272.
- Dönges J. Die experimentelle Bestimmung der Anzahl der Rediengenerationen bei Trematoden // Naturwissensch. 1963. Bd 50, H. 3. P. 103.
- Dönges J., Gotzelmann M. Isthmiophora melis (Trematoda, Echinostomatidae): normal adults after 41 snail passages in 7 years of redial transplantation // Intern. Journ. Parasitol. 1975. Vol. 5. P. 421–422.
- Dönges J., Gotzelmann M. Isthmiophora melis: experimental reinfection of Lymnaea stagnalis by implantation of miracidia after implantation of rediae // Exper. parasitol. 1977. Vol. 42. P. 318–321.
- Fried B., Huffman J. E. The biology of intestinal trematode Echinostoma caproni // Advanc. parasitol. 1996. Vol. 38. P. 311–368.
- Fried B., Graczyk T. K. Echinostomes as experimental models for biological research / Ed. by B. Fried, T. K. Graczyk. London: Kluwer acad. publ., 2000. 267 p.
- Galactionov K. V., Dobrovolskij A. A. The biology and evolution of trematodes. An essay on the biology, morphology, life cycles, transmissions, and evolution of digenetic trematodes. Dordrecht, Boston, London: Kluwer acad. publ. 2003. 592 p.
- Huffman J. E., Fried B. Echinostoma and Echinostomiasis // Advanc. parasitol. 1990. Vol. 29. P. 215–269.
- Jourdane J., Theron A. Schistosoma mansoni: cloning by microsurgical transplantation of sporocysts // Exper. Parasitol. 1980. Vol. 50. P. 349–357.
- Kechemir N., Theron A. Existence of replicating sporocysts in the development cycle of Schistosoma haematobium // Journ. Parasitol. 1980. Vol. 66, N 6. P. 1068–1070.
- Kendall S. B. Relationships between the species of Fasciola and their molluscan host // Advanc. Parasitol. 1965. Vol. 3. P. 59–98.
- Kuris A. M., Warren J. Echinostome cercarial penetration and metacercarial encystment as mortality factors for a second intermediate host, Biomphalaria glabrata // Journ. Parasitol. 1980. Vol. 66. P. 630–635.
- Loker E. C., Coustau C., Ataev G. L., Jourdane J. In vitro culture of rediae of Echinostoma caproni // Parasite. 1999. Vol. 6. P. 169–174.
- Nojima H., Njda S., Sato A. Serial implantations of larval Schistosoma mansoni from infected to uninfected snails // Journ. Parasitol. 1982. Vol. 66. P. 478–482.
- Theron A., Jourdane J. Sequence de reconversion des sporocystes de Schistosoma mansoni producteurs des cercaires, en vue laproduction de nouvelles generations de sporocystes // Ziet. Parasitenk. 1979. Bd 61. S. 63–71.
- Touassem R., Theron A. Study on the intramolluscal development of Schistosoma bovis: demonstration of three patterns of sporocystogenesis by daughter sporocysts // Parasitology. 1986. Vol. 92, N 2. P. 337–341.
- Zishke J. A. Reproduction of Schistosoma revolutum rediae when transferred to uninfected snails of different sizes // Journ. Parasitol. 1968. Vol. 54. P. 39–42.

Российский государственный
педагогический университет им. А. И. Герцена,
Санкт-Петербург,
Санкт-Петербургский государственный университет

Поступила 10 XI 2004

THE FORMATION OF THE PARTENITAE INFRAPOPULATION OF ECHINOSTOMA CAPRONI (DIGENEA: ECHINOSTOMATIDAE)

G. L. Ataev, A. A. Dobrovolsky, N. P. Isakova

Key words: trematoda, partenitae, development, infrapopulation, *Echinostoma caproni*.

SUMMARY

The first generation of *Echinostoma caproni* partenitae is represented maternal sporocysts developing in the cardium of the *Biomphalaria* mollusk. During all their life, they produce rediae of maternal generation. Rediae of *Echinostoma caproni* of all generations are si-

milar. The first generation consists of maternal rediae forming only redoid embryos. Due to this process, the number of partenitae increases very fast. The next generations are represented by daughter rediae. In the beginning of their life they produce redoid embryos but later begin forming cercariae. The number of rediae produced before this shift of production depends on the population density. Further, the partenitae retain their potential ability to form rediae but realize it in exceptional cases. Generative organs of all generations are germinal masses. Proliferation of generative elements and beginning stages of redia and cercaria development take place within these masses. The infrapopulation of *E. caproni* belongs to the «prolonged type», because it is a complete microhemipopulations; its existence is limited by a lifespan of the mollusk host.
