

**ТРИХОМОНАДЫ ГРЫЗУНОВ: МОРФОЛОГИЯ,
ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ И НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ
ЭКОЛОГИИ (POLYMASTIGINA)****3. Селюкайте**

Лаборатория клеточных адаптаций и экзобиологии Института цитологии АН СССР,
Ленинград

Сравнительное исследование морфологических особенностей показало, что в кишечнике мышей, крыс, полевок и сусликов паразитирует один вид жгутиконосцев рода *Trichomonas* — *T. muris*. Жизненный цикл *T. muris* включает три четко отличающиеся по морфологическим признакам стадии: трофонты, псевдоцисты и цисты. Процесс превращения псевдоцист в цисты осуществляется постепенно и протекает полностью во внешней среде.

Распространение *T. muris* в природе осуществляется частично за счет псевдоцист, а главным образом за счет цист, переживающих продолжительное время (до 6 мес. и более) во внешней среде, в условиях смены температуры и других факторов.

Среди многочисленных видов эндопаразитических простейших грызунов наиболее широко распространены жгутиконосцы рода *Trichomonas*, а из них чаще других видов встречается *T. muris*. Трофонты этих жгутиконосцев населяют просвет сильно развитого у грызунов слепого отростка кишечника и принадлежат к числу непатогенных видов.

Жизненный цикл *T. muris* изучен еще далеко не полно. Из стадий его лучше всего изучены трофонты (Daniel et al., 1974). Наиболее слабо изучены стадии, развитие которых протекает во внешней среде и за счет которых происходит распространение жгутиконосцев. В литературе имеется еще очень немного сведений о специфичности *T. muris* по отношению к хозяину, о путях распространения этого вида в природе, о составе видов рода *Trichomonas*, паразитирующих в кишечнике разнообразных грызунов.

Поэтому в число задач настоящего исследования входило: 1) уточнить видовую принадлежность трихомонад, паразитирующих у разных видов; 2) детально исследовать особенности морфологии всех стадий жизненного цикла *T. muris*; 3) изучить формы существования *T. muris* во внешней среде и особенно процесс образования цист.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Изучение жизненного цикла *T. muris* проводилось как на живом, так и на фиксированном материале. Для фиксации мазков применялись смеси Карнуа и Ниссенбаума. Мазки окрашивались железным гематоксилином Гейденгайна, галлоцианином, по методу Романовского-Гимза и Фельгена. Применялась также реакция ШИК с ферментативным контролем и окраска альциановым синим для определения мукополисахаридов.

С целью наблюдений над стадиями развития трихомонад во внешней среде проводились длительные опыты, в которых необходимо было проверить, при каких условиях происходит образование цист и в какой

форме эти жгутиконосцы переживают вне организма хозяина. Целью этих опытов было также выяснение, какие стадии жизненного цикла наиболее инвазионны для хозяина, как происходит распространение жгутиконосцев во внешней среде и насколько устойчивы разные стадии цикла к температуре и другим факторам окружающей среды.

С целью изучения времени переживания цист и условий их сохранения во внешней среде в природной обстановке, цисты в сухих фекалиях мышей в период экспериментов хранились как при комнатной температуре, так и при $+4^{\circ}$. Часть цист замораживалась на длительный срок (3—6 мес.) при -4° с целью изучения их устойчивости к относительно низкой температуре, характерной для поздней осени, части зимы и ранней весны. Наблюдения над состоянием цист во внешней среде производились ежедневно. Жизнеспособность цист устанавливалась по экскретированию их в растворе Рингера с добавлением в него желчи и трипсина (на 25 мл раствора Рингера 3—4 капли 0.25%-го трипсина и 1—2 капли медицинской желчи).

Основным объектом исследования служили *T. muris* из белых мышей, но наряду с ними тщательному анализу подвергались и трихомонады серых мышей, крыс, золотистых хомячков, полевок (*Microtus arvalis* и *M. gregalis*) и сусликов (*Citellus* sp.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Трофонты *T. muris* (рис. 1, А) образуют многочисленные популяции в слепой кишке разнообразных видов грызунов. В других отделах кишечного тракта также можно обнаружить трихомонад, но ни пищевод и желудок, ни тонкий или толстый кишечник не служат местом постоянной их ло-

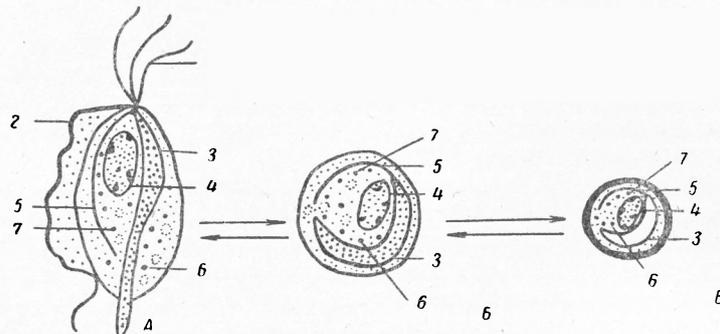


Рис. 1. Жизненный цикл *T. muris*. Трофонт (А), псевдоциста (Б), циста (В).

1 — жгуты, 2 — ундулирующая мембрана, 3 — аксостиль, 4 — ядро, 5 — коста, 6 — паракостиллярные гранулы, 7 — паракостальные гранулы. Окраска железным гематоксилином по Гейденгайну. Увел. 90×20 .

кализации. Наиболее многочисленные популяции, насчитывающие сотни тысяч особей, встречаются у белых и серых мышей, хомячков и полевок. У белых и серых крыс, у сусликов популяции менее многочисленны. Свыше 90% грызунов каждого из этих видов заражены трихомонадами. В состав популяций трихомонад, занимающих просвет слепого отростка на всем его протяжении, входят трофонты, которые периодически делятся обычно 1—2 раза в сутки. Зрелые трофонты — это та стадия индивидуального развития трихомонад, по которой проводится определение их видов.

С целью определения видовой принадлежности трихомонад, паразитирующих у белых и серых мышей, у крыс, полевок, сусликов и хомячков, было проведено детальное сравнительное изучение морфологии трофонтов из всех этих видов хозяев. Типичным видом для мышей и крыс считается *T. muris*, и именно с ним проводилось сравнение трихомонад, паразитирующих у других хозяев.

Основными чертами морфологии трофонтов *T. muris* можно считать следующие. Форма тела овальная, задний конец сильно вытянут. Длина тела 16—20 мкм и вариации ее довольно однотипны у трихомонад из разных видов хозяев. Примером различий вариации длины и ширины тела могут служить трихомонады из белых мышей и хомяков, у которых эти различия выражены наиболее заметно, как это следует из таблицы.

Размеры трофонтов *Trichomonas muris* из белой мыши и хомяка (в мкм)

| Хозяин | Вариации длины | Средняя длина | Вариации ширины | Средняя ширина |
|----------------------|----------------|---------------|-----------------|----------------|
| Белая мышь | 14.0—19.3 | 16.3±1.7 | 7.0— 8.8 | 7.5±0.7 |
| Хомяк | 15.8—22.8 | 18.6±2.1 | 7.0—10.5 | 9.1± 1.2 |

От переднего конца тела отходит 4 жгута и им соответствует 4 базальных тельца, расположенных в эндоплазме; продолжением базальных телец служат так называемые корневые отростки или нити, идущие в глубь эндоплазмы. Три свободных жгута короткие и представляют основные органоиды движения, а четвертый жгут проходит по наружному краю ундулирующей мембраны, которая расположена вдоль тела. На заднем конце от того места, где прикрепляется ундулирующая мембрана, часть этого жгута свободно выходит за пределы тела (рис. 1, А).

По средней линии тела, в эндоплазме, расположен аксостиль, задний конец которого выдается наружу. Ядро вытянутой овальной формы. Длина его около 4.5 и ширина — 1.8 мкм. Расположено ядро в переднем конце тела.

Четко выраженного цитостома у *T. muris* нет. Питание происходит путем фагоцитоза и пищей служат бактерии, которых можно легко обнаружить в пищеварительных вакуолях, находящихся в эндоплазме.

Сопоставление морфологических особенностей трихомонад, паразитирующих у мышей, крыс, полевок, сусликов и хомяков, дает возможность сделать заключение о том, что у всех этих грызунов в кишечнике обитает один и тот же вид — *T. muris*.

Жизненный цикл *T. muris* протекает однотипно у всех видов грызунов, и смены хозяев в нем не происходит. Поэтому основные наблюдения проведены над жизненным циклом *T. muris* из белых мышей и опыты с ними поставлены в условиях лаборатории. Трофонты, находящиеся в составе популяции в слепом отростке кишечника, регулярно размножаются и часть их постоянно выводится во внешнюю среду вместе с фекалиями. Прохождению их по кишечнику способствует его перистальтика, и трофонты вместе с пищей, а также с помощью жгутов и ундулирующей мембраны продвигаются по направлению к прямой кишке.

В конечном отделе толстой кишки трофонты округляются, отбрасывают жгуты и покрываются довольно толстой и рыхлой прозрачной оболочкой. При этом все органоиды цитоплазмы, а также ундулирующая мембрана, меняют свое положение и концентрируются внутри оболочки. Процесс формирования такой оболочки заканчивается в прямой кишке. Результаты окраски альциановым синим и реакции ШИК показывают, что оболочка состоит в основном из кислых мукополисахаридов. Заключенный в прозрачную слизистую оболочку жгутиконосец сохраняет активные движения цитоплазмы, в которой отчетливо видны пищеварительные вакуоли.

Следовательно, перед выходом во внешнюю среду трофонты *T. muris* превращаются в инцистированные формы, морфологически сильно от них отличающиеся. Однако эти формы не могут быть названы цистами, так как от истинных цист они отличаются наличием только рыхлой слизистой оболочки и активным движением жгутиконосца внутри нее. Такие инцистированные жгутиконосы получили название псевдоцист (рис. 1, Б). В форме псевдоцист трихомонады и выводятся во внешнюю среду.

Довольно часто во внешнюю среду вместе с фекальными массами выводятся не псевдоцисты, а трофонты, которые в течение первых нескольких часов пребывания вне организма хозяина превращаются в псевдоцисты округлой формы. Диаметр псевдоцист, сконцентрированных в фекальных массах прямой кишки, т. е. перед самым выходом во внешнюю среду, достигает 9 мкм.

Длительные наблюдения над псевдоцистами, находящимися в фекалиях мышей, показали, что они представляют лишь переходную форму между трофонтами и настоящими цистами. Находясь во внешней среде, псевдоцисты претерпевают целый ряд изменений, приводящих к превращению их в настоящие, или истинные цисты. Эти изменения заключаются в том, что из цитоплазмы псевдоцист исчезают пищеварительные вакуоли, так как бактериальная пища, содержащаяся в них, полностью утилизируется. Цитоплазма теряет значительную часть воды, прекращаются активные движения, клетка уменьшается в размерах и сильно уплотняется внешняя оболочка, приобретая темную окраску (рис. 1, В). Диаметр цист равен 6.5—7 мкм, снаружи они покрыты плотной темной оболочкой, состоящей в основном из мукополисахаридов в соединении с белками.

Следовательно, в жизненном цикле *T. muris* имеется три стадии, морфологически отличающиеся друг от друга: трофонты, псевдоцисты, истинные цисты.

Во внешней среде при соответствующих условиях температуры и влажности цисты сохраняются в течение довольно длительного времени (до 4 и больше месяцев). Важно то, что в цистах в течение всего времени существования во внешней среде не происходит каких-либо морфологических изменений, в частности не происходит процессов деления. Это означает, что цисты *T. muris* представляют собой типичные цисты покоя, которые свойственны многим другим видам простейших. Превращение псевдоцист в цисты в условиях внешней среды происходит постепенно. Трофонты и псевдоцисты, выведенные из организма хозяина вместе с фекалиями, по мере высыхания фекалий превращаются в цисты, причем этот процесс может длиться в течение 2—4 недель. При комнатной температуре (20—22°) 100% цист, находящихся в фекалиях, остаются живыми и сохраняют жизнеспособность в течение 3 мес. Через 4 мес. погибает до 50% цист.

Срок переживания цист значительно увеличивается при пониженных температурах: при 4° 100% цист выживает свыше 6 месяцев. Цисты трихомонад устойчивы и к переохлаждению при отрицательных температурах, а также к замораживанию. При —4°, в переохлажденном состоянии, цисты переживают свыше 4 месяцев.

Поскольку из организма хозяина вместе с фекалиями выводятся и трофонты, и псевдоцисты, а во внешней среде происходит образование цист, возникает вопрос о том, все ли эти формы трихомонад способны заражать грызунов в одинаковой степени. Для того чтобы выяснить это, было проведено детальное обследование всех участков пищеварительного тракта белых мышей на наличие в них трихомонад. Результаты проведенной работы суммированы в форме диаграммы (рис. 2).

Небольшое количество трофонтов (около 1%) было обнаружено в желудке мышей, и этот факт свидетельствует о возможности заражения их не только цистами и псевдоцистами, которых в желудке содержится до 10%, но и трофонтами. Кроме того, в желудке под влиянием ферментов желудочного сока начинаются процессы инцистирования трихомонад. Поэтому уже в начальной части тонкого кишечника трофонтов содержится значительно больше, т. е. до 15%, а количество инцистированных форм уменьшается до 5%. Инцистирование полностью заканчивается в конечном отделе тонкого кишечника, где инцистированные формы уже не встречаются.

Далее активные формы трихомонад продвигаются по направлению слепого отростка толстой кишки вместе с пищей за счет перистальтики

кишечника, а также движутся и самостоятельно с помощью жгутов и ундулирующей мембраны. В слепом отростке кишечника трихомонады задерживаются, начинают размножаться и формируется многочисленная популяция, состоящая из активных трофонтов и делящихся особей. Образование псевдоцист в слепом отростке не происходит. Часть трофонтов постоянно выводится из слепого отростка в толстую кишку, в конечном отделе которой происходит образование псевдоцист. В этом участке кишечника локализуются и трофонты, и псевдоцисты. Отсюда обе формы трихомонад проходят в прямую кишку, где большинство трофонтов превращается в псевдоцисты. Остается небольшое количество (около 1%)

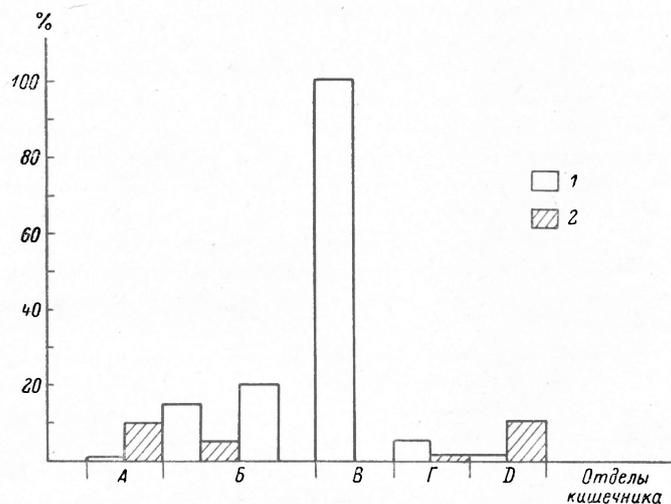


Рис. 2. Распределение трофонтов (1) и инцистированных форм (2) *T. muris* в разных отделах кишечника белых мышей (в %).

А — желудок, Б — тонкий кишечник, В — слепая кишка, Г — толстая кишка, Д — прямая кишка.

трофонтов, которые выводятся во внешнюю среду и либо могут вновь служить источником заражения других мышей, либо превращаться сначала в псевдоцисты, а затем в цисты.

ОБСУЖДЕНИЕ

Жгутиконосцы рода *Trichomonas* встречаются в кишечнике практически всех видов грызунов, но до сих пор еще нет вполне ясного представления о том, один или несколько видов их паразитирует у разных хозяев (Wantland, 1956; Chakraborty et al., 1964). Наиболее спорным считается вопрос о видовой принадлежности трихомонад из кишечника хомяков. В одной из работ последнего времени эти трихомонады названы также *T. muris* вместо *T. criceti*, так как морфологически они идентичны трихомонадам мышей и крыс (Daniel et al., 1974).

На основании полученных в этой работе данных можно предполагать, что у мышей, крыс, полевок, сусликов и хомяков паразитирует один и тот же вид трихомонад — *T. muris*. Трихомонады из всех пяти видов хозяев действительно одинаковы по особенностям морфологии, вариации размеров их невелики (см. таблицу), псевдоцисты и цисты одинаковы по морфологическим особенностям и размерам. Кроме того, в природных условиях, так же как и в условиях лаборатории, вполне возможно перекрестное заражение грызунов одних видов инцистированными формами трихомонад от других видов грызунов.

Изучение содержимого кишечного тракта белых мышей, полевок, хомяков показало, что трихомонады распространены по всей его длине и в разных отделах, соотношение между инцистированными формами и трофонтами различно. Наличие небольшого числа трофонтов в желудке

наводит на мысль о возможности заражения грызунов не только инцистированными формами, но и активными трофонтами. Заражение трофонтами возможно лишь в том случае, когда вместе с пищей в желудок попадают свежие фекалии, в которых содержатся трофонты. Основным местом эксцистирования псевдоцист и цист служит тонкий кишечник. В осуществлении процессов эксцистирования большая роль принадлежит ферментам хозяина, и в первую очередь трипсину, а также ферментативной активности желчи. Именно при воздействии желчи завершается эксцистирование.

Поскольку в прямой кишке встречаются только псевдоцисты и очень небольшое число трофонтов, а истинных цист не встречается совсем, можно сделать заключение о том, что у *T. muris* цисты, аналогичные во своему строению цистам других простейших, в организме хозяина не образуются. Наличие псевдоцист и довольно длительный процесс формирования цист во внешней среде составляют одну из отличительных черт жизненного цикла *T. muris*. Вероятно, благодаря этой особенности формирования цист они до сих пор не были известны для *T. muris*. В литературе существует лишь описание псевдоцист, обнаруженных в свежих фекалиях грызунов, преимущественно мышей, и известно, что во внешнюю среду могут выводиться и трофонты. У других видов трихомонад во внешней среде известны также только трофонты и псевдоцисты (Bartunek and Schultze, 1972).

В последнее время появились очень интересные и важные данные о процессе формирования цист во внешней среде у таких паразитических жгутиконосцев, как *Trichomitus batrachorum*, *T. sanguisugae* и *Monocercomonas tipulae*. (Brugerolle, 1973). Образование сначала псевдоцист, а затем постепенно превращение их в цисты во внешней среде и морфология этих жгутиконосцев сходны с такими же особенностями цист *T. muris*.

Псевдоцисты и цисты — это те стадии жизненного цикла *T. muris*, которые в течение длительного времени (цисты до 6 и более месяцев) способны существовать во внешней среде. Поскольку трофонты, выведенные из организма хозяина, переживают лишь короткое время (до нескольких суток) в свежих фекалиях мышей, распространение *T. muris* в природе осуществляется частично за счет псевдоцист, а главным образом за счет цист, переживающих продолжительное время в условиях внешней среды. В кишечник грызунов и трофонты, и инцистированные формы попадают вместе с пищей, куда легко может попасть вместе со свежими или сухими фекалиями любая из стадий жизненного цикла *T. muris*.

Литература

- Bartunek Y. a. Schultze M. 1972. Trichomonas vaginalis Methodik der Diagnostik und Untersuchungsergebnisse. Hautarzt, 23 (8) : 368—370.
- Brugerolle Guy. 1973. Sur l'existence de vidis kystes chez les trichomonadines intestinalis. Ultrastructure des kystes de Trichomitus batrachorum Perty 1852, Trichomitus sanguisugae Alexceff 1911 Monocercomonas tipulae Mackinnon 1910. C. r. Acad. sci., D 277 (20) : 1293—1296.
- Chakraborty J. Das Gupta N. N. a. Ray H. N. 1961. An electron microscope study of the Trichomonas criceti. Cytologia, 26 : 320—326.
- Daniel W. A., Mattern C. F. T. a. Honigberg B. M. 1971. The Structure of the Mastigont system in Trichomonas muris (Grassi). J. Protozool., 18 (4) : 575—586.
- Wantland W. W. 1956. Trichomonads in the golden hamster. Trans. Ill. Acad. Sci., 48 : 197—201.

TRICHOMONAS OF RODENTS : MORPHOLOGY, LIFE CYCLE, SOME
ECOLOGICAL PECULIARITIES (Polymastigina)

Z. Selukaite

S U M M A R Y

Some morphological and cytochemical methods were applied to the study of the life cycle of *Trichomonas* parasitizing the intestine of various rodents. The comparative study of trophonts morphology showed that the only species of the genus *Trichomonas* — *T. muris* inhabits the intestine of mice, rats, field-voles, hamsters and susliks.

The life cycle of *T. muris* includes three morphologically different stages : trophonts, pseudocysts and cysts.

The pseudocysts and cysts are the infectious stages of *T. muris*. All rodents ingest them together with their food. The cysts of *T. muris* can survive for a long time (6 months and more) in the environment under the conditions of various temperature and humidity.
