

**NOSEMA DIPLOSTOMI SP. N. (MICROSPORIDIA:
NOSEMATIDAE) — ГИПЕРПАРАЗИТ ТРЕМАТОД РОДА
DIPLOSTOMUM ИЗ ГЛАЗ РЫБ**

Н. Г. Шигина и О. Ф. Гробов

Всесоюзный институт гельминтологии имени К. И. Скрябина
и Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии, Москва

Описана новая микроспоридия *Nosema diplostomi* sp. n. из личинок (метацеркарий) трематод рода *Diplostomum*, паразитирующих в хрусталиках глаз пресноводных рыб. Дано описание стадий развития ноземы.

Микроспоридии в последние годы все больше привлекают внимание исследователей. Особый интерес представляют данные об этих простейших из гельминтов. К настоящему времени зарегистрировано 19 случаев обнаружения микроспоридий у трематод, паразитирующих в морских и пресноводных моллюсках, ракообразных, амфибиях и рептилиях (Martin, 1936; Dollfus, 1946; Dissanaïke, 1957; Schaller, 1959; Cort et al., 1960; Sprague, 1964; Canning and Basch, 1965 и Гинецинская, 1968). Сведений о нахождении микроспоридий в трематодах рыб в литературе нет. Весной 1968 г. нами были обнаружены микроспоридии в метацеркариях трематод рода *Diplostomum* из хрусталиков глаз пресноводных рыб (форели, белого амура, толстолоба, плотвы, верховки, карпа, вьюна, пескаря и ротана), которые и послужили материалом для данного исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор материала для исследования проводили в водоемах форелевого хозяйства «Сходня» Московской области в 1968—1969 гг. Всего нами было исследовано 87 207 метацеркарий рода *Diplostomum*, собранных от 3232 рыб 15 видов (табл. 1). Из пораженных микроспоридиями личинок изготавливали сухие, влажные и нативные мазки. Сухие мазки фиксировали абсолютным метиловым спиртом и окрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимза. Влажные мазки фиксировали раствором Ценкера или Буэна, а затем окрашивали гематоксилином по Гейденгайну. Окраску спор с выброшенными полярными нитями проводили методом импрегнации серебром. Для морфологической характеристики спор измерено по 500 свежих и окрашенных азур-эозином спор.

***Nosema diplostomi* sp. n.**

Х о з я и н: метацеркарии трематод рода *Diplostomum*¹ из хрусталиков глаз 9 видов пресноводных рыб (табл. 1). **Л о к а л и з а ц и я:** паренхима. Споры располагаются диффузно или в виде скоплений.

¹ Так как микроспоридии вызывают значительные морфологические изменения у метацеркарий, определение их до вида оказалось невозможным. В данном районе самым распространенным видом в хрусталиках глаз рыб является *Diplostomum spathaceum* (Rud., 1819). Кроме того, встречаются также *D. indistinctum* (Guberlet, 1923) и *D. paraspathaceum* Schigin, 1965.

Т а б л и ц а 1
Зараженность микроспоридиями метацеркарий рода *Diplostomum*
у разных видов рыб

Вид рыбы	Число исследованных рыб	Общее число метацеркарий	Число пораженных метацеркарий	
			экз.	%
Форель <i>Salmo irideus</i> Gibbons	2372	61414	6957	11.3
Белый амур <i>Stenopharyngodon idella</i> (Valenciennes)	80	4997	1092	22.0
Толстолоб <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> Valenciennes	2	232	101	43.7
Карп <i>Cyprinus carpio</i> L.	340	1891	10	0.5
Плотва <i>Rutilus rutilus</i> (L.)	279	15971	1134	7.1
Верховка <i>Leucaspius delineatus</i> (Heckel)	48	1006	118	11.8
Пескарь <i>Gobio gobio</i> (L.)	25	1391	34	2.4
Карась <i>Carassius carassius</i> (L.)	11	12	0	0
Линь <i>Tinca tinca</i> (L.)	1	20	0	0
Голец <i>Nemachilus barbatulus</i>	3	78	0	0
Вьюн <i>Misgurnus fossilis</i> (L.)	1	133	3	2.6
Щиповка <i>Cobitis taenia</i> (L.)	4	0	0	0
Колюшка <i>Pungitius pungitius</i> (L.)	18	34	0	0
Головешка <i>Percottus glehni</i> Dybovski	30	28	2	7.4
Окунь <i>Perca fluviatilis</i> L.	21	0	0	0
Всего	3232	87207	9451	10.8

Место обнаружения: форелевое хозяйство «Сходня» Московской области. Время обнаружения: круглый год; у сеголетков форели споры в метацеркариях впервые обнаруживаются в конце июня—начале июля, т. е. в 1.5—2-месячном возрасте рыб.

Выявлены следующие стадии развития гиперпаразита.

Амебула представляет собой округлое или треугольной формы бледноокрашенное тельце диаметром 1—1.5 мк. Обнаружены на препаратах, окрашенных азур-эозином по Романовскому-Гимза (рис. 1).

Шизонты. Молодые трофозоиты, округлые по форме, с хорошо выраженным крупным ядром. Их диаметр 2—3 мк. Мы находили 1, 2, 3- и 4-ядерные шизонты. Диаметр 4-ядерного шизонта 5—7 мк. Цитоплазма слабо окрашенная, гомогенная.

Споронты и споробласты. Обнаруженные нами споронты представлены в виде овальных клеток с четко выраженными ядрами; размер их 6×3 мк. Споробласты в виде овальных клеток с небольшим ядром рассеяны одиночно в паренхиме гельминта или образуют большие скопления до 100 клеток. Эти скопления своей оболочкой не имеют. Диаметр споробласта 3—4 мк. Цитоплазма зрелых споробластов неравномерно, но ярко окрашенная. Их размеры близки к размеру спор.

Споры. Зрелые свежие споры слабо грушевидной формы: передний конец их несколько сужен и часто изогнут, задний расширен. Форма зафиксированных спор изменяется в зависимости от фиксатора. Так при фиксации абсолютным метанолом и окрашивании азур-эозином споры приобретают правильную овальную форму, а при фиксации смесями Ценкера или Буэна и окрашивании гематоксилином становятся почти бобовидной формы (рис. 1, 2). Оболочка спор гладкая, при высушивании споры сморщиваются; слизистой капсулы нет.

На расширенном конце свежих спор видна вакуоль правильной округлой формы, занимающая почти половину длины споры. Передний край этой вакуоли всегда закруглен, а по ее бокам и позади нее у большинства спор заметны узкие участки спороплазмы.

Измерение свежих спор показало, что их длина варьирует от 2.7 до 4.9 мк, в среднем 3.54 ± 0.08 мк; ширина варьирует от 1.3 до 2.4 мк, в среднем 1.82 ± 0.01 мк.

Споры, окрашенные азур-эозином по Романовскому-Гимза, имеют несколько меньшие размеры: длина колеблется от 2.4 до 4 мк, в среднем 3.12 ± 0.02 мк; ширина окрашенных изменяется в тех же пределах как

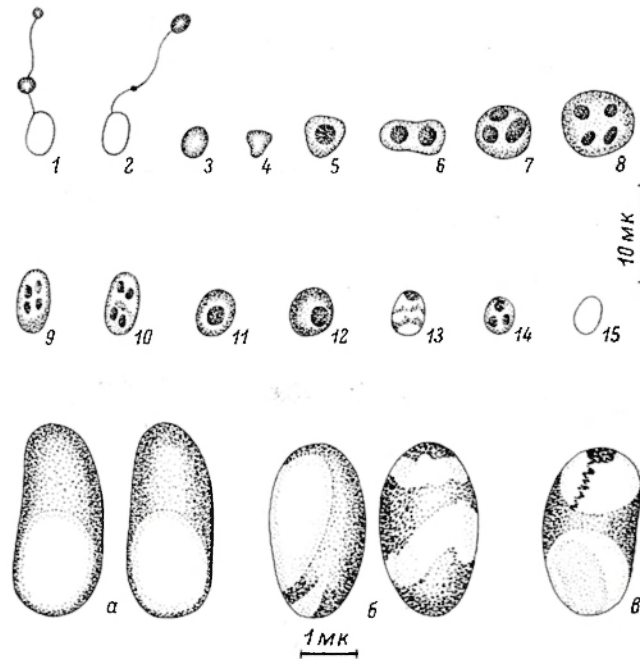


Рис. 1. Стадии развития *N. diplostomi*.

1, 2 — споры с выброшенной полярной нитью; 3, 4 — амебулы; 5—8 — шизонты; 9 — четырехъядерный споронт; 10 — споронт перед образованием двух двуядерных споробластов; 11—15 — спорогония: 11—12 — молодые споробласты; 13—14 — зрелые споробласты; 15 — зрелая спора. а — живые неокрашенные споры; б — зрелые споробласты, окрашенные азур-эозином по Романовскому-Гимза; в — спора, окрашенная гематоксилином по Гейденгайну.

и у свежих спор, а средняя равна 1.78 ± 0.01 мк. Было испытано влияние на споры механического действия — давления, а также действие ряда химических веществ — соляной, серной и азотной кислот (1, 5 и 10%), нашатырного спирта (5 и 10%), едкого натрия и едкого калия (5 и 15%), перекиси водорода (3 и 10%), действие физиологического раствора и дистиллированной воды. Выбрасывание полярной нити наблюдали при замене физиологического раствора дистиллированной водой и под действием 5% раствора едкого натрия с последующим легким давлением на покровное стекло или просто под действием значительного давления на споры. Выброшенная полярная нить в длину достигает 44 мк, в среднем 27.7 мк. На препаратах, окрашенных азур-эозином, можно видеть споры с выброшенной полярной нитью и прикрепленной к его концу спороплазмой, иногда треугольной формы. Полярная нить всегда одна (рис. 1 и 3).

Такие морфологические признаки спор, как форма их и размеры, определенное соотношение длины и ширины спор, при котором длина их всегда меньше утроенной ширины, позволяют отнести наших микроспоридий к семейству *Nosematidae*. Споры изолированы друг от друга и не

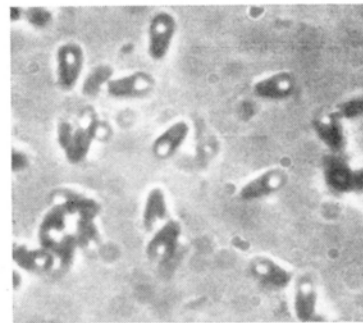


Рис. 2. Живые неокрашенные споры *N. diplostomi*. Микрофотография. $\times 1600$.

Таблица 2

Сравнительные данные по микроспоридиям рода *Nosema*, обнаруженным у трематод и рыб

Виды микроспоридий	Хозяин	Распространение	Размер спор (в мк)	Длина полярной нити (в мк)	Форма спор
Т р е м а т о д ы					
<i>Nosema distomi</i> Lutz et Splendore, 1908	В желточниках половозрелых <i>Glyptelmins</i> sp. (<i>Distoma linguatula</i> Rudolphi 1819) из кишечника амфибии <i>Bufo marinus</i>	Бразилия	2 × 0.8—1.0	—	Овальная
<i>N. legeri</i> , Dollfus, 1912	Метацеркарии <i>Gymnophallus strigatus</i> из моллюска <i>Donax vittatus</i> , <i>Mytilus edulis</i>	Франция	5 × 2.5	—	Овальная
<i>N. echinostomi</i> Brumpt, 1922	Редии, церкарии и метацеркарии сем. <i>Echinostomatidae</i> у моллюска <i>Limnaea limosa</i>	»	5	—	Эллипсоидная
<i>N. spelotremae</i> Guyenot, Naville et Ponse, 1925	Метацеркарии <i>Spelotrema carcini</i> у саккулины <i>Carcinus meanas</i> (L)	Швейцария	3.5 × 1.5	—	Овальная
<i>N. encyclometrae</i> Guyenot et Naville, 1924	Марита <i>Encyclometra bolognensis</i> из кишечника ужа <i>Tropidonotus natrix</i>	Европа	3—3.5	50—70	Овальная
<i>Nosema</i> sp. Schaller, 1959	Спороцисты, редии, церкарии 4 видов трематод моллюска <i>Tropidiscus planorbis</i> (L)	ГДР	2.3—3.4 × 1.1—1.5	—	Овальная
<i>N. dollfusi</i> Sprague, 1964	Спороцисты <i>Bucephalus cuculus</i> у моллюска <i>Crassostrea virginica</i> (Gmelin)	США	3 × 1.7	—	Овальная
<i>Nosema</i> sp. Cort, Hussey and Ameal, 1960	Спороцисты и церкарии 12 видов стригейдид у 10 видов пресноводных моллюсков	США	4.9 × 3	100	Овальная или грушевидная

Таблица 2 (продолжение)

Виды микроспоридий	Хозяин	Распространение	Размер спор (в мк)	Длина полярной нити (в мк)	Форма спор
<i>Nosema</i> sp. Ginecinskaja, 1968	Спороцисты и церкарии <i>Xiphidiocercaria</i> sp. у моллюска <i>Limnaea stagnalis</i>	СССР	—	—	—
<i>N. diplostomi</i> sp. n.	Метацеркарии рода <i>Diplostomum</i> у 9 видов пресноводных рыб	СССР	3.5 × 1.8	44	Грушевидно-овальная
Рыбы					
<i>Nosema branchialis</i> Nemecek, 1911 . . .	<i>Gadus aeglefinus</i> , <i>G. callarias</i>	Австрия, Канада, СССР	6.3 × 3.5	90	Овальная
<i>N. girardini</i> Lutz and Splendore, 1908	<i>Girardinus caudimaculatus</i>	Бразилия	2—2.5 × 1—1.5	—	Грушевидная
<i>N. pimephales</i> Fantham, Porter and Richardson, 1941	<i>Pimephales promelas</i>	Канада	3.8—4.4 × 1.9—3.3	70—90	Овальная
<i>N. lophii</i> Doflein, 1898 (Schäperclaus, 1954)	<i>Lophius budegassa</i> , <i>L. spinola</i> , <i>L. piscatorius</i>	Средиземное море, Ла Манш	5 × 2.5 или 3.5 × 1.5	—	Банановидная
<i>N. cotti</i> Chatton and Courrier, 1923 (Schäperclaus, 1954)	<i>Cottus bubalis</i>	Франция	8—10	—	Овальная
<i>N. ovoideum</i> Thelohan 1895 (Schäperclaus, 1954)	<i>Motella tricirrata</i> , <i>Cepola rubescens</i>	Средиземное море	2.5 × 1.5	—	—
<i>N. fennica</i> Lom and Weiser, 1969 . . .	<i>Silurus glanis</i>	Финляндия	6.8—8.1 × 2.5—3	—	Овальная
<i>N. tisaе</i> Lom and Weiser, 1969	<i>Silurus glanis</i>	Венгрия (р. Тисса)	4—5 × 2.2—2.6	—	Овальная
<i>N. anomala</i> (Moniez 1887) Gurley, 1893	<i>Pungitius pungitius</i> , <i>Gasterosteus aculeatus</i> , <i>Gobius minutus</i>	Страны Европы, США (Аляска)	3—6 × 1.5—2	150	Яйцевидная

образует скопления, ограниченных мембраной. Это доказывает принадлежность данной микроспоридии к роду *Nosema*.

П а т о г е н е з. Пораженные метацеркарии несколько увеличиваются в размере, становятся непрозрачными и погибают.

Д и ф ф е р е н ц и а л ь н ы й д и а г н о з. Известно, что некоторые микроспоридии — высоко специфичные паразиты в отношении к хозяину (Kudo, 1924; Weiser, 1961; Исси, 1968; Гинецинская, 1968), поэтому наряду с морфологическими показателями важным видовым критерием является и приспособленность микроспоридий паразитировать в определенном хозяине или круге хозяев. Мы считаем необходимым провести сравнение *N. diplostomi* с другими известными представителями этого рода,

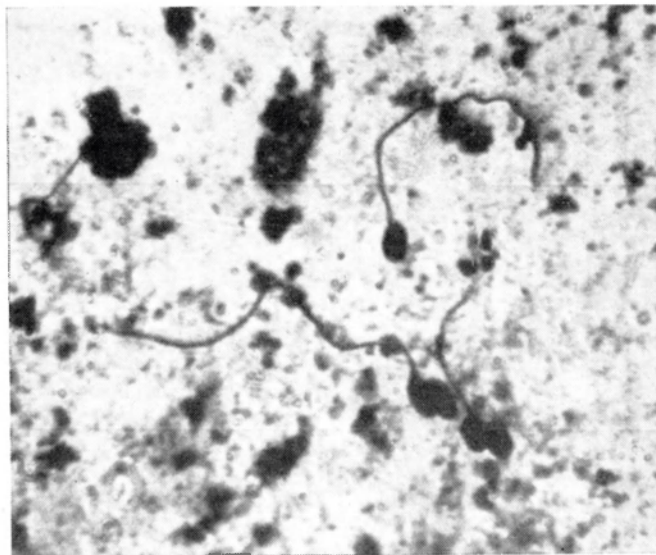


Рис. 3. Споры с выброшенной полярной нитью. Импрегнация серебром. Микрофотография. $\times 1250$.

паразитирующими у трематод, а также сравнить этого паразита с микроспоридиями рыб (табл. 2).

У рыб известно 9 видов рода *Nosema*; все они резко отличаются от *N. diplostomi* как по морфологическим признакам, так и по приспособленности их к своим хозяевам. Сравнение морфологических признаков *N. diplostomi* с другими представителями этого рода, паразитирующими у трематод, показывает, что между ними имеются различия в форме и размерах спор, длине полярной нити. По размеру спор описанный нами вид ближе всего стоит к *N. spelotremae* из инцистированных метацеркарий *Spelotrema carcini* из саккулины (Dollfus, 1946). Однако споры *N. diplostomi* имеют слабо грушевидную форму и большую ширину. Хозяева сравниваемых видов принадлежат к разным типам.

Таким образом, сравнение *N. diplostomi* с другими ноземами из трематод и рыб показывает, что обнаруженная нами нозема является новым видом. Видовое название дано по хозяину, в котором паразитирует эта микроспоридия.

Л и т е р а т у р а

- Г и н е ц и н с к а я Т. А. 1968. Трематоды, их жизненный циклы, биология и эволюция. Изд. «Наука», Л. 261—263.
- И с с и И. В. 1968. Микроспоридии, регулирующие численность вредных насекомых. Тр. Всесоюз. н.-иссл. инст. защиты раст., 31 : 300—330.
- С а n n i n g E. U. and B a s c h P. F. 1965. A microsporidian hyperparasite of trematode larvae from Malaysian snails. Progress in Protozoology. London. Intern. Congress series, 91 : 71.

- Cort W. W., Hussey K. L. and Ameel D. J. 1960. Studies on microsporidian hyperparasite of Strigeoid trematodes. J. Parasitol., 46 (3) : 317.
- Dissona A. S. 1957. On protozoa hyperparasitic in helminths with some observation on *Nosema helminthorum* Moniez, 1887. J. Helminth., 31 : 47—64.
- Dollfus R. Ph. 1946. Parasites des helminthes. Encyclopedie biologique, 27 : 16—27.
- Fantham H. B., Porter and Richardson L. B. 1941. Some microsporidia found in certain fishes and insects in eastern Canada. Parasitology, 33 (2) : 186—208.
- Kudo R. R. 1924. A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. Illin. Biol. Monogr., 9 (2—3) : 268.
- Lom J. and Weiser J. 1969. Notes on two microsporidian species from *Silurus glanis* and on the Systematic status of the genus *Glugea* Thelohan. Folia Parasitologica (Praha), 16 (3) : 193—200.
- Martin W. E. 1936. A sporozoan parasite of larval trematodes. J. Parasitol., 22 : 536.
- Putz R. E., Hoffman G. L. and Dunbar C. E. 1965. Two new species of *Plistophora* (Microsporides) from North American Fish with a synopsis of Microsporidia of Freshwater and Euryhaline fishes. J. Protozool., 12 (2) : 228—236.
- Schäller G. 1959. Microsporidienbefall und Degenerationserscheinungen der Trematodenlarven im Zwischenwirt (*Tropidiscus planorbis*). Z. wiss. Zool. A., 162 (1—2) : 144—190.
- Schäperclaus P. W. 1954. Fischkrankheiten. 3 Auflage, Berlin : 1—708.
- Sprague V. 1964. *Nosema dollfusi* n. sp. (Microsporidia, Nosematidae) a hyperparasite of *Bucephalus cuculus* in *Crassostrea virginica*. J. Protozoology, 11 (3) : 381—385.
- Weiser J. 1961. Die Microsporidien als Parasiten der Insekten. Monographien zur angewandten Entomologie, 17. Hamburg—Berlin : 149.

NOSEMA DIPLOSTOMI SP. N. (MICROSPORIDIA : NOSEMATIDAE),
A HYPERPARASITE OF TREMATODES OF THE GENUS DIPLOSTOMUM

N. G. Shigina and O. F. Grobov

S U M M A R Y

A new microsporidia, *Nosema diplostomi*, is described from metacercariae of the genus *Diplostomum*. These trematodes are common parasites of freshwater fishes injuring the crystallines of eyes.

Amoebulae, schizonts, sporonts, sporoblasts and spores were discovered. Spores are pyriform, 3.5 mk in length and 1.8 mk in width. The polar filament reaches 44 mk.