

УДК 576.895.421 + 591.434.1

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНИКА НИМФЫ
IXODES RICINUS (ACARI: IXODIDAE) НА СТАДИИ ДИАПАУЗЫ**

© Л. А. Григорьева

Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, С.-Петербург, 199034
Поступила 06.10.2006

Исследованы изменения кишечника нимф клещей *Ixodes ricinus* в период морфогенетической диапаузы. Установлено, что кишечник нимф при бездиапаузном развитии и в состоянии диапаузы изменяется одинаково и синхронно. Через 7—8 мес. после питания кишечник диапаузирующей нимфы содержит пищеварительные клетки с гематином и пищевыми включениями, а также резервные клетки, как и кишечник голодной перелинявшей самки. Однако у нимф в диапаузе кишечник сохраняется в таком состоянии в течение всего периода диапаузы.

Сезонность жизненных явлений, свойственная иксодовым клещам, обусловлена наличием у них весьма совершенной системы адаптаций к соотношению длины дня и ночи в суточном цикле. Важнейшая роль в подобной синхронизации принадлежит диапаузе (Белозеров, 1981, 1985, 1988). В условиях сезонных климатических ритмов периоды активной жизнедеятельности клещей прерываются периодами покоя, когда существенное снижение уровня метаболизма способствует повышению устойчивости к неблагоприятным факторам среды и удлинению сроков жизни особей. У европейского лесного клеща — *Ixodes ricinus* (L., 1758) — жизненный цикл в зависимости от климата может варьировать от 2 до 6 лет (Балашов, 1998). Сезонность активности обеспечивается существованием морфогенетической диапаузы на фазах яйца, напивавшихся личинки, нимфы и самки, а также поведенческой диапаузой у голодных особей (Белозеров, 1981). Зимовка возможна на всех фазах развития в голодном и напивавшемся состоянии. Однако напивавшиеся клещи обязательно должны находиться в состоянии диапаузы, так как инициация осенью процессов метаморфоза ведет к гибели клещей в зимний период.

Предполагаем, что возникновение диапаузы у сытых клещей обеспечивает их благополучное перезимование. Однако у питающихся особей кишечная полость наполняется содержимым, богатым предшественниками основных запасных питательных веществ, а также активизирующим пищеварительные ферменты кишечника и стимулирующим процессы смены кишечных клеток и полостного, и внутриклеточного пищеварения. Вероятно, особи с актив-

зированными ферментными системами диапаузировать не могут. Для того чтобы перейти в состояние диапаузы, таким особям необходимы некоторые морфологические изменения или подготовки, вследствие которых становятся возможными задержки личиночных процессов, характерные для морфогенетической диапаузы. Работы, освещающие этот вопрос отсутствуют. Целью нашего исследования было раскрытие морфофункциональных изменений кишечника напитавшихся нимф в состоянии морфогенетической диапаузы и подготовки к ней.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Нимфы клещей *I. ricinus* были получены из культуры Лаборатории паразитологии Зоологического института РАН. Напитавшихся нимф содержали в эксикаторах с насыщенным раствором сульфата натрия при 97%-ной влажности. Опытных клещей (43 особи) выдерживали при 16–18 °С в режиме 16–14 ч света и 8–10 ч темноты. В этих условиях развитие нимф *I. ricinus* проходило с диапаузой, что согласуется с результатами исследований В. Н. Белозерова и соавторов (Belozerov et al., 2002). В качестве контрольной группы использовали остальные 43 особи с развитием без диапаузы (18–24 °С, 20 ч света и 4 ч темноты). Для гистологических исследований использовали нимф во время кормления, через 24, 48, 72, 96 ч после присасывания, а также через 15, 23, 40, 60 сут после отпадения. Клещей фиксировали целиком в 9%-ном формалине и спирт-формалине, надрезая кутикулу. Материал заливали в парафин через метилбензоат-целлоидин. Срезы, толщиной 5 мкм, окрашивали азур-эозином, азаном по Гейденгайну, гематоксилин-эозином.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительное исследование морфофункциональных изменений кишечника во время питания у нимф из опыта и контроля показало, что кишечный эпителий представлен пищеварительными клетками личиночной фазы. Генерация секреторных клеток у нимф отсутствует, пищеварительные вакуоли формируются в пищеварительных клетках личиночной фазы. Все функционирующие клетки образуют на своей апикальной поверхности слой перитрофического матрикса. Заполнение кишечника кровью происходит в последние 1–2 сут питания. В это время кишечная стенка сформирована в основном за счет активно функционирующих пищеварительных клеток личиночной фазы. Недифференцированные элементы составляют примерно 1/20 часть эпителиального пласта. Таким образом, исходное состояние кишечника питающихся нимф *I. ricinus* из групп, развивающихся с диапаузой и без нее, одинаково. Никаких морфофункциональных особенностей кишечника у представителей контрольной и опытной групп, которые могли бы влиять на фотопериодическую реакцию нимф, не установлено. Данная характеристика обнаруживает полное сходство процессов, описанных нами ранее для нимф *Ixodes pacificus* Cooley et Kohls, 1943, *I. pavlovsky* Pom., 1946, *I. persulcatus* Schulze, 1930, *I. ricinus* и *I. scapularis* Say, 1821, оригинальные фотографии, иллюстрирующие единообразие морфофункциональных изменений кишечника нимф во время питания приведены нами ранее (Григорьева, 2004).

В первые 10—15 сут после насыщения у нимф диапаузирующих и развивающихся без диапаузы происходит интенсивный рост пищеварительных клеток нимфальной фазы. Пищеварительные клетки личиночной фазы отторгаются в полость кишки, растянутой кровяным содержимым, где, вероятно, ферменты их пищеварительных вакуолей участвуют в полостном пищеварении. В течение 30—40 сут после отпадения клеща пищеварительные клетки нимфальной фазы переваривают содержимое кишечной полости (рис. 1, 2, см. вкл.). Уже через 10—15 сут после отпадения клеща содержимое кишки гемолизировано, обнаружить цельные эритроциты не удастся. Клетки значительно увеличились в размерах и выпячиваются в кишечный просвет; на своей апикальной поверхности имеют перитрофический матрикс, что является свидетельством внутриклеточного пищеварения (Григорьева, Амосова, 2004). Цитоплазма пищеварительных клеток, особенно в апикальной зоне, содержит много черных гранул гематина (рис. 1, 2, 3; 2, 2, 3), который на 40—60-е сут становится основным содержимым полости кишки (рис. 1, 3, 4; 2, 3, 4) и выделяется в результате переваривания крови. С началом активности пищеварительных клеток нимфальной фазы в их цитоплазме начинают накапливаться гранулы запасных питательных веществ. Пищевые включения сначала появляются в базальной части клеток, а затем по мере их роста и вытеснения из них гематина заполняют цитоплазму (рис. 1, 2). Таким образом, исследование особенностей изменений кишечника после питания у нимф, развивающихся с диапаузой и без нее, также не выявило различий на протяжении последующих за отпадением 60 сут.

На 60-е сут после питания в группе нимф, развивающихся без диапаузы, перелиняли на первые имаго. Их кишечник содержал пищеварительные клетки нимфальной фазы, заполняющие пищеварительную полость и содержащие огромные количества гранул пищевых включений. Полость кишечника содержала гематин. Через 1.5—2 мес. после линьки, когда завершилось послелинчное доразвитие клещей, кишечник значительно уменьшился в размерах. Пищеварительные клетки имели кубическую форму и содержали немного пищевых включений и гематина.

Кишечник нимфы из диапаузирующей группы на 60-е сут после отпадения также состоял главным образом из пищеварительных клеток нимфальной фазы. Они имели огромные размеры и были заполнены пищевыми включениями, скопления гематина содержались в полости кишки. Подобное состояние они сохраняли на протяжении последующих 5—6 мес. диапаузы. Через 20—30 сут после перевода нимф в режим температуры 20—24 °С и фотопериод 20 ч света и 4 ч темноты началась линька на имаго. Состояние кишечника выплотившихся взрослых клещей мало чем отличалось от состояния кишечника нимф на 60-е сут после питания, пищеварительные клетки содержали значительные количества запасных питательных веществ, которые использовались в период последующего послелинчного доразвития, продолжающийся 1—1.5 мес.

Полученные результаты позволяют считать, что в состояние морфогенетической диапаузы под влиянием фотопериодической реакции вступают напавшие нимфы *I. ricinus*, у которых полностью завершено переваривание полученной пищи и создан запас питательных веществ. Наши данные по нимфам, развивающимся в режиме диапаузы и без нее, подтверждают это положение. Белозеров (1988) указывает, что у активных и диапаузирующих самок иксодин во время и сразу после питания интенсивность и характер пищеварительных процессов не изменяется, о чем говорит сходство бел-

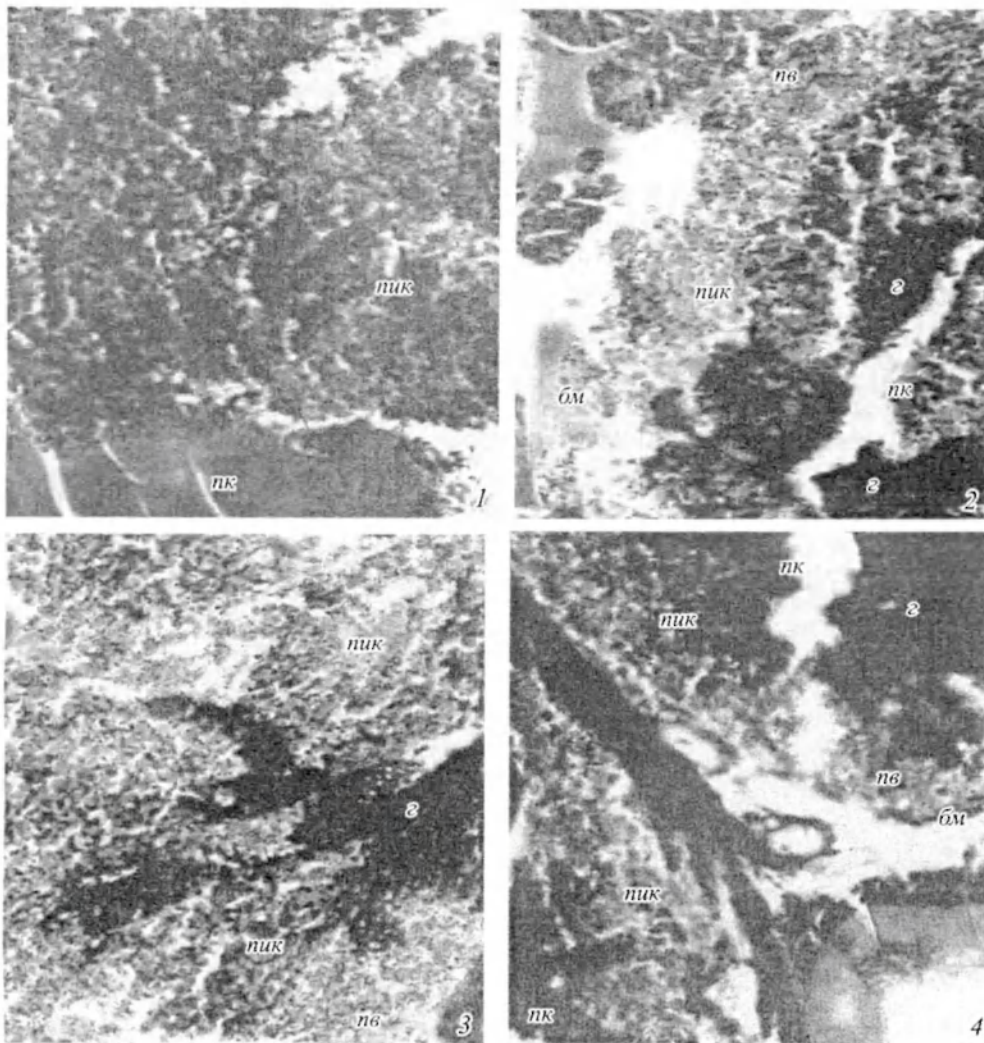


Рис. 1. Изменения кишечника нимфы *Ixodes ricinus* после питания при бездиапаузном развитии. 1 — нимфа через 15 сут после отпадения. $\times 600$. Азур-эозин; 2 — нимфа через 23 сут после отпадения. $\times 600$. Азур-эозин; 3 — нимфа через 40 сут после отпадения. $\times 600$. Гематоксилин-эозин; 4 — нимфа через 60 сут после отпадения. $\times 600$. Гематоксилин-эозин. бм — базальная мембрана, г — гематин, пв — пищевые включения, пик — пищеварительная клетка, пк — полость кишки.

Fig. 1. Changes in the midgut of the *Ixodes ricinus* nymphs after feeding under the development without diapause.

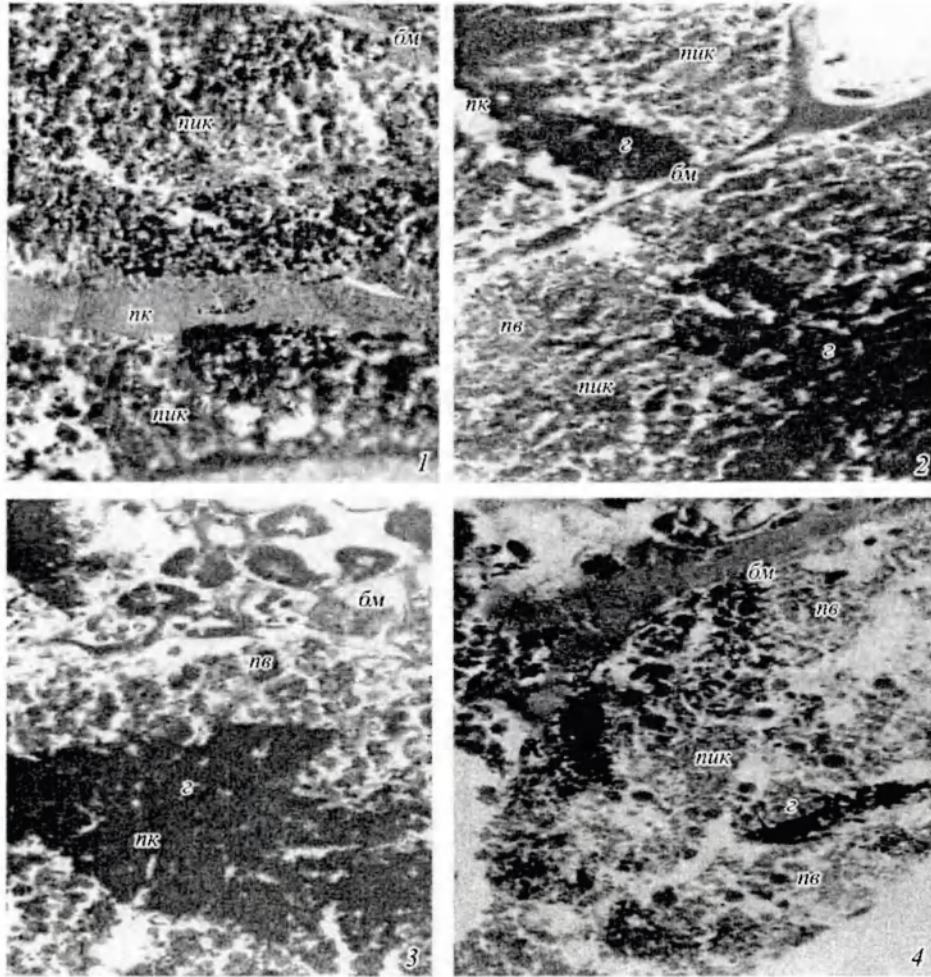


Рис. 2. Изменения кишечника нимфы *Ixodes ricinus* после питания при развитии в состоянии диапаузы.

1 — нимфа через 15 сут после отпадения. $\times 600$. Азур-эозин; 2 — нимфа через 23 сут после отпадения. $\times 600$. Азур-эозин; 3 — нимфа через 40 сут после отпадения $\times 600$. Гематоксилин-эозин; 4 — нимфа через 60 сут после отпадения. $\times 600$. Азаном по Гейденгайну. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Fig. 2. Changes in the midgut of the *Ixodes ricinus* nymphs after feeding under the development with diapause.

ковых спектров из экстрактов кишечника активных и диапаузирующих самок сразу после их насыщения, а также из экскрементов, выделяемых самками обеих категорий во время питания. Местом, депонирующим запасные питательные вещества, являются клетки кишечника и гемолимфа, сохраняющие их на протяжении всего периода диапаузы.

Длительное переживание неблагоприятных условий окружающей среды приводит к существенному снижению уровня метаболизма у диапаузирующих иксодовых клещей (Балашов, 1998), обеспечивает повышение их устойчивости и экономное расходование ими питательных резервов (Белозеров, 1988). Поэтому естественно предполагать, что в режим диапаузы может вступать особь, завершившая активные метаболические процессы на своей стадии онтогенеза. Напитавшаяся особь должна завершить пищеварение и перевести полученные из пищи питательные вещества в депонированное состояние в виде гранул запасных питательных веществ в пищеварительных клетках, а также увеличения содержания белков в гемолимфе. Угнетение метаболизма должно привести к угнетению ферментных систем организма, что подтверждается ослаблением процессов биологического окисления. Данные Белозерова (1988) подтверждают это, так он показал, что диапаузные задержки развития сытых иксодовых клещей характеризуются понижением потребления кислорода до 100—150 мкл/г в час у личинок и нимф *I. ricinus*.

Морфогенетическая диапауза, отличительным признаком которой является задержка линьки, по сути приостанавливает процесс освобождения свободное лежащего в личинной полости клеща от старых покровов на период неблагоприятных природных условий. Подготовка к таким задержкам развития происходит в время питания и последующих за ним 60 сут, в течение которых развиваются новые системы органов следующей фазы и в кишечнике аккумулируются запасные питательные вещества, обеспечивающие переживание особи до следующего периода активизации.

Нами установлено, что переваривание основного количества пищи у нимф с развитием с диапаузой и без нее осуществляют пищеварительные клетки только одной генерации нимфальной фазы после насыщения и отпадения клеща. Смена пищеварительных клеток личиночной фазы на клетки нимфальной происходит постепенно в течение первых 5—10 сут после отпадения клеща. Пищевые включения начинают откладываться в молодых пищеварительных клетках нимфальной фазы на 10—15-е сут после отпадения клеща. На 40—60-е сут после отпадения клеща в полости кишки содержатся лишь скопления гематина, пищеварение заканчивается, пищеварительные клетки заполнены запасными пищевыми включениями. Описанные изменения синхронно происходят у нимф, развивающихся в состоянии диапаузы и без нее. Диапауза позволяет прервать активное развитие организма на период действия неблагоприятных факторов, а также сохранить пищевые резервы до начала активизации особи на следующей фазе онтогенеза. Кишечник клеща является одной из самых стабильных систем организма. В нем поддерживаются пищеварительные процессы с четкой и ритмичной сменой клеточных генераций, происходит полостное и внутриклеточное пищеварение, сохраняется слабощелочная среда кишечной полости, а на периоды между кровососаниями он становится основным депо запасных питательных веществ. В сравнении с остальными органами, заново формируемыми на каждой следующей фазе онтогенеза, кишечник остается стабильным местообитанием для возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов (Балашов и др., 1997), передаваемых клещами.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 02-04-48666) и гранта поддержки ведущих научных школ (№ НШ-1664.2003.4).

Список литературы

- Балашов Ю. С. 1998. Иксодовые клещи — паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука, 287 с.
- Балашов Ю. С., Григорьев Л. А., Оливер Дж. Х. 1997. Локализация боррелий в организме клеща *Ixodes persulcatus* на разных стадиях развития. Паразитология. 31 (2): 97—103.
- Белозеров В. Н. 1981. Экологические ритмы у иксодовых клещей и их регуляция. Паразитол. сб. 30: 22—45.
- Белозеров В. Н. 1985. Диапауза, ее место и роль в жизненном цикле, механизм. В кн.: Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze Л.: Наука, 214—219.
- Белозеров В. Н. 1988. Фотопериодизм и сезонное развитие иксодовых клещей: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Л., 40 с.
- Григорьева Л. А. 2004. Морфофункциональные изменения кишечника нимф клещей рода *Ixodes* (Acarina: Ixodidae) во время и после питания. Паразитология. 38 (3): 219—224.
- Григорьева Л. А., Амосова Л. И. 2004. Особенности перитрофического матрикса в кишечнике самок клещей рода *Ixodes* (Acarina: Ixodidae). Паразитология. 38 (1): 3—11.
- Belozеров V. N., Fourie L. J., Kok D. J. 2002. Photoperiodic control of developmental diapause in nymphs of prostrate ixodid ticks (Acari: Ixodidae). Exp. Appl. Acarol. 28: 163—168.

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE MIDGUT OF THE IXODES RICINUS NYMPHS (ACARI: IXODIDAE) DURING DEVELOPMENTAL DIAPAUSE

L. A. Grigorieva

Key words: *Ixodes ricinus*, nymphal diapause, midgut, digestive cells.

SUMMARY

Changes in the midgut of the *Ixodes ricinus* nymphs at the stage of developmental diapause were studied. It is established, that the midgut of the tick nymphs undergoes the identical and synchronous changes at the development without diapause and in the state of diapause. In 7—8 months after feeding the midgut of the nymphs contains the digestive cells with gematine and food inclusions, as well as reserve cells, like the midgut of unengorged moulted female. But the midgut of diapausing nymphs retains such condition during the whole period of diapause.