

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ КУТИКУЛЫ
ФИТОНЕМАТОДЫ *APORCELAIMELLUS OBTUSICAUDATUS*
ПРИ МЕХАНИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

Ю. М. Рюнтю, Г. И. Соловьева

Институт биологии Карельского филиала АН СССР,
Петрозаводск

Исследовано тонкое строение кутикулы *A. obtusicaudatus* (*Dorylaimidae*) при экспериментальном прободении тела. Механическое повреждение вызывает расслоение кутикулы с выявлением тонофибриллярной взаимосвязи между ее структурами. Наибольшая прочность на разрыв обнаружена у кортекса и базального слоя. Выявлены особенности динамики разрушения структур в зависимости от удаления от места прободения. Намечен перспективный подход к определению функциональной нагрузки отдельных кутикулярных слоев.

Возрастающий интерес вызывает изучение структуры и функции покровов — естественного биологического барьера, защищающего нематод от ядохимикатов. В связи с освоением осушенных торфяников, где сем. *Dorylaimidae* является субдоминантом, определение их микроструктур представляется особенно важным (Соловьева и др., 1976). С этой целью мы продолжили изучение покровов типичного пара-ризобионта *Aporcelaimellus obtusicaudatus* (Bastian, 1865; Altherr, 1968), тяготеющего к сапробиосу (Соловьева, 1972). Образ жизни и тип питания у этого вида определяются, в частности, особенностями полупроницаемости покровов. Известно, что наименьшие показатели полупроницаемости характеризуют именно пара-ризобионтов из подкласса афазмидиевых (*Adenophorea*), в том числе и дорилэймин (Парамонов, 1962). Предыдущие исследования показали, что кутикула срединной области тела взрослых особей *A. obtusicaudatus* образована 3 слоями: 1) кортексом, который дифференцируется на внутренний и наружный кортекс; 2) срединным слоем из фиброзных лент и 3) базальным слоем, состоящим из системы разнообразных канальцев. В состав третьего слоя входит пористая базальная пластинка, служащая местом прикрепления мышечных фибрилл. Все слои кутикулы пронизаны сетью канальцев и пор (Соловьева, Рюнтю, 1976). Однако недостаток сведений о строении кутикулы препятствует выявлению функциональной взаимосвязи между отдельными слоями. С целью уточнения особенностей строения кутикулярных структур и их функциональной нагрузки проведено экспериментальное разрушение кутикулы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В эксперименте использованы половозрелые самки *A. obtusicaudatus*. Целостность покровов нарушали неглубокими насечками лезвием опасной бритвы. Разрушение кутикулы срединной области тела проводили в 3%-ном глутаральдегиде на 0.1 м какодилатном буфере (рН 7.4) с последующей фиксацией 1%-ной окисью осмия, или 4%-ном глутаральдегиде на 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.2) и 1%-м акролеине (5 частей) с 20%-ным диметилсульфоксидом (I часть). Дегидратацию проводили в спиртах

возрастающей концентрации и завершали в окиси пропилена с использованием способа, разработанного на основе предложенного нами аппарата (Рюнтю, Соловьева, 1978а, б). Контрастирование выполняли в 100%-ном спирте фосфорновольфрамовой кислотой (Brody, 1959) и в 70%-ном спирте — уранилацетатом (Wohlfart-Bottermann, 1957). Заливали в метакрилаты и эпон 812. Для уточнения ориентации участка среза кусочки тканей перезаливали (Wright, Jones, 1965; Rosenbluth, 1967). В ряде случаев использовали модификацию заливки в смолы (Hayat, Giacinta, 1970). Блоки резали на УМТП-2 и ЛКВ-III. Среды монтировали на медные сетки с формваровой пленкой, просматривали и фотографировали на Tesla BS 613 и Jem 5G. При недостаточном контрасте проводили дополнительное окрашивание срезов цитратом свинца (Reynolds, 1963).

В процессе работы особое внимание уделяли анализу повреждений кутикулярных структур в зависимости от удаления от места разрушения (100, 200, 300, 400 и 800 мкм).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При экспериментальном прободении тела нематоды имеет место своеобразный тургорный «микровзрыв». Процесс разрушения ведет к расщеплению кутикулярных слоев на отдельные структурные конгломераты (рис. 1). Смещение тургорного равновесия не только нарушает целостность кожно-мускульного мешка, но и способствует выщеплению промежуточных кутикулярных зон в кортексе и срединном слое. Базальный слой утрачивает связь со срединным слоем. Идет активное разрушение поверхностных структур базального слоя. Однако базальная пластинка не претерпевает столь сильных изменений и сохраняет прочную связь с мышцами, предохраняя их от разрушения. По мере удаления от места повреждения (800 мкм) распределение структур в кутикуле приобретает нормальное состояние (рис. 2; рис. 1—9, см. вкл.).

Остановимся более подробно на характере разрушений структур у отдельных кутикулярных слоев.

Кортекс — самый поверхностный слой кутикулы (рис. 2). В нем можно выделить две зоны: наружный и внутренний кортекс. Наружный кортекс граничит с внешней средой, внутренний подстилает его. Наружный кортекс содержит более электронноплотное вещество, чем внутренний. Каждая из зон дифференцируется на сегменты, разделенные извилистыми кортикальными канальцами. В области перехода наружного кортекса во внутренний лежит канальцевая пора.

При механическом разрушении целостность кортекса нарушается в ограниченной области повреждения. Разрушение кутикулярных сегментов характеризуется размыванием зон кортекса (рис. 1). Под действием тургорного давления часть вещества выбрасывается за пределы тела червей. В значительной степени повреждается трехслойная кортикальная мембрана (рис. 4). Края ее становятся размытыми и дифференцируются на электронноплотные нитевидные структуры (тонофибриллы). Однако прилегающие к зоне разрушения сегменты сохраняют свою структурную организацию. Канальцы сегментов заполнены электронноплотными гранулами (рис. 1, 3). В ряде случаев (удаление 100 мкм) просветы пор увеличены и лишены гранул, что вызвано выбросом содержимого за пределы кутикулы в процессе «микровзрыва» (рис. 4). На уровне внутреннего кортекса канальцы ветвятся и переходят в срединный слой (рис. 2, 3).

Разрушение срединного слоя сопровождается выщеплением промежуточных зон. Фиброзные ленты отрываются и размещаются хаотично (рис. 1). Тонифибриллярные структуры первой промежуточной зоны уплотнены (рис. 2, 3). Сеть кортикальных канальцев, выщепляющихся под углом на уровне первой промежуточной зоны в основании крепления фиброзных лент, разрушена (рис. 3). Вещество лент раздроблено, поэтому ленты выглядят как «членистые» структуры. Мелкозернистые электронно-

плотные нитевидные образования являются остатками тонофибриллярных стенок кутикулярных канальцев, лежащих между фиброзными лентами (рис. 3, 4). Тонкофибриллярные нити промежуточных зон распределены параллельно основанию кортикальных сегментов и при разрушении образуют беспорядочную тонофибриллярную сеть (рис. 4). В ряде случаев фиброзные ленты плотно прижимаются к основанию внутреннего кортекса. Промежуточная зона сжимается и начинает выдавливать кортикальные сегменты. Размеры пор увеличиваются (рис. 5). Идет расширение просветов кортикальных канальцев. Однако вслед за выбросом их содержимого за пределы кутикулы (рис. 1, 4) просветы канальцев (удаление 200 мкм) забиваются тонофибриллярным материалом промежуточной зоны (рис. 6). При особо сильном повреждении кортикальные сегменты вытягиваются. Поперечное сжатие сегментов вызывает ломку поверхностной кортикальной мембраны (рис. 7). В срединном слое кутикулярной области, подвергшейся меньшему разрушению (удаление от места повреждения 300 мкм), удается выявить три основных типа тонофибриллярного крепления фиброзных лент: 1) лентовидные образования первого и второго рядов не срослены; 2) к одной ленте примыкают две самостоятельные ленты другого ряда; 3) ленты двух рядов срослены и расположены перпендикулярно к базальной пластинке (рис. 8, 9).

Разрушение базального слоя сопровождается отрывом промежуточной зоны. Ветвящиеся в ней каналы увеличиваются в объеме. Сетчатые прокладки расщепляются и дифференцируются. Просветы канальцев увеличиваются. В области прободения сохраняется прочная связь базального слоя с базальной пластинкой (рис. 1). В участках, удаленных от места разрушения (около 400 мкм), базальный слой не претерпевает структурных изменений (рис. 8). В слое 7 сетчатых прокладок с упорядоченными призматическими канальцами и 7 плотных прокладок, очевидно, также включающих канальцы (рис. 8, 9), между прокладками отчетливо различимы пузырчатые зоны. Упорядоченные канальцы сетчатых прокладок расположены перпендикулярно к базальной пластинке. Друг к другу они параллельны. В каждом канальце, образующем прокладку, возможно выделить электроннопрозрачный осевой стержень и более плотную зону — стенку (рис. 2, 8, 9). По мере приближения к области «микровзрыва» просветы каналов базального слоя увеличиваются (рис. 8, 9).

Базальная пластинка лежит под базальным слоем и служит пограничным образованием, отделяющим кутикулу от гиподермы и соматической мускулатуры. В пластинке обрываются крупные каналы, открывающиеся в вещество гиподермы и мускулатуры. Вещество базальной пластинки соответствует плотности промежуточных зон (рис. 2). При разрушении кутикулы в базальной пластинке наблюдается увеличение просвета канальцев (рис. 9). В области прободения сохраняется прочная связь с базальным слоем и мышцами (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Тонкое строение кутикулы различных *Dorylaimina* подтверждает предположение Беда (Bird, 1971) о едином трехслойном строении покровов известных фитонематод. Наиболее подробно изучены покровы *Longidorus* (Aboul-Eid, 1969; Taylor et al., 1970; Thomas, Taylor, 1970; Taylor, Robertson, 1971, 1973), *Xiphinema* (Wright, 1965; Roggen et al., 1967; Lopez-Abella et al., 1967; Taylor, Robertson, 1971) и *Aporcelaimellus* (Coomans, Heiden, 1971; Lippens et al., 1974). Начаты исследования *Aporcelaimus* (Coomans, Heiden, 1971) и *Eudorylaimus* (Соловьева, Рюнтю, 1976).

Экспериментальное механическое разрушение кутикулы позволяет выявить ряд особенностей строения кутикулярных слоев. Повреждение кортекса ограничивается зоной прободения тела червей. Прилежащие кортикальные сегменты деформируются. В ряде случаев разрушается кортикальная трехслойная мембрана. При особо сильных нагрузках

наблюдается поперечное сжатие кутикулярных колец. Содержимое кортикальных канальцев выбрасывается наружу. Просветы канальцев соседних зон заполняются тонофибрилярным веществом промежуточной зоны, что препятствует многократному разлому кортикального слоя. Наибольшие разрушения идут в срединном слое. Фиброзные ленты расщепляются и теряют ориентацию. Лежащие между лентами канальцы полностью разрушаются. Взаимосвязь между лентами обусловлена тонофибрилярными структурами. Канальцы срединного фибриллового слоя, очевидно, являются трубочками, образованными тонофибриллами. Влияние «микровзрыва» на соседние области кутикулы носит опосредованный характер. В ряде случаев, при удалении на 200—400 мкм, наблюдается незначительное смещение фиброзных лент относительно друг друга. Базальный слой расщепляется на прокладки. Призматические канальцы сетчатых прокладок не разрушаются. Возможно, плотные прокладки являются тонофибрилярными проекциями стенок призматических канальцев сетчатых прокладок. Тонофибрилярные проекции образуют электронноплотную тонофибрилярную сеть, связывающую сетчатые прокладки. Базальная пластинка прочно сращена с базальным слоем. Повреждение кутикулы вызывает увеличение просветов базальных канальцев, открывающихся в области пластинки.

Полученные данные позволят подойти к определению функциональной нагрузки каждого отдельного кутикулярного слоя. Выщепление при прободении трех основных кутикулярных структур (кортекса, срединного и базального слоев), препятствующих механической нагрузке, может служить подтверждением трехслойной номенклатуры Беда (1971).

Л и т е р а т у р а

- П а р а м о н о в А. А. 1962. Основы фитогельминтологии. М. : 1—480.
- Р ю н т ю Ю. М., С о л о в ь е в а Г. И. 1978а. Новый способ гистохимической обработки мелких биологических объектов. Биологические науки, 5 : 134—137.
- Р ю н т ю Ю. М., С о л о в ь е в а Г. И. 1978б. Аппарат для гистохимической обработки мелких биологических объектов. Цитология, 20 (6) : 726—727.
- С о л о в ь е в а Г. И. 1972. Заметки по экологии и таксономии нематод столовой капусты (*Brassica capitata* Litzg.) и сорняков, связанных с ней. В кн.: Биологические основы борьбы с трансмиссивными и паразитарными заболеваниями на Севере. Изд. «Карелия», Петрозаводск : 31—66.
- С о л о в ь е в а Г. И., В а с и л ь е в а А. П., Г р у з д е в а Л. И. 1976. Свободноживущие и фитопаразитические нематоды Северо-Запада СССР. Изд. «Наука», Л. : 1—106.
- С о л о в ь е в а Г. И., Р ю н т ю Ю. М. 1976. К вопросу электронномикроскопического строения покровов некоторых свободноживущих нематод. В кн.: Паразитологические исследования в Карельской АССР и Мурманской области. Карельский филиал АН СССР, Петрозаводск : 156—167.
- А б о у л - Е и д Н. L. 1969. Electron microscope studies on the body wall and feeding apparatus of *Longidorus macrosoma*. *Nematologica*, 15 : 451—463.
- В и р д А. F. 1971. The structure of nematodes. Academic Press, N. Y.—London : 1—318.
- В р о д ь I. 1959. An ultrastructural study on the role of keratohyalin granules in the keratinization process. *J. Ultrastruct. Res.*, 3 : 84—104.
- С о о м а н с А., V a n d e r H e i d e n A. 1971. Structure and formation of the feeding apparatus in *Aporcelaimus* and *Aporcelaimellus* (Nematoda : Dorylaimoidea). *Z. Morph. Tiere*, 70 : 103—118.
- Н а у а т М. А., G i a q u i n t a R. 1970. Rapid fixation and embedding for electron microscopy. *Tissue and Cell.*, 2 : 191—195.
- Л и п п е н с P. L., С о о м а н с А., D e G r i s s e A. T., L a g a s s e A. 1974. Ultrastructure of the anterior body region in *Aporcelaimellus obtusicaudatus* and *A. obscurus*. *Nematologica*, 2 : 242—256.
- Л о п е з - А б е л л а D., J i m e n e z - M i l l a n F., G a r c i a - H i d a l g o F. 1967. Electron microscope studies of some cephalic structures of *Xiphinema americanum*. *Nematologica*, 13 : 283—286.
- Р е у н о л д с E. S. 1963. The use of lead at high pH as an electron—opaque stain in electron microscopy. *Jnl. Cell Biol.*, 17 : 208—212.
- Р о г г е н D. R., R a s k i D. J., J o n e s N. O. 1967. Further electron microscopic observations of *Xiphinema* index. *Nematologica*, 13 : 1—16.
- Р о с е н б л у т h J. 1967. Obliquely striated muscle. Contraction mechanism of *Ascaris* body muscle. *Jnl. Cell Biol.*, 34 : 15—33.

- Taylor C. E., Robertson W. M. 1974. Ultrastructure of the guide ring and guiding sheath in *Xiphinema* and *Longidorus*. *Nematologica*, 17 : 303—307.
- Taylor C. E., Robertson W. M. 1973. The structure and musculature of the feeding apparatus in *Longidorus* and *Xiphinema*. Workshop. Nematol. group. Ass. Appl. Biol. Rothamsted Exp. Stat. : 65—70.
- Taylor C. E., Thomas P. R., Robertson W. M., Roberts I. M. 1970. An electron microscope study of the oesophageal region of *Longidorus elongatus*. *Nematologica*, 16 : 6—12.
- Thomas P. R., Taylor C. E. 1970. Fine structure of the oesophageal region of juvenile *Longidorus elongatus*. Proc. IX-th Int. Nematol. Symp., Warsaw 1967 : 69—72.
- Wohlfart-Bottermann K. E. 1957. Die Entstehung, Vermehrung und Sekretabgabe der Mitochondrien von *Paramecium*. *Z. Naturforsch.*, 12b : 164—167.
- Wright K. A. 1965. The histology of the oesophageal region of *Xiphinema index* Th. and All., 1950, as seen with the electron microscope. *Can. Jnl. Zool.*, 43 : 689—700.
- Wright K. A., Jones N. O. 1965. Some techniques for the orientation and embedding of nematodes for electron microscopy. *Nematologica*, 11 : 125—130.
-

PECULIARITIES OF THE CUTICLE STRUCTURE
OF THE NEMATODE *APORCELAIMELLUS*
OBTUSICAUDATUS AT THE MECHANICAL INJURY

Yu. M. Ryuntyu, G. I. Solovjeva

S U M M A R Y

The fine structure of the cuticle of *A. obtusicaudatus* (Dorylaimidae) during the turgor unbalance was studied. Mechanical injury causes the delamination of the cuticle and reveals the tonofibrillary interrelations between its structures. The cortex and basal layer were found to possess the highest tensile strength. The peculiarities of the structures destruction dynamics depending on the removal from the perforation place were recognized.

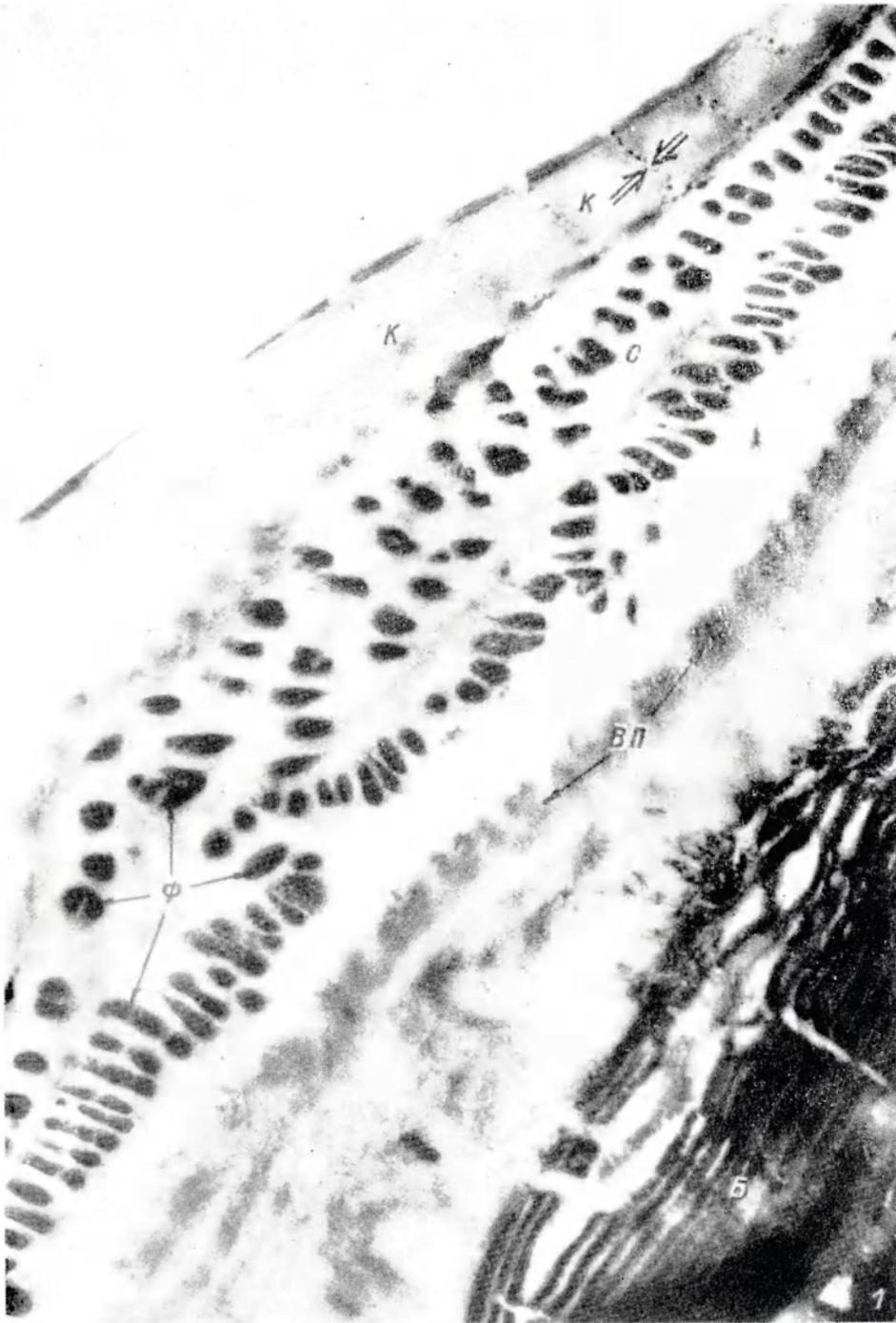


Рис. 1. Ультраструктура кутикулы *A. obtusicaudatus*.
Участок прободения кутикулы; 17 000 \times .

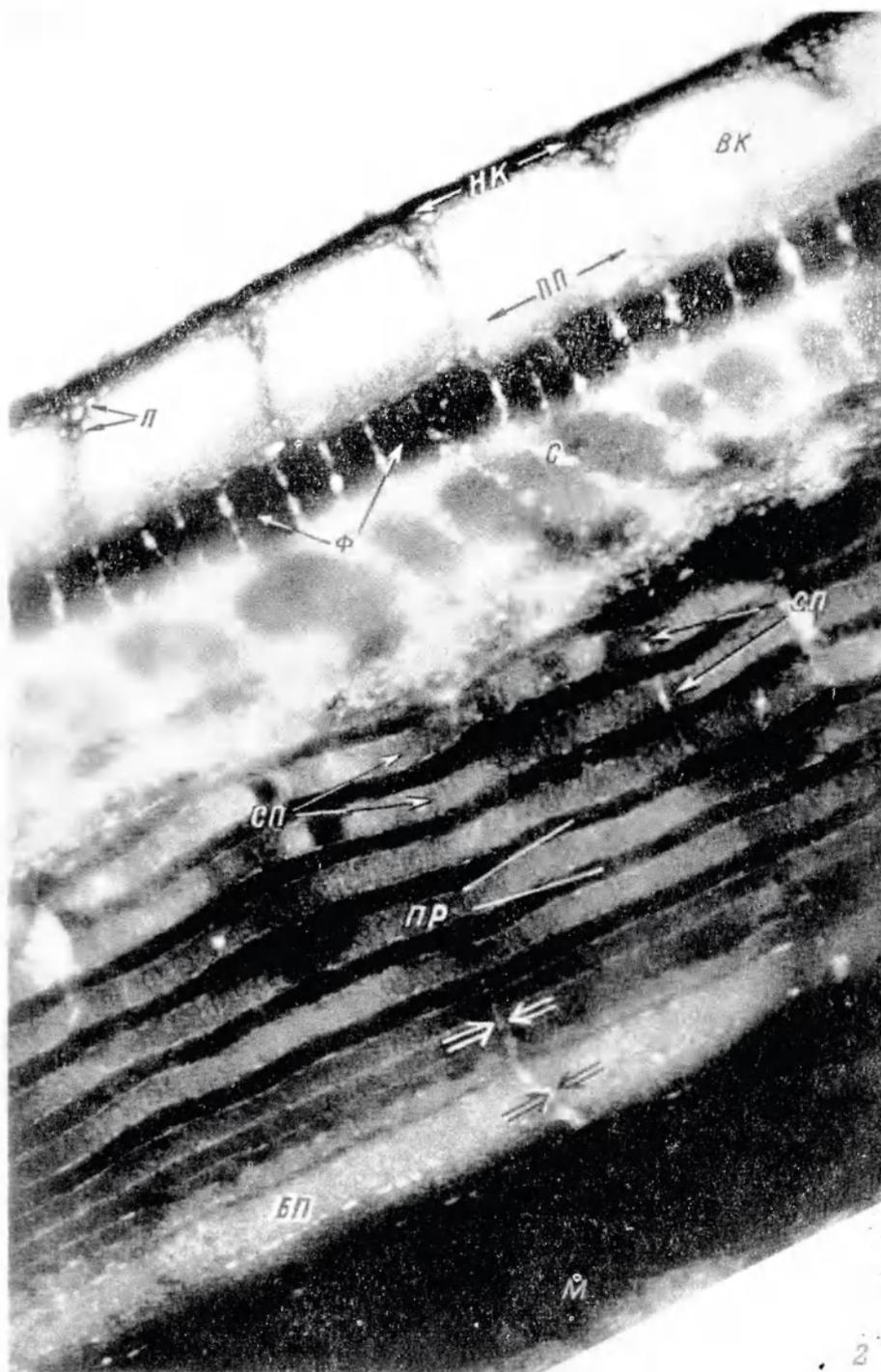


Рис. 2. Ультраструктура кутикулы *A. obtusicaudatus*.
Участок кутикулы, удаленной от места разрушения (800 мкм); 40 000 X

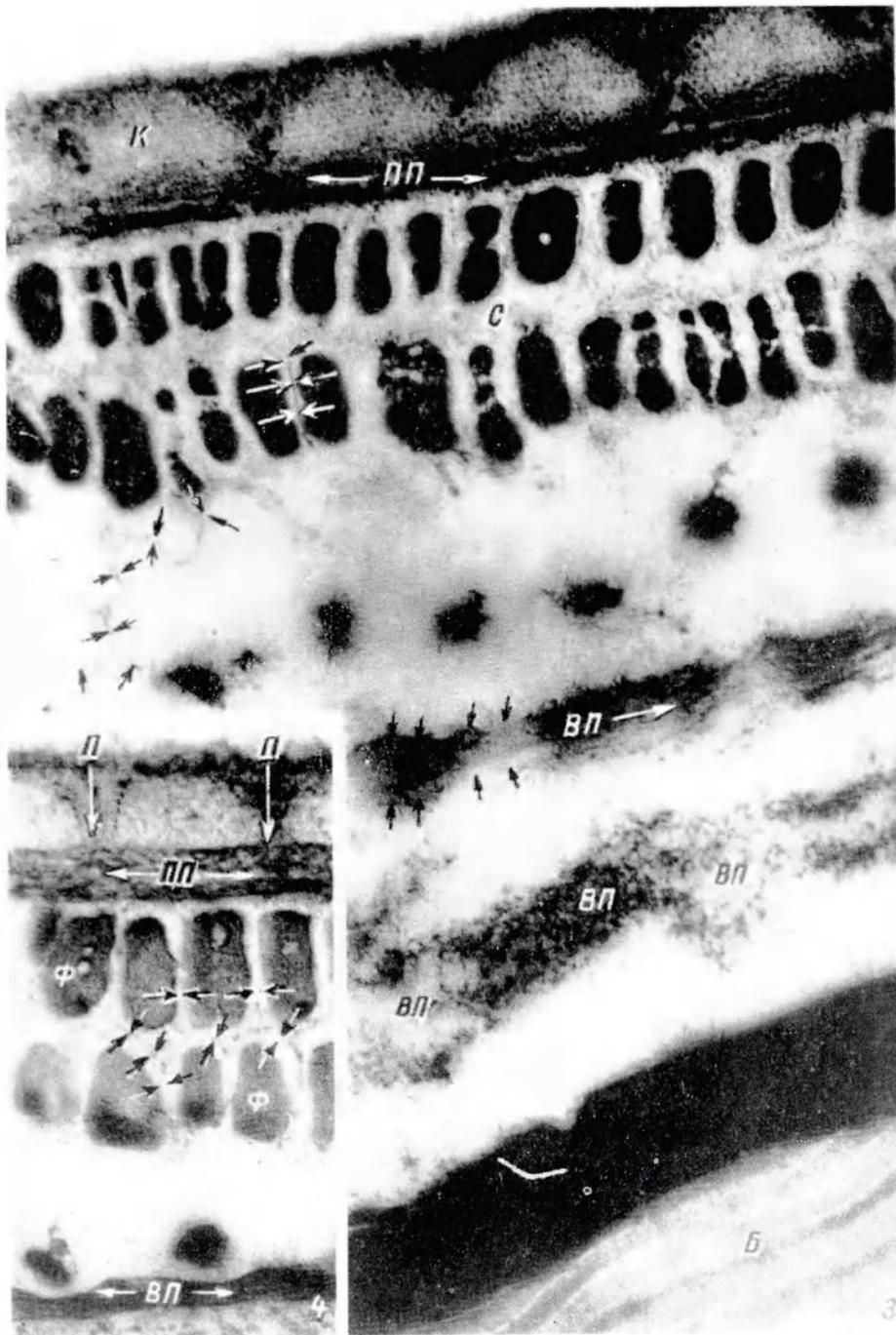


Рис. 3,4. Ультраструктура кутикулы *A. obtusicaudatus*.
 3 — удаление 30—50 мкм, 48 000×; 4 — удаление 100 мкм, 30 000×.

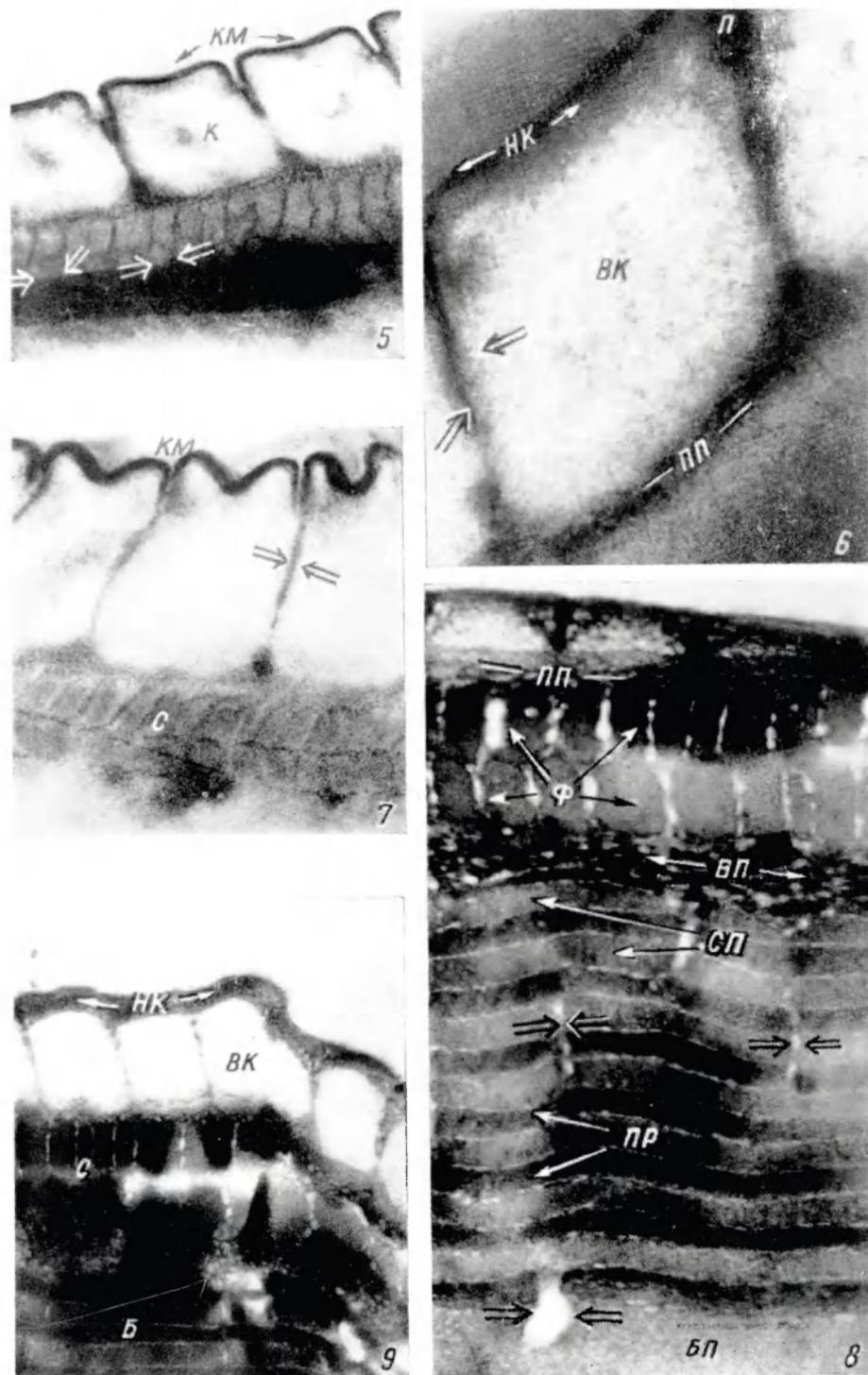


Рис. 5—9. Ультраструктура кутикулы *A. obtusicaudatus*.

5—7 — удаление 200 мкм; 8, 9 — удаление 300—400 мкм. Увеличение: 5 — 46 000×, 6 — 107 000×, 7 — 50 000×, 8 — 27 000×, 9 — 30 000×.
 Обозначения к рис. 1—9. К — кортекс; КМ — кортикальная мембрана; НК — наружная зона кортекса; С — срединный слой; Б — базальный слой; БП — базальная пластинка; ПП — первая промежуточная зона; ВП — вторая промежуточная зона; СП — сетчатые прокладки; ПР — плотные прокладки; П — канальцевая пора; Ф — фиброзные ленты; стрелка вниз — тонофибриллярные нити; двойная стрелка вниз — каналы; ВК — внутренняя зона кортекса; М — мышцы.