

УДК 576.893.195 : 597.5 (470)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ СПОР МИКРОСПОРИДИЙ
РОДА *GLUGEA* ИЗ РЫБ РОССИИ

© В. Н. Воронин, А. В. Бурякина, И. Я. Колесникова, А. В. Тютин

Исследована ультраструктура спор 6 видов микроспоридий рода *Glugea*. На основании сходной организации споровых органелл делается вывод о филогенетической близости изученных видов и однородности рода *Glugea*. Обсуждаются проблемы видовой самостоятельности микроспоридий из колюшек, а также из ерша и окуня.

Микроспоридии рода *Glugea* Thélohan, 1891 имеют споры, сходные по форме и близкие по размерам, что затрудняет их идентификацию (Исси, Воронин, 1984) и ставит под сомнение валидность ряда видов (Canning, Lom, 1986). В настоящее время видоспецифичные особенности строения спор микроспоридий выявляют при их электронно-микроскопическом исследовании. Изучение ультраструктуры микроспоридий рыб России и сравнительный анализ ультратонких особенностей спор для обоснования их видовой самостоятельности послужили основой данной работы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Микроспоридий рыб собирали в течение 1988–1993 гг. в различных водоемах России. Всего собрано и изучено на ультратонком уровне 6 видов микроспоридий рода *Glugea* (см. таблицу). При нахождении микроспоридий из суспензии спор изготавливали водные препараты (Воронин, Исси, 1974), а целые ксеномы одновременно фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине и 2.5 %-ном глутаральдегиде на какодилатном буфере (рН 7.2). В зависимости от условий сбора материал находился в глутаральдегиде 4–48 ч, после чего проводили его постфиксацию 1 %-ным раствором OsO_4 в течение 2 ч. Затем материал обезживали, проводя через серию спиртов возрастающей концентрации и абсолютный ацетон, и заливали в аралдит. Срезы делали на ультрамикротоме LKB. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом, окрашивали цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе JEM-100С.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Краткая характеристика исследованных на светооптическом уровне паразитов приведена в таблице и в „Определителе паразитов пресноводных рыб” (Исси, Воронин, 1984). Далее приводятся данные только по ультратонкому строению спор исследованных видов. Характеристика общего плана строения спор микроспоридий содержится в обзорах Исси (1986) и Ларссона (Larsson, 1986, 1988).

Glugea anomala (Moriez, 1887) (рис. 1; см. вкл.). Типовой вид. Якорный диск небольшой, расположен несколько эксцентрично от продольной оси споры. Поляропласт состоит из двух хорошо различных частей. Его передняя часть, примыкающая к якорному диску, образована многочисленными тонкими плотно уложенными

Краткая характеристика микроспоридий рода *Glugea*, выделенных из пресноводных рыб России

Brief characteristics of microsporidians of the genus *Glugea* taken from freshwater fishes of Russia

Виды рода	Хозяин	Локализация ксеном	Размер ксеном (мм)	Размер спор (мкм)	Место нахождения вида
<i>Glugea anomala</i> (Moniez, 1887)	Колюшка <i>Pungitius pungitius</i> (L.)	Подкожная	3–4	4.6 (3.3–5) × × 2.3 (2.1–2.5)	Финский залив
<i>G. gasterostei</i> Voronin, 1974	Колюшка <i>Gasterosteus aculeatus</i> L.	На внутренних органах	4–5	5.6 (4.8–6) × × 2.6 (2.1–2.8)	То же
<i>G. fennica</i> Lom et Weiser, 1969	Налим <i>Lota lota</i> (L.)	Подкожная	2–3	7.2 (6–8.3) × ± 2.5 (2.3–2.8)	Оз. Врево, Рыбинское водохранилище
<i>G. hertwigi</i> Weissenberg, 1911	Корюшка <i>Osmerus eperlanus</i> (L.)	Повсеместно	3–5	5.4 (4.8–6) × × 2.4 (2.1–2.6)	Сямозеро (Карелия)
<i>G. acerinae</i> Jirovec, 1930	Ерш <i>Gimnocephalus cernua</i> (L.)	В стенке кишечника	0.1–0.4	4.4 (3.8–4.8) × × 2.2 (2.1–2.4)	Рыбинское водохранилище, Финский залив
<i>Glugea</i> sp. Voronin, Burjakina, Kolesnikova et Tyutin, 1997	Окунь <i>Perca fluviatilis</i> L.	Там же	0.2–0.4	4.3 (3.8–4.7) × × 2.2 (2.1–2.4)	Волга возле Тольятти, оз. Хотавец и Дубровское Ярославской обл.

пластинками, в то время как задняя часть состоит из тонких, но редко лежащих пластин. В общей сложности поляропласт занимает около 1/3 объема споры. Полярная трубка тонкая, около 100 нм, образует обычно 13–15 витков, лежащих вдоль стенки споры в один ряд. В зрелых спорах последние 3 витка заметно тоньше предыдущих. Эндоспора относительно тонкая, до 80 нм. Экзоспора толщиной около 20 нм, бесструктурная, мелковолнистая. Ядро одно, крупное, расположено в центре споры. Задняя вакуоль у споробластов отсутствует, в зрелых спорах она крупная и содержит небольшое количество мелких электронноплотных гранул.

G. gasterostei Voronin, 1974 (рис. 1, 2). Строение спор этого вида очень сходно с *G. anomala*. Различия состоят в большем числе витков полярной трубки (15–16) и более крупной по размеру задней вакуоли. Толщина и внутреннее строение полярной трубки обоих видов практически одинаковые.

G. fennica Lom et Weiser 1969 (рис. 1, 3–4). Якорный диск расположен по центру продольной оси споры. Полярная трубка изофилярная, очень тонкая и длинная, свернута в 25–27 витков, лежащих в один ряд. Строение поляропласта сходно с таковым *G. anomala* (рис. 1, 3). В целом он занимает 1/4–1/3 объема споры. Эндоспора и экзоспора сравнительно тонкие. Их толщина в сумме составляет 100–120 нм.

Ядро крупное, имеет форму, близкую к прямоугольной, и окружено 3–4 рядами шероховатого эндоплазматического ретикулума. Задняя вакуоль крупная, хорошо выражена и заполнена рыхлым гранулярно-нитчатым электронноплотным материалом.

C. hertwigi Weissenberg, 1911 (рис. 2, 1; см. вкл.). Якорный диск расположен эксцентрично. При косом срезе споры видна кольцевая организация поляропласта. Полярная трубка свернута в 17–19 витков, лежащих в один, реже в два ряда. Последние два витка заметно тоньше предыдущих. Задняя вакуоль обычно свободна от электронноплотных включений, часто деформирована.

G. acerinae Jirovec, 1930 (рис. 2, 2, 3). Якорный диск расположен эксцентрично. Передняя часть поляропласта, толщиной 0.2–0.25 мкм, охватывает заднюю в виде подковы. Полярная трубка тонкая, свернута в 13–15 витков. Диаметр последних 1–2 витков почти в 2 раза меньше (45–55 нм) основных 11–13 витков (100–110 нм). Эндоспора и экзоспора тонкие, не превышающие в общем 80 нм. Задняя вакуоль занимает почти половину объема споры, часто заполнена мелкими хлопьями электронноплотного материала. У многих спор тонкая стенка сильно вдавлена внутрь задней вакуоли. В отдельных случаях к спорам примыкает тонкая электронноплотная оболочка, возможно, стенка спорофорного пузырька.

Glugea sp. (рис. 2, 4). Микроспоридия, образующая мелкие ксеномы в стенке кишечника окуня. Строение спор этого паразита совпало с описанием *Glugea acerinae* из кишечника ерша: сходны как соотношение числа толстых и тонких витков полярной трубки, так и их ультраструктура на поперечных срезах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Из морских и пресноводных рыб описано свыше 20 видов микроспоридий рода *Glugea* (Canning, Lom, 1986), но только у 6 из них изучалась ультратонкая организация. Для *Glugea atherinae* известны как строение полярной трубки, так и число ее витков, равное 10 (Bergeri, 1979). Количество витков полярной трубки у *G. anomala* из трехиглой колюшки составляет 12–13 (Schmahl, Mehlhorn, 1989), а у *G. pimephalas* из жирноголового пимефалеса – 15–16 (Morrison e. a., 1985). Интересно отметить, что на электронограммах спор этих видов последние три витка полярной трубки значительно тоньше, чем предыдущие. Для остальных трех видов микроспоридий известно только примерное число витков трубки. Максимальное количество витков (22–25) указано для *G. truttiae* (Loubes e. a., 1981), сравнительно небольшое – для *G. stephani*, где оно варьирует в описаниях разных авторов от 12 (Jensen, Wellings, 1972) до 13–14 (Takvorian, Cali, 1981). О числе витков полярной трубки у *G. weissenbergi* точных данных нет, но оно явно больше 12 (Sprague, Vernick, 1968).

Нами впервые изучена ультраструктура спор 5 видов микроспоридий: *G. fenica*, *G. hertwigi*, *G. gasterostei*, *G. acerinae* и *Glugea* sp. из окуня, а также получены данные по тонкому строению спор *G. anomala* из 9-иглой колюшки. Вместе с литературными данными это дает достаточно большой фактический материал, позволяющий провести сравнительный анализ морфофункциональной организации спор микроспоридий рода *Glugea*. Все изученные виды характеризуются единой схемой строения и расположения внутриспоровых органелл. Поляропласт, находящийся в передней части споры, обычно занимает около 1/3 объема споры и состоит из двух четких частей – передней, образованной плотно уложенными пластинками, и задней, в которой пластины значительно удалены друг от друга. Крупное ядро находится в центральной части споры. Задняя вакуоль у большинства видов большая и занимает около половины объема споры. У зрелых спор она обычно свободна от включений, либо содержит рыхло лежащие гранулы и нити электронно-

плотного материала. У молодых спор задняя вакуоль часто не видна. У многих видов стенка споры на заднем конце образует чашевидное углубление. Якорный диск обычно расположен эксцентрично. Отходящая от него полярная трубка тонкая, и ее витки обычно лежат в один ряд, плотно прилегая к стенке споры. Последняя состоит из внутренней сравнительно толстой электронно-прозрачной эндоспоры и внешней – тонкой электронноплотной экзоспоры.

Таким образом, сходная организация спор у изученных на ультратонком уровне видов микроспоридий свидетельствует об их филогенетической близости и об однородности рода *Glugea*. В связи с этим подразделение рода на 2 группы с крупными и мелкими ксеномами (Canning, Lom, 1986), очевидно, представляет интерес для выяснения особенностей паразито-хозяйинных отношений на клеточном уровне, но не имеет таксономической ценности. Подтверждением нашему мнению служит тот факт, что практически все виды микроспоридий, образующие мелкие ксеномы, паразитируют только в стенке кишечника, точнее в его подслизистом слое, в то время как виды с крупными ксеномами имеют подкожную или мезентериальную локализацию.

Значительную проблему представляет обоснование самостоятельности ряда видов. Рассмотрим два конкретных примера. У колюшек, кроме *G. anomala*, описаны еще два вида микроспоридий: *G. gasterostei* – из 3-иглой колюшки (Воронин, 1974) и *G. weissenbergi* – из американской 4-иглой колюшки (Sprague, Vernick, 1968). По данным световой микроскопии, эти микроспоридии имеют споры достоверно более крупных размеров и несколько другой формы, чем *G. anomala*, что и послужило основанием для их выделения в самостоятельные виды. В то же время имеется мнение (Canning, Lom, 1986), что эти виды идентичны *G. anomala*. Проведенное нами исследование ультраструктуры спор *G. anomala* из 9-иглой колюшки и *G. gasterostei* – из 3-иглой колюшки не выявило существенных различий между этими видами, за исключением небольшого превышения числа витков полярной трубки у *G. gasterostei* (15–16) над *G. anomala* (13–15). В нашем материале практически полное совпадение в строении спор установлено и между видом *G. acerinae* из ерша, и микроспоридией *Glugea* sp. из окуня. При сходной морфологии и локализации в клетках стенки кишечника эти микроспоридии имеют хозяев, принадлежащих к разным родам. Таким образом, как в случае с микроспоридиями из колюшек, так и в случае с микроспоридиями из ерша и окуня у разных хозяев отмечены морфологически близкие формы микроспоридий. Определение их систематического статуса требует большой осторожности. Для ракообразных уже известен случай, когда морфологически близкие формы микроспоридий, паразитирующие в разных хозяевах одного рода, выделили в два самостоятельных вида (Vavra, Larsson, 1994). По аналогии микроспоридии *G. anomala* и *G. gasterostei* из колюшек, морфологически близкие, но достоверно различающиеся по размеру спор ($P < 0.001$), а также по числу витков полярной трубки, могут рассматриваться как отдельные виды.

Список литературы

- Воронин В. Н. Некоторые микроспоридии из колюшек Финского залива // Acta Protozoologica. 1974. Vol. 13. P.212–220.
- Воронин В. Н., Исси И. В. О методиках работы с микроспоридиями // Паразитология. 1974. Т. 8, вып. 3. С. 272–273.
- Исси И. В., Воронин В. Н. Тип Микроспоридии // Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 1. Л.: Наука, 1984. С. 73–87.
- Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Микроспоридии. Л.: Наука, 1986. С. 6–136.
- Berrebi P. Etude ultrastructurale de *Glugea atherinae* n. sp., microsporidie de l'atheri-

- nae, *Atherine boyeri* Risso, 1810 (Poisson, Teleosteen) dans les lagunes du Languedoc et de Provence // *Z. Parasitenk.* 1979. Bd 60. S. 105–122.
- Canning E. U., Lom J. The Microsporidia of Vertebrates. London; Acad. Press. Inc., 1986. 289 p.
- Jensen H.M., Wellings S. R. Development of the polar filament-polaroplast complex in a microsporidian parasite // *J. Protozool.* 1972. Vol. 19. P. 297–305.
- Larsson R. Ultrastructure, function and classification of microsporidia // *Prog. Protistol.* 1986. Vol. 1. P. 325–390.
- Larsson R. Identification of Microsporidian genera (Protozoa, Microspora) – a guide with comments on the taxonomy // *Arch. Protistenkd.* 1988. Bd 136. S. 1–37.
- Loubes C., Maurand D., Walzer C. Developpement d'une microsporidia *Glugea truttae* n. sp. dans le sac vitellin de l'avelin de la truite *Salmo fario trutta* L.: étude ultrastructurale // *Protistologica.* 1981. T. 17. P. 177–184.
- Morrison C., Hoffman G. L., Sprague V. *Glugea pimephales* (Fantham et al., 1941) n. comb. (Microsporidia, Glugeidae) in the fathead minnow *Pimephales promelas* // *Can. J. Zool.* 1985. Vol. 63. P. 380–391.
- Schmahl G., Mehlhom H. Treatment of Fish Parasites. G. Effect of Sym. Triazinone (Toltrazuril) on developmental stages of *Glugea anomala*, Moniez, 1887 (Microsporidia): A light and electron microscopic study // *Europ. J. Protistol.* 1989. Vol. 24. P. 252–259.
- Sprague V., Vernick S. H. Light and electron microscope study of a new species of *Glugea* (Microsporida, Nosematidae) in the 4-spined stickleback, *Apeltes quadracus* // *J. Protozool.* 1968. Vol. 15. P. 547–571.
- Takvorian P. M., Cali A. The occurrence of *Glugea stephani* (Hagenmuller, 1899) in American winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Wallbaum) from the New York–New Jersey lower bay complex // *J. Fish. Biol.* 1981. Vol. 18. P. 491–501.
- Vavra J., Larsson R. *Berwaldia schaefernai* (Jirovec, 1937) comb. n. (Protozoa, Microsporida), fine structure, life cycle, and relationship to *Berwaldia singularis* Larsson, 1981 // *Europ. J. Protistol.* 1994. Vol. 30. P. 45–54.
- ГосНИОРХ, Санкт-Петербург, 199034 Поступила 16.11.1995

COMPARATIVE MORPHOLOGY OF SPORES OF THE GENUS *GLUGEA*
FROM FISHES OF RUSSIA

V. N. Voronin, A. V. Buryakina, I. A. Kolesnikova, A. V. Tyutin

Key words: Microsporidia, Glugeidae, *Glugea*, spore, ultrastructure.

SUMMARY

An ultrastructure of microsporidia spores of *Glugea anomala* from *Pungitius pungitius*, *G. gasterostei* from *Gasterosteus aculeatus*, *G. fennica* from *Lota lota*, *G. hertwigi* from *Osmerus eperlanus*, *G. acerinae* from *Gimnocephalus cernua* and *Glugea* sp. from *Perca fluviatilis* is described. Similar spore organisation in these microsporidian species has been established. A conclusions about close phylogenetic relationships of species examined and homogeneity of the genus *Glugea* are proposed. Problems of species validity of *G. anomala*, *G. gasterostei* and *G. weissenbergi* from sticklebacks and microsporidian species from a common ruff and perch are discussed.

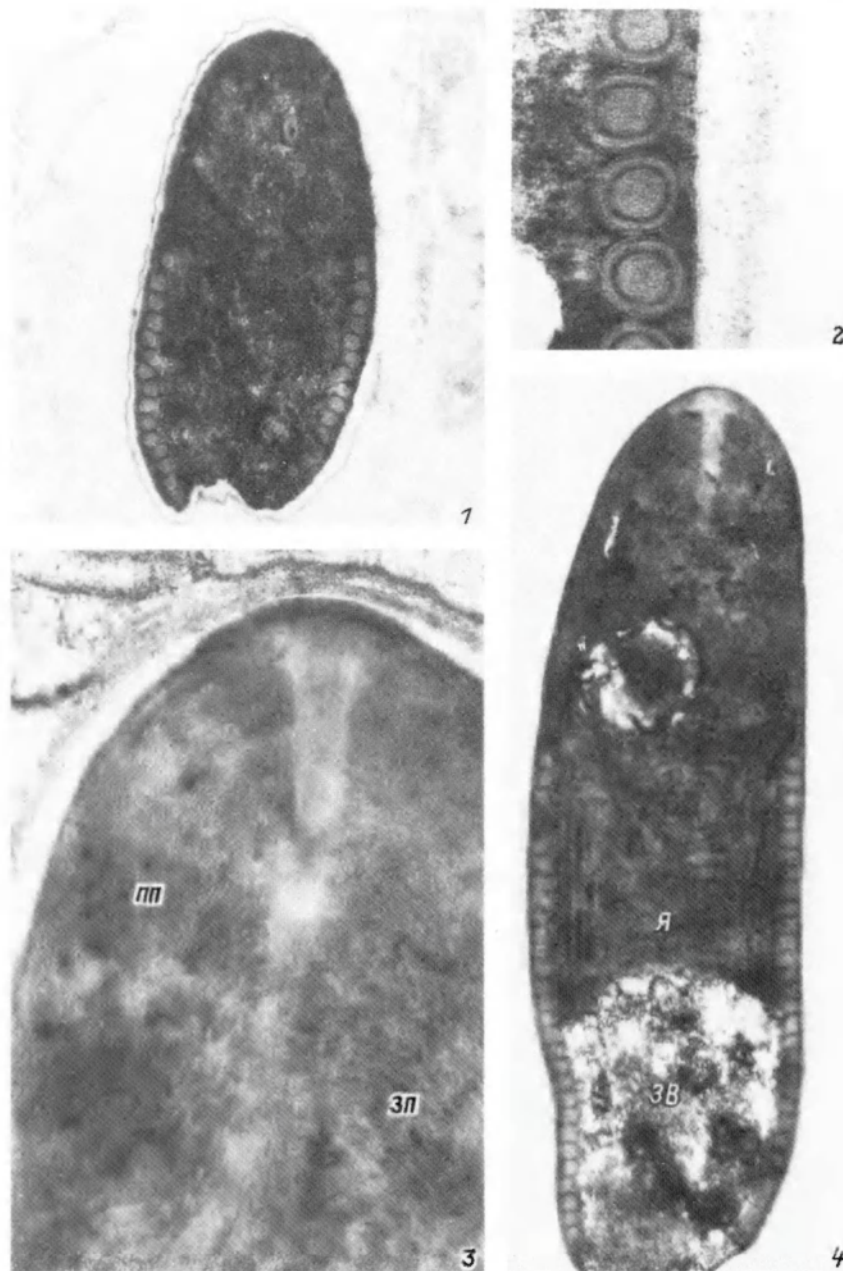


Рис. 1. Ультраструктура споробластов и спор *Glugea anomala*, *G. gasterostei* и *G. fennica*.

1 – продольный срез споры *G. anomala*, $\times 26\,000$; 2 – поперечный срез витков полярной трубки *G. gasterostei*, $\times 120\,000$; 3 – передний конец споры *G. fennica*, $\times 64\,000$; 4 – продольный срез споры *G. fennica*, $\times 24\,000$; ПП – передняя часть поляропласта; ЗП – задняя часть поляропласта; Я – ядро; ЗВ – задняя вакуоль.

Fig. 1. The ultrastructure of sporoblasts and spores of *Glugea anomala*, *G. gasterostei* and *G. fennica*.

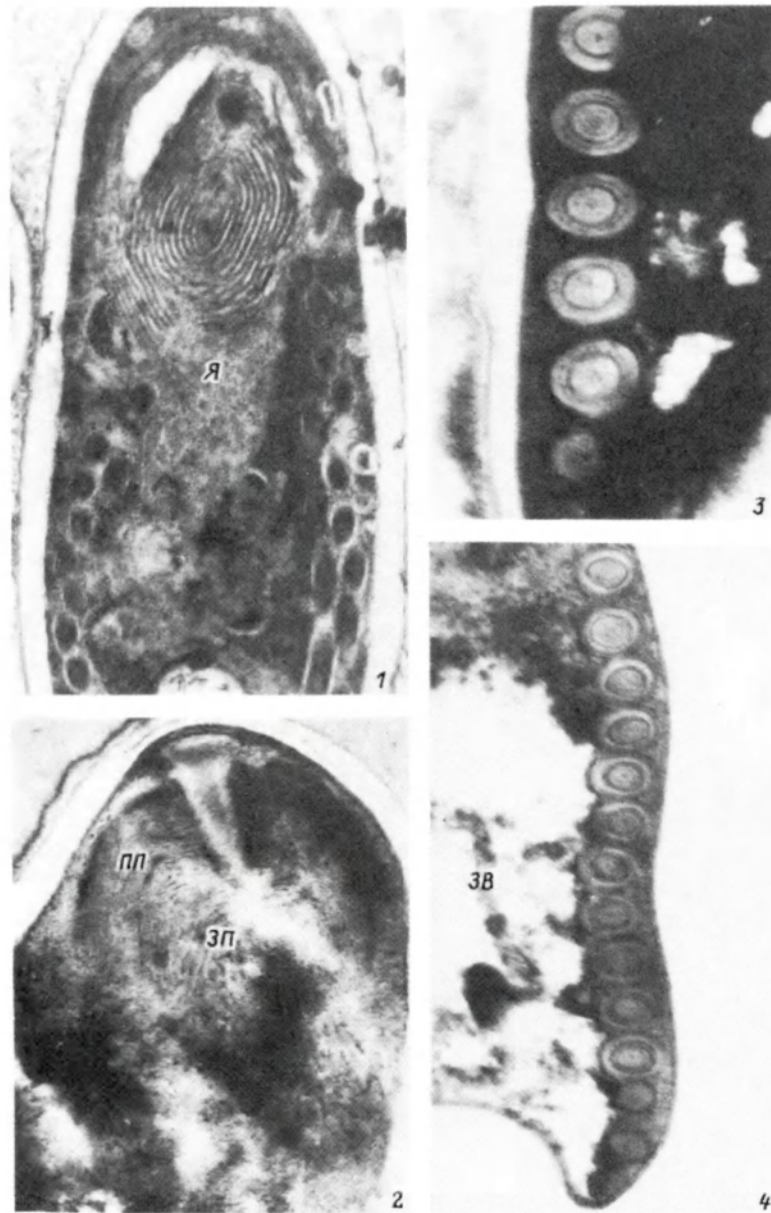


Рис. 2. Ультраструктура спор *G. hertwigi*, *G. acerinae* и *Glugea* sp.

1 – продольный срез молодой споры *G. hertwigi*, $\times 32\ 000$; 2 – передний конец споры *G. acerinae*, $\times 40\ 000$; 3 – поперечный срез витков полярной трубки *G. acerinae*, $\times 150\ 000$; 4 – задний конец споры *Glugea* sp., $\times 70\ 000$.

Обозначения такие же, как и на рис. 1.

Fig. 2. The ultrastructure of spores of *G. hertwigi*, *G. acerinae* and *Glugea* sp.