

УДК 576.893.195 : 32.595.34

© 1995

**НОВАЯ МИКРОСПОРИДИЯ ALFVENIA CERIODAPHNIAE SP. N.
ИЗ CERIODAPHNIA RETICULATA (CRUSTACEA: CLADOCERA)**

С. С. Видтманн, Ю. Я. Соколова

На основе электронно-микроскопического исследования приводится описание *Alfvenia ceriodaphniae* sp. n. из *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea, Cladocera).

У Cladocera описано более 35 видов микроспоридий (Larsson, 1981; Larsson, Yan, 1988), в том числе у *Ceriodaphnia reticulata* 5 видов (Воронин, 1986).

В июле 1989 г. в пробе планктона, отловленного в оз. Дрингис Игналинского р-на (Литва), была обнаружена самка *Ceriodaphnia reticulata*, зараженная микроспоридиями. Ограниченное количество материала не позволило провести полнообъемное светооптическое исследование паразита. В то же время на основе данных электронной микроскопии установлено его сходство с *Alfvenia* и дано описание под видовым названием *Alfvenia ceriodaphniae*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Зараженная особь была обнаружена в пробе, взятой 27 июля 1989 г. в мелком заливе южной части оз. Дрингис. На предметном стекле в капле воды препаровальной иглой был разрушен панцирь и мягкие ткани рачка. В результате часть спор паразита попала в воду. Затем рачок был удален, а капля была покрыта покровным стеклом, края которого были обведены глицерин-желатином. Для исследования препарата использовался микроскоп Jenaval (ок. $\times 10$, об. $\times 100$). Фотографирование живых спор проводилось при помощи микроскопа МБИ-15 с фотонасадкой при увеличении $\times 900$ на фотопленку микрат-300. Для измерения спор применяли винтовой окуляр-микрометр.

Для электронно-микроскопического исследования рачок был зафиксирован 2.5 %-ным раствором глутарового альдегида на какодилатном буфере, где он сохранился около одного месяца, после чего образец промывали фосфатным буфером и постфиксировали 1 %-ным раствором OsO_4 в том же буфере. После стандартной проводки через серию спиртов и ацетон образец заключался в аралдит. Срезы изготавливались на ультратоме Reichert-Young II. Контрастированные цитратом свинца (по Рейнольдсу) и уранил-ацетатом (насыщенный раствор в 50 %-ном этаноле) срезы просматривались в электронный микроскоп Hitachi-300.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Световая микроскопия. На водных препаратах обнаружены яйцевидные одиночные споры (см. рисунок, *н*; см. вкл.) с довольно толстой оболочкой, истончающейся у апикального полюса над полярной шапочкой. Размеры зрелых спор $4.5(4.2-4.8) \times 3.3(2.9-3.5)$ мкм ($n = 31$).

Электронная микроскопия. Меронты – крупные амебоидные клетки, содержащие 1–2 диплокариона, с недифференцированной цитоплазмой, в которой различимы лишь многочисленные свободные рибосомы и практически отсутствуют мембранные структуры (*а*). Переход к спорогонии характеризуется появлением электронноплотных утолщений поверх плазмалеммы клетки паразита (*б*). Постепенно утолщения сливаются между собой, формируя оболочку спорогонального плазмодия (*в*). Деление спорогонального плазмодия розеткообразно (*в*, *г*). В лопастях розетки содержится по одному ядру. Образовавшиеся в результате деления споробласты содержат многочисленные мембранные структуры – зачатки будущего поляропласта и вакуоли аппарата Голджи с зачатками полярной трубки (*г*, *д*). Обращает на себя внимание характерная трехслойная структура оболочки споробластов, которая состоит из двух электронноплотных мембраноподобных слоев, разделенных электронно-прозрачным участком. Наружный слой несет на себе упорядоченно расположенные выросты с утолщениями на концах так, что споробласты по всей поверхности окружены „щеткой” из этих выростов (*е*). Постепенно вытягиваясь, споробласты приобретают форму спор, одновременно несколько уменьшаясь в размерах. В них различимы следующие органеллы: одно крупное ядро; каналы эндоплазматического ретикулума, расположенные рядами вдоль поверхности ядра; округлая электронноплотная структура в задней части споробласта, которая иногда сохраняется у зрелых спор и соответствует задней вакуоли других видов микроспоридий (*ж*). Начиная с этого момента жизненного цикла, вокруг паразитов выявляется дополнительная оболочка. Она свободно окружает молодые и зрелые споры, иногда приближаясь почти вплотную, а иногда значительно отдаляясь от экзоспоры (*ж*, *з*). Мы предполагаем, что эта вновь возникшая оболочка представляет собой наружную часть оболочки споробласта, которая отслаивается от основной ее части по мере уменьшения размеров паразита при созревании споры. Не исключено, что выросты „щеточного слоя” сливаются своими утолщениями и отделяются от спор, формируя „спорофорный пузырек”. Таким образом, эта оболочка не является панспоробластической, так как она не имеет отношения к мембране спорогонального плазмодия (панспоробласта). По сути дела это эписпоральное образование, формирующееся по мере созревания спор, аналогичное различным выростам и утолщениям экзоспоры, характерным для микроспоридий из водных беспозвоночных. В пользу такой точки зрения свидетельствует тот факт, что на электронно-микроскопических фотографиях спор заметно, что эта оболочка в некоторых местах, чаще всего в апикальной и каудальной частях спор, сохраняет связь с экзоспорой в виде электронноплотных тяжей (*и*).

Споры одноядерные. Поляропласт состоит из двух частей: пластинчатой и камерной (*з–л*). На рисунке (*к*) хорошо видны камеры поляропласта, отходящие непосредственно от полярной трубки. Полярная трубка изофилярна, число ее витков – 8–9. Основание полярной трубки образует характерную „фурку” (*м*). Оболочка споры состоит из плазмалеммы, электронно-прозрачной эндоспоры, электронноплотной экзоспоры и эписпоры, которая на электронных фотографиях выглядит как спорофорный пузырек (*и*). Аналогичную оболочку имеет и *Alfvenia nuda* (Larsson, 1983).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ряд признаков, таких как диплокариотичность мерогональных стадий, одноядерность спор, присутствие индивидуальных „спорофорных пузырьков”, формирование различного числа споробластов в результате деления спорогонального плазмодия, изофилярность полярной трубки и наличие пластинчатой части поляропласта, свидетельствует о сходстве найденной микроспоридии с родами *Alfvenia* и *Janacekia* (Larsson, Yan, 1988). Также обращает на себя внимание морфологическое сходство всех стадий развития этого паразита с таковыми *Bervalidia schaefernai* (Vavra, Larsson, 1994). В пользу близости *B. schaefernai* и нашего вида говорит паразитирование в близкородственных хозяевах (*B. schaefernai* описана из *Daphnia galeata*, этот вид находили и у *Ceriodaphnia*, по данным Йировеча (Vavra, Larsson, 1994). Однако диагноз рода *Bervalidia* (Larsson, 1981) включает в себя отсутствие диплокариона на мерогональных стадиях и образование двояных спор, что не позволяет отнести описываемый вид к этому роду. Что касается собственно *B. schaefernai*, то помещение этого вида в род *Bervalidia* является, на наш взгляд, спорным. Отсутствие диплокариона на мерогональных стадиях вызывает сомнения: на мазках меронтов, окрашенных по Гимза–Романовскому (Vavra, Larsson, 1994, с. 47), отчетливо видны попарно расположенные ядра, а указание на то, что ядра не образуют характерного для диплокарионов контакта, не кажется нам убедительным. Кроме того, ни на фотографии живых спор (там же, с. 47), ни на ультратонком срезе (с. 49) не видно попарно расположенных спор, хотя вполне вероятно, что связь между спорами быстро нарушается.

Данная микроспоридия не может быть причислена к роду *Janacekia* по следующим соображениям. Во-первых, экзоспора спор *Janacekia* тонкая, тогда как у нашего вида она толстая. Во-вторых, каждая спора *Janacekia* заключена в спорофорный пузырек, состоящий из двух оболочек различного происхождения – внутренней, отслоившейся от оболочки споробласта, и внешней, сохранившейся оболочки мерогонального плазмодия. У найденного вида „спорофорный пузырек” образован лишь отслоением наружного слоя оболочки споробласта. В-третьих, полость „спорофорного пузырька” *Janacekia* пронизана трубчатым секретом. У обнаруженной микроспоридии секрет отсутствует. В то же время сходство именно по этим деталям тонкого строения позволяет отнести обнаруженную микроспоридию к роду *Alfvenia*. В отличие от автора рода (Larsson, 1983) мы считаем, что индивидуальная дополнительная оболочка спор этого рода так же, как и у некоторых других родов сем. Tuzetiidae (например, у *Bervalidia*), ведет свое происхождение не от оболочки споронта, а формируется на более поздних стадиях и является „споробластогенетической”. Это позволяет нам рассматривать это образование как гомологичное эписпорам. По нашему мнению, признак наличия или отсутствия такого рода образований следует использовать с большой осторожностью для характеристики таксонов выше видового уровня.

Род *Alfvenia* является монотипичным и был образован Ларссоном (Larsson, 1983) для микроспоридии *Alfvenia nuda*, обнаруженной у *Acantocyclops viridis*. От *A. nuda* описываемая микроспоридия отличается размерами, числом витков полярной трубки и некоторыми другими деталями строения (Larsson, 1983).

У *Ceriodaphnia* известно 5 видов микроспоридий, исследованных в световом микроскопе (Moriez, 1887; Воронин, 1986) и по имеющимся описаниям отличающихся от найденной нами (см. таблицу). Исходя из этого обнаруженный нами вид считаем новым и даем ему название *Alfvenia ceriodaphniae*.

Данные светооптического исследования микроспоридий,
описанных у рода *Ceriodaphnia*

Data of light microscope studies on microsporidia in the genus *Ceriodaphnia*

Вид	Локализация	Описание спор
<i>Pleistophora obtusa</i> (Moniez, 1887)	В крови хозяина	Тупые, с расширенным задним концом и вакуолью, 4.0×2.5 мкм
<i>Tuzetia ceriodaphniae</i> (Voronin, 1986)	Гиподерма	Эллиптические, живые $5.1(4.8-5.4) \times 2.5(2.3-2.8)$ мкм, полярная трубка длиной 110 мкм
<i>Tuzetia juntchisi</i> (Voronin, 1986)	Жировое тело	Овальные, живые $4(3.6-4.5) \times 2(1.9-2.2)$ мкм
<i>Gurleydes biformis</i> (Voronin, 1986)	Та же	Два типа спор. Одиночные, яйцевидной формы, 4.2×2.4 мкм; сгруппированные по 4, удлинено-яйцевидные, 4.8×1.6 мкм
<i>Toxoglugea</i> sp. (Voronin, 1977)	Не установлена	Дугообразные, длина около 4, ширина 1.1–1.6 мкм; сгруппированы по 4
<i>Alfvenia ceriodaphniae</i> sp. n. (Vidtmann, Sokolova, 1991)	Гиподерма	Споры яйцевидные, одиночные, живые $4.5(4.2-4.8) \times 3.3(2.9-3.5)$ мкм

***Alfvenia ceriodaphniae*. Vidtmann et Sokolova sp. n.**

Хозяин: *Ceriodaphniae* Jur.

Локализация: гиподерма.

Место обнаружения: оз. Дрингис Игналинского района Литвы.

Вегетативные стадии: меронты крупные, ядерный аппарат диплокариотический.

Стадии спорогонии: спорогональные плазмодии делятся почкованием розеткообразно. Споронты и споробласты одноядерные.

Споры яйцевидные, $4.5(4.2-4.8) \times 3.3(2.9-3.5)$ мкм, расположены поодиночке внутри оболочки, образованной наружным слоем оболочки споробласта и являющейся, таким образом, эписпорой. Полярная трубка изофилярная, число витков 8–9. Полярoplast пластинчато-камерный. Экзоспора толстая трехслойная.¹

Список литературы

- Воронин В. Н. Микроспоридии ракообразных // Протозоология. 1986. Вып. 10. С. 137–167.
Larsson R. A new microsporidium *Bervalidia singularis* gen. et sp. nov. from *Daphnia pulex* and a survey of microsporidia described from Cladocera // Parasitology. 1981. Vol. 4, N 3. P. 325–342.
Larsson R. A revisionary study of the taxon *Tuzetia* Maurand, Fize, Fenwick and Michel, 1972 and related forms (Microspora, Tuzetiidae) // Protistologica. 1983. Vol. 19. P. 323–355.
Larsson R., Yan N. The ultrastructural cytology and taxonomy of *Duboscqia sidae* Jirovec, 1942 (Microspora, Duboscqiidae) with establishment of the new genus *Agglomerata* gen. nov. // Arch. Protistenkd. 1988. Vol. 135. P. 271–288.
Moniez R. Sur des parasites nouveaux des Daphnies // C. R. Acad. Sci. 1887. Vol. 104. P. 183–185.

¹ Авторы статьи выражают искреннюю благодарность Ирме Викторовне Исси за ценные консультации при описании вида, а также сотрудникам лаборатории электронной микроскопии Всероссийского Института сельскохозяйственной микробиологии за помощь в проведении ультраструктурного анализа.

Varva J., Larsson R. *Bervaldia schaefernai* (Jirovec, 1937) comb. n. (Protozoa, Microsporida).
Fine structure, life cycle and relationship to *Bervaldia singularis* Larsson, 1981 // *Europ. J. Protistol.* 1994. Vol. 30. P. 45–54.

Институт экологии,
Вильнюс, Литва

Поступила 28.11.1991
После доработки 10.12.1994

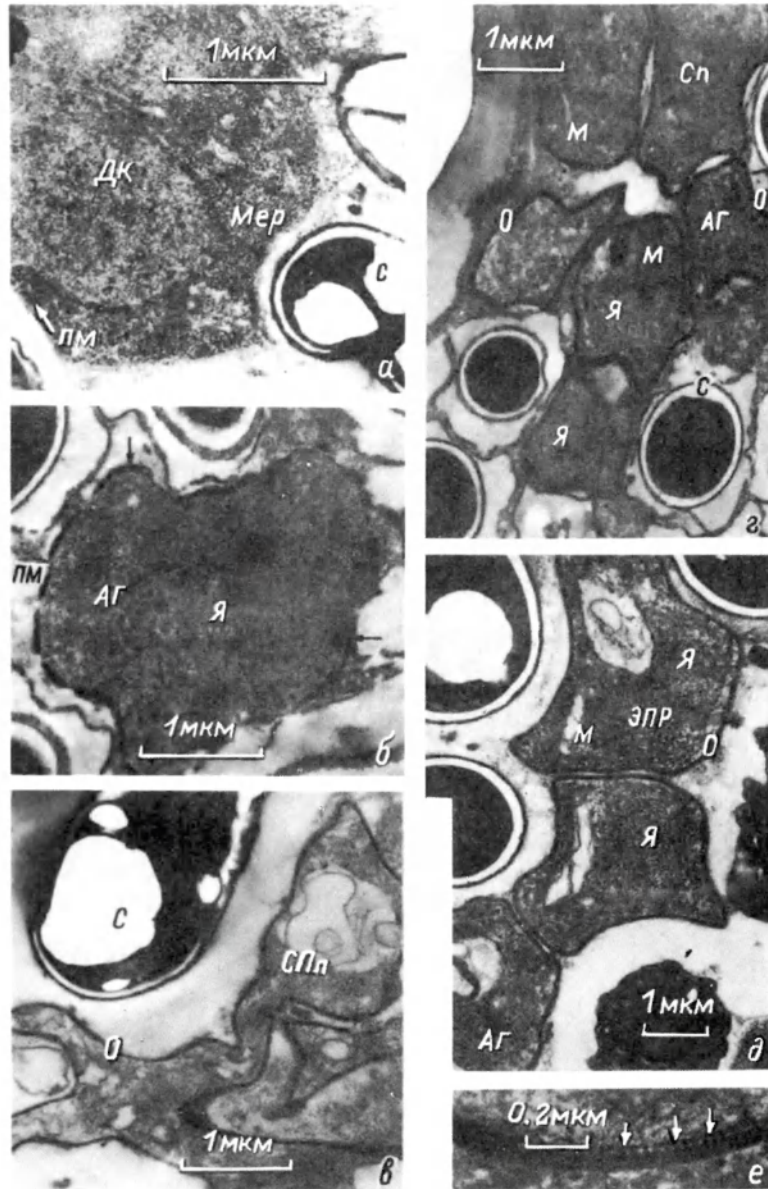
A NEW MICROSPORIDIA ALFVENIA CERIODAPHNIAE SP. N.
FROM CERIODAPHNIA RETICULATA (CRUSTACEA: CLADOCERA)

S. S. Vidtmann, Yu. Ya. Sokolova

Key words: *Alfvenia ceriodaphniae* sp. n., envelope of sporoblast

SUMMARY

On the basis of electronmicroscopic data the description of *Alfvenia ceriodaphniae* sp. n. from *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea, Cladocera) is presented. The nuclear apparatus of meronts is diplo-karyotic. Sporonts, sporoblasts and spores are uninuclear. The sporogonial plasmodium undertakes the rosette-like division with the formation of sporoblasts. Spores are egg-shaped, their size: $4.5(4.2-4.8) \times 3.3(2.9-3.5) \mu\text{m}$. Every spore lays individually inside the envelope, that is formed from the external layer of the sporoblast wall. Polar tube is isofillar, forming 8–9 coils. Polaroplast is consisted of the lamellar and chamber parts. The site of parasite localisation is crustacean hypoderm.



Alfvénia ceriodaphniae sp. n. из *Ceriodaphnia reticulata*.

а — меронт; б — ранний споронт; в — спорогональный плазмодий, приступающий к делению; г — группа молодых споробластов; д — „поздние” споробласты; е — оболочка споробласта; ж — споробласт с дополнительной оболочкой — эписпорой; з, и, л — зрелая спора; к — участок камерного поляропласта; м — передний конец споры; н — вид споры в световом микроскопе. АГ — аппарат Гольджи; Гр — электронноплотные гранулы; ДК — диплокарион; М — мембранные структуры — зачатки элементов экструзионного аппарата; Мер — меронт; О — оболочка паразита; ПД — полярный диск; ПМ — плазматическая мембрана; ПП1 — пластинчатый участок поляропласта; ПП2 — камерный участок поляропласта; ПС — полярный сак; ПТ — полярная трубка; ПШ — полярная шапочка; С — споры; Сп — молодые споробласты; СПл — спорогональный плазмодий; Эк — экзоспора; Эн — эндоспора; Эп — эписпора; ЭПР — эндоплазматический ретикулум;

