

УДК 576.893.161.13 : 595.771

© 1991

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ  
LEISHMANIA (SAUROLEISHMANIA) GYMNODACTYLI  
И МОСКИТА SERGENTOMYIA ARPAKLENSIS  
(DIPTERA : PHLEBOTOMINAE)

С. М. Шатова, В. М. Сафьянова, А. Овезмухаммедов

Изучены морфология, развитие и особенности поведения *Leishmania gymnodactyli* в москитах *Sergentomyia arpaklensis* на разных стадиях переваривания крови. Показано, что лейшмании интенсивно размножаются и нормально развиваются внутри пищевого комка москитов. Обнаружено, что плотная перитрофическая оболочка не разрушается в конце пищеварения и является непреодолимым барьером для лейшманий. Промастигоды лейшманий, заключенные в перитрофическую оболочку, выводятся из организма москитов вместе с непереваженными остатками пищи, что исключает их передачу через укусы москитами *S. arpaklensis*.

*Leishmania gymnodactyli* — типичный представитель подрода *Sauroleishmania*, самостоятельной группы паразитов, существенно отличающейся от лейшманий млекопитающих по своим морфологическим, молекулярно-биологическим и антигенным характеристикам (Сафьянова, 1982). В соответствии с современными данными этот вид широко распространен в некоторых аридных ландшафтах Туркменской ССР, являясь паразитом ящериц. Поскольку *L. gymnodactyli* циркулирует на тех же территориях, что и *L. major* — возбудитель зоонозного кожного лейшманиоза, выявление признаков, позволяющих различать этих паразитов, представляет важную практическую задачу. Жизненный цикл *L. gymnodactyli* изучен недостаточно. В частности, весьма актуальным является вопрос о переносчиках и механизме трансмиссии этого паразита. Подробная сводка имеющихся в настоящее время данных по этому вопросу приведена в нашей предшествующей работе (Сафьянова и др., 1987). Здесь мы лишь отметим, что на основании тесных трофических связей москитов рода *Sergentomyia* с рептилиями, а также того факта, что преобладающее большинство выделенных от москитов штаммов лейшманий серологически идентичных *L. gymnodactyli* было получено от *S. arpaklensis*,<sup>1</sup> этот вид москитов считается основным переносчиком *L. gymnodactyli*. Вместе с тем показано, что *Phlebotomus papatasi* также может быть заражен этим паразитом в естественных условиях (Сафьянова, 1966) и обнаруживает восприимчивость к нему в эксперименте (Сафьянова, Алексеев, 1967; Шатова, 1987).

*Ph. papatasi* и *S. arpaklensis* являются преобладающими видами *Phlebotominae* в дельтово-долинных ландшафтах Туркмении, где циркулирует *L. gymnodactyli*. Для того чтобы оценить их значение в трансмиссии этого паразита, необходимо сопоставить данные о поведении *L. gymnodactyli* в организме обоих видов москитов в условиях эксперимента. В отношении *Ph. papatasi* такие

<sup>1</sup> Мы используем название вида, широко употреблявшееся в литературе с 1933 г. до настоящего времени; в 1982 г. оно сведено Артемьевым М. М. в синоним *S. murgabiensis murgabiensis*.

данные приводятся в цитированной выше работе (Шатова, 1987), в отношении *S. arpaklensis* они пока отсутствуют. Следует заметить, что экспериментальное изучение взаимоотношений *L. gymnodactyli* и *S. arpaklensis* представляет особый интерес еще и потому, что физиология пищеварения этого вида москитов существенно отличается от таковой представителей рода *Phlebotomus* (Резник, Кузнецова, 1987).

Все сказанное выше послужило основанием для проведения настоящего исследования.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Москитов *S. arpaklensis* отлавливали в окрестностях п. Душак Туркменской ССР. Голодных самок подсаживали к каспийским гекконам (*Gymnodactylis caspius*), естественно зараженным *L. gymnodactyli*. Зараженность гекконов устанавливали с помощью посева их крови на двухфазную питательную среду (NNN-агар с добавлением 15 % крови кролика и лактозапептонная смесь, приготовленная по методу Кузнецовой) и дальнейшего серологического изучения выделенной культуры. Зараженных москитов содержали при температуре 26—28°. Через каждые 12 ч после заражающего кормления часть москитов обездвигивали эфиром и вскрывали в капле физиологического раствора. Отпрепарированный кишечник сразу просматривали под микроскопом, отмечая местоположение и подвижность промастигот лейшманий. Затем для определения состояния перитрофической оболочки и лейшманий внутри пищевого комка под бинокулярной лупой (МБС-1) вскрывали желудок, снимали с пищевого комка перитрофическую оболочку и вновь просматривали под микроскопом. Для более детального изучения морфологии лейшманий из содержимого кишечника готовили мазки, фиксировали их метанолом и окрашивали по Романовскому. Микрофотосъемку паразитов проводили при помощи фотомикроскопа «Олимпус» (Япония). Предварительное визуальное определение использованных в опытах москитов проверяли ретроспективно на препаратах из голов москитов, изготовленных в жидкости Фора—Берлезе.

Всего было заражено 30 москитов, из них в первые 24 ч после заражения вскрыты 2 особи, через 36 ч — 3, через 48 ч — 5, через 60 ч — 8, через 72 ч — 6, и через 90 ч. — 6 особей.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение морфологии лейшманий показало, что развитие отдельных особей происходит с неодинаковой скоростью. Через 20—24 ч после заражения в содержимом кишечника москитов обнаруживаются безжгутиковые формы паразитов значительно более крупного размера, чем амастиготы в крови зараженных рептилий. Длина тела их составляет  $5.9 \pm 0.4$  мкм, ширина —  $2.8 \pm 0.2$  мкм. Их форма также отличается от амастигот (рис. 1, А), концы тела несколько вытянуты и заострены. Все они интенсивно базофильно окрашены, так что их внутренняя структура совершенно не просматривается. Они интенсивно делятся и большинство из них собраны в розетки (рис. 1, Б). Большая часть этих безжгутиковых форм через 2 ч после заражения трансформируется в типичные промастиготы, хотя небольшое их количество сохраняется в кишечнике москита еще в течение 12 ч (36 ч после заражения).

Через 36 ч после заражающего кормления наблюдается наибольшее разнообразие форм лейшманий в кишечнике москитов. Это относится к промастиготам со свободным подвижным жгутом. Длина их тела колеблется от 6.2 до 20.8 мкм. Премастиготы лейшманий, также как и безжгутиковые формы, интенсивно делятся. Часто встречаются промастиготы, собранные в розетки (рис. 1, В). В это же время в кишечнике москитов появляются промастиготы

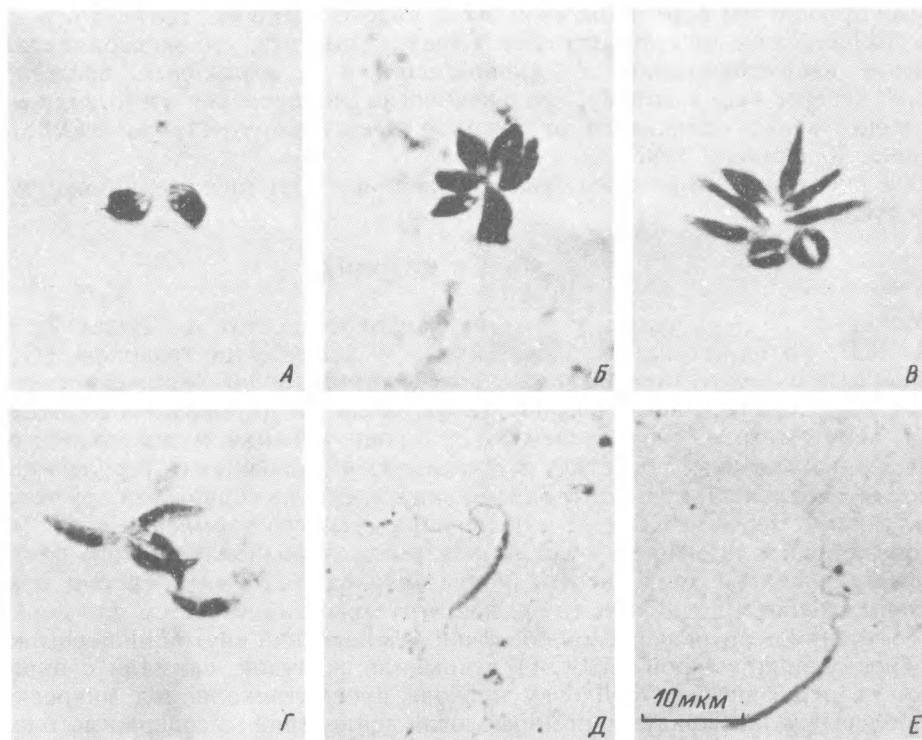


Рис. 1. Развитие *L. gymnodactyli* в кишечнике *S. arpaklensis*.

А, Б — безжгутиковые формы лейшманий через 24 ч после заражения; Б, Г — разнообразие морфологических форм лейшманий через 36 ч после заражения; Д, Е — промастиготы лейшманий через 48 ч после заражения.

Fig. 1. Development of *L. gymnodactyli* in the intestine of *S. arpaklensis*.

с длинным и тонким телом и очень длинным жгутом (длина тела  $20.8 \pm 2.1$  мкм, длина жгута  $21.9 \pm 2.2$  мкм). Число таких форм сначала невелико, но по мере переваривания пищи их количество увеличивается. К концу пищеварения через 48—60 ч эта форма промастигот становится доминирующей в кишечнике москитов (рис. 1, Д, Е).

Изучение локализации лейшманий в кишечнике москитов показало (рис. 2), что амастиготы вместе с кровью рептилий попадают в расширенную часть средней кишки — желудок. Пищевой комок сразу окружается толстым слоем секрета — предшественника перитрофической оболочки. Ядерные эритроциты рептилий быстро разрушаются и концентрируются в центре пищевого комка, образуя более плотный сгусток. Секрет в течение 4—5 ч затвердевает и образует очень плотную перитрофическую оболочку.

Через 24 ч амастиготы лейшманий трансформируются в промастиготы и располагаются в периферической части сгустка, непосредственно под перитрофической оболочкой в слое жидкости, представляющей собой продукты переваривания крови. Кровяной сгусток постепенно уменьшается в размерах и продвигается из желудка в тонкую и затем прямую кишку. Перитрофическая оболочка не разрушается на поздних стадиях переваривания крови, и непереваренный остаток пищи, заключенный в оболочку, выводится из организма москита целиком. Промастиготы лейшманий не могут проникнуть сквозь плотную неразрушенную оболочку и выводятся вместе с остатками пищи. Так, у 4 из

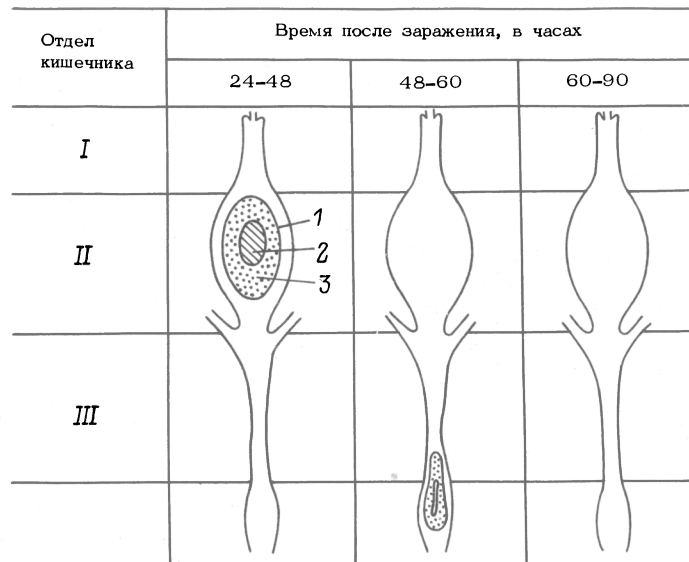


Рис. 2. Схема локализации лейшманий *L. gymnodactyli* в кишечнике москитов *S. arpaklensis* на разных сроках заражения.

Отделы кишечника: I — передний отдел средней кишки; II — расширенная часть средней кишки; III — тонкая кишка; IV — прямая кишка; 1 — перитрофическая оболочка; 2 — сгусток; 3 — зона локализации лейшманий.

Fig. 2. Scheme of localization of *L. gymnodactyli* leishmania in the intestine of the sand fly *S. arpaklensis* at different stages of infection.

8 зараженных самок, вскрытых через 60 ч после кормления, в кишечнике находились непереваренные остатки пищи, заключенные в перитрофическую оболочку (у 1 самки — в желудке, у остальных 3 — в заднем отделе тонкой кишки). Промастиготы лейшманий располагались внутри перитрофической оболочки и были хорошо видны в силу своей подвижности. У других 4 самок, а также у 12 самок, вскрытых через 72—90 ч после кормления, в кишечнике не было ни остатков пищи, ни промастигот лейшманий ни в одном отделе кишечника.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие существенных различий в характере пищеварения у представителей родов *Sergentomyia* и *Phlebotomus* (у первых быстрое разрушение эритроцитов пищеварительными ферментами, разделение пищи на ядерную и безъядерную фракции, сохранение перитрофической оболочки в течение всего процесса пищеварения) тесно связано с их пищевой специализацией. Питание преимущественно кровью пойкилотермных животных позволило видам рода *Sergentomyia* выработать ряд адаптаций к перевариванию пищи с ядерными эритроцитами (Резник, Кузнецова, 1987). По данным Резник и Кузнецовой, которые впервые подробно описали способ формирования перитрофической оболочки у москитов *S. arpaklensis*, ядерная и безъядерная фракции крови разделяются дополнительным слоем перитрофической оболочки. В конце пищеварения исследователи не всегда обнаруживали два слоя перитрофической оболочки, в связи с чем ими было сделано предположение, что «в конце пищеварения из организма самки сначала, очевидно, выводится наружный слой перитрофической оболочки, в то время как в полости внутреннего слоя еще сохраняются остатки пищи; затем выводится и внутренний слой» (Резник, Кузнецова, 1987, с. 18). Наши данные показывают, что непереваренные остатки

пищи выводятся из организма москита целиком, о чем свидетельствует освобождение москитов от жгутиконосцев, которые располагаются непосредственно под наружным слоем перитрофической оболочки. Какова же судьба внутреннего слоя перитрофической оболочки в конце пищеварения — этот вопрос требует дополнительного исследования.

Наши данные о выведении лейшманий из организма *S. arpaklensis* в конце пищеварения согласуются в полевыми наблюдениями, проведенными Ремянниковой (1969). Она отмечала, что среди самок *S. arpaklensis* на промежуточных стадиях пищеварения наблюдается самый высокий процент зараженности лептомонадами (промастиготами). На последних же стадиях гонотрофического цикла происходит снижение зараженности москитов. По мнению этого автора, полученные при кровососании *S. arpaklensis* лептомонады очень быстро и интенсивно выводятся из организма хозяина.

По-видимому, аналогичным образом *Sauroleishmania* ведут себя и в организме некоторых других представителей рода *Sergentomyia*. Так, Парро (Parrot, 1934, 1935) нашел, что Алжирский штамм *L. tarentolae* от геккона *Tarentola mauritanica* интенсивно размножается в пищевом комке *S. antennata* и что инфекция исчезает, когда непереваренные остатки пищи выводятся в конце пищеварения. Он обнаружил дегенерирующих паразитов в фекалиях москитов. На основании полученных данных Парро предположил, что передача *L. tarentolae* гекконам может происходить при поедании ими инфицированных москитов, которые еще содержат непереваренную кровь.

Совершенно иначе ведут себя *L. gymnodactyli* в организме экспериментально зараженных *Ph. papatasi*. По нашим наблюдениям (Шатова, 1987), перитрофическая оболочка, окружающая пищевой комок, разрушается у этого вида москитов на 3-и сутки после заражающего кормления. Размножающиеся сначала внутри пищевого комка *L. gymnodactyli* попадают в полость кишечника. К концу гонотрофического цикла промастиготы лейшманий распространяются по различным отделам кишечника; они обнаруживаются в задней кишке и в мальпигиевых сосудах, но, одновременно с этим, в желудке и «преджелудке» (cardia), откуда, по-видимому, как и другие виды лейшманий, могут проникать в глотку и хоботок.

Таким образом, судьба *L. gymnodactyli* в организме *Ph. papatasi* и *S. arpaklensis* принципиально различна. Если в первом случае передача паразита незараженной ящерице через укус москита, по-видимому, возможна, то во втором она полностью исключается.

По нашим наблюдениям, *Ph. papatasi* часто в естественных условиях нападает на ящериц. В кишечнике этого вида москитов нередко обнаруживаются непереваренные ядерные эритроциты, что согласуется с данными других исследователей (Петрищева, 1949; Звягинцева, 1968).

Следует отметить, что достоверные данные о механизме передачи *L. gymnodactyli* в настоящее время отсутствуют. Учитывая, что ответ на этот вопрос важен для понимания путей эволюции этих паразитов, необходимо тщательное экспериментальное изучение механизма передачи *L. gymnodactyli*.

#### Список литературы

- Артемьев М. М. Таксономический статус москитов подрода *Sergentomyia* (Diptera, Phlebotominae) // Зоол. ж. 1982. Т. 11, вып. 9. С. 1359—1371.
- Звягинцева Т. В. Об источниках питания москитов // Тр. УзНИИ эксперимент. мед. паразитол. и гельминтол. 1968. Вып. 5. С. 61—63.
- Петрищева П. А. Об источниках питания москитов // Вопросы общей, краевой и экспериментальной паразитологии. Вып. 6. М., 1949. С. 59—71.
- Резник Е. П., Кузнецова Л. А. Некоторые особенности пищеварения и образования перитрофической оболочки у москитов *Sergentomyia arpaklensis* 1933 // Паразитология. 1987. Т. 21, вып. 1. С. 16—21.

- Ремяникова Т. Н. Особенности популяционной биологии норовых москитов в природном очаге кожного лейшманиоза в Туркмении // Паразитология. 1969. Т. 3, вып. 4. С. 314—319.
- Сафьянова В. М. Серологическое сравнение лептомонад, выделенных от москитов, с *Leishmania tropica* и лептомонадами рептилий // Мед. паразитол. 1966. № 6. С. 685—695.
- Сафьянова В. М. Проблема таксономии лейшманий // Лейшмании. Л.: Наука, 1982. С. 5—109.
- Сафьянова В. М., Алексеев А. Н. Опыты по восприимчивости москитов к различным штаммам лептомонад // Паразитология. 1967. Т. 1, вып. 3. С. 191—199.
- Сафьянова В. М., Шатова С. М., Овезмухаммедов А. О переносчиках лейшманий рептилий // Изв. АН ТССР. Сер. биол. наук. 1987. № 3. С. 60—63.
- Шатова С. М. Взаимоотношения москитов *Phlebotomus papatasi* Sc. с разными видами лейшманий // Мед. паразитол. 1987. № 4. С. 27—30.
- Раггот Л. L'évolution de *L. tarentolae* Wenyon chez *Phlebotomus minutus* Rond // Bull. de la Soc. de Path. exot. 1934. Vol. 27. P. 839—843.
- Раггот Л. Nouvelles recherches sur l'évolution de *Leishmania tarentolae* chez *Phlebotomus minutus* Rondani // Bull. de la Soc. de Path. exot. 1935. Vol. 28. P. 958—960.

НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР,  
Москва  
Институт зоологии АН ТССР,  
Ашхабад

Поступила 10.4.1990

---

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE RELATIONSHIPS BETWEEN LEISHMANIA  
(SAUROLEISHMANIA) GYMNODACTYLI AND THE SANDFLY SERGENTOMYIA  
ARPAKLENSIS (DIPTERA, PHLEBOTOMINAE)

S. M. Shatova, V. M. Safjanova, A. Ovezmukhammedov

*Key words:* *Leishmania gymnodactyli*, morphology, development, behaviour, sandflies, infection

S U M M A R Y

Morphology, development and behaviour of *Leishmania gymnodactyli* in the sand fly *Sergentomyia arpaklensis* at different stages of blood digestion have been studied. It has been shown that leishmaniae reproduce readily and develop normally inside the food ball of sandflies. The dense peritrophic membrane is not destroyed at the end of digestion and is an insuperable obstacle for leishmaniae. Promastigotes of leishmaniae, being involved in the peritrophic membrane, are excreted together with indigested food that excludes their transmission through the bite of *S. arpaklensis*.

---