



УДК 595.42: 591.434

АНАТОМИЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СРЕДНЕЙ КИШКИ ВОДЯНОГО КЛЕЩА *PIONA CARNEA* (KOCH, 1836) (ACARIFORMES: HYDRACHNIDIA)

И.Г. Воробьева¹ и А.Б. Шатров^{2*}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 5, 199034, Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: inna2005@hotmail.ru

²Зоологический институт Российской академии наук, Университетская наб. 1, 199034 Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: chigger@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Средняя кишка взрослых клещей *Piona carnea* (Koch, 1836) была изучена в просвечивающем электронном микроскопе и на полутонких срезах. Средняя кишка замкнута слепо и состоит из центрального отдела (желудка) и двух пар дивертикул, отходящих от желудка в переднем и заднем направлении, а также центральной непарной дивертикулы, локализуемой в передней части тела. Эпителий желудка и дивертикул представлен одним типом пищеварительных клеток, находящихся в разных физиологических состояниях и произвольно расположенных в стенке кишки. Клетки в разных физиологических состояниях могут быть условно обозначены как (1) резервные клетки, (2) клетки, богатые пищеварительными вакуолями и (3) экскреторные клетки. Резервные клетки – структурообразующие клетки стенки кишки, они временно пассивны или малоактивны в отношении процессов пищеварения. Клетки, богатые пищеварительными вакуолями, сильно гипертрофированы. В их цитоплазме содержится большое количество пищеварительных вакуолей, запасных питательных веществ – гликогена и липидов, а также сферокристаллов; в апикальной зоне клеток происходит интенсивный эндоцитоз. Пищеварение внутриклеточное. Экскреторные клетки – это клетки, завершившие этап активного внутриклеточного пищеварения. Они характеризуются наличием очень тонкого слоя примембранной цитоплазмы, тогда как остальной объем клеток занят гигантскими, преимущественно пустыми вакуолями. Органоиды в этих клетках практически полностью отсутствуют.

Ключевые слова: морфология, средняя кишка, ультраструктура, Hydrachnidia, *Piona carnea*, Pionidae

Представлена 20 ноября 2008; принята 15 мая 2009.

ANATOMY AND ULTRASTRUCTURE OF MIDGUT IN THE WATER MITE *PIONA CARNEA* (KOCH, 1836) (ACARIFORMES: HYDRACHNIDIA)

I.G. Vorobiova¹ and A.B. Shatrov^{2*}

¹Saint Petersburg State University, Universitetskaya Emb. 7/9, 199034 Saint Petersburg, Russia; e-mail: inna2005@hotmail.ru

²Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Universitetskaya Emb. 1, 199034 Saint Petersburg, Russia;
e-mail: chigger@mail.ru

ABSTRACT

Midgut of adult mites *Piona carnea* (Koch, 1836) was investigated in transmission electron microscope and on semi-thin sections. The midgut ends blindly and is composed of the middle portion (ventriculus) and two paired diverticula running forward and backward as well as of the middle unpaired diverticulum located in the frontal

* Автор-корреспондент / Corresponding author.

body region. The midgut epithelium is formed of one type of digestive cells throughout the ventriculus and diverticula being, however, in different physiological conditions and located freely in the midgut epithelium. The cells in different physiological conditions may be conventionally characterized as (1) the reserve cells, (2) the cells rich in nutrition vacuoles and (3) the excretory cells. The reserve cells are flat cells forming the midgut wall. They are inactive with respect to the digestive processes. The cells rich in nutrition vacuoles are strongly hypertrophic and contain numerous nutrition vacuoles, reserve nutritive such as glycogen and lipids as well as spherites. The apical cell zone shows intensive endocytotic processes. Digestion is realized by the intracellular type. The excretory cells are the cells, which have already completed the intracellular digestion. They are characterized by the very thin cytoplasmic layer applied to the cell membrane, whereas the remaining cytoplasm is filled with the extremely large clear vacuoles. These cells are mostly devoid of organelles.

Key words: morphology, midgut, ultrastructure, Hydrachnidia, *Piona carnea*, Pionidae

Submitted November 20, 2008; accepted May 15, 2009.

ВВЕДЕНИЕ

Клещи-паразитенгоны (когорта Parasitengona) – уникальная группа организмов, объединяющая сухопутных и вторично-водных клещей и характеризующаяся сложным развитием и внекишечным пищеварением. Этот способ питания, доведенный у паразитенгон до совершенства, обусловил замыкание средней кишки (Thor 1904). Водяные клещи (фаланга Hydrachnidia), насчитывающие свыше 50 семейств, ранее не были исследованы в отношении тонких аспектов организации кишечного эпителия и процессов пищеварения, что и обусловило выбор объекта исследования.

Наиболее масштабные морфологические исследования водяных клещей проводились с конца XIX до середины XX столетия с использованием светооптических методов. В литературе имеются сведения, касающиеся анатомии и морфологии средней кишки некоторых представителей водяных клещей, приведена гистологическая организация “пищеварительной трубки”, а также охарактеризована биология и экология этих вторично-водных организмов (Кронеберг 1878; Michael 1895; Thor 1904; Bader 1938, 1954; Соколов 1940). В указанных работах изложены не всегда точные, а иногда противоречивые данные, касающиеся гистологии средней кишки. На данный момент имеется лишь одна современная работа (Шатров 2007), позволяющая представить ультраструктурную организацию пищеварительного эпителия у водяного клеща *Teutonia cometes* (Koch, 1837) (Teutoniidae). В связи с этим возникает необходимость дальнейшего изучения водяных клещей с использованием методов электронной микроско-

пии. В настоящей работе в качестве модельного объекта для изучения анатомии, топографии, гистологии, а также ультраструктурной организации средней кишки взрослых водяных клещей нами был выбран вид *Piona carnea* (Koch, 1836) (Pionidae). Взрослые особи этого вида чрезвычайно прожорливы и являются типичными представителями фауны гуминовых водоемов (Соколов 1940). Их пищей служат представители Cladocera, Copepoda, Ostracoda, а также личинки Diptera, Ephemeridae. Первый этап пищеварения, как и у других паразитенгон, протекает экстраинтестинально (внекишечное пищеварение) – растворенные посредством действия гидролитических компонентов слюны ткани жертвы высасываются клещом, в результате чего от жертвы остается только хитиновая оболочка (Соколов 1940). В литературе отсутствуют какие-либо сведения о гистологической организации средней кишки *P. carnea*, однако известно анатомическое строение пищеварительной системы некоторых представителей этого рода (Bader 1954). Таким образом, можно ожидать серьезных дополнений к имеющимся знаниям об организации кишечника не только в плане сравнительной анатомии и ультраструктурной гистологии, но и в отношении некоторых аспектов биологии рода *Piona*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Взрослые клещи *P. carnea* были собраны в пресноводных водоемах в районе Беломорской биологической станции “Картеш” Зоологического института РАН (устье Чупинской губы Канда-лакшского залива Белого моря) в летние периоды 2000–2003 гг.

Клещей фиксировали целиком в день сбора либо на другой день после него по стандартной электронно-микроскопической методике – в 2.5% глутаральдегиде на 0.1М фосфатном буфере (2–4 ч) и постфиксировали в 2% OsO₄ на 0.1М фосфатном буфере от 2 до 16 ч, промывали в 0.2М фосфатном буфере. Покровы клещей надрывали в целях лучшего проникновения фиксатора. В ходе проводки объекты контрастировали в насыщенном растворе уранил-ацетата на 70%-ном этаноле и в насыщенном растворе фосфорновольфрамовой кислоты на 100%-ном этаноле. После обезвоживания в ацетонах клещей заключали в смесь смол аралдит. Резка блоков производилась стеклянными ножами и алмазным ножом фирмы Diatome на ультратоме Leica EM UC6rt. Ультратонкие срезы переносили на медные сеточки с формваровой подложкой. Контрастирование срезов производили насыщенным водным раствором уранил-ацетата 2 ч и цитратом свинца 10–16 мин. Готовые образцы изучали в просвечивающем электронном микроскопе Tesla BS-500. Серии полутонких срезов окрашивали толуидиновым синим или метиленовым синим. Для создания трехмерной модели строения средней кишки использовали компьютерную программу Reconstruct.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средняя кишка взрослых водяных клещей *P. carnea* представляет собой слепо замкнутый мешкообразный орган, занимающий значительную часть внутреннего пространства тела клеща (Рис. 1А–D). В передней трети тела расположены три крупные дивертикулы: пара передних латеральных и медиальная непарная дивертикула, глубоко вдающаяся в синганглий. Непарная дивертикула формирует также небольшой отросток, направленный назад. От срединной части кишки (желудка) отходит также пара чрезвычайно массивных задних латеральных дивертикул, которые по пути назад огибают экскреторный орган и гонады с дорзальной стороны. Определить их точную форму затруднительно, поскольку дивертикулы занимают все свободное пространство в задней трети тела *P. carnea*. Сам желудок расположен вентрально и отделен от слюнных желез, находящихся спереди, основным объемом крупного нервного ствола (Рис. 1D). В свою очередь, с вентральной стороны желудок ограничивают парные

коксальные железы, поэтому вентральная сторона клеща, ниже коксальных желез, совершенно свободна от кишки. Контакт эпителиальной ткани желудка и дивертикул с тканями коксальных желез столь тесный, что на светооптическом уровне затруднительно установить границы между этими органами (Рис. 1D).

Морфологически эпителий желудка не отличим от эпителия дивертикул (Рис. 1С). В стенках средней кишки наблюдается один тип пищеварительных клеток, сильно отличающихся друг от друга по ультраструктурной организации и характеру включений. Исключительно для удобства описания разных по ультраструктурной организации форм одного и того же типа пищеварительных клеток мы ввели следующую их классификацию: (1) резервные клетки (Рис. 2А, 3А); (2) клетки, богатые пищеварительными вакуолями (Рис. 2В, 3В) и (3) экскреторные клетки (Рис. 2С, 3Г).

Резервные клетки – это низкие (10–15 μm) плоские эпителиальные клетки, формирующие собственно стенку кишки, временно пассивные или мало активные в отношении процессов пищеварения. Ядра также уплощены и содержат большое количество гетерохроматиновых гранул. В цитоплазме этих клеток выявляются отдельные митохондрии, могут присутствовать зерна гликогена, липидные включения, а также иногда пищеварительные вакуоли (вторичные лизосомы) (0.8–7 μm). В отдельных случаях апикальная поверхность клеток может формировать пиноцитозные инвагинации (Рис. 2А, 3А).

Форма пищеварительных клеток, богатых пищеварительными вакуолями, крайне изменчива (Рис. 1С, 2В, 3В). В частности, среди них наблюдаются чрезвычайно крупные клетки, как правило, сильно вдающиеся в полость средней кишки. Расстояние от базальной пластинки до апикальной плазматической мембраны в таких гипертрофированных клетках может достигать 85 μm; свободная часть, обращенная в просвет кишки, – округлая, базальная может быть сужена. Участки эпителия с такими высокими, хорошо заметными в световой микроскоп клетками (клетками, богатыми пищеварительными вакуолями), а также участки с низкими (резервными) клетками, видимыми только на электронно-микроскопическом уровне, встречаются в равной степени во всех участках кишки. Кроме того, клетки тесно соседствуют друг с другом и даже могут частично перекрываться,

а границы между ними, как правило, неровные, трудноразличимые и могут формировать инвагинации, направленные в тело соседней клетки (Рис. 2D).

Апикальная поверхность клеток второго типа (богатых пищеварительными вакуолями) может быть плотно покрыта микроворсинками, либо практически полностью их лишена, однако в таком случае микроворсинки могут располагаться на латеральной поверхности клетки, выступающей в просвет (Рис. 3F). В этих клетках часто наблюдаются процессы эндоцитоза. При этом формируются (1) электронно-плотные трубчатые пиноцитозные инвагинации (самые длинные достигают 1.6 μm) и (2) небольшие электронно-светлые пиноцитозные пузырьки диаметром до 0.6–1.9 μm , не имеющие клатриновой оболочки (неспецифической макропиноцитоз), заполняющие апикальную зону пищеварительных клеток (Рис. 3C–F, 4A–B).

В цитоплазме этих пищеварительных клеток в большом количестве наблюдаются гетерогенные включения, окруженные мембраной, – пищеварительные включения, или вторичные лизосомы (гетеролизосомы), на разных этапах утилизации пищевого материала (Рис. 1C, 2B, 3B, 4C). Их размеры колеблются от 0.8 до 25 μm в поперечнике. Внутреннее пространство заполнено электронно-светлым материалом, иногда имеющим сетчатую структуру, в котором хорошо заметны электронно-плотные структуры средней интенсивности окраски и более контрастный материал, часто принимающий форму, близкую к кругу либо разорванной окружности. Кроме того, неотъемлемой частью гетеролизосом является наличие мелких

паракристаллических образований, тесно прилегающих друг к другу в шахматном порядке. Диаметр одного кристалла в среднем составляет 0.075 μm (Рис. 4D). Группы из таких кристаллов иногда обнаруживаются также в просвете кишки.

На светооптическом уровне видно, что цитоплазма эпителиальных клеток, богатых пищеварительными вакуолями, содержит также большое количество огромных прозрачных включений, или вакуолей, диаметром до 20 μm . Количество их может быть столь велико, что эпителий и весь объем кишки выглядят сетчатыми (Рис. 1C–D, 4C, 5A, B). Эти электронно-прозрачные включения тесно соприкасаются друг с другом и, по-видимому, могут сливаться. Их содержимое, вероятно, экстрагируется в процессе фиксации и не сохраняется. В некоторых случаях видно, что центральная часть подобных включений прозрачна, а по периферии распределен низкодисперсный материал средней электронной плотности (Рис. 4E–F).

В цитоплазме пищеварительных клеток и в просвете кишки, кроме того, были обнаружены крупные округлые тела, имеющие коричневый либо сероватый оттенок на светооптическом уровне при окраске метиленовым синим. Их размеры достигают 19 μm . На электронно-микроскопическом уровне они характеризуются высокой либо умеренной электронной плотностью. Часто электронно-плотные структуры имеют вкрапления материала иной контрастности (Рис. 2B).

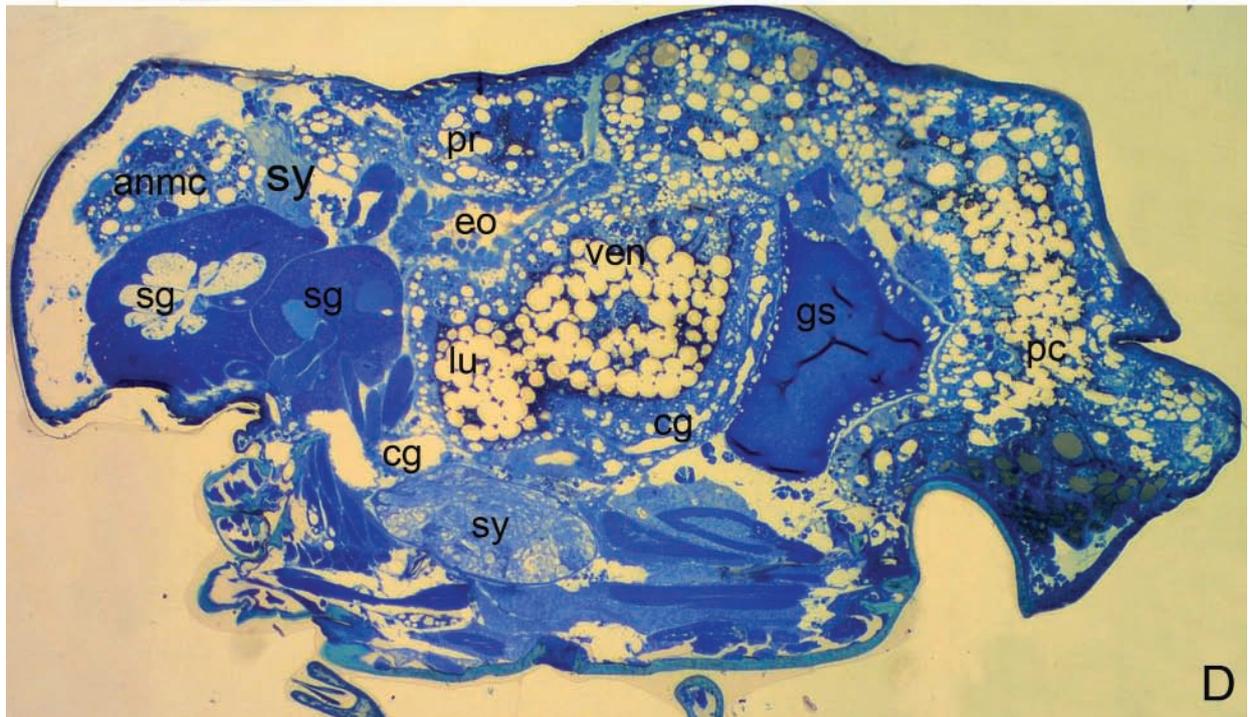
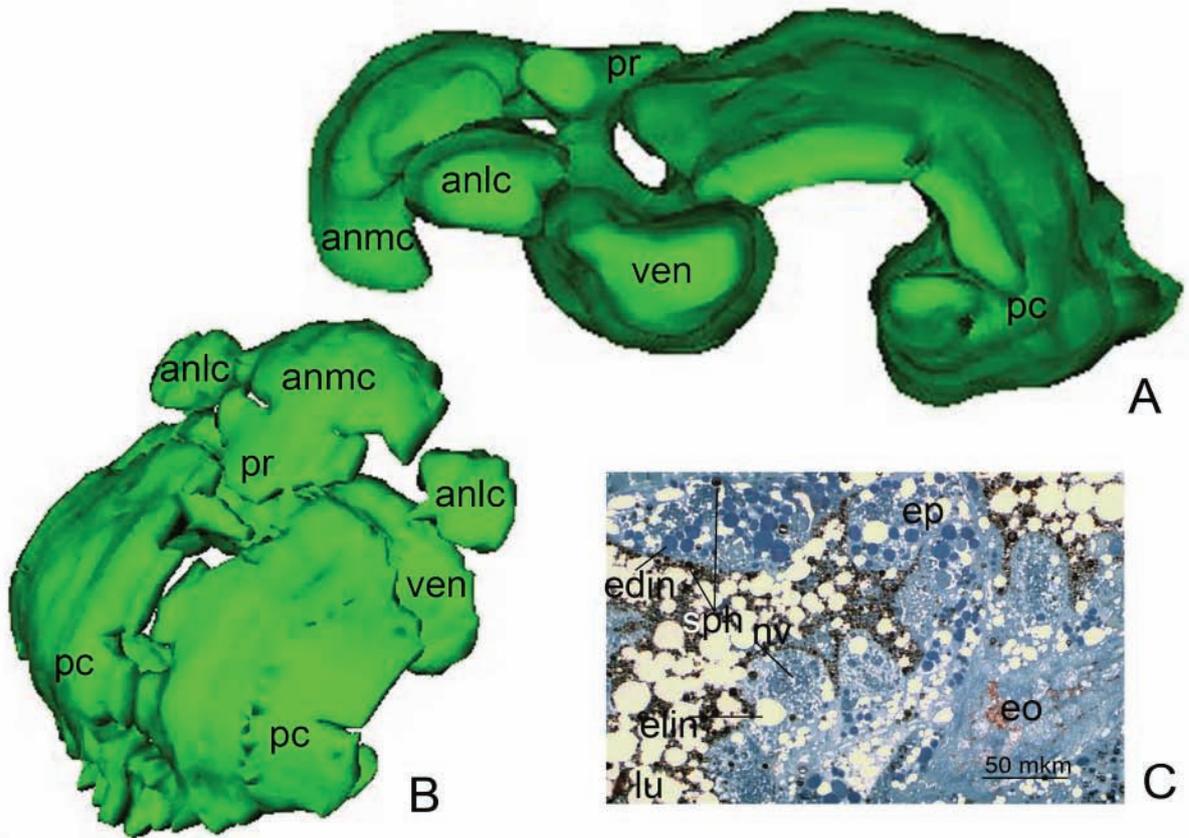
В цитоплазме практически всех клеток второго типа выявляются окруженные мембраной сферокристаллы, а также остаточные тела, липидные включения и зерна α -гликогена. Из органоидов

Рис. 1. Анатомическая организация средней кишки водяного клеща *Piona carnea*: А – трехмерная реконструкция средней кишки (латеральный ракурс); В – трехмерная реконструкция средней кишки (вид с дорзо-латеральной стороны); С – участок медиальной дивертикулы, полутонкий срез, метиленовый синий; D – сагиттальный срез тела *Piona carnea*, полутонкий срез, метиленовый синий.

Сокращения: anlс – пара передних латеральных дивертикул; anmc – передняя медиальная непарная дивертикула; cg – коксальная железа; edin – электронно-плотные включения; elin – электронно-светлые включения; eo – экскреторный орган; ep – эпителий кишки; gs – органы половой системы; lu – просвет кишки; nv – пищеварительная вакуоль; pc – пара массивных задних дивертикул; pr – отросток медиальной непарной дивертикулы, направленный назад; sg – слюнные железы; sy – синганглий; sph – сферокристаллы; ven – желудок.

Fig. 1. Anatomical organization of midgut of the water mite *Piona carnea*: A – three-dimensional reconstruction of midgut (lateral view); B – three-dimensional reconstruction of midgut (dorzo-lateral view); C – portion of medial caeca, semithin section, methylen blue; D – sagittal section of the body of *Piona carnea*, semithin section, methylen blue.

Abbreviations: anlс – pair of anterior lateral caeca; anmc – anterior unpaired medial caecum; cg – coxal gland; edin – electron-dense inclusions; elin – electron-light inclusions; eo – excretory organ; ep – epithelium of the gut; gs – genital system; lu – gut lumen; nv – nutritional vacuole; pc – pair of massive posterior caeca; pr – process of unpaired medial caeca (directed backward); sg – salivary glands; sy – synganglion; sph – spherites; ven – ventriculus.



присутствуют многочисленные митохондрии, гранулярный эндоплазматический ретикулум и рибосомы. Размеры митохондрий составляют в среднем $3 \times 12 \mu\text{m}$, однако иногда они имеют сильно вытянутую форму, могут ветвиться и достигают в длину $5.4 \mu\text{m}$, при ширине $1 \mu\text{m}$. В клетках, проявляющих эндоцитозную активность, их больше по сравнению с остальными. Митохондрии распределены по всей цитоплазме, от базальной пластинки до плазмалеммы, за исключением тонкого апикального слоя в клетках, обладающих пиноцитозной активностью (Рис. 2А–В, 3В, 4А, 5А–В). Оформленные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума удается обнаружить в основном в непосредственной близости от латеральной и базальной границ клеток, а также в околядерной зоне. Комплексы Гольджи встречаются чрезвычайно редко, состоят из нескольких, (от 3 до 5), уплощенных цистерн и выглядят функционально мало активными у всех исследованных клещей, которые не питались во время сбора и фиксации.

Ядра расположены преимущественно в базальной области клеток. Их форма может быть овальной, однако нередко можно наблюдать сильную деформацию оболочки ядра, поскольку включения разного рода (чаще всего прозрачные вакуоли) могут сдавливать ядро. Срезы ядер показывают, что в них может находиться одно центрально расположенное ядрышко либо два-три и даже четыре ядрышка, лежащие на некотором расстоянии друг от друга. Не исключено, однако, что так может выглядеть одно ядрышко, имеющее сложную форму и перерезанное в нескольких частях. Митозы обнаружить не удалось. Размеры ядер составляют в среднем $6.5 \times 4.2 \mu\text{m}$ (Рис. 2А).

К третьей разновидности эпителиальных кишечных клеток *P. carnea* относятся очень крупные клетки, которые могут быть охарактеризованы как экскреторные согласно классификации Бадера (Bader 1938, 1954). Их высота может составлять $80 \mu\text{m}$. Базальная часть клетки остается связанной с базальной пластинкой, тогда как апикальная сильно гипертрофирована и имеет сложные очертания. Экскреторные клетки отличаются очень тонким слоем примембранной цитоплазмы, тогда как органоиды практически полностью отсутствуют. Центральная часть клеток заполнена гигантскими, преимущественно пустыми вакуолями, диаметр которых составляет приблизительно $25 \mu\text{m}$ (Рис. 1С).

Полость средней кишки у всех изученных особей целиком занята пищевым субстратом – полупереваренной посредством внекишечного пищеварения пищей в виде округлых “капель” гомогенного вещества или же равномерно распределенного пищевого коагулята, а также различными клеточными фрагментами. Кроме того, в просвете кишки присутствуют слоистые и остаточные тела, ранее выделенные из клеток кишки, а также дерибаты самих эпителиальных клеток и их разрушающиеся фрагменты. Плазматическая мембрана дегенерирующих эпителиальных клеток разрешается очень плохо; в остатках цитоплазмы не удается точно идентифицировать органоиды, однако хорошо видны многочисленные сферокристаллы. Маркером описанных дегенерирующих клеток могут служить умеренно электронно-плотные тела, которые имеют более контрастные очертания (Рис. 5С).

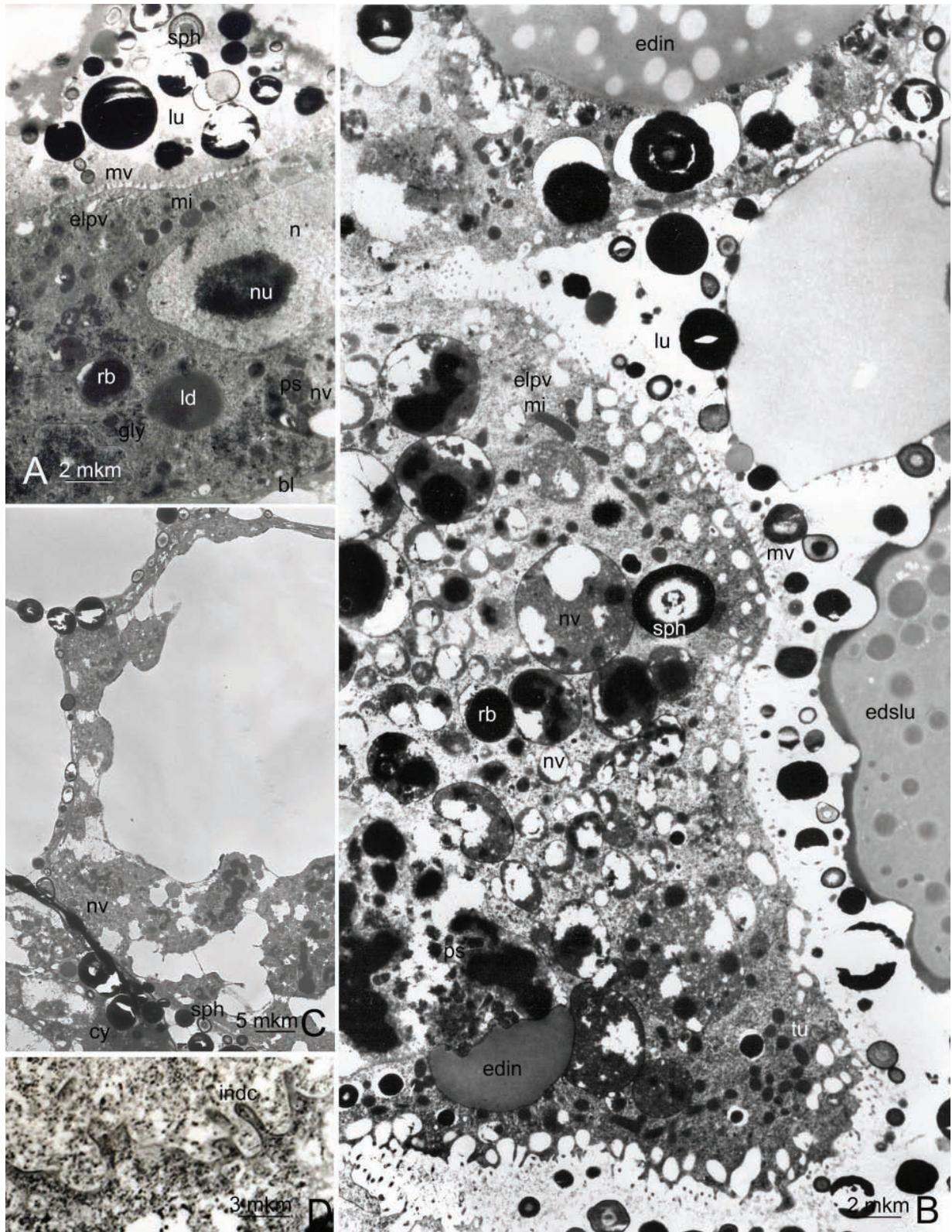
Базальная пластинка либо плотно подстилает эпителиальные клетки средней кишки, либо формирует тонкие выросты, направленные к ба-

Рис. 2. Ультраструктурная организация эпителиальных клеток средней кишки водяного клеща *Piona carnea*: А – резервная клетка; В – клетка, богатая пищеварительными вакуолями; С – экскреторная клетка; D – зона контакта двух эпителиальных клеток средней кишки.

Сокращения: bl – базальная пластинка; cy – цитоплазма; edin – электронно-плотные включения; edslu – электронно-плотная структура, расположенная в просвете кишки; elpv – электронно-светлые пиноцитозные вакуоли; gly – гликоген; indc – инвагинации соседней пищеварительной клетки; ld – липидные капли; lu – просвет кишки; mi – митохондрии; mv – микроворсинки; n – ядро; nu – ядрышко; nv – пищеварительная вакуоль; ps – паракристаллические структуры; gbpv – остаточное тело, формирующееся внутри пищеварительной вакуоли; sph – сферит; tu – трубчатые инвагинации;

Fig. 2. Ultrastructural organization of the epithelial cells of midgut of the water mite *Piona carnea*. A – reserve cell; B – cell rich in digestive vacuoles; C – excretory cell; D – the zone of contact of the two midgut epithelial cells.

Abbreviations: bl – basal lamina; cy – cytoplasm; edin – electron-dense inclusions; edslu – electron-dense structure located in the gut lumen; elpv – electrone-light pinocytotic vacuole; gly – glycogen; indc – invaginations of the adjacent digestive cell; ld – lipid droplets; lu – midgut lumen; mi – mitochondria; mv – microvilli; n – nucleus; nu – nucleolus; nv – nutritional vacuole; ps – paracrystalline structures; rb – residual body formed in nutritional vacuole; sph – spherite; tu – tubular invaginations.



зальной плазматической мембране, в результате чего образуется своего рода сетчатая структура, подстилающая эпителиальные клетки. Иногда базальная пластинка формирует складки. С внешней стороны к базальной пластинке могут примыкать мышечные, а также соединительнотканые клетки. Последние способны формировать выросты, перфорирующие базальную пластинку и непосредственно контактирующие с эпителиальными клетками (Рис. 5А–В).

Интересной особенностью строения средней кишки взрослых водяных клещей *P. carnea* является тесный контакт эпителиальных пищеварительных клеток и трубочек коксальной железы. При этом трубочки коксальной железы как бы “погружаются” в эпителий средней кишки, а базальная пластинка не выявляется (Рис. 4Е–F). Эта особенность была выявлена ранее только у личинок тромбидиид (Shatrov 2003).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анатомия средней кишки *P. carnea* соответствует анатомии пищеварительной системы тромбидиформного типа (Reuter 1909; Alberti and Coops 1999). Средняя кишка *P. carnea* слепо замкнута, имеет вентрально расположенный желудок и крупные дивертикулы (Рис. 1А–D). Считается, что замкнутость средней кишки есть результат внекишечного пищеварения, т.е. эволюционно закрепленного способа питания, при котором в кишку питающегося животного попадает жидкий белковый субстрат, уже полупереваренный посредством действия литических компонентов слюны (Thor 1904; André 1927; Mitchell 1970; Шатров 2000). Полученные нами данные по топографии и морфологии кишечника *P. carnea* хорошо согласуются с описаниями строения данного участка пищеварительной системы других представителей Hydrachnidia и, в частности, видов, входящих в состав рода *Piona*. Отличительной особенностью организации кишки у этих клещей является наличие трех передних дивертикулов, сформированных, как предполагается, в результате разграничения передней части средней кишки косыми дорзовентральными мышечными пучками (Bader 1954). Кишка заполняет все свободное от других органов пространство в теле клеща, включая значительную область в передней области тела; при этом подразделение общего объема средней киш-

ки на отсеки (доли), по всей видимости, связано с потребностью в возможно большем увеличении “полезной площади” пищеварительного эпителия (Mitchell 1970).

Морфологических отличий в строении эпителия желудка и дивертикул у *P. carnea*, как и у других представителей водяных клещей и близкородственных групп Trombiculoidae и Trombidioidea, не обнаружено (Thor 1904; Bader 1938, 1954; Шатров 1987, 1989а, 1989б, 2000, 2007; Shatrov 2003) (Рис. 1С). Гистологическое единство эпителия желудка и дивертикул отмечено и для иксодовых клещей (Балашов 1957). Кроме того, среднюю кишку *P. carnea* также, по всей видимости, формируют клетки одного типа – пищеварительные, однако их размеры и характер включений варьируют. Морфологические различия одного типа пищеварительных клеток в пределах одного организма отражают, по-видимому, их разные функциональные стадии (Bader 1938, 1954). Исключительно для удобства описания пищеварительных клеток на разных стадиях их развития и утилизации пищи мы ввели классификацию, согласно которой пищеварительные клетки претерпевают три последовательных состояния. В соответствии с этими состояниями (этапами) они и получили следующие названия: (1) резервные, т.е. структурообразующие клетки средней кишки, (2) клетки, богатые пищеварительными вакуолями, т.е. собственно пищеварительные клетки и (3) экскреторные клетки, закончившие процесс пищеварения (Рис. 2А–С, 3А–В, G).

Таким образом, на основе данных электронной микроскопии можно проследить вероятные процессы морфологических перестроек пищеварительных клеток в организме *P. carnea*. Мы полагаем, что резервные клетки средней кишки – это временно пассивные или малоактивные клетки в отношении процессов пищеварения (Bader 1938, 1954) (Рис. 2А). При попадании пищевого субстрата в среднюю кишку часть этих клеток выходит из состояния пищеварительного покоя, что сопровождается активизацией апикального комплекса. Это выражается в развитии процессов эндоцитоза и увеличении количества специальных органоидов, связанных с синтетической активностью, таких как гранулярный эндоплазматический ретикулум, митохондрии, рибосомы. Кроме того, происходит запуск процессов внутриклеточного пищеварения и формирования

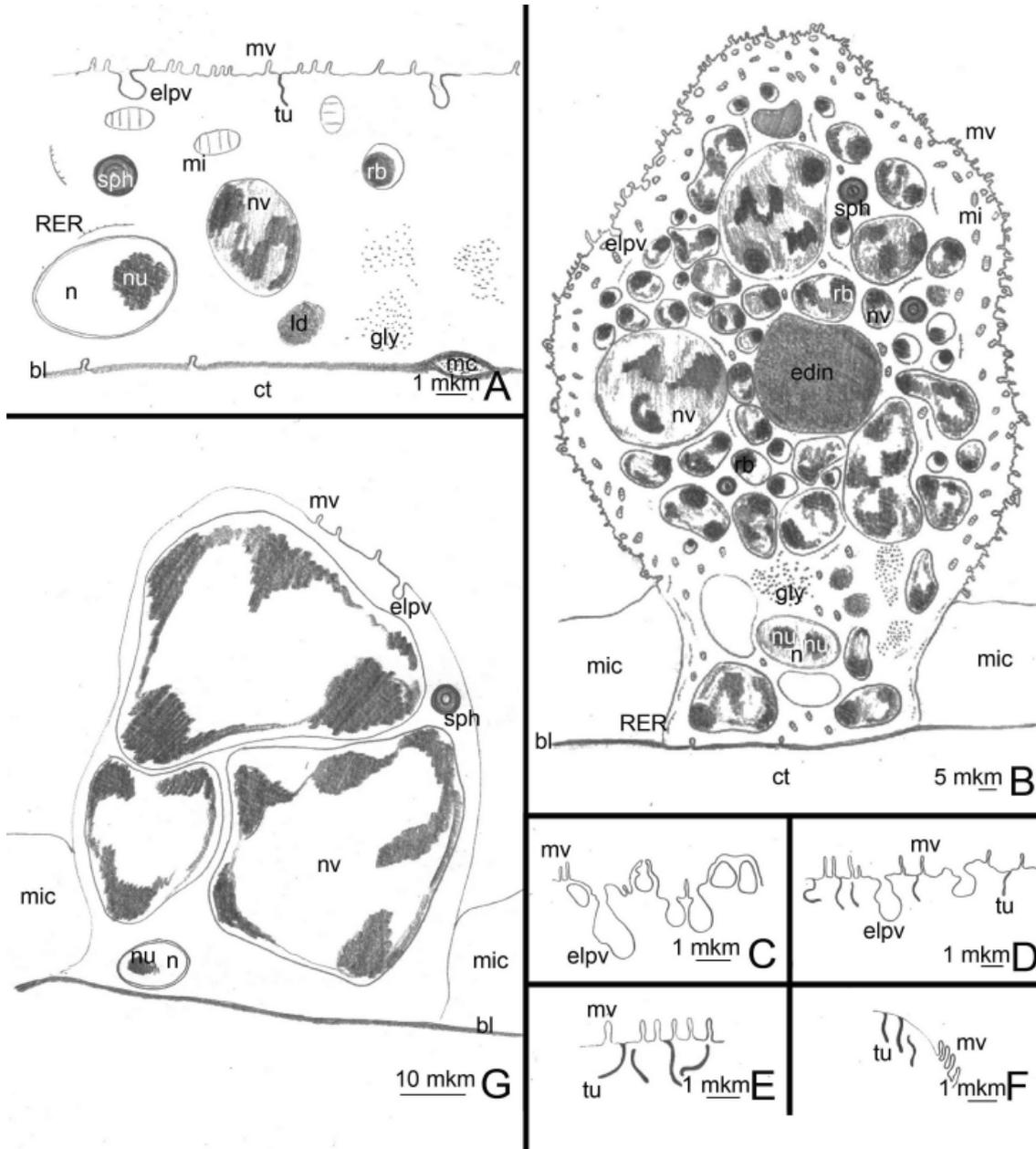


Рис. 3. Схема ультраструктурной организации эпителиальных клеток средней кишки водяного клеща *Piona carnea*: А – резервная клетка; В – клетка, богатая пищеварительными вакуолями; С–F – варианты организации апикальной поверхности клеток, богатых пищеварительными вакуолями; G – экскреторная клетка.

Сокращения: bl – базальная пластинка; ct – соединительная ткань; edin – электронно-плотное включение; elpv – электронно-светлые пиноцитозные вакуоли; gly – гликоген; ld – липидные капли; mc – клетки средней кишки; mi – митохондрии; mv – микроворсинки; mc – мышечная клетка; n – ядро; nu – ядрышко; nv – пищеварительная вакуоль; rbnv – остаточное тело, формирующееся внутри пищеварительной вакуоли; sph – сферит; tu – трубчатые инвагинации.

Fig. 3. Schematic drawings of ultrastructural organization of the midgut epithelial cells of the water mite *Piona carnea*: A – cell rich in digestive vacuoles; C–F – variations of the apical zone organization of the cells rich in digestive vacuoles; G – excretory cell.

Abbreviations: bl – basal lamina; ct – connective tissue; edin – electron-dense inclusion; elpv – electron-light pinocytotic vacuole; gly – glycogen; ld – lipid droplets; mc – midgut cells; mi – mitochondria; mv – microvilli; mc – muscle cell; n – nucleus; nu – nucleolus; nv – nutritional vacuole; rbnv – residual body forming in nutritional vacuole; sph – spherite; tu – tubular invagination.

остаточных продуктов, одновременно с этим накапливаются гликоген и липиды (Bader 1938, 1954; Wright and Newell 1964). Следует отметить, что при изучении некоторых профилей эпителиальных клеток удавалось наблюдать очень высокую концентрацию α -гликогена, а также огромное количество митохондрий. Вместе с тем отсутствие ядер в данных участках эпителия не позволяет выделить эти “клетки” в особый морфологический тип, а убеждает в том, что описываемые структуры являются, скорее всего, просто отростками гигантских пищеварительных клеток, своего рода компартментами, заполненными энергетически ценными запасными продуктами.

Клетки, активно поглощающие пищевой субстрат, согласно нашей классификации, носят название клеток, богатых пищеварительными вакуолями (Рис. 2В, 3В). Следует отметить, что у всех исследованных нами клещей процессы эндоцитоза могут реализовываться различными способами. Так, в средней кишке одного и того же клеща иногда удается различить участки пищеварительного эпителия, поглощающего пищевой субстрат из полости кишки посредством микропиноцитоза, а также неспецифического макропиноцитоза (Рис. 4А–В). Кроме того, были получены изображения, напоминающие фагоцитоз. Эпителиальные клетки средней кишки иксодовых клещей также обладают способностью к эндоцитозу, который реализуется в виде фаго- и пиноцитоза (Балашов 1979). Клетки кишечного эпителия расительноядных клещей (Tetranychidea) способны

захватывать твердые частицы пищи из просвета кишки (Акимов и Барабанова 1977). Нельзя не отметить тот факт, что у *P. carnea* количество вторичных лизосом, их размер, а также степень утилизации расположенного в них материала различны в разных пищеварительных клетках. На электронограммах видно, что небольшие вакуоли целиком превращаются в остаточные тела; в случае же если вакуоль имеет значительные размеры, остаточные тела отделяются от ее общего объема, захватывая часть цитоплазмы, а затем экскретируются в просвет, что, по всей видимости, помогает избежать дефицита плазматической мембраны (Рис. 2В, 3В, 4В). При изучении гетеролизосом бросается в глаза наличие небольших паракристаллических структур в их матриксе, а также лежащих и вне включений в цитоплазме (Рис. 4С–D). В литературе имеются данные, согласно которым вирусные частицы способны формировать сходные образования (Goto et al. 2001). Скорее всего, однако, это – кристаллическая форма белка, депонированного в кишечных клетках подобным образом в связи с не ясными пока метаболическими процессами. В кишечных клетках других Parasitengona подобные кристаллические образования не были обнаружены (Шатров 2000, 2007; Shatrov 2003).

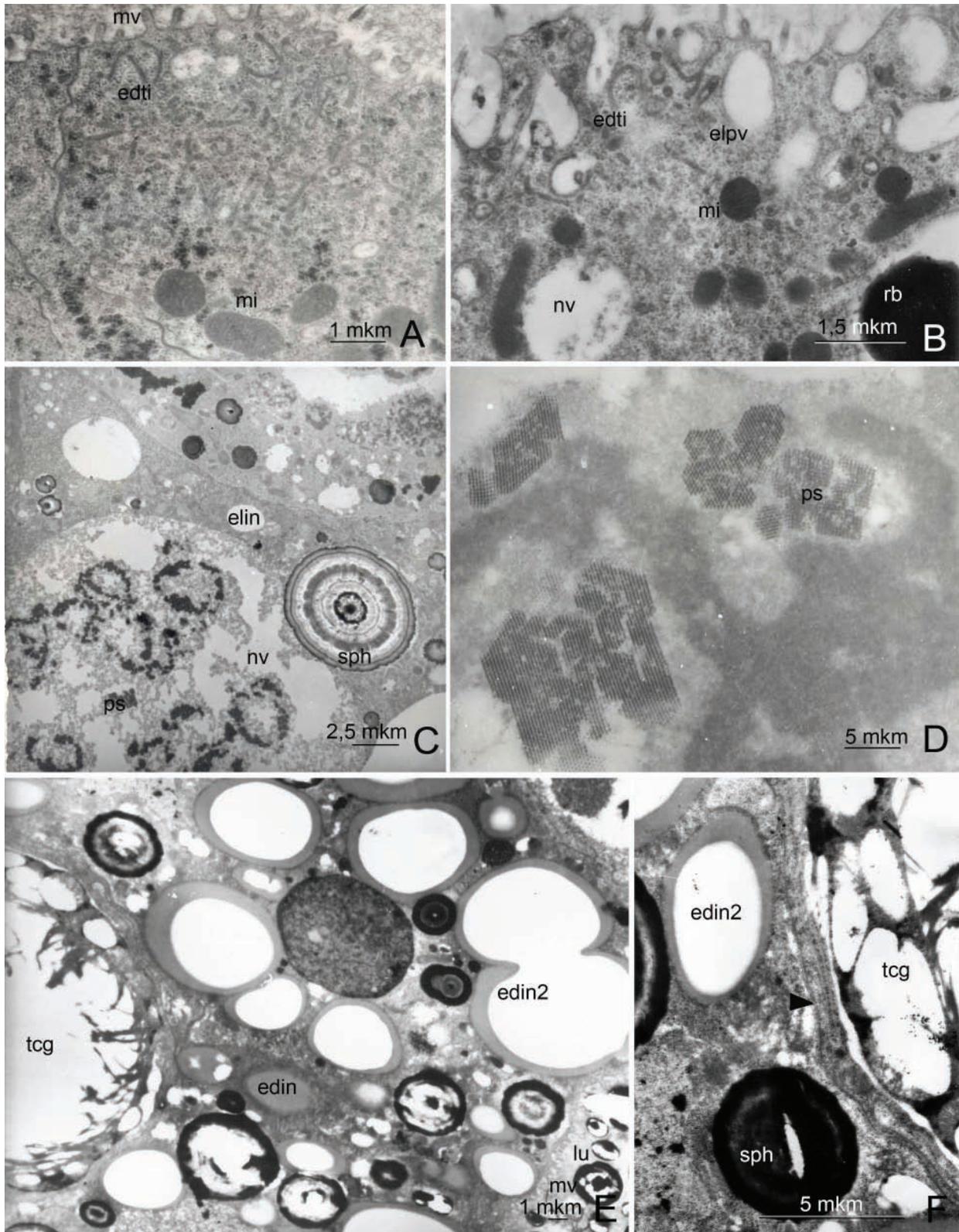
В цитоплазме клеток, богатых пищеварительными вакуолями, присутствуют так называемые слоистые тела, или сферокристаллы (Рис. 2В, 4Е–F). Данные структуры описаны у различных членистоногих, например псевдоскорпионов (Bacetti and Lazzeroni 1967), ракообразных (Stainer et al.

Рис. 4 Ультраструктурная организация цитоплазмы эпителиальных клеток средней кишки водяного клеща *Piona carnea*: А – апикальная зона клеток, богатых пищеварительными вакуолями, содержащая большое количество электронно-плотных трубчатых инвагинаций; В – апикальная зона клеток, богатых пищеварительными вакуолями, содержащая электронно-светлые пиноцитозные вакуоли; С – участок цитоплазмы, содержащий пищеварительные вакуоли; D – паракристаллические структуры, расположенные внутри пищеварительной вакуоли; Е – цитоплазма эпителиальной клетки средней кишки и соседствующая с ней трубочка коксальной железы; F – зона контакта коксальной железы и эпителиальной клетки средней кишки.

Сокращения: edin – электронно-плотное включение; edin2 – включения с умеренно электронно-плотным материалом, расположенным по периферии; edti – электронно-плотные трубчатые инвагинации; elin – электронно-светлые включения; elpv – электронно-светлые пиноцитозные вакуоли; lu – просвет кишки; mi – митохондрии; mv – микроворсинки; nv – пищеварительная вакуоль; ps – паракристаллические структуры; sph – сферокристалл; tcg – трубочка коксальной железы; *стрелкой* отмечена зона контакта трубочки коксальной железы и эпителиальной клетки средней кишки.

Fig. 4. Ultrastructural organization of the cytoplasm of *Piona carnea* midgut cells: А – apical zone of the cells rich in nutritional vacuoles containing a large number of the electron-dense tubular invaginations; В – apical zone of the cells rich in nutritional vacuole containing electron-light pinocytotic vacuoles; С – portion of the cytoplasm containing nutritional vacuoles; D – paracrystalline structures located in nutritional vacuole; Е – cytoplasm of the epithelial midgut cell tightly adjoins to the tubule of coxal gland; F – zone of contact of coxal gland and the midgut epithelial cell.

Abbreviations: edin – electrone-dense inclusion; edin2 – inclusions with moderately electron-dense material located on the periphery; edti – electron-dense tubular invagination; elin – electron-light inclusions; elpv – electron-light pinocytotic vacuole; lu – lumen of the midgut; mi – mitochondria; mv – microvilli; nv – nutritional vacuole; ps – paracrystalline structures; sph – spherite; tcg – tubule of coxal gland; *arrowhead* indicate the contact of a tubule of the coxal gland and the midgut epithelial cell.



1968), пауков (Ludwig and Alberti 1988) а также у нимф иксодовых клещей (Балашов и Райхель 1974, 1976) и взрослых краснотелок (Шатров 2000), но совершенно отсутствуют у водяного клеща *T. cometes* (Шатров 2007). Данные структуры характерны в основном для экскреторных и осморегулирующих эпителиев. Предполагают, что сферокристаллы – это конкреции гуанина, или уросфериты (McEnroe 1961b). Показано, что у паука *Coelotes terrestris* (Walkenaer, 1925) подобные сфериты содержат фосфаты и карбонаты кальция, а также гуанин и барий, а, кроме того, в них выявляется аминопептидаза и щелочная фосфатаза (Ludwig and Alberti 1988). Предполагают, что сфериты запасают кальций и служат для детоксикации тяжелых металлов (Ludwig and Alberti 1988). Следует отметить, что в теле *P. carnea* слоистые тела локализируются в основном в полости кишки (Рис. 2В), т.е. выводятся из клеток.

Наиболее заметными включениями в клетках, богатых пищеварительными вакуолями, являются электронно-светлые округлые структуры (до 20 μm в диаметре), а также имеющие примерно такой же размер электронно-плотные либо умеренно электронно-плотные включения, выполняющие часто значительную часть объема клеток (Рис. 4Е–F, 5А–В). Данные структуры можно отнести к одному классу включений; при этом отсутствие электронно-плотного материала в “пустых” вакуолях, вероятно, является артефактом, вызванным фиксацией. Доказательством тому может служить наличие многочисленных переходных форм, которые представляют собой включения с электронно-светлым центром и электронно-плотным примембранным слоем различной

толщины. Охарактеризовать однозначно природу данных включений затруднительно, однако можно предположить, что это – либо пищевой субстрат, либо, скорее, материал временного, вероятно, достаточно короткого срока депонирования липидной либо липопротеидной природы (Bader 1938; Wright and Newell 1964; Шатров 2000).

Гипертрофированные клетки *P. carnea*, вовлеченные в процесс внутриклеточного пищеварения так же, как и у водяных клещей *Limnesia koenikea* (Piers.) (Limnesiidae) (Bader 1938) и *T. cometes* (Teutoniidae) (Шатров 2007), всегда имеют непосредственную связь с базальной пластинкой и никогда не располагаются свободно в полости кишки, как это, например, имеет место у *Anystis* sp. (Anystidae) (Wright and Newell 1964), или же у тетранихид (Tetranychidae) (Акимов и Барабанова 1977; Mothes and Seitz 1981).

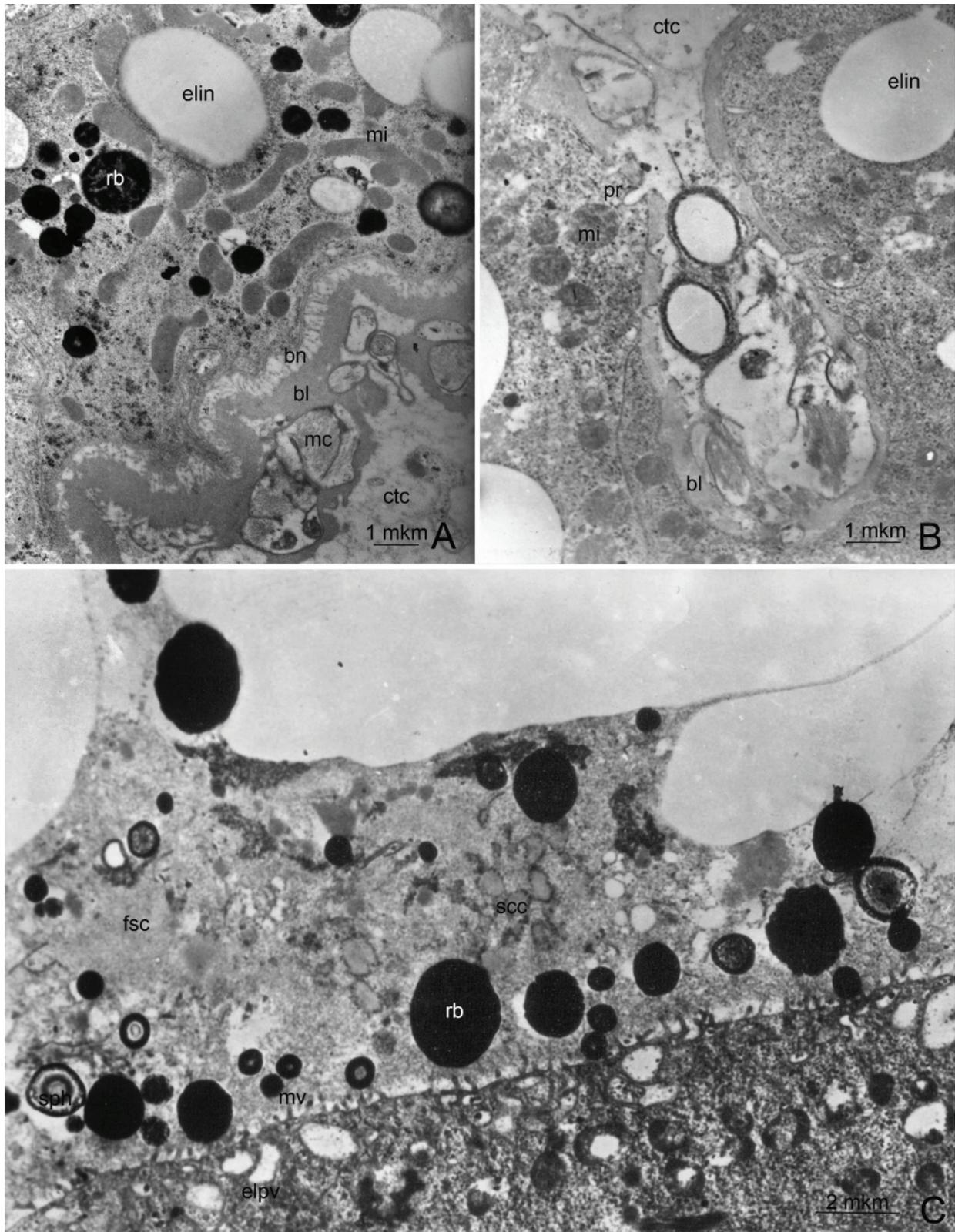
По завершении этапа активного внутриклеточного пищеварения клетки преобразуются в экскреторные – третью разновидность кишечных клеток, что характеризуется постепенной утратой эндоцитозной активности, а также формированием одной или нескольких крупных вакуолей (Рис. 2С, 3G) (Bader 1938, 1954). Необходимо подчеркнуть, что из-за чрезвычайно крупных размеров экскреторных клеток, их сложных очертаний и наслаивания близлежащих эпителиальных клеток нет возможности проследить всю экскреторную клетку на отдельно взятой микрофотографии целиком. Следует отметить, что экскреторные клетки очень похожи на клетки, подверженные процессам дегенерации. В первой половине XX века были поставлены эксперименты, направленные на изучение динамики изменения клеток средней кишки в зависимости от процессов поглощения

Рис. 5. Ультраструктурная организация базальной части эпителиальных клеток средней кишки и ее полость у водяного клеща *Piona carnea*: А – базальная пластинка, не плотно прилегающая к эпителиальным клеткам; В – базальная пластинка, плотно подстилающая эпителиальные клетки; С – фрагмент клетки, разрушающейся в полости кишки.

Сокращения: bl – базальная пластинка; bn – выросты базальной пластинки; pr – вырост соединительнотканной клетки, перфорирующий базальную пластинку и контактирующий с участком эпителиальной клетки кишки; mc – мышечные клетки; mi – митохондрии; rb – остаточное тело; fsc – фрагмент полупереваренной клетки; sph – сферит; ctс – соединительнотканнные клетки; elin – электронно-светлые включения; scc – умеренно электронно-плотные структуры с более плотными точечными очертаниями, встречающиеся исключительно в разрушающихся клеточных фрагментах.

Fig. 5. Ultrastructural organization of the basal portion of the midgut epithelial cells of the water mite *Piona carnea*: А – basal lamina not tightly adjoind to the epithelial cells; В – basal lamina closely connected with the epithelial cells; С – fragment of the cell collapsing in the gut lumen.

Abbreviations: bl – basal lamina; bn – the basal lamina microfibers forming a network; pr – protrusions of the connective tissue through the basal lamina into the digestive cell; mi – mitochondria; mc – muscle cell; rb – residual body; fsc – fragment of the semidigested cell; sph – spherite; ct – connective tissue cells; elin – electron-light inclusions; scc – moderately electron-dense structures occurring exclusively in the collapsing cellular fragments.



и переваривания пищи, а также длительности голодания (Bader 1938). Были обнаружены сильно увеличенные в размерах, вдающиеся в просвет (а у старых особей – практически вытесняющие просвет) экскреторные клетки, стенки которых способны разрываться; при этом содержимое экскреторных клеток оказывается в просвете (Bader 1938). Экскреторные клетки *P. carnea* по своей ультраструктуре очень похожи также на экскреторные клетки, обнаруженные у *Phalangium opilio* (L.) (Arachnida: Opiliones) (Becker and Peters 1985). Процессы клеточной дегенерации были обнаружены у *Anistis* sp., с тем существенным отличием, что началу процесса разрушения у *Anistis* sp. предшествует отделение клетки от остального эпителия (Wright and Newell 1964).

Весьма характерно, что в просвете кишки присутствует еще один тип клеток, вероятно, не имеющих отношения к эпителиальным клеткам средней кишки *P. carnea* (Рис. 5С). Это – свободные бесформенные дегенерирующие клетки, по всей видимости, принадлежащие жертве. Наличие небольших участков ткани жертвы среди равномерного пищевого коагулята было обнаружено в полости кишки у *L. koenikei* (Bader 1938). У других паразитенгон фрагменты разрушенных клеток жертвы в кишке не были обнаружены (Шатров 2000, 2007; Shatrov 2003).

Базальная часть эпителиальных клеток средней кишки располагается на массивной разграничительной базальной пластинке, перфорированной короткими отростками соединительнотканых клеток, прилегающих к ней с наружной стороны, что также наблюдается у ряда исследованных в этом отношении членистоногих, в том числе клещей (Reger 1970; Herman and Preus 1972; Alberti and Stroch 1983; Шатров 1989б). Полагают, что данного рода контакты служат для облегчения транспорта веществ через базальную мембрану к пищеварительным клеткам (Reger 1970; Alberti and Coons 1999) (Рис. 5В).

Сравнение организации кишечника у *P. carnea* и *T. cometes* (Шатров 2007) обнаруживает некоторое различие в частных цитологических аспектах функционирования эпителия у этих клещей при принципиально сходной структурной организации кишечной стенки. Так, у *T. cometes* один тип пищеварительных клеток чрезвычайно различается по форме и размерам, но эпителий при этом имеет более отчетливую конфигурацию и не образует

сетчатой структуры, как это наблюдается у *P. carnea*. Остаточные продукты после внутриклеточного пищеварения в виде мелкогранулярной субстанции, заключенной в огромных разрушающихся вакуолях, выводятся в просвет кишки.

В целом проведенное исследование показало, что у взрослых водяных клещей, в отличие от краснотелок и тромбидиид, реализуется наиболее совершенный способ утилизации пищевого материала из просвета кишки посредством пиноцитоза, и только в отдельных случаях есть подозрения на фагоцитоз. Однако хорошо выраженный фагоцитоз у пищеварительных клеток взрослых краснотелковых клещей и (в более слабой степени) у клещей-тромбидиид, это – не архаичный способ поглощения пищи, а, вероятнее всего, вторично развившийся, возможно, на основе более эффективного процесса внекишечного пищеварения. Вместе с тем у всех этих клещей кишечный эпителий обнаруживает высокую функциональную лабильность в отношении процессов пищеварения и утилизации пищи при однотипном способе питания (внекишечное пищеварение) представителями различных групп членистоногих.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность инженерам отделения электронной микроскопии ЗИН РАН А.Э. Тенисону и П.И. Генкину за квалифицированную помощь при работе на электронном микроскопе и с фотоматериалами. Настоящее исследование выполнено при поддержке РФФИ по проектам № 06-04-48538-а и № 09-04-00390-а.

ЛИТЕРАТУРА

- Акимов И.А. и Барабанова В.В. 1977. Морфологические и функциональные особенности пищеварительной системы тетраниховых клещей (Trombidiformes, Tetranychidea). *Энтомологическое обозрение*, **56**: 910–922.
- Балашов Ю.С. (Ред.). 1957. Гистологические особенности пищеварения у иксодовых и аргасовых клещей. *Паразитологический сборник*, **17**: 137–168.
- Балашов Ю.С. 1979. Атлас электронно-микроскопической анатомии иксодовых клещей. Наука, Ленинград, 256 с.
- Балашов Ю.С. и Райхель А.С. 1974. Ультратонкое строение среднего отдела кишечника голодных нимф *Hyalomma asiaticum* (Acarina, Ixodidae). *Зоологический журнал*, **53**: 1161–1168.

- Балашов Ю.С. и Райхель А.С. 1976.** Ультратонкое строение эпителия среднего отдела кишечника нимфы *Hyalomma asiaticum* (Acarina, Ixodidae) во время питания. *Паразитология*, **10**: 201–209.
- Кронеберг А.И. 1878.** О строении *Eilais extendes* (O.F. Muller) с заметками о некоторых родственных формах. *Известия Императорского общества любителей естествознания, антропологии и этнографии*, **29**: 1–37.
- Соколов И.И. 1940.** Фауна СССР. Паукообразные. Т. 5, вып. 2: Hydracarina – Водяные клещи (ч. 1: Hydrachnellae). Академия наук СССР, Москва – Ленинград, 510 с.
- Шатров А.Б. 1987.** Светооптическая и электронно-микроскопическая организация средней кишки и экскреторного органа не питающихся нимф и взрослых клещей *Hirsutiella zachvatkini* (Acariformes, Trombiculidae). *Энтомологическое обозрение*, **66**: 874–887.
- Шатров А.Б. 1989а.** Основные особенности организации кишечника активных фаз жизненного цикла краснотелковых клещей (Acariformes, Trombiculidae). *Зоологический журнал*, **68**: 28–37.
- Шатров А.Б. 1989б.** Светооптическое и электронно-микроскопическое строение средней кишки и экскреторного органа питающихся нимф и взрослых клещей *Hirsulicella zachvatkini* и *Euschoengastia rotundata* (Trombiculidae). *Паразитологический сборник*, **35**: 37–48.
- Шатров А.Б. 2000.** Краснотелковые клещи и их паразитизм на позвоночных животных. СПбГУ, Санкт-Петербург, 278 с.
- Шатров А.Б. 2007.** Электронно-микроскопическая организация средней кишки и экскреторного органа у взрослых фаз водяного клеща *Teutonia cometes* (Koch, 1837) (Parasitengona: Hydrachnidia: Teutoniidae) и ее эволюционная оценка. *Зоология беспозвоночных*, **4**: 195–208.
- Alberti G. and Coons L.B. 1999.** Acari-Mites. In: F.W. Harrison and R.F. Foelix (Eds.). *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, 8С. Wiley-Liss, New York: 515–1265.
- Alberti G. and Stroch V. 1983.** Zur Ultrastruktur der Mitteldarmdrüsen von Spinnentieren (Scorpiones, Araneae, Acari) unter verschiedenen Ernährungsbedingungen. *Zoologischer Anzeiger*, **211**: 145–160.
- André M. 1927.** Digestion “extra-intestinale” chez le Rouget (*Leptus autumnalis* Shaw). *Bulletin du Museum National d’Histoire Naturelle*, **33**: 509–516.
- Bacetti B. and Lazzeroni G. 1967.** Primi reperti ultra-strutturali sul canale alimentare di uno pseudoscorpione. *Redia*, **50**: 351–363.
- Bader C. 1938.** Beiträge zur Kenntnis der Verdauungsvorgänge bei Hydracarina. *Revue Suisse de Zoologie*, **45**: 721–806.
- Bader C. 1954.** Das Darmssystem der Hydracarina. Eine vergleichend-anatomische Untersuchung. *Revue Suisse de Zoologie*, **61**: 505–549.
- Becker A. and Peters W. 1985.** Fine structure of the midgut gland of *Phalangium opilio* (Chelicerata, Phalangida). *Zoomorphology*, **105**: 317–325.
- Herman W.S. and Preus D.M. 1972.** Ultrastructure of the hepatopancreas and associated tissues of the chelicerate arthropod, *Limulus polyphemus*. *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*, **134**: 255–271.
- Ludwig M. and Alberti G. 1988.** Mineral congregations, “sherites” in the midgut gland of *Coelotes terrestris* (Araneae): structure, composition and function. *Protoplasm*, **143**: 43–50.
- McEnroe W.D. 1961.** Guanin excretion by the two-spotted spider mite (*Tetranychus telarius* (L.)). *Annals of the Entomological Society of America*, **54**: 925–926.
- Michael A.D. 1895.** A study of the internal anatomy of *Thyas petropus*, an unrecorded Hydrachnid found in Cornwall. *Proceeding of the Zoological Society of London*: 174–209.
- Mitchell R.D. 1970.** The evolution of a blind gut in trombiculid mites. *Journal of Natural History*, **4**: 221–229.
- Mothes U. and Seitz K.-A. 1981.** Functional microscopic anatomy of the digestive system of *Tetranychus urticae* (Acari, Tetranychidae). *Acarologia*, **22**: 257–270.
- Reger J.F. 1970.** Observations on junctions between midgut epithelial and subjacent interstitial cells in three arthropodan species. *Journal de Microscopie*, **9**: 139–142.
- Reuter E. 1909.** Zur Morphologie und Ontogenie der Acariden. Mit Besonderer Berücksichtigung von pediculopsis graminum (E. Reut.). *Acta societatis scientiarum fennica*, **36**: 1–287.
- Shatrov A.B. 2003.** Comparative midgut ultrastructure of unfed larvae and adult mites of *Platytrombidium fasciatum* (C.L. Koch, 1836) and *Camerotrombidium pexatum* (C.L. Koch, 1836) (Acariformes: Microtrombidiidae). *Arthropod Structure and Development*, **32**: 227–239.
- Stainer J.E., Woodhouse M.A. and Griffin R.L. 1968.** The fine structure of the hepatopancreas of *Carcinus maenas* (L.) (Decapoda, Brachyura). *Crustaceana*, **14**: 56–66.
- Thor S. 1904.** Recherches sur l’anatomie comparée Acariens prostigmatiques. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie, ser. 8*, **19**: 1–190.
- Goto T., Kohno T., Nakano T., Fujioka Y., Morita C. and Sano K. 2001.** An improved procedure of electron microscopic in situ hybridization for detecting adenovirus DNA. *Journal of Electron Microscopy*, **50**: 73–76.
- Wright K.A. and Newell J.M. 1964.** Some observations on the fine structure of the midgut of the mite *Anystis* sp. *Annals of the Entomological Society of America*, **57**: 684–693.