

РЕАКЦИЯ МИРАЦИДИЕВ *PHILOPHTHALMUS RHIONICA* (TREMATODA, PHILOPHTHALMIDAE) НА СВЕТ

О. Ю. Семенов

Кафедра зоологии беспозвоночных Ленинградского государственного университета

Показано, что в популяции мирацидиев *Philophthalmus rhionica* одновременно имеются особи, различающиеся по характеру реакции на свет. В первые часы жизни большинство личинок обладает положительным фототаксисом. С возрастом количество их уменьшается и увеличивается количество мирацидиев, характеризующихся отрицательным фототаксисом. Помимо этого, в популяции постоянно присутствуют личинки, индифферентные к условиям освещения. Отмечены различия в характере движения мирацидиев, обладающих положительным и отрицательным фототаксисом.

В естественных условиях одним из основных физических раздражителей является свет. При действии направленного светового луча у многих видов мирацидиев наблюдается фототаксис (Yasugaoka, 1954; Takahashi e. a., 1961; Mason a. Frigg, 1977). Реакция мирацидиев на свет зависит от интенсивности освещения. Отмечено, что у личинок печеночной двуустки положительный фототаксис наблюдается лишь при освещенности менее 100 Лк (Yasugaoka, 1954). Резкое возрастание или уменьшение силы света может вызвать смену знака таксиса на противоположный (Yasugaoka, 1954; Takahashi e. a., 1961). Существуют данные, согласно которым реакция на свет у некоторых видов мирацидиев зависит от температуры окружающей среды. Так, если при температуре 15° у мирацидиев *Schistosoma japonicum* наблюдается положительный фототаксис на поле с любой освещенностью в диапазоне от 10 до 4500 Лк, то уже при 20° освещенность в 2500—4500 Лк вызывает строго отрицательную реакцию. При 30° положительный фототаксис имеет место лишь в условиях очень незначительного освещения (10—15 Лк) (Takahashi e. a., 1961).

Основная цель настоящей работы заключается в выявлении характера реакции мирацидиев *Philophthalmus rhionica* на световой раздражитель.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Культивирование марит и получение мирацидиев *Ph. rhionica* производилось по методике, описанной ранее (Семенов, 1976). Для изучения реакции мирацидиев на свет использовались три различные методики.

М е т о д и к а № 1. Личинок в количестве 10 особей помещали в прямоугольный микроаквариум (1.2×2.6 см) объемом около 1 мл, одну половину которого освещали рассеянным светом снизу (освещенность 2000 Лк), а другую затемняли (рис. 1, А). В контрольных опытах обе половины микроаквариума были равномерно освещены. Через каждую минуту отмечали количество мирацидиев в освещенной части. Продолжительность эксперимента составляла 10 мин. Исследовали реакцию личинок трех возрастных групп: первая — до 1 ч после вылулления мирацидиев, вторая — от 2 до 3 ч и третья — от 4 до 5 ч.

М е т о д и к а № 2. Опыты проводились в тонкостенной кювете (рис. 1, Б), стенками которой служили покровные стекла. Благодаря

этому угол преломления световых лучей в стекле снижался до минимума и создавалась возможность получения практически идеального пучка. В качестве источников света использовали осветители ОИ-9. Световой луч проходил через тепловой фильтр (чтобы исключить влияние температуры на поведение мирацидиев) и падал на щелевую диафрагму кюветы. Источники света устанавливали в точках *a* и *б* (рис. 1, *Б*), в результате этого

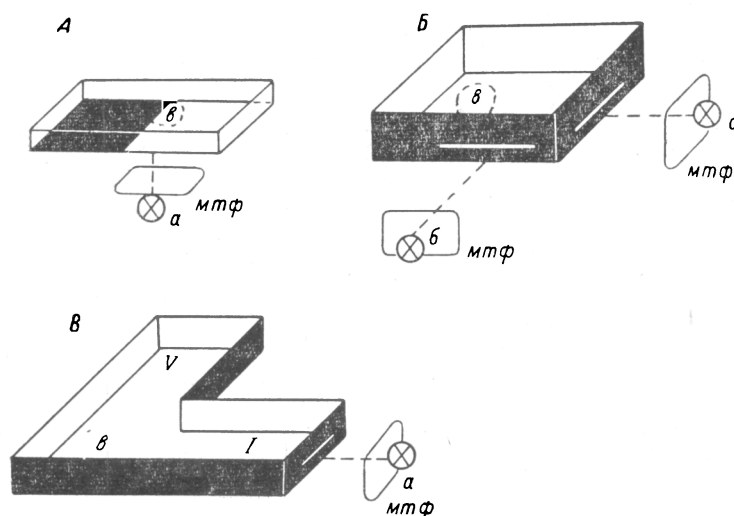


Рис. 1. Методики проведения экспериментов.

А, Б, В — установки для изучения реакции мирацидиев на свет, *a*, *б* — источники света, *а* — место выпуска мирацидиев, *мтф* — матовое стекло и тепловой фильтр. (Объяснение в тексте).

в кювете получалось два луча, расположенных в одной плоскости и направленных друг относительно друга под прямым углом. Освещенность регулировали помещением между источником света и тепловым фильтром нейтральных светофильтров. При исследовании влияния температуры на фототаксис мирацидиев камеру располагали на нагревательном столике, соединенном с ультратермостатом У-3.

Поведение мирацидиев исследовали как при непосредственном наблюдении за животными под бинокулярным микроскопом МБС-1, так и при помощи метода фотографической регистрации траекторий движения в темном поле (Dryl, 1958). Все опыты проводили в среде Прескотта (Prescott a. James, 1955). Описание методики № 3 будет приведено ниже, по ходу изложения экспериментальных данных.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из результатов проведенных опытов (табл. 1) видно, что в случае, когда одна часть микроаквариума экранирована от света, мирацидии «предпочитают» находиться на освещенной половине. Различия в суммарной частоте пребывания личинок всех возрастных групп на освещенном участке микроаквариума достоверны с большой вероятностью (χ^2 — 68.42, 126.72, 4.55). В контрольных опытах (табл. 2) такие различия не наблюдаются (χ^2 — 0.19, 0.29 и 0.05 для каждой возрастной группы соответственно).

Однако на основании этих экспериментов трудно делать какие-либо окончательные выводы о характере реакции личинок на свет. Этому препятствуют следующие обстоятельства. Во-первых, свет в опытах был рассеянным и направленным снизу, что нехарактерно для естественных условий. Во-вторых, несмотря на преобладание в частоте посещения светлой половины, личинки значительное время проводят в темной зоне. Поэтому для окончательного установления характера реакции мирацидиев на свет потребовались эксперименты, проведенные по методике № 2.

Т а б л и ц а 1
 Распределение мирацидиев *Philophthalmus rhionica* по микроаквариуму, одна половина которого затемнена

Возраст мирацидиев (ч)	№ опыта	Светлая половина	Темная половина	$p = 0.05 \chi^2 - 3.84$
0.5—1	1	73	37	11.78
	2	68	42	6.14
	3	65	45	3.63
	4	77	33	17.60
	5	89	21	42.04
		372	178	68.42
2—3	1	86	24	34.95
	2	63	47	2.33
	3	95	15	58.18
	4	84	26	30.58
	5	79	31	20.95
		407	143	126.72
4—5	1	83	27	28.35
	2	70	40	8.18
	3	51	59	0.58
	4	39	71	9.31
	5	57	53	0.16
		300	250	4.55

Т а б л и ц а 2
 Распределение мирацидиев *Philophthalmus rhionica* по равномерно освещенному микроаквариуму

Возраст мирацидиев (ч)	№ опыта	Правая половина	Левая половина	$p = 0.05 \chi^2 - 3.84$
0.5—1	1	51	59	0.58
	2	72	38	10.51
	3	46	64	2.91
		169	161	0.19
2—3	1	57	53	0.16
	2	61	49	1.31
	3	54	56	0.04
		172	158	0.29
4—5	1	52	58	0.33
	2	58	52	0.33
	3	53	57	0.16
		163	167	0.05

Прежде чем рассмотреть результаты этих опытов, отметим некоторые особенности в распределении мирацидиев по микроаквариуму. Вылупившиеся из яиц личинки размещаются в микроаквариуме довольно равномерно. Они плавают как в верхних, так и в нижних слоях воды, не создавая агрегаций в каких-либо участках сосуда. Однако стоит только поместить микроаквариум под бинокулярный микроскоп и включить верхний свет, как через несколько секунд мирацидии образуют заметное скопление в верхней части у стенки, ближайшей к осветительной лампе. Личинки из этого участка наиболее доступны для отлавливания пипеткой и поэтому значительно чаще, чем из какого-либо другого места микроаквариума, использовались нами в только что описанных опытах. Забегая вперед, скажем, что именно здесь, у уреза воды, концентрируются мира-

цидии, обладающие положительным фототаксисом. Видимо, благодаря этому обстоятельству в предыдущих экспериментах личинок чаще отмечали на освещенной половине.

Вернемся к опытам второй серии. После помещения молодых (1—2-часовых) мирацидиев в участок *в* (рис. 1, *Б*) и включения источника света *а* личинки начинают двигаться в сторону этого источника. Если через некоторое время переключить осветители, то мирацидии поворачи-

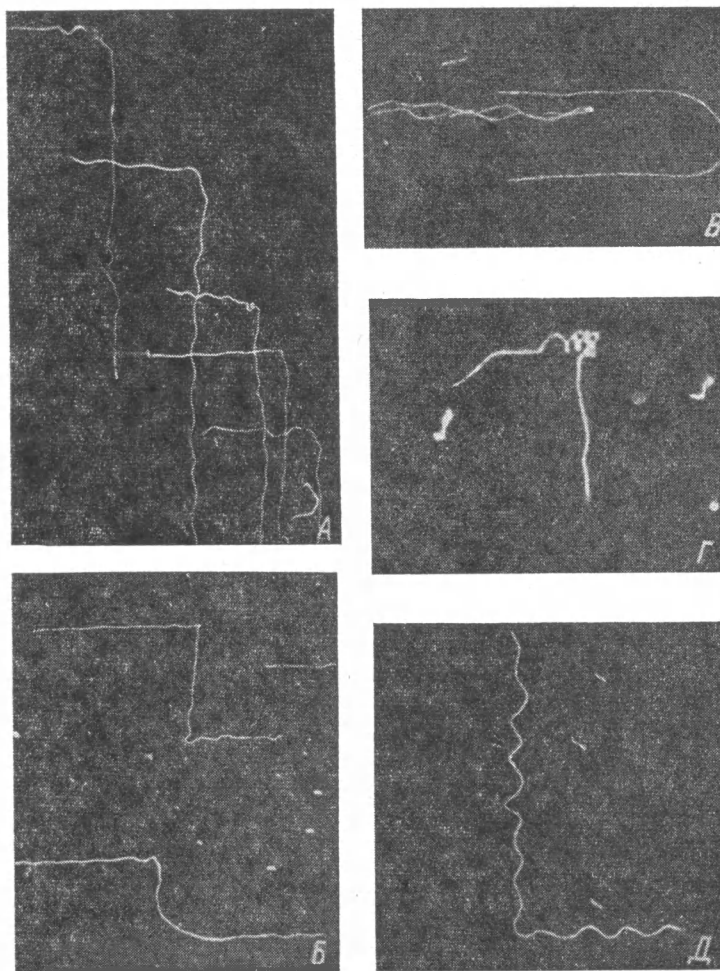


Рис. 2. Траектории движения мирацидиев *Philophthalmus rhionica* в поле действия направленного светового луча.

Расположение осветителей *а* и *б* при съемке, кроме фотографии *В*, такое же, как указано на рис. 1, *Б*. Остальные объяснения в тексте.

вают к осветителю *б* (рис. 2, *А*). Вновь произведя переключение, можно заставить животных двигаться в первоначальном направлении (рис. 2, *Б*).

Судя по этим наблюдениям, мирацидии *Ph. rhionica* обладают положительным фототаксисом. Изменяя направление луча света, личинок можно заставить двигаться в любом направлении. К примеру, при переключении осветителей, расположенных друг против друга, наблюдается поворот мирацидиев на 180° (рис. 2, *В*). Интересно, что при мгновенном переключении источников поворот личинок совершается без какой-либо модификации в типе движения (рис. 2, *А, Б*). Если при переключении задать некоторую задержку во времени (от $1/30$ до $1/10$ с), то сразу после включения осветителя наблюдается спиральное движение, которое затем сменяется прямолинейным (рис. 2, *Г*).

Двигаясь к источнику света, личинки, по-видимому, ориентируются по градиенту освещенности, обладая при этом способностью различать уровень освещенности поля. Это было прослежено в следующих опытах. При помощи нейтральных светофильтров изменялась сила света источников, расположенных друг относительно друга под прямым углом (рис. 1, Б). Как и в предыдущем случае, мирацидии выпускались в темноте, в точку *в*. После этого включался осветитель *а*. Когда личинки достигали места, в котором происходит пересечение лучей света источников *а* и *б*, дополнительно включался осветитель *б*. Если освещенность, создаваемая источниками, была приблизительно одинаковой, то наблюдалось движение мирацидиев к обоим осветителям. Когда же один из них давал поле большей освещенности, личинки поворачивали к нему. Результаты экспериментов приведены в табл. 3. Для того чтобы практически все мирацидии двигались в сторону источника с большей интенсивностью, необходима разница в освещенности как минимум в два раза.

Т а б л и ц а 3

Выбор направления движения мирацидиями *Philophthalmus rhionica* в зависимости от интенсивности освещения

Б (Лк)	А (Лк)											
	25	50	100	250	500	1000	1500	2000	4000	7000	7500	8000
25	А—47 Б—53	А—60 Б—40	А—67 Б—33	А	А	А	А	А	А	А	А	А
50	А—23 Б—77	А—44 Б—56	А—41 Б—59	А	А	А	А	А	А	А	А	А
100	Б	Б	А—50 Б—50	А—80 Б—20	А—93 Б—7	А	А	А	А	А	А	А
250	Б	Б	Б	А—59 Б—51	А—75 Б—25	А—96 Б—4	А	А	А	А	А	А
500	Б	Б	А—9 Б—91	А—35 Б—65	А—37 Б—63	А—83 Б—17	А—92 Б—8	А	А	А	А	А
1000	Б	Б	Б	Б	А—10 Б—90	А—50 Б—50	А—57 Б—43	А—84 Б—16	А—92 Б—8	А	А	А
1500	Б	Б	Б	Б	Б	А—37 Б—63	А—45 Б—55	А—70 Б—30	А—83 Б—17	А	А	А
2000	Б	Б	Б	Б	Б	А—3 Б—97	А—9 Б—91	А—36 Б—64	А—65 Б—35	А	А	А
4000	Б	Б	Б	Б	Б	Б	А—19 Б—81	А—31 Б—69	А—48 Б—52	А—84 Б—16	А—80 Б—20	А—93 Б—7
7000	Б	Б	Б	Б	Б	Б	Б	Б	А—5 Б—95	А—52 Б—48	А—70 Б—30	А—76 Б—24
7500	Б	Б	Б	Б	Б	Б	Б	Б	А—5 Б—95	А—23 Б—77	А—43 Б—57	А—78 Б—22
8000	Б	Б	Б	Б	Б	Б	Б	Б	А—2 Б—98	А—40 Б—60	А—41 Б—59	А—46 Б—54

Примечание. А — движение мирацидиев в сторону источника света *а*. Б — движение мирацидиев в сторону источника света *б*. Числа после букв указывают количество мирацидиев (в %), их отсутствие говорит о 100%.

Дальнейшие эксперименты показали, что не все мирацидии в популяции обладают положительным фототаксисом («+» мирацидии). Часть из них под действием направленного луча света уходит в темный участок камеры («-» мирацидии). При этом надо отметить, что движение таких мирацидиев осуществляется, как правило, по зигзагообразным траекториям (рис. 2, Д). Помимо этих двух типов личинок, в популяции присутствуют мирацидии, индифферентные к условиям освещения. Они могут двигаться в любом направлении независимо от действия луча света. Таких личинок мы обозначаем как «0» мирацидии.

Численность «+», «—» и «0» мирацидиев в популяции непостоянна. С возрастом увеличивается количество личинок, обладающих отрицательным фототаксисом, и соответственно этому уменьшается доля «+» мирацидиев. Оказалось, что «+» мирацидии могут трансформироваться в «0» и «—» формы, в то время как обратного перехода не наблюдалось. Помимо этого, «0» и «—» формы могут взаимно переходить друг в друга.

Эта закономерность была изучена количественно с помощью третьей методики (рис. 1, В). Мирацидии (50—80 особей) выпускались в темноте на участке *в*. Затем включали источник света, расположенный в точке *а*. При этом зона, обозначенная на схеме римской цифрой *I*, оказывалась освещенной (освещенность 2000 Лк), а зона *V* оставалась темной. Сразу после включения света мирацидии, как правило, разделялись на три группы. Часть из них двигалась к источнику света и скапливалась у ближней к нему прозрачной стенки кюветы. Другая — уходила в темную зону *V*. Третью группу составляли «0» мирацидии, которые могли остаться в месте выпуска или уплыть либо в зону *I*, либо в зону *V*.

Через 2 мин после включения света при помощи двух пипеток отсасывали мирацидиев, находящихся в *I* и *V* зонах. Естественно, что при этом в ту и в другую пробу попадали и «0» мирацидии. Для того чтобы оценить количество «+» и «—» личинок в этих пробах, прежде необходимо было выяснить содержание «0» мирацидиев в каждой из них. Для этого отобранные пробы помещали в небольшие (объемом 1 мл) микроаквариумы, которые затем освещались сбоку. После этого, когда личинки (в одних микроаквариумах «+», а в других «—») скапливались соответственно у освещенной и неосвещенной стенок, тонкой пипеткой отбирали «0» мирацидии из центральной части микроаквариума и подсчитывали. Оставшиеся в микроаквариумах «чистые» группы «+» и «—» мирацидиев также подсчитывали.

Результаты проведенных экспериментов показали, что численность мирацидиев, обладающих положительным фототаксисом, находится в тесной зависимости от условий содержания личинок. В популяции, которая находилась на свету (освещенность 2000 Лк), падение количества «+» мирацидиев происходит медленнее (рис. 3, А), чем в популяции, которую содержали в темноте (рис. 3, Б). Однако и в том, и в другом случае через 7 ч после вылупления практически не остается личинок «+» типа. С возрастом наблюдается постепенное нарастание количества «0» мирацидиев (рис. 4).

Была исследована зависимость характера реакции мирацидиев на свет от интенсивности освещения и температуры окружающей среды. Оказалось, что ни мгновенное повышение или понижение температуры, ни резкое изменение условий освещения не приводят к изменению знака фототаксиса как у «+», так и у «—» мирацидиев. Знак фототаксиса также оставался постоянным и при создании в среде различных сочетаний температуры и освещения.

Полученные экспериментальные данные показывают, что мирацидии *Ph. rhionica* обладают сложным поведением в ответ на действие светового раздражителя. Явление смены знака фототаксиса у мирацидиев уже отмечалось в литературе. Однако в описанных случаях оно происходило либо под действием быстрого изменения освещенности (Yasuraka, 1954), либо в зависимости от определенного сочетания условий освещения или температуры (Takahashi e. a., 1961). У мирацидиев же *Ph. rhionica* собственно смена знака фототаксиса зависит в основном лишь от возраста личинок и не регулируется изменением других физических раздражителей. Условия освещенности лишь косвенно влияют на этот процесс, замедляя или убыстряя трансформацию «+» мирацидиев в «0» и «—» формы.

Сопоставляя полученные нами данные по выживаемости личинок (Семенов, 1977) с результатами настоящего исследования, можно представить возрастную структуру популяции мирацидиев в следующем виде (рис. 5). В первые часы жизни большинство личинок обладает положительным фототаксисом. Постепенно, с возрастом, число их уменьшается и увеличивается доля мирацидиев, характеризующихся отрицательным фототак-

сисом. Помимо этого, в популяции постоянно присутствуют личинки, индифферентные к условиям освещения, количество которых в первое время держится примерно на одном и том же уровне. К 7-му часу жизни личинок в популяции практически исчезают «+» мирацидии, и основная масса животных приобретает отрицательный фототаксис. Через 11 ч после вылупления численность «—» и «0» мирацидиев сравнивается и такое соотношение остается вплоть до полной гибели личинок.

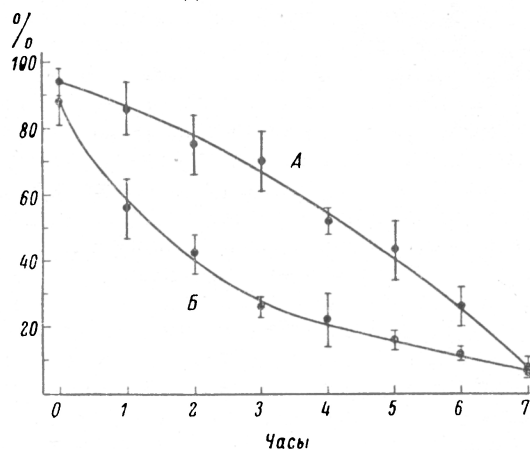


Рис. 3. Изменение доли «+» мирацидиев *Philophthalmus rhionica* в популяции в зависимости от возраста и условий содержания.

А — на свету (1000 Лк), Б — в темноте. По оси ординат — количество мирацидиев, по оси абсцисс — возраст мирацидиев.

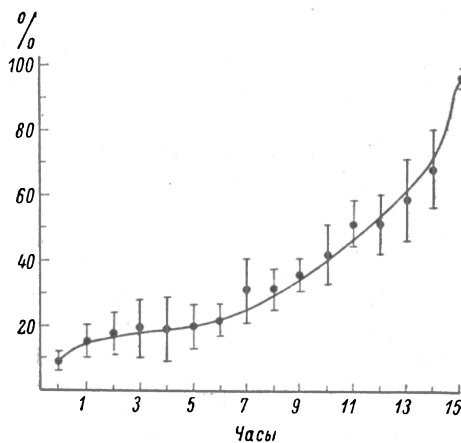


Рис. 4. Изменение доли «0» мирацидиев *Philophthalmus rhionica* в популяции в зависимости от возраста (для популяции, находящейся на свету, освещенность 1000 Лк).

По оси ординат — количество мирацидиев, по оси абсцисс — возраст мирацидиев.

Различия в характере движения личинок «+» и «—» типов, по-видимому, связаны с топографией и ультраструктурой фоторецепторов у мирацидиев *Ph. rhionica*. Как и у большинства свободноживущих мирацидиев, у них имеются глазки,¹ расположенные в области мозгового ганглия.

¹ Можно полагать, что у мирацидиев *Ph. rhionica* глазки являются единственными органами, воспринимающими свет. В процессе работы в культуре марит *Ph. rhionica* спонтанно возникла мутация, в результате которой один из червей начал откладывать наряду с нормальными яйцами, содержащие безглазых мирацидиев. Соотношение между количеством личинок с глазами и без них было 1 к 4. Внешне, за исключением отсутствия глазков (отсутствовали не только пигментные, но и зрительные клетки), эти мирацидии ничем не отличались от обычных. Характер движения, его скорость были такими же, как у нормальных животных, однако они абсолютно не реагировали на свет, напоминая тем самым «0» мирацидиев.

Детальное строение этих образований исследовано у близкородственного вида *Ph. megalurus* (Isseroff, 1964).

Когда сосуд с мирацидиями освещен одним осветителем, личинки, обладающие положительным фототаксисом, плывут к источнику света, ориентируясь по возрастающему градиенту освещенности. При этом форма пути мирацидиев практически прямолинейная, так как, двигаясь

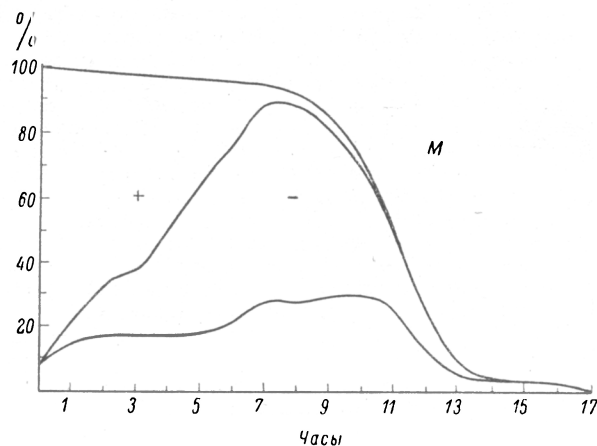


Рис. 5. Возрастная структура популяции мирацидиев *Philophthalmus rhionica* (для мирацидиев, содержащихся на свету.)

«+» — мирацидии, обладающие положительным фототаксисом; «-» — мирацидии, обладающие отрицательным фототаксисом; «о» — мирацидий, индифферентные к условиям освещения; М — мертвые мирацидии. По оси ординат — количество мирацидиев, по оси абсцисс — возраст мирацидиев.

к единственному источнику света, личинкам не приходится сравнивать интенсивность освещения справа и слева. Иначе обстоит дело у мирацидиев, обладающих отрицательным фототаксисом. В данном случае личинки перемещаются не по градиенту освещенности (от большей освещенности к меньшей), а стремятся вообще уйти из освещенного участка в темный. Попав в зону действия направленного луча света, животное пытается уйти от него в сторону. При этом в какой-то момент обращенными к свету оказываются рабдомеры передней и задней зрительных клеток какаго-либо глазка. В этом случае животное поворачивает от источника раздражения, но естественно, что в следующий момент свет попадет на рабдомеры другой стороны глаза и мирацидий вынужден опять повернуть. В результате этого движение личинки приобретает зигзагообразный характер.

Л и т е р а т у р а

- Семенов О. Ю. 1976. Экспериментальное изучение биологии мирацидия *Philophthalmus rhionica* Tichomirov, 1976 (Trematoda, Philophthalmidae). — Паразитология, 10 (5) : 439—443.
- Семенов О. Ю. 1977. Экспериментальное изучение биологии мирацидия *Philophthalmus rhionica* Tichomirov. Автореф. канд. дис. Изд-во ЛГУ : 1—190.
- D r y l S. 1958. Photographic registration of movement of Protozoa. — Bull. Acad. Polon. sci. Ser. sci. biol., 6 (10) : 429—430.
- I s s e r o f f H. 1964. Fine structure of the eyespot in the miracidium of *Philophthalmus megalurus* (Cort, 1914). — J. Parasitol., 50 (4) : 549—554.
- M a s o n P. R., F r i r r P. J. 1977. Reactions of *Schistosoma mansoni* miracidia to light. — J. Parasitol., 63 (2) : 240—246.
- P r e s c o t t D. M., J a m e s T. W. 1955. Culturing of *Amoeba proteus* on Tetrahymena. — Exper. Cell Res., 8 (1) : 256—258.
- T a k a h a s h i T., M o r i K., S h i g e t a Y. 1961. The phototactic, thermotactic and geotactic responses of miracidia of *Schistosoma japonicum*. — Jap. J. Parasitol., 10 (6) : 686—691.
- Y a s u r a o k a K. 1954. Ecology of miracidium. 2. On the behavior to light of the miracidium of *Fasciola hepatica*. — Jap. J. Med. Sci. Biol., 7 (2) : 181—192.

REACTION OF PHILOPHTHALMUS RHIONICA (TREMATODA,
PHILOPHTHALMIDAE) MIRACIDIA TO LIGHT

O. Ju. Semenov

S U M M A R Y

The light response of miracidia was studied by means of several original methods. The heterogeneity in the character of light response between various larvae of the same age population was determined in the course of experiments. It was shown that a part of miracidia possesses the strict positive phototaxis. Moreover, in their movement to the light the larvae seem to orientate themselves on the light intensity gradient. Not all the miracidia possess the positive phototaxis («+» miracidia). Some of them («-» miracidia) leave for the dark side of camera under the influence of direct ray of light. There are also larvae indifferent to the light conditions in the population. They can move in different directions in spite of the light ray direction («0» miracidia).

The number of «+», «-» and «0» miracidia in the population is inconstant. The number of the negative phototactic larvae grows with age and respectively the number of «+» miracidia decreases. It is obvious that «+» miracidia can transform into «0» or «-» forms, while there is no opposite transformation. The reasons of differences in the movement character of «+» and «-» miracidia are under discussion.
