

УДК 576.895.133

**ОСОБЕННОСТИ ТОНКОГО СТРОЕНИЯ
ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ОБОЛОЧЕК СКРЕБНЕЙ
КЛАССА ЕОАСАНТОСЕРФАЛА НА ПРИМЕРЕ СКРЕБНЯ
NEOECHINORHYNCHUS CRASSUS**

© В. П. Никишин

У скребней *Neoechinorhynchus crassus* обнаружено 5 эмбриональных оболочек: 4 аналогичные имеющимся у всех остальных изученных скребней и 1 дополнительная, располагающаяся между наружной и второй оболочками и характерная только для некоторых представителей класса Еоасантосерфала. Обсуждается терминология оболочек в связи с их происхождением и возможным функциональным значением.

Соответствие структуры скорлупы яиц у скребней систематическому положению этих гельминтов впервые было показано еще Петроченко (1956) и впоследствии подтверждено результатами электронно-микроскопических исследований (Taraschewski, 2000; Никишин, 2001). Из имеющихся у большинства видов 4 эмбриональных оболочек лишь 3-я характеризуется морфологическими особенностями, присущими представителям конкретных классов. Наиболее просто она устроена у скребней, относящихся к классу Еоасантосерфала, а наиболее сложно — у Archiacanthocephala (Taraschewski, 2000; Никишин, 2001). В то же время у некоторых видов класса Еоасантосерфала во внешней части скорлупы описана дополнительная 5-я оболочка, отсутствующая у представителей двух других классов (Taraschewski et al., 1992; Taraschewski, 2000; Wongkham, Whitfield, 2004). По мнению этих авторов, дополнительная оболочка является наиболее наружной и поэтому обозначается ими как *Е0*. Однако вследствие ее морфологического сходства с наружной оболочкой у яиц скребней других видов такая трактовка представляется сомнительной.

В настоящей статье приводится описание тонкой морфологии эмбриональных оболочек скребня *Neoechinorhynchus crassus*, а также обсуждаются некоторые вопросы их терминологии у представителей класса Еоасантосерфала.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследованы 2 самки скребня *Neoechinorhynchus crassus* из сига *Coregonus lavaretus pidschian*, отловленного в р. Пучевеем (Северо-Западная Чукотка). Скребней фиксировали в 0.5 М растворе глутарового альдегида на фосфат-

ном буфере в течение 2 сут, промывали в 2 сменах такого же буфера, постфиксировали в 1 %-ном растворе тетраоксида осмия в течение 5 ч, обезвоживали и заливали в смесь эпон—аралдит. Контрастирование осуществляли раствором уранилацетата при обезвоживании в 70%-ном спирте в течение суток и на срезах цитратом свинца в течение 10—60 с. Ультратонкие срезы изучали и фотографировали в электронном микроскопе ЭМБ-100 БР. При обозначении оболочек и пространств между ними использована номенклатура Марчанда (Marchand, 1984a, b).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Скорлупа зрелых яиц скребня *N. crassus* в латеральных участках яйца имеет толщину 1.3—2.4 мкм и состоит из 5 оболочек (рис. 1, 2, см. вкл.). Наиболее наружная из них (*E1*), толщиной 0.03—0.05 мкм, имеет волнистый контур. Она образована двумя электронно-плотными слоями, разделенными более светлым пространством и тем самым внешне напоминает цитоплазматическую мембрану. 2-я оболочка (*E2*) состоит из 2 компонентов: основной пластинки и ее дистальных отростков. Основная пластинка (*E2b*) образована параллельными слоями электронно-плотного материала, перемежающимися тонкими, менее плотными прослойками. Ее толщина 0.16—0.18 мкм. Дистальные выросты основной пластинки (*E2a*) имеют форму фибрилл и несколько меньший диаметр и образованы таким же слоистым материалом. Обычно радиальную ориентацию имеют только их короткие базальные части, а остальные участки ориентированы более или менее параллельно основной пластинке.

Пространство между наружной и 2-й оболочками в разных направлениях пересекается дополнительной очень извилистой оболочкой (*E3*; рис. 1, 2, 3, см. вкл.). Она имеет вид пластинки, толщиной 0.04—0.06 мкм, и образована гомогенным материалом умеренной электронной плотности. Пространства между ней и элементами *E1* и *E2b* соответственно *G1* и *G5*, содержат неравномерно распределенные скопления мелкозернистой субстанции, более обильные в пространстве *G1*.

Ширина пространства *G2* колеблется от 0.09 до 0.13 мкм. Оно заполнено равномерно распределенным мелкозернистым материалом умеренной электронной плотности.

3-я оболочка имеет вид волнистой мембраны и образована 2 электронно-плотными слоями, разделенными более светлым промежутком (рис. 2). Ее толщина 0.02—0.03 мкм. По форме и строению она аналогична оболочке *E3a*, описанной разными авторами у представителей двух других классов. Пространство *G3* заполнено исключительно плотным гомогенным материалом, в котором иногда наблюдаются овальные полости с гранулярным содержанием; их размеры 0.22—0.33 × 0.10—0.19 мкм.

Наиболее внутренняя оболочка (*E4*) имеет толщину 0.14—0.22 мкм и образована материалом, по плотности близким к образующему *E2b* (рис. 1, 2). Его структуру определить не удалось. Эта оболочка участками вплотную прилегает к поверхности акантора, поэтому пространство *G4* выявляется фрагментарно. Его содержимое представлено такой же плотной субстанцией, как и в пространстве *G3*.

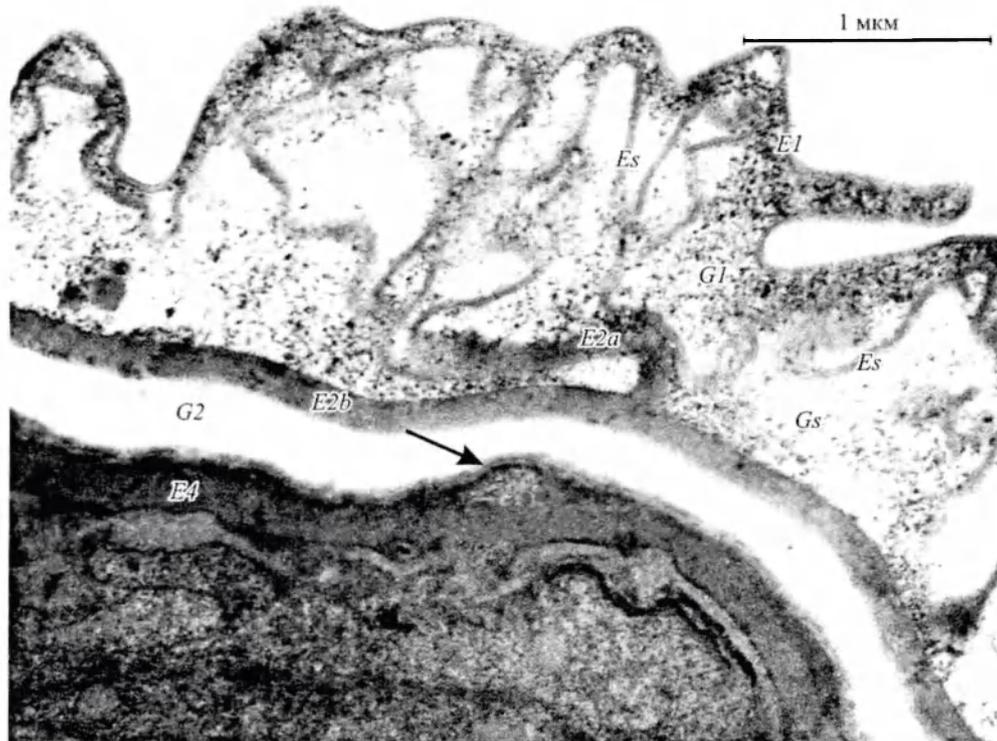


Рис. 1. Организация эмбриональных оболочек скребня *Neoechinorhynchus crassus*.

Наружная эмбриональная оболочка (E1) имеет извилистую внешность. Под ней располагается складчатая дополнительная оболочка (Es). Вторая оболочка состоит из пластинки E2b и дистальных отростков E2a. Пространство G3 заполнено электронно-плотным материалом, в котором видна полость с зернистым содержанием (показана стрелкой).

Fig. 1. Organization of the embryonic membranes in the spiny-headed worm *Neoechinorhynchus crassus*.

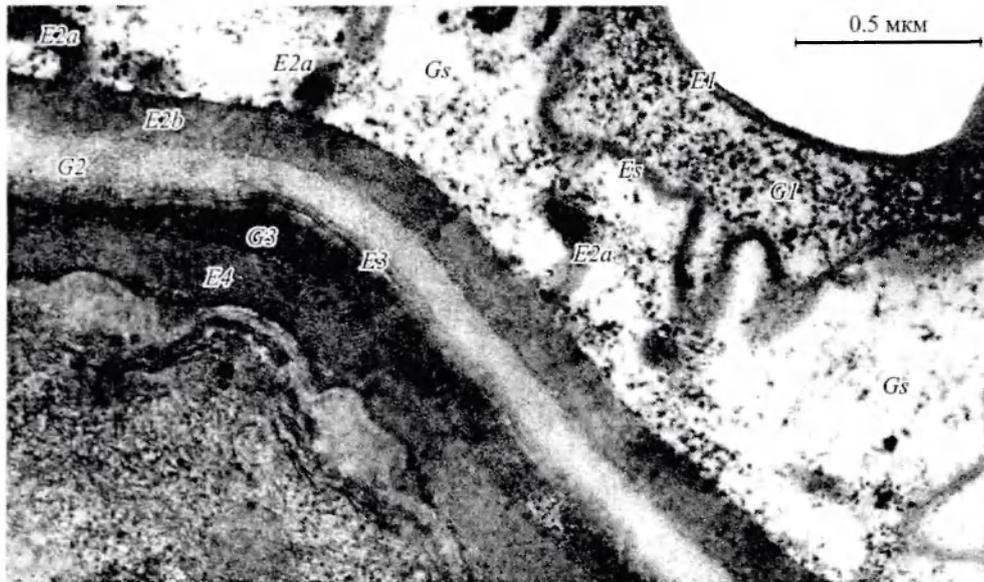


Рис. 2. Строение эмбриональных оболочек скребня *Neoechinorhynchus crassus*.

Наружная эмбриональная оболочка (E1) имеет трехслойную организацию. Структура дополнительной оболочки (E2) не определяется. Элементы 2-й оболочки (E2b и E2a) образованы слоистым материалом. 3-я оболочка (E3) имеет внешность трехслойной мембраны. Пространство (G3) заполнено плотной субстанцией; 4-я оболочка (E4) образована также электронно-плотным материалом, структура которого не просматривается.

Fig. 2. Structure of the embryonic membranes in the spiny-headed worm *Neoechinorhynchus crassus*.

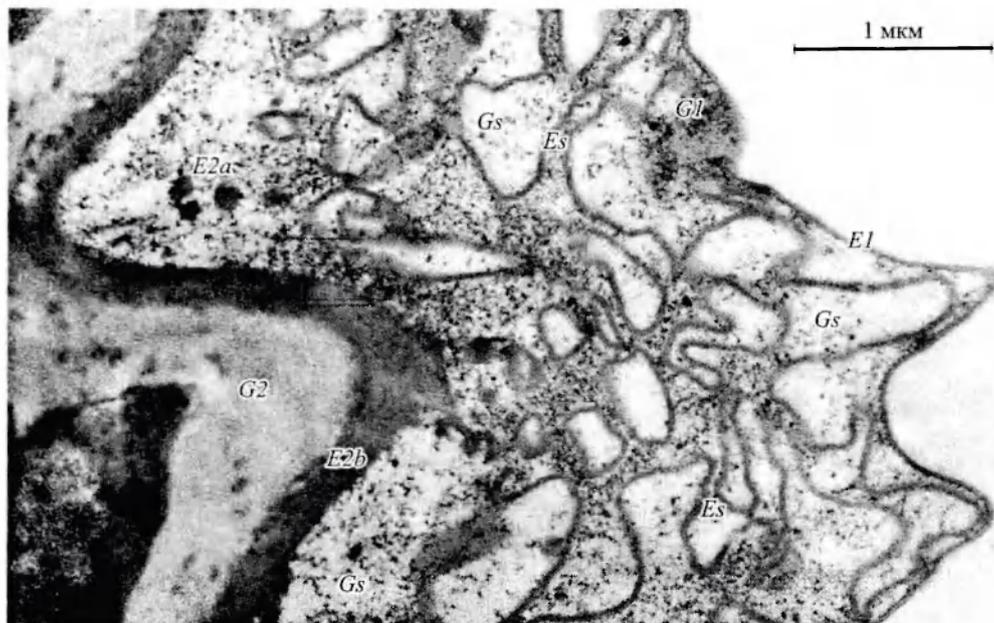


Рис. 3. Тангенциальный срез эмбриональных оболочек скребня *Neoechinorhynchus crassus* на полюсе яйца.

Дополнительная оболочка (*Es*) характеризуется многочисленными складками. Элементы *E2a* имеют значительно меньший диаметр, чем в более латеральных участках яйца.

Fig. 3. Tangential section of the embryonic membranes in the spiny-headed worm *Neoechinorhynchus crassus* at the pole of the egg.

ОБСУЖДЕНИЕ

Структура эмбриональных оболочек *N. crassus* в целом соответствует таковой у других представителей класса Eoacanthocephala (Marchand, 1984a, b; Taraschewski et al., 1992; Wongkham, Whitfield, 2004), хотя и имеются некоторые особенности. В то же время внимательный анализ морфологии, гистогенеза и предполагаемых функций каждой конкретной оболочки позволяет уточнить идентификацию и номенклатуру внешних элементов скорлупы.

Внешнее сходство наружной оболочки (*E1*) с волнистой «трехслойной» мембраной характерно для подавляющего большинства исследованных скребней, относящихся ко всем трем классам (Никишин, 2001). В большинстве случаев сходны и ее размерные характеристики, варьирующие от 10 до 50 нм. Подчеркнем, что точно такую же морфологию имеет наружная оболочка у тех представителей класса Eoacanthocephala, в составе скорлупы которых описано 5 оболочек, наружная из которых рассматривается, на наш взгляд, ошибочно, как *E0* (Taraschewski et al., 1992; Wongkham, Whitfield, 2004).

Однако сходство внешней эмбриональной оболочки у разных скребней не ограничивается общей морфологией. Для *Pallisentis rexus* показано (Wongkham, Whitfield, 2004), что при контакте с водой эта оболочка быстро разрушается и освобождает следующую оболочку (по мнению авторов, — *E1*; в настоящей статье она названа дополнительной оболочкой *Es*), которая распрямляясь многократно увеличивается в объеме, сохраняя плавучесть яйца и тем самым увеличивая вероятность инвазии промежуточного хозяина. Похожий процесс наблюдается и у некоторых представителей Palaeoacanthocephala, развивающихся с участием водного промежуточного хозяина, с той лишь разницей, что у них отсутствует дополнительная оболочка, и освобождаются элементы *E2a* (Oetinger, Nickol, 1974; Uznanski, Nickol, 1976).

Наконец, еще одним признаком, вероятно, характерным для внешней оболочки яиц всех скребней, является то, что, согласно имеющимся данным, она, в сущности, представляет собой остаток или производное (возможно, в определенной степени модифицированное) оболочки оплодотворения (Stranack, 1972; Whitfield, 1973; Marchand, 1984a, b; Peters et al, 1991; Никишин, 1995; Wongkham, Whitfield, 2004, и др.). Таким образом, приведенные аргументы убеждают в том, что внешняя оболочка яиц скребней во всех случаях должна идентифицироваться как *E1*.

Дополнительная оболочка описана только у некоторых скребней класса Eoacanthocephala. Впервые она была выявлена у *Tenuisentis niloticus*, хотя автор (Marchand, 1984b) рассматривал ее как элемент *E1b*. У остальных исследованных им 4 видов класса Eoacanthocephala обнаружены компоненты *E1b*, которые в действительности также могут быть этой оболочкой или ее фрагментами; по крайней мере другие исследователи компоненты *E1b* в яйцах скребней этого класса пока не обнаружили. Позднее Тарашевски и др. (Taraschewski et al., 1992) описали ее у *Neoechinorhynchus rutili* и подчеркнули ее значение в инвазии промежуточного хозяина (остракоды). У яиц скребней *Pallisentis rexus*, попавших в воду, после разрушения наружной оболочки дополнительная оболочка распрямляется, вследствие чего многократно увеличивается ограниченный ею объем, обеспечивая плавучесть яйца и способствуя, таким образом, инвазии промежуточных хозяев — копепод (Wongkham, Whitfield, 2004). Во всех этих случаях, а также у иссле-

дованных нами *Neoechinorhynchus crassus*, дополнительная оболочка имеет сходные размерные характеристики и характерный профиль в виде очень извилистой, даже складчатой (рис. 3) пластинки, образованной аморфным материалом умеренной электронной плотности, что отличает ее от внешней оболочки, напоминающей клеточную мембрану. Поскольку она не является обязательным компонентом скорлупы яиц всех скребней, мы оставляем за ней название «дополнительная оболочка» и на рисунках отображаем как *E_s* (от английского «supplement»). Интерпретация же ее как *E₁* (Taraschewski et al., 1992; Taraschewski, 2000; Wongkham, Whitfield, 2004), как было показано выше, по всей видимости, не корректна.

Особенностью 2-й оболочки (*E₂*) у скребней *N. crassus* является наличие отростков (*E_{2a}*), начинающихся от дистальной поверхности пластинки *E_{2b}*. Среди других представителей Еоасантоцефала элементы *E_{2a}* обнаружены только у *Pallisentis golvani* (Marchand, 1984b), *Paratenuisentis ambiguus* и *Neoechinorhynchus rutili* (Taraschewski et al., 1992). Однако такое же строение имеет 2-я оболочка у всех исследованных скребней, относящихся к двум другим классам (Marchand, 1984b; Taraschewski et al., 1992; Никишин, 2001). Во всех случаях элементы этой оболочки образованы слоистым материалом, напоминающим кератин шерсти (Marchand, 1984a, b; Taraschewski et al., 1992; Wongkham, Whitfield, 2004). Предполагается, что роль пластинки *E_{2b}* заключается в защите от механических повреждений и непроницаемости для воды (Whitfield, 1973; Wongkham, Whitfield, 2004). Можно также предположить, что элементы *E_{2a}* выполняют функцию, аналогичную функциям сходных элементов у некоторых Palaeoacanthocephala, у которых они, освобождаясь после разрушения внешней оболочки, в конечном счете способствуют инвазии промежуточного хозяина (Oetinger, Nickol, 1974; Uznanski, Nickol, 1976). Однако, как отмечалось выше, эту функцию у представителей Еоасантоцефала принимает на себя дополнительная оболочка, если, конечно, она имеется.

3-я оболочка (*E₃*) по своему внешнему виду напоминает волнистую «трехслойную» мембрану и не отличается от описанной у других Еоасантоцефала. Так же как и элементы *E₁* и *E_{2b}*, она имеется у всех скребней, но у представителей двух других классов, у которых 3-я оболочка характеризуется более сложным строением, она представляет собой ее наружную часть и описывается как элемент *E_{3a}* (Taraschewski et al., 1992; Никишин, 2001).

Особенностью скорлупы исследованных скребней является содержимое пространства *G₃*, представленное материалом исключительно высокой электронной плотности. Его внутренняя структура, равно как происхождение и функциональное значение, остаются неизвестными.

4-я оболочка (*E₄*), по мнению Марчанда (Marchand, 1984b), отличается наименьшей вариабельностью. К сожалению, на полученных нами препаратах ее структуру определить не удалось. У других скребней она в большинстве случаев представлена несколькими элементами и имеет слоистую структуру (Marchand, 1984a, b; Wongkham, Whitfield, 2004), однако ни хитин, ни кератин в ее составе не обнаружены (Peters et al., 1992; Taraschewski et al., 1992).

Анализ полученных результатов и сравнение их с данными литературы позволяют выявить следующие морфологические особенности скорлупы яиц скребней, относящихся к классу Еоасантоцефала (рис. 4):

1. Наружная оболочка (*E₁*). Имеет вид толстой (толщиной от 10 до 35 нм) «трехслойной» мембраны, представляющей собой производное оболочки оплодотворения.

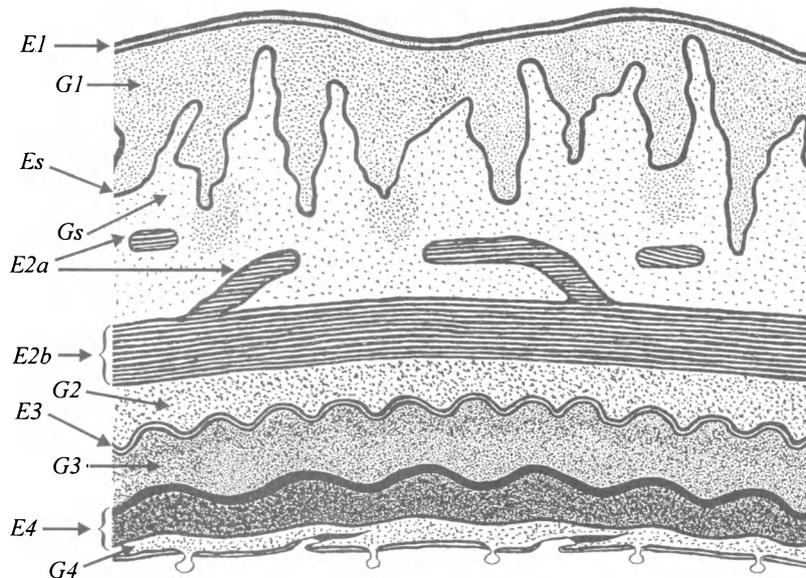


Рис. 4. Схема строения скорлупы яйца у скребней класса Еоacanthocephala, имеющих в своем составе 5 эмбриональных оболочек.

Fig. 4. A scheme of the egg shell structure in the spiny-headed worms of the class Eoacanthocephala having five embryonic membranes.

2. Дополнительная оболочка (*Es*). Достоверно выявлена лишь у некоторых скребней. Представляет собой очень изогнутую пластинку, несколько более толстую, чем *E1*.

3. 2-я оболочка (*E2*). Состоит из двух компонентов: пластинки *E2b* и начинающихся от нее дистальных отростков *E2a* (последние выявлены не у всех представителей класса). Все элементы 2-й оболочки состоят из слоистого материала, сходного с кератином.

4. 3-я оболочка (*E3*). Имеет вид волнистой «трехслойной» мембраны, толщиной не более 10 нм. Аналогична элементу *E3a* в скорлупе яиц скребней, относящихся к двум другим классам.

5. 4-я оболочка (*E4*). Слой плотного материала (*E4c*), обычно ограниченный снаружи узким гранулярным более плотным слоем (*E4a*) и светлой прослойкой (*E4b*).

Список литературы

- Никишин В. П. Структура и формирование эмбриональных оболочек у скребней *Arhythmorhynchus petrochenkoï* // Паразитология. 1995. Т. 29, вып. 5. С. 398–403.
- Никишин В. П. Структура и формирование эмбриональных оболочек скребней // Изв. РАН. Сер. биол. 2001. № 1. С. 46–62.
- Петроченко В. И. Акантоцефалы (скребни) домашних и диких животных. М.: Изд-во АН СССР, 1956. Т. 1. 436 с.
- Marchand B. The elaboration of the acanthor shell of *Acanthosentis acanthuri* (Acanthocephala) // Journ. Parasitol. 1984a. Vol. 70, N 5. P. 712–718.
- Marchand B. A comparative ultrastructural study of the shell surrounding the mature acanthor larvae of 13 acanthocephalan species // Journ. Parasitol. 1984b. Vol. 70, N 6. P. 886–901.
- Oettinger D. F., Nickol B. B. A possible function of the fibrillar coat in *Acanthocephalus jacksoni* eggs // Journ. Parasitol. 1974. Vol. 60, N 6. P. 1055–1056.

- Peters W., Taraschewski H., Latka I. Comparative investigations of the morphology and chemical composition of the eggshells of Acanthocephala. I. Macracanthorhynchus hirudinaceus (Archiacanthocephala) // Parasitol. Res. 1991. Vol. 77, N 6. P. 542—549.
- Stranack F. R. The fine structure of the acanthor shell of Pomphorhynchus laevis (Acanthocephala) // Parasitology. 1972. Vol. 64. P. 187—190.
- Taraschewski H. Host-parasite interactions in Acanthocephala: a morphological approach // Advanc. Parasitol. 2000. Vol. 46. P. 1—179.
- Taraschewski H., Peters W., Latka I. Comparative investigations of the morphology and chemical composition of the eggshells of Acanthocephala. III. Eoacanthocephala // Parasitol. Res. 1992. Vol. 78. P. 382—387.
- Uznanski R. L., Nickol B. B. Structure and function of the fibrillar coat of Leptorhynchoides thecatus eggs // Journ. Parasitol. 1976. Vol. 62, N 4. P. 569—573.
- Whitfield P. J. The egg envelopes of Polymorphus minutus (Acanthocephala) // Parasitology. 1973. Vol. 66. P. 387—403.
- Wongkham W., Whitfield P. J. Pallisentis reus from the Chiang Mai Basin, Thailand: ultrastructural studies on egg envelope development and the mechanism of egg expansion // Journ. Helminthol. 2004. Vol. 78, N 1. P. 77—85.

Институт биологических проблем
Севера ДВО РАН,
Магадан

Поступила 24 XII 2004

CHARACTERISTICS OF THE FINE STRUCTURE OF EMBRYONIC MEMBRANES
IN THE SPINY-HEADED WORMS OF THE CLASS EOACANTHOCEPHALA,
BY AN EXAMPLE OF THE SPINY-HEADED WORM SPECIES
NEOECHINORHYNCHUS CRASSUS

V. P. Nikishin

Key words: spiny-headed worms, *Neoechinorhynchus crassus*, embryonic membranes.

SUMMARY

Five embryonic membranes are found in the spiny-headed worm species *Neoechinorhynchus crassus*. Four embryonic membranes are analogous to the membranes in all other spiny-headed worms studied, and one membrane is additional. The last is situated between the external and second membranes and is characteristic only for some species of the class Eoacanthocephala. Terminology of the embryonic membranes in connection with their origin and possible functional significance is discussed.