УДК 576.895.122.1

# РАЗВИТИЕ МОНОГЕНЕЙ СЕМЕЙСТВА ТЕТКАОNСНІ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

© Е. В. Русинек, О. Т. Русинек<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Зоологический институт РАН Университетская наб., 1, С.-Петербург, 199034 E-mail: roussinek@gmail.com <sup>2</sup> Байкальский музей СО РАН ул. Академическая, 1, пос. Листвянка Иркутской обл., 664520 E-mail: rusinek@isc.irk.ru Поступила 07.06.2008

Впервые приводятся экспериментальные данные по развитию личинок *Tetraonchus borealis* и представителей рода *Salmonchus*. В ходе эксперимента, который длился 25 дней в полевых условиях в устье р. Шегнанды — притоке озера Байкал, установлено, что температуры от 15 до 22 °C подходят для содержания яиц салмонхусов с последующим выходом личинок на восьмые и девятые сутки. А для развития личинок *T. borealis* требуются более низкие температуры — от 15 до 17 °C. Приводится детальное описание яиц и личинок тетраонхид.

Ключевые слова: Tetraonchus, Salmonchus, Tetraonchidae, моногенеи, личинка, яйцо, сенсилла, ресничные клетки.

В настоящее время известно несколько работ, в которых представлены результаты изучения ранних этапов развития моногеней семейства Tetra-onchidae (Гусев, 1955; Быховский, 1957; Малашенко, Ройтман, 1995; Кеагп, 1968; Lambert, 1978). Все эти исследования выполнены на *Tetraonchus monenteron* с жабр щуки — описаны личинки и установлено, что в яйце личинка развивается в течение 3—4 сут. В 2006 г. нами были получены новые данные о развитии личинок *T. borealis* и представителей рода *Salmonchus*.

# материал и методика

В июле—августе 2006 г. на оз. Байкал были проведены работы по изучению начальных этапов развития моногеней 2 родов: *Tetraonchus* и *Salmonchus*. Для эксперимента, который длился 25 дней, были вскрыты 20 экз. острорылого ленка *Brachymystax lenok* и 15 экземпляров сибирского

хариуса *Thymallus arcticus*. Рыбы были отловлены в устье р. Шегнанды. Перед вскрытием рыб содержали в аквариумах.

На жабрах ленка в р. Шегнанде одновременно паразитирует 2 вида салмонхусов (*S. roytmani* и *S. rogersi*). Для эксперимента были использованы черви без уточнения видовой принадлежности. На жабрах хариуса паразитирует только *Tetraonchus borealis*.

При планировании и проведении экспериментов мы опирались на работы Изюмовой (1969) и Изюмовой и Зеленцова (1969).

Моногенеи были сняты с жабр и содержались в солонках с байкальской водой при температуре 15 °C. Отложенные в солонки яйца инкубировались без освещения.

Для выявления ресничных клеток и сенсилл проводилось серебрение личинок по методике Гусева (1983). Живых личинок пересаживали в каплю с дистиллированной водой и вносили туда каплю 1%-ного раствора азотнокислого серебра (AgNO<sub>3</sub>). После короткой экспозиции (0.5—1.5 мин) в AgNO<sub>3</sub> на свету личинок проявляли в метолгидрохине («Kodak») и промывали водой. После этого личинок обрабатывали гипосульфитом («Kodak») для закрепления. Затем были приготовлены глицерин-желатиновые препараты (Гусев, 1983).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для эксперимента были использованы 2 температурных режима — теплый (соответствует температурному режиму развития *Tetraonchus monenteron*, по данным Малашенко и Ройтмана (1995)) и холодный (соответствует температуре воды в реке Шегнанде). 1

1. Теплый режим:

Ночные температуры 15—20 °C.

Дневные температуры 24—25 °C.

При содержании червей в этих условиях массовая откладка яиц желтоватого цвета (30—40 шт.) наблюдалась только в первый час после снятия червей с жабр; через 2 ч в чашках Петри с 50 червями можно было найти 5—7 яиц молочно-белого и белого цвета; через 3—4 ч значительная часть червей погибала: из 50 экз. только 10 оставались живыми и активно двигались; все черви погибли через 8 ч после начала эксперимента.

2. Холодный режим:

Ночные температуры 10—12 °C.

Дневные температуры 15—17 °C.2

При содержании червей в этих температурных условиях с 3—4 сменами воды они жили до 22—24 часов. Характер откладки яиц не отличался от теплого режима.

Следует уточнить, что в начале эксперимента чашки Петри находились на свету и черви погибали уже через 2 ч, поэтому в дальнейшем мы содержали их в темноте, что увеличило продолжительность жизни тетраон-

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Контроль температуры проводили каждые 2 ч в дневное время и 2 раза в ночное время суток.

<sup>2</sup> Солонки с материалом находились в кристаллизаторых со льдом.

хид. Только во время смены и проведения аэрации воды в солонки были на свету.

Было отмечено, что чем позднее отложено яйцо, тем светлее его цвет: желтоватые яйца отложены в течение первого часа содержания червей, молочно-белые и белые — через 2 и более часов. В эксперименте также использованы яйца, которые, как мы предполагаем, были отложены червями при жизни рыб в естественных условиях. Эти яйца имели только жетовато-оранжевую окраску и сняты с жабр в местах скопления червей.

В течение эксперимента было установлено, что из белых, молочно-белых и желтых яиц, которые были отложены в чашки Петри, никогда не появлялись личинки. Мы наблюдали в них развитие личинок, но на 3—4-е сут оно останавливалось, и развитие онкомирацидиев прекращалось. Именно поэтому мы считаем их абортивными. Личинки салмонхусов и тетраонхусов вылуплялись только из желтовато-оранжевых яиц, снятых с жабр, а не из молочно-белых яиц, отложенных червями в чашки Петри. Последнее мы связываем со стрессовыми условиями температурного режима (24—25 С°).3

## Особенности строения яиц моногеней сем. Tetraonchidae

Эти низшие моногенеи откладывают по одному яйцу. Отложенное яйцо у всех представителей семейства имеет вытянуто-овальную форму, также встречаются округлые яйца (рис. 1). Размеры яиц несколько варьируют. У Tetraonchus borealis — 0.077—0.13 мм, а представителей рода Salmonchus — 0.079—0.13 мм. Оболочка всех яиц прозрачна, на одном полюсе есть короткий стебелек или ножка длиной 0.0025—0.001 мм. Было отмечено, что стебелек немного пружинил или растягивался, когда снимали яйцо с жабр. Возможно, что стебелек заканчивается прикрепительным диском, но он не был обнаружен. На противоположном от стебелька конце у яиц есть крышечка размером 0.023— $0.028 \times 0.008$ —0.018 мм (рис. 2, 3).

В ходе эксперимента было установлено, что для представителей рода Salmonchus температуры от 15 до 20 °C (содержание яиц в течение 10 дней при 8—10 °C не приводило к развитию личинок) являются оптимальными для содержания желто-оранжевых яиц и развития личинок с последующим выходом последних на 8-е и 9-е сут. В конце 3-х и 4-х сут в яйцах были заметны глазные пятна и пульсирующие движения развивающейся личинки: одно пульсирующее движение за 20—30 с. Активное круговое движение личинки в яйце мы наблюдали на 5-е и 6-е сут. Следует отметить, что за 24—36 ч до выхода личинки перестают двигаться по кругу; их движение в яйце вновь становится пульсирующим (1—2 пульсирующих движения за 30—40 с).

Первоначально черви и яйца *T. borealis* содержались при тех же условиях, что и яйца представителей рода *Salmonchus*. Но в ходе исследований было выявлено, что на 6-е и 7-е сут инкубации яиц личинки не вылупи-

<sup>3</sup> Дневные температуры теплого режима эксперимента.

<sup>4</sup> Неизвестно, сколько всего яиц откладывает тетраонхус в течение жизни.

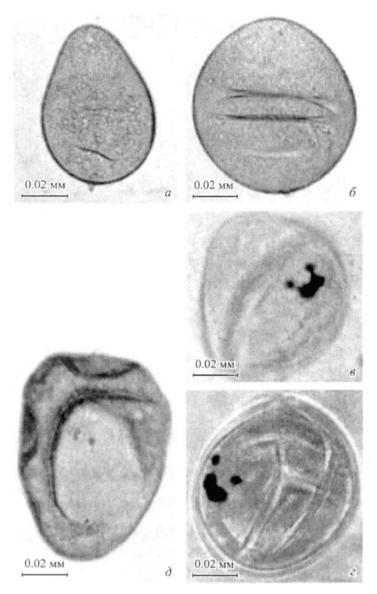


Рис. 1. Яйца представителей сем. Tetraonchidae. a — яйца  $Tetraonchus borealis; <math>\delta$  — яйцо салмонхуса;  $\theta$ ,  $\epsilon$  — личинка салмонхуса в яйце;  $\delta$  — яйцо с личинкой Tetraonchus monenteron.

Fig. 1 Eggs of species from the family Tetraonchidae.

лись, а погибли. При этом необходимо отметить, что в яйцах личинки тетраонхуса были такими же активными, как и личинки салмонхусов. Мы изменили температурный режим с теплого на холодный (15—17 °C), и через 8 сут инкубации яиц тетраонхусов в одной солонке из 5 яиц вылупились 2 полноценные личинки.

На рис. 1,  $\partial$  в яйце *Tetraonchus monenteron* с *Esox lucius* из оз. Байкал хорошо видны глазные пятна развивающейся личинки.

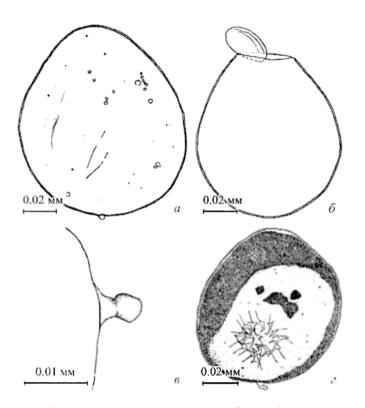


Рис. 2. Яйца представителей рода Salmonchus.

a, b — яйца, разные ракурсы; b — ножка яйца; c — личинка в яйце. kp — крышечка яйца; d — ножка яйца. Fig. 2. Eggs of the genus *Salmonchus*.

## Описание личинок моногеней сем. Tetraonchidae

Нами были получены личинки *Tetraonchus borealis* (рис. 3), которые вышли из яиц на 8-е сут.

Личинка *T. borealis* сбросила ресничный покров, что, вероятно, могло произойти в процессе ее серебрения (Гусев, 1983), поэтому не даем описания ресничных зон и сенсилл.

Постларва T. borealis прямоугольной формы (длина 0.121 мм, ширина 0.054 мм), со сглаженными очертаниями, несколько овальная. Глазные пятна хорошо заметны: 2 передних глазных пятна размером 0.0071 мм каждое, и гантелеобразное пятно длиной 0.026 мм и шириной 0.0051 мм. Под нижним глазным пятном лежит округлая глотка  $(0.02 \times 0.017$  мм), зачаток кишки не был виден (рис. 3).

Прикрепительный диск постларвы не отграничен от тела. На диске хорошо заметны зачатки (лезвия) спинной пары срединных крючьев, длинной около 0.015—0.016 мм и 16 пар краевых крючьев — 0.015—0.016 мм, рукоятка крючьев 0.008—0.009 мм (рис. 3).

В ходе выполнения исследования было сделано 25 препаратов личинок рода *Salmonchus* (рис. 4). Вышедшие из яйца личинки салмонхусов имеют удлиненно-продолговатую форму тела. Длина их около 0.087—0.123 мм при ширине 0.031—0.059 мм. У личинки хорошо видны глазные пятна: пер-

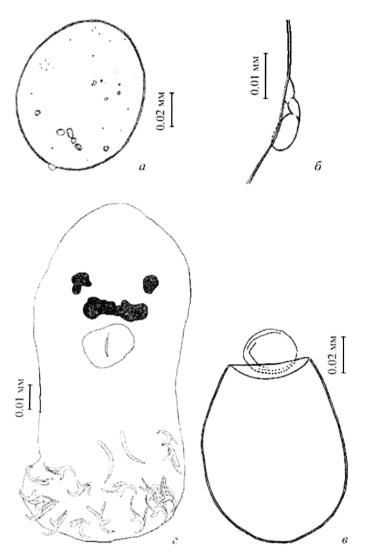


Рис. 3. Яйца и постларва Tetraonchus borealis.

a, b — яйца, разные ракурсы; b — ножка яйца, c — постларва. kpk — красвой крючок; ack — зачатки спинных срединных крючьев. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Fig. 3. Eggs and postlarva of Tetraonchus borealis.

вая пара диаметром 0.004—0.011 мм, заднее пятно длиной 0.02—0.038 мм при ширине 0.005—0.017 мм. За задним глазным пятном находится глотка 0.013— $0.23 \times 0.01$ —0.02 мм, зачаток кишечника у личинки не виден.

Прикрепительный диск личинки почти не отграничен от тела и несет 16 краевых крючьев длиной 0.014—0.018 мм, длина рукоятки краевых крючьев 0.007—0.009 мм. У каждого крючка хорошо развита петелька и рукоятка. Кроме краевых крючьев, на диске хорошо просматривается спинная пара срединных крючьев (0.016—0.047 мм), а на некоторых препаратах отмечены зачатки (лезвия) брюшной пары (0.005—0.02 мм) и срединная пластинка (рис. 4,  $\epsilon$ ,  $\delta$ ).

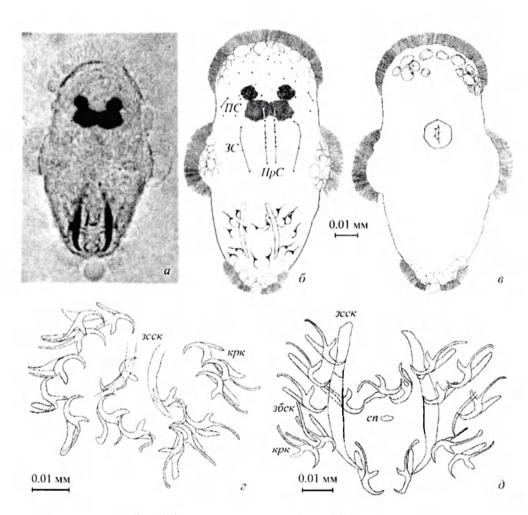


Рис. 4. Личинка представителей рода Salmonchus.

a — фотография личинки,  $\delta$  — личинка со спинной стороны, s — личинка с брюшной стороны, s — прикрепительный диск онкомирацидия,  $\delta$  — прикрепительный диск постларвы.  $\Pi C$  — передние сенсиллы,  $\Pi p C$  — продольные сенсиллы, 3 C — задние сенсиллы, 3 C C C — зачатки брюшных срединных крючьев, C C C — соединительная пластинка. Остальные обозначения те же, что и на рис. 3.

Fig. 4. Larva of the genus Salmonchus.

Личинки были очень подвижны и быстро плавали, совершая поисковые движения вверх, вниз и по кругу, некоторые начинали ползать по дну. Их ресничный покров состоит из 3 зон ресничных клеток. Передняя, или головная, зона ресничных клеток лежит на спинной и брюшной сторонах. Общее число клеток передней зоны около 32—33 клеток, из которых 17—18 клеток лежат на спинной стороне и 14 клеток — на брюшной. Боковая или средняя зона ресничных клеток состоит из 2 участков и содержит по 10 клеток. Дисковая или задняя зона состоит из 13 клеток. В целом ресничный покров личинки состоит из 64—65 клеток, но возможно, что клеток больше, поскольку могло иметь место наложение клеток друг на друга при деформации в процессе приготовления препаратов (рис. 4, a—6).

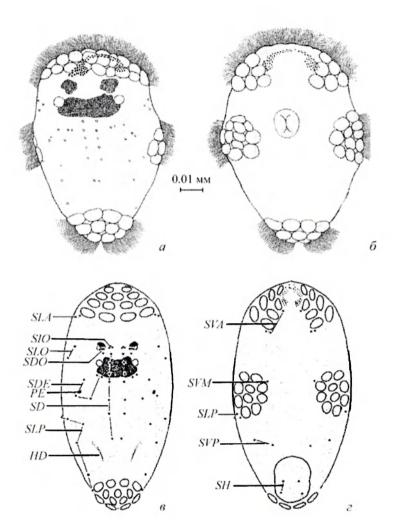


Рис. 5. *Tetraonchus monenteron* (Wagener, 1857) — расположение ресничных клеток на теле свободноплавающей личинки (импрегнация серебром).

a — со спинной стороны, b — с брюшной стороны (a и b — по: Быховский, 1957), b — вид со спинной стороны, b — вид со брюшной стороны. Спинная поверхность личинки: SDO — дорсально расположенные 4 сенсиллы; SDE — 5 (3 + 3) сенсилл, расположенных на уровне экскреторных пор; SD — 7 сенсилл, вытянутых продольно; SIO — группа из 3 сенсилл, лежащая между глазными пятнами. Брюшная поверхность личинки: CVA — 3 сенсиллы, которые расположены вентрально впереди; SVM — 1 сенсилла, расположенная вентро-медиально; SVP — 2 сенсиллы, расположенные вентрально сзади. Боковые поверхности личинки: SVA — 2 передние сенсиллы; SLO — 2 сенсиллы, лежащие на уровне глазных пятен; SLP — 6 задних сенсилл, которые с боковых поверхностей смещаются вниз к дисковой зоне (b и b — по: Lambert, 1978).

Fig. 5. Tetraonchus monenteron (Wagener, 1857), arrangement of ciliary cells on the body of oncomiracidium.

Следует упомянуть, что, по данным Гусева (1955), у онкомирацидиев *Tetraonchus monenteron* число ресничных клеток 61—62, по Ламберу (Lambert, 1978), — 50 (рис. 5). Этот же автор подробно описывает и расположение сенсилл личинки *Tetraonchus monenteron*.

На наших препаратах сенсиллы почти не просматриваются. Мы обнаружили 2 передние сенсиллы, 7 продольно лежащих сенсилл на спинной

стороне и 4 задние сенсиллы между боковой и дисковой зоной ресничных клеток. Много одиночных и хаотично разбросанных сенсилл находится перед первой парой глазных пятен, за передней зоной ресничных клеток (рис.  $4, \delta$ ).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что тетраонхиды, помещенные в солонки, живут недолго. В зависимости от температуры воды сроки жизни варьируют от 2 до 24 ч; в обязательные условия инкубации яиц входит содержание солонок с желтовато-оранжевыми яйцами в темноте, обязательна смена воды, аэрация яиц и контрольный осмотр материала под микроскопом каждые 4—6 ч. Отмечено, что яйца имеют стебелек или ножку и крышечку. Для онкомирацидиев салмонхусов описаны ресничные клетки (64—65 клеток) и 2 передних, 7 продольных (на спинной стороне), 4 задних (между боковой и дисковой зонами) ряда сенсилл и многочисленные сенсиллы под передней зоной клеток. Наши данные по расположению сенсилл являются, скорее всего, неполными, по сравнению с данными Ламбера (Lambert, 1978).

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках продолжения проекта № 02-04-48581 и при частичной финансовой поддержке ФЭУ РАН.

#### Список литературы

- Быховский Б. Е. 1957. Моногенетические сосальщики, их система и филогения. Изв. AH СССР. 387—397.
- Гусев А. В. 1955. Моногенетические сосальщики рыб системы реки Амур. Тр. 300л. ин-та. АН СССР. 19: 172—398.
- Гусев А. В. 1983. Методика сборки и обработки материалов по моногенеям, паразитирующих у рыб. Л.: Наука. 14—43.
- Изюмова Н. А. 1969. О биологии и специфичности *Dactylogyrus chranilovi* Bychowsky, 1931. Паразитол. сб. АН СССР. 24: 28—133.
- Изюмова Н. А., Зеленцов Н. И. 1969. Наблюдение над развитием *Dactylogyrus extensus* Müller et Van Cleave, 1932. Паразитология. 3 (6): 528—531.
- Малашенко А. А., Ройтман В. А. 1995. Морфологические изменения хитиноидных органов и копулятивного аппарата в онтогенезе *Tetraonchus monenteron* (Monogenea, Tetraonchidae). Тр. Ин-та паразитол. РАН. 40: 49—53.
- Kearn G. C. 1968. The development of the adhesive organs of some diplectanis tetraonchid and dactylogirid gill parasites (Monogenea). Parasitology. 58: 149—163.
- Lambert A. 1978. Precisions sur l'oncomiracidium de *Tetraonchus monenteron* (Wagener, 1857) Diesing, 1858 (Monogenea, Tetraonchidae) parasite d'*Esox lucius* L. (teleosteen). Ann. Parasitol. hum. comp. 53 (1): 117—119.

# DEVELOPMENT OF MONOGENEANS FROM THE FAMILY TETRAONCHIDAE UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

E. V. Rusinek, O. T. Rusinek

Key words: Tetraonchus, Salmonchus, Tetraonchidae, Monogenea, larvae, eggs, sensilla, ciliary cells.

#### SUMMARY

Experimental data on the development of the *Tetraonchus borealis* larvae and species of the genus *Salmonchus* are given for the first time. The experiments was carried out in field conditions, in the estuary of the Shegnanda river (Baikal Lake basin), during 25 days. It was established that temperatures from 15 to 22 °C are favorable for the culture of the *Salmonchus* eggs followed by the emergence of larvae at eighth or ninth day. At the same time, *T. borealis* larvae need in lower temperatures, from 15 to 17 °C for their development. Detailed descriptions of eggs and larvae of the Tetraonchidae species under are given.