

ЭНДОМАСТИГОТЫ — ОСОБЫЙ ТИП РАССЕЛИТЕЛЬНЫХ СТАДИЙ ТРИПАНОСОМАТИД РОДА *PROTEOMONAS*

А. О. Фролов, М. Н. Малышева

Изучена морфология эндомастигот *Proteomonas inconstans* после их пребывания на воздухе в течение 24 ч. Изменения затрагивают поверхностные структуры, жгутик и жгутиковый карман, цитоплазму, систему внутренних мембран, митохондрию, кинетопласт и ядро. Отмечено значительное увеличение липидных включений. Изменения морфологии изучаемых эндомастигот во многом сходны с преобразованиями, которые имеют место в процессе формирования «цист» в родах *Leptomonas* и *Blastocrithidia*. Полученные данные позволяют рассматривать эндомастигот как особый тип расселительных стадий трипаносоматид.

Большинство трипаносоматид, паразитирующих в насекомых, обладают моноксенными жизненными циклами (McGhee, Cosgrove, 1980), включающими расселительные стадии, приспособленные к переживанию в неблагоприятных условиях внешней среды. У ряда видов, например *Blastocrithidia triatoma* (Mehlhorn e. a., 1979; Schaub, Pretschi, 1981), *Leptomonas lygaei* (Tieszen e. a., 1989b), *L. mycophilus* (Фролов, Скарлато, 1990), формируются лишённые жгутика специализированные расселительные стадии — «цисты». Цисты некоторых видов могут сохранять инвазионность более года, при комнатной температуре (Schaub, Pretschi, 1981). Вместе с тем существуют виды, у которых расселительную функцию выполняют жгутиковые клетки. Экзогенная часть жизненного цикла таких трипаносоматид связана обычно с водой, как например у *Crithidia fascicu-*

lata (Clark e. a., 1964), *Blastocrithidia gerridis* (Tieszen e. a., 1989a), или с другими жидкостями: разлагающейся органикой, соками растений и т. п. (McGhee, Cosgrove, 1980).

В жизненном цикле трипаносоматид из рода *Proteomonas* расселительные стадии до сих пор не были обнаружены (Подлипаев и др., 1990). Известно, однако, что одна из стадий из сложного клеточного цикла, реализующегося в культурах — эндомастигота, способна переносить высушивание (Фролов, Малышева, 1989).

Рассматривая эндомастигот как возможных кандидатов на роль расселительных стадий в жизненных циклах представителей рода *Proteomonas*, мы ставили перед собой цель — выявить изменения, происходящие в организации эндомастигот в процессе высушивания.

Материал и методика. Культура *Proteomonas inconstans* ведется в лаборатории на жидкой питательной среде по методике, описанной ранее (Подлипаев и др., 1990). Для электронно-микроскопических исследований клетки из жидкой среды осаждали центрифугированием (3000 об./мин, 10 мин). Культуральная жидкость осторожно сливалась, с помощью фильтровальной бумаги удалялся остаток жидкости, а отцентрифугированный осадок высушивался на воздухе. Через сутки подсохший осадок фиксировали 1.5%-ным глутаральдегидом в 0.1 М какодильного буфера, содержащего 5 % сахарозы (1 ч), и постфиксировали 2 %-ным OsO_4 (1 ч, 0°). Затем фиксированный материал обезвоживали и заключали в смесь эпона с аралдитом. Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме LKB-III, окрашивали водным раствором уранилацетата (1 ч) и цитратом свинца (5 мин) и изучали в электронном микроскопе JEM-100S.

Результаты и обсуждение. Через 24 ч после начала высушивания культуры *P. inconstans* организация эндомастигот претерпевает заметные изменения (рис. 1, 1, 2; см. вкл.).

В первую очередь изменения затрагивают поверхностные структуры клетки (рис. 1, 3—5). Происходит некоторое утолщение наружного слоя плазматической мембраны по сравнению с внутренним (рис. 1, 4). Под микротрубочками, подстилающими плазматическую мембрану, и в промежутках между ними появляется плотный слой специализированной субпелликулярной цитоплазмы, толщиной 12—15 нм (рис. 1, 3, 4). Сходные, но более глубокие изменения поверхностных структур отмечены и в процессе формирования «цист» в родах *Leptomonas* и *Blastocrithidia* (Schaub, Pretsch, 1981; Reduth, Schaub, 1988; Tieszen e. a., 1989b; Фролов, Скарлато, 1990). Например, у *Blastocrithidia triatoma* и *B. familiaris* происходит замена субпелликулярных трубочек кортикальными гранулами (Mehlhorn e. a., 1979; Schaub, Pretsch, 1981; Tieszen e. a., 1985). У *Leptomonas mycophilus* часть субпелликулярных микротрубочек погружается в глубь цитоплазмы, а по мере созревания «цист» микротрубочки полностью исчезают (Фролов, Скарлато, 1990).

Жгутики изучаемых эндомастигот никогда не выходят наружу и плотно закрывают жгутиковый карман своей расширенной дистальной частью (рис. 1, 6), в которую не заходит аксонема. У эндомастигот, находящихся в культуральной жидкости, дистальная часть жгутика, в которой всегда присутствует аксонема, может выходить наружу (рис. 1, 7).

Цитоплазма эндомастигот *P. inconstans* после подсушивания становится более электронно-плотной (рис. 1, 1, 2). Возрастает количество липидных включений. Система внутренних мембран, комплекс Гольджи и эндоплазматический ретикулум не выявляются (рис. 1, 1). Сходная конденсация цитоплазмы наблюдается также и в процессе формирования «цист» у *Leptomonas* и *Blastocrithidia* (Reduth, Schaub, 1988; Фролов, Скарлато, 1990).

Обычно хорошо развитый у эндомастигот из культур митохондрии у исследуемых клеток существенно сокращаются в размерах, уменьшается количество его ветвей, уплотняется матрикс, становится меньше крист (рис. 1, 1, 2). Сильно изменяется структура кинетопласта (рис. 2, 1, 2; см. вкл.). В увеличенной электронно-светлой капсуле кинетопласта рыхло располагаются нити ДНК, полностью ее заполняя. Кинетопласт приобретает сетчатый вид (рис. 1, 1; 2, 1). Сходные изменения в ультраструктуре кинетопласта и митохондрии отмечаются при образовании «цист» у *B. triatoma* (Mehlhorn e. a., 1979; Reduth, Schaub, 1988). В зрелых цистах с использованием просвечивающего электронного микроскопа вообще не удается идентифицировать никакие внутренние структуры. Но метод замораживания—скальвания у *B. triatoma* (Reduth, Schaub, 1988) позволил обнаружить ядро, кинетопласт и митохондрии. Последний, как оказалось, развит слабо, а кинетопласт имеет сетчатую структуру. У *L. lygaei*, наоборот, имеет место конденсация кинетопластной ДНК (Tieszen e. a., 1989b).

В ядрах исследуемых эндомастигот происходит сильная конденсация хроматина, занимающе-

го значительную часть объема ядра (рис. 1, 1; 2, 3). Сходные изменения в ядрах имеют место в процессе формирования цистоподобных клеток в розетках, например, у *L. mycophilus* и *L. jaculum* (Фролов, Скарлато, 1990; Фролов и др., 1991). В «жгутиковых цистах» *Blastocrithidia* и *Leptomonas* при конденсации хроматина образуется так называемая лабиринтовидная структура (Mehlhorn e. a., 1979; Schaub, Pretsch, 1981; Tieszen e. a., 1989b).

Таким образом, изменения в организации эндомастигот, подвергшихся высушиванию, во многом сходны с изменениями, которые происходят с трипаносоматидами в процессе цистообразования. Это позволяет нам рассматривать эндомастиготы как особый тип расселительных стадий. В отличие от «цист» других трипаносоматид, эндомастиготы рода *Proteomonas* постоянно образуются в ходе клеточных циклов эндогенной агломерации паразитов. При этом они способны выполнять две функции: либо вновь включаться в процесс размножения, либо, попадая во внешнюю среду и сохраняя при этом жизнеспособность, служить источником инвазии новых хозяев.

Список литературы

- Подлипаев С. А., Фролов А. О., Колесников А. А. *Proteomonas inconstans* n. gen., n. sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) паразит клопа *Calocoris sexguttatus* (Hemiptera: Miridae) // Паразитология. 1990. Т. 24, вып. 4. С. 339—346.
- Фролов А. О., Малышева М. Н. *Crithidia allae* sp. n. и *C. brevicula* sp. n. (Protozoa, Trypanosomatidae) из клопа *Nabis brevis* // Зоол. журн. 1989. Т. 68, вып. 7. С. 5—10.
- Фролов А. О., Скарлато С. О. Дифференцировка цистоподобных клеток паразитического жгутиконосца *Leptomonas mycophilus* in vitro // Цитология. 1990. Т. 32, № 10. С. 985—992.
- Фролов А. О., Скарлато С. О., Шаглина Е. Г. Морфология цистоподобных клеток жгутиконосца *Leptomonas jaculum* // Цитология. 1991. Т. 33, № 10. С. 960—969.
- Clark T. B., Kellen W. R., Lindegren J. E., Smith T. A. The transmission of *Crithidia fasciculata* Leger 1902 in *Culiseta incidens* (Thomson) // J. Protozool. 1964. Vol. 11. P. 400—402.
- McGhee R. B., Cosgrove W. B. Biology and physiology of the lower Trypanosomatidae // Microbiol. Rev. 1980. Vol. 44. P. 140—173.
- Mehlhorn H., Schaub G. A., Peters W., Haberkorn A. Electron microscopic studies on *Blastocrithidia triatomae* Cerisola et al., 1971 (Trypanosomatidae) // Tropenmed. Parasit. 1979. Bd 30. S. 289—300.
- Reduth D., Schaub G. A. The ultrastructure of the cysts of *Blastocrithidia triatomae* Cerisola et al., 1971 (Trypanosomatidae): a freeze-fracture study // Parasitol. Res. 1988. Vol. 74. P. 301—306.
- Schaub G. A., Pretsch M. Ultrastructural studies on the excystment of *Blastocrithidia triatomae* (Trypanosomatidae) // Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg. 1981. Vol. 75. P. 168—171.
- Tieszen K. L., Molyneux D. H., Abdel-Hafez S. K. Ultrastructure of cyst formation in *Blastocrithidia familiaris* in *Lygaeus pandorus* (Hemiptera: Lygaeidae) // Z. Parasitenkd. 1985. Bd 71. S. 179—188.
- Tieszen K. L., Kenneth L., Molyneux D. H. Transission and ecology of trypanosomatid flagellates of water striders (Hemiptera: Gerridae) // J. Protozool. 1989a. Vol. 36. P. 519—523.
- Tieszen K. L., Molyneux D. H., Abdel-Hafez S. K. Host-parasite relationships and cyst of *Leptomonas lygaei* (Trypanosomatidae) in *Lygaeus pandorus* (Hemiptera: Lygaeidae) // Parasitology. 1989b. Vol. 98. P. 395—400.

ЗИН РАН, Санкт-Петербург

Поступила 6. 08. 1991

THE ENDOMASTIGOTES, A SPECIAL TYPE OF THE TRANSMISSION STAGES OF TRYPANOSOMATIDES OF THE GENUS PROTEOMONAS

A. O. Frolov, M. N. Malysheva

Key words: *Proteomonas inconstans*, endomastigote, fine structure, transmission stage

SUMMARY

The morphology of *Proteomonas inconstans* endomastigotes has been examined after their stay during 24 hours in the air. Changes occur in the surface structure, flagellum and flagellar

pocket, cytoplasm, endomembrane system, mitochondrion, kinetoplast and nucleus. Considerable increase in the lipid inclusions was observed. Changes in the morphology of the investigated endomastigotes are similar in many respects to transformations that are known for the cyst formation process in the genera *Leptomonas* and *Blastocrithidia*. The obtained facts allow us to consider the endomastigotes as a special type of the transmission stages of trypanosomatids.

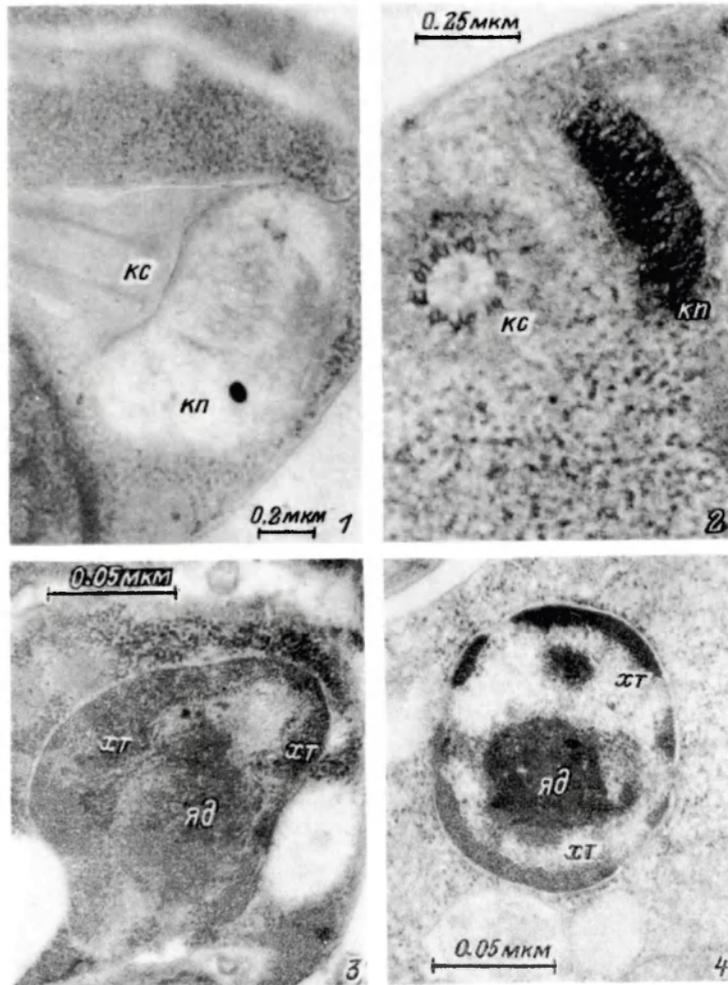


Рис. 2. Ультраструктура эндомастигот *P. inconstans* до и после высушивания.

1, 2 — кинетопласт эндомастигот *P. inconstans* до (2) и через 24 ч после начала эксперимента (1);
 3, 4 — ядро эндомастигот *P. inconstans* до (4) и через 24 ч после начала эксперимента (3); кс — кинетосома;
 хт — хроматин; яд — ядрышко.

Fig. 2. Fine structure of endomastigotes of *Proteomonas inconstans* before and after drying.