

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Миролюбов Алексей Александрович

Научный доклад об основных результатах подготовленной
научно-квалификационной работы (диссертации)

«Особенности строения интерны корнеголовых раков
(Cirripedia: Rhizocephala)»

06.06.01 Биологические науки

Паразитология

Заведующий отделом аспирантуры
ЗИН РАН, доктор биологических наук
Синев С.Ю.

Научный руководитель,
доктор биологических наук,
Галактионов К.В.

Рецензент,
доктор биологических наук,
Гранович А.И.

Санкт-Петербург
2019

Оглавление

Глава I. Введение	3
Глава II. Материал и методика	5
Глава III. Обзор литературных данных	8
Глава IV. Результаты и обсуждение.....	36
Глава V. Выводы.....	75
Глава VI. Заключение	76
Список литературы.....	77

Глава I. Введение

Rhizosephala — группа высоко специализированных облигатных паразитических ракообразных, входящих в состав группы Cirripedia. Глубокие адаптации к эндопаразитическому образу жизни отразились на многих аспектах биологии этих животных. Сильное видоизменение претерпели морфология, физиология и жизненные циклы этих животных. Будучи полостными паразитами других ракообразных, корнеголовые раки не только полностью утратили сегментацию, но и все остальные признаки, присущие свободноживущим ракообразным (пищеварительная система, кровеносная система, выделительная система и т. д.). Единственная стадия жизненного цикла, которая не претерпела столь значительных изменений, это их расселительная личинка. Однако как взрослые организмы, так и их личинки, полностью утратили абдоминальный участок тела. Более того, у корнеголовых раков отсутствуют даже Нох гены, ответственные за формирование этого отдела тела (Mouchel-Vielh et al., 1998). Их можно опознать как представителей ракообразных, только используя молекулярные методы диагностики (анализ ДНК) (Walker, 2001) или по строению личинок (Rees, 2014).

Тело взрослой самки полностью теряет все черты, характерные для «классических» ракообразных. Тело паразита представлено системой ветвящихся нерасчлененных столонов (интерной), расположенных в полости тела хозяина и мешковидным образованием, вынесенным за пределы тела хозяина и выполняющим репродуктивную функцию (экстерна). Карликовые самцы демонстрируют такую степень редукции, что от них, в конечном счете, остается только сперматогенная ткань, которая инкорпорируется в организм самки в виде ложной «гонады». Кроме того, эти паразиты полностью утратили пищеварительную систему на всех стадиях жизненного цикла. Питание паразита происходит исключительно через покровы тела. Полностью отсутствуют какие-либо специализированные распределительные системы и выделительная система.

Эти животные также обладают уникальным жизненным циклом, не характерным для свободно живущих ракообразных. Свободно плавающая личинка прикрепляется к хозяину и в ходе сложного метаморфоза формируется капсула (кентрогон), предназначенная для пенетрации покровов краба и впрыскивания внутрь тела хозяина группы зародышевых клеток (вермигон), при этом остальное тело личинки отмирает. Следует обратить особое внимание, что вермигон не наследует от личинки никаких органов, включая нервную и мышечную систему (Glenner 2001). Однако, согласно литературным данным, у взрослого организма находили свидетельства наличия и мышечных клеток и нервных (Нøег, 1995; Bresciani, Нøег, 2001). К сожалению,

литературные данные, относительно мышечной системы взрослого организма корнеголовых раков, крайне скудны и касаются в основном мускулатуры экстерны. В ходе данной работы нам удалось обнаружить и описать мышечные системы интерны у представителей двух разных семейств Rhizocephala.

Кроме того, тесная связь с хозяином привела к возникновению очень сложных паразито-хозяинных взаимоотношений. Представители группы Rhizocephala оказывают сильное влияние на морфологию, физиологию и поведение своих хозяев. Однако до недавнего времени было не понятно, с помощью каких морфологических структур и молекулярных механизмов, как со стороны паразита, так и со стороны хозяина, осуществляется это взаимодействие. В настоящем исследовании обнаружено что корнеголовые ракообразные обладают как минимум двумя сайтами прямого контакта между телом паразита и нервной тканью хозяина. При этом участки тела паразита, принимающие участие в этом взаимодействии, сильно модифицированы на морфологическом и ультраструктурном уровне, что указывает на специализированные функции этих участков тела.

Таким образом, несмотря на значительный интерес исследователей к этой уникальной группе паразитов, некоторые аспекты их биологии оставались абсолютно неисследованными. В первую очередь это относится к мышечной системе интерны и взаимодействию паразита с нервной системой хозяина. Именно этим вопросом и посвящено данное исследование.

Цели:

1. Описать мышечные системы интерны у следующих видов корнеголовых ракообразных: *Peltogaster paguri*, *Peltogastrella grasilis*, *Sacculina pilosella*, *Polyascus polygenea* и *Lernaeodiscus sp.*
2. Исследовать морфологические особенности сайтов прямого контакта корнеголовых ракообразных с нервной системой хозяина.

Задачи:

1. Исследовать различия в строении мышечных систем у представителей трех семейств корнеголовых ракообразных.
2. Описать морфологию столонов паразита, ассоциированных с ганглиями нервной системы хозяина.
3. Изучить различия в строении столонов, ассоциированных с ганглиями нервной системы хозяина, у представителей разных семейств корнеголовых ракообразных.
4. Исследовать особенности взаимодействия трофических столонов интерны с участками периферической нервной системы хозяина.

Глава II. Материал и методика

Материалом для исследования послужили взрослые экземпляры представителей трех семейств корнеголовых раков.

Раки отшельники *Pagurus pubescens* (Krøyer, 1838), зараженные *Peltogaster paguri* (Rathke, 1842) (сем. Peltogastridae) были собраны в окрестностях Морской биологической станции ЗИН РАН «Мыс Картеш»: Белое море, Кандакшский залив, губа Чупа, Керетский архипелаг (N 66.312; E 33.610). Сбор материала производили в летние-осенние месяцы 2012—2018 года глубин 5—20 метров. Для сбора раков отшельников использовали легководлазное оборудование.

Сбор материала также проводили в летне-осенний период 2017-2018 гг. на Морской Биологической станции «Восток» Национального Научного центра морской биологии Дальневосточного отделения РАН (N: 42.893720, E: 132.732755). В окрестностях станции были собраны следующий материал:

- Раки отшельники *Pagurus ochotensis* (Brandt, 1851) и *Pagurus pectinatus* (Stimpson 1858), зараженные паразитом *Peltogastrella grasilis* (Boschma, 1927) (сем. Peltogastridae)

- Крабы *Hemigrapsus sanguineus* (De Haan 1835), зараженные *Polyascus polygenea* (Lützen&Takahashi, 1997) (сем. Sacculinidae)
- Крабы *Pugettia quadridens* (De Haan 1839), зараженные *Sacculina pilosella* (Van Kampen&Boschma 1925) (сем. Sacculinidae)
- Крабоиды *Pachycheles stevensii* (Stimpson, 1858) зараженные *Lernaeodiscus sp.*

Собранные хозяева были вскрыты в морской воде. На вскрытиях производили прижизненное наблюдение за паразитом и исследовали его общую морфологию. Затем паразита фиксировали для дальнейшей обработки.

Использование разных методов исследования потребовало разнообразных методик фиксации собранного материала. Для изготовления гистологических срезов в качестве фиксатора использовали жидкость Буэна и жидкость Ценкера. Материал для электронной микроскопии фиксировали глутаральдегидом 2,5% на фосфатном буфере и тетра оксидом осмия 1%. Для CLSM были использован материал, зафиксированный с помощью 4% PFA.

Материал, зафиксированный жидкостью Буэна и жидкостью Ценкера, использовали для изготовления гистологических срезов толщиной 5 мкм на микротоме Leica RM2125RT. Для этого нами был использован метод парафин-целлоидиновой заливки через жидкость Петерфи. Перед парафиновой заливкой объекты выдерживались в жидкости Петерфи в течении 5—7 суток. Готовые срезы были депарафинированы в ксилоле и окрашены гистологическими красителями. Для окраски препаратов мы использовали кислый гематоксилин Эрлиха, гематоксилин Гейденгайна, полихромный краситель Маллори, бромфеноловый синий и аzur-эозин. Готовые препараты фотографировали с помощью камеры Nikon DS-Fi,1 на микроскопе Leica dm 2500 с объективами 10x, 20x, 40x, 100x и.

Для визуализации элементов мышечной и нервной системы был использован метод конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Для этого нами использована фиксация 4%-ным параформальдегидом (PFA). Время фиксации составляло от 4 до 24 ч при температуре 4 °C. Затем объекты отмывали в 0.1M буфере (PBS) и для хранения помещали в 0.1% раствор азиды на PBS.

Для окрашивания объектов мы использовали меченые антитела против серотонина, FMRF-амида и α -тубулина, фаллоидин с флюоресцентной меткой и краситель Hoechst. После отмывки от азиды в PBS объекты инкубировали в растворе первичных антител в течении двух суток, затем следовала инкубация во вторичных антителах (Krupenko, 2014). После вторичных антител объекты выдерживали в растворе фаллоидина и Hoechst в течение 12 ч. Препараты смонтированы на покровные стекла. В качестве среды мы

использовали смесь глицерина с PBS в соотношении 9:1. Препараты были сфотографированы на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе (Leica TCS SP5 MP и Leica TCS SP5) в ресурсном центре СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и в ресурсном центре СПбГУ «Микроскопии и микроанализа». Полученные фотографии обработаны в программе FIJI.

Для изготовления полутонких и ультратонких срезов мы использовали материал, зафиксированный глутаральдегидом с постфиксацией тетраоксидом осмия. После отмывки в фосфатном буфере (PBS) от глутаральдегида объекты помещали в 1% раствор тетраоксида осмия на 1 ч при температуре 4 °С. После отмывки от тетраоксида осмия мы проводили объекты до эпоксидной смолы EPON 812. Изготовленные блоки были нарезаны на ультратоме (Leica EM UC7). Нами были изготовлены полутонкие срезы (толщиной 500 нм), которые затем монтировали на предметное стекло и окрашивали. Мы использовали несколько красителей: краситель Ричардсона, целестиновый голубой с сафранином и телуидиновый синий.

Ультратонкие срезы (толщиной 60-80 нм) были перенесены на бленды с подложкой из формвара (FORMVAR 15/95 CAS#63450-15-7). Для контрастирования срезов был использован растворы уранилацетата и цитрата свинца. Электронные фотографии были получены на микроскопе Jeol JEM-1400 и Jeol JEM-2100HC в ресурсном центре СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

Нами так же применен метод сканирующей электронной микроскопии. Для этого был использован материал, зафиксированный жидкостью Ценкера. Кроме целых столонов интерны, мы так же фотографировали разрезанные пополам участки интерны. Для этого мы использовали метод парафиновой заливки с дальнейшим отрезанием половины объекта на микротоме для того, чтобы изучить структуру столона на срезе. В дальнейшем недорезанные куски были депарафинизированы в ксилоле. Объекты были проведены до ацетона и затем для высушивания мы использовали метод критической точки (Hitachi critical point dryer HCP-2). Смонтированные на столик объекты напылялись платиной. Напыление производилось с помощью машины для напыления (Giko IB-5 Ion coater). Электроннограммы были получены на сканирующем электронном микроскопе FEI Quanta 250 в центре коллективного пользования «Таксон» (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/3038/>) Зоологическом институте (ЗИН РАН).

Глава III. Обзор литературных данных

1. Морфологический очерк

Общая морфология паразитических самок

а. Интерна

Тело взрослой самки всех представителей *Rhizosiphonia* делится, как минимум, на две функциональные части. В туловище хозяина располагается интерна, которая и является непосредственным телом паразита. Основная функция интерны — трофическая. Кроме интерны, существует еще наружная часть тела — экстерна, которая выполняет функции размножения. Следует отметить, что экстерна это только временное образование. Она формируется лишь у полностью развитой интерны и после завершения генеративной функции разрушается и затем может закладываться заново.

Детали строения интерны могут различаться у разных видов. В некоторых случаях интерна может подразделяться на несколько отделов, каждый из которых выполняет строго определенные функции. Так, у большинства представителей группы *Kentronia* в интерне можно выделить трофическую часть интерны и «репродуктивную» (Bresciani, Нøeg, 2001.; Shukalyuk et al., 2001). Строение экстерны так же сильно варьирует у форм, относящихся к разным таксонам (Нøeg, 1995).

Структура столона

К сожалению литературы касающейся морфологии и ультраструктуры интерны сравнительно мало, поэтому большинство приведенных сведений почерпнуты из наиболее детального исследования Bresciani, Нøeg (2001).

У представителей разных семейств интерна устроена по-разному. Она может быть представлена диффузной системой нерегулярно ветвящихся столонов. Такую организацию интерны можно наблюдать у представителей многих семейств (сем. *Sacculinidae*, *Thomsoniidae*, *Polysaccidae*, *Duplorbidae*). В некоторых случаях интерна так же представлена хаотично ветвящимися столонами, но при этом интерна не пронизывает все тело хозяина, а локализована более или менее компактно. В таком случае столон паразита формируют компактные и плотные скопления. Интерна такого типа характерна для представителей сем. *Lernaeodiscidae*, *Mycetomorphidae* и *Clitosaccidae*. У семейства *Peltogastridae* наблюдается иной тип строения интерны. Обычно присутствует крупный столон, от которого во множестве отходят боковые ветви.

Гистологическая и ультратонкая организация интерны

Кутикула

Столон интерны покрыт сверху тонкой кутикулой, под которой залегают клетки гиподермы (эпидермиса), расположенные в один слой. Еще глубже располагаются аксиальные клетки. По литературным данным (Bresciani, Нøег 2001), аксиальные клетки также образуют один слой. В центре столона часто располагается полость. Она образует канала, который тянется вдоль значительной части тела паразита.

Снаружи столоны могут быть покрыты клетками и тканями хозяина. Иногда вокруг тела паразита обнаруживаются той или формы волокна, в том числе и коллагеновые (Bresciani, Нøег, 2001). Однако такая картина наблюдается не всегда. Довольно часто поверхность тела непосредственно омывается гемолимфой хозяина.

Наряду с пограничной, кутикула интерны *Rhizosephala* выполняет еще и трофическую функцию, так как через нее осуществляется процесс транспорта веществ из полости хозяина в тело паразита (Bresciani, Нøег, 2001).

Согласно литературным данным (Bresciani, Нøег, 2001), кутикула покрывает всю интерну целиком. Химический состав изучен недостаточно, известно лишь, что в составе кутикулы обнаружен хитин.

Процессы, связанные с линькой растущих интерн, в литературе никем не были отмечены. Так же не было обнаружено образование новой кутикулы под старой, или каких либо остатков сброшенной кутикулы (Bresciani, Нøег, 2001).

Кутикула *Rhizosephala* состоит из двух слоев. Верхний слой тонкий и электронно-плотный. Толщина этого слоя составляет примерно 15 нм. На электронных микрофотографиях этот слой очень хорошо различим.

Внутренний слой кутикулы гораздо более толстый и электронно-прозрачный, его толщина составляет около 0.1 мкм, но иногда может достигать и 0.5 мкм. В этом слое иногда обнаруживаются гранулы и фибриллы неизвестной природы (Bresciani, Нøег, 2001).

Апикальная поверхность кутикулы образует множество микровыростов, которые, по мнению описавших их авторов (Bresciani, Нøег, 2001), очень сильно увеличивают площадь поверхности интерны. Данные образования хорошо видны на электронных фотографиях, полученных с помощью ТЕМ и SEM, а также хорошо выявляются методом замораживания-скалывания (Bresciani, Нøег, 2001). Длина микровыростов обычно значительно превышает толщину самой кутикулы. Именно поэтому слой микровыростов воспринимается как кутикула при исследовании методом световой микроскопии. Каждый микровырост включает оба основных слоя кутикулы: его центральная часть состоит из

электронно-прозрачного материала кутикулы, который сверху покрыт тонким электронно-плотным слоем. Однако у некоторых видов кутикулярные выросты могут быть очень тонкими и тогда они почти полностью лишены электронно-прозрачного матрикса. Микровыросты кутикулы могут ветвиться, количество ветвлений зависит от вида. Наличие подобных микровыростов характерно почти для всей группы *Rhizocephala*. Единственный вид, полностью лишенный микровыростов, это — *Chthamophilus delagei*. Но у разных видов структура, длина, толщина и (плотность) этих (Bresciani, Нøег 2001) может различаться.

У интерны *Sacculina carcini* обнаружены участки кутикулы, полностью лишенные кутикулярных выростов (Bresciani, Нøег, 2001), однако авторы не смогли найти никакой закономерности в их расположении на поверхности столонов. По-видимому, и место расположения столонов в теле хозяин тоже не влияет на их поверхностную структуру.

У вида *Peltogaster paguri* микровыросты представлены двумя типами: короткие и длинные. Таким образом, слой микровыростов условно можно разделить на два отдела: внешний, где присутствуют только длинные микровыросты) и внутренний. Длинные выросты располагаются довольно редко, поэтому внешний слой кажется достаточно разреженным. Короткие микровыросты располагаются между длинными, и все вместе они образуют плотный внутренний слой (Bresciani, Нøег, 2001).

Строение кутикулы науплиуса и циприсовидной личики *Rhizocephala* сходно с кутикулой личинок свободноживущих ракообразных (Collis, Walker, 1994; Walossek et al., 1996). Кутикулу подстилает однослойный эпителий — гиподерма (Bresciani, Нøег 2001). Авторы не обнаружили никаких специальных клеточных контактов (полудесмосом) между эпителием и кутикулой. Такие же результаты были получены и в более раннем исследовании на представителях *Sacculina carcini* (Bocquet-Vedrine et al., 1977). Между кутикулой и эпидермисом существует довольно обширное субкутикулярное пространство, так как кутикула неплотно прилегает к эпидермису. Апикальная мембрана эпидермиса образует множество неправильных складок и выпячиваний, которые и располагаются в этом субкутикулярном пространстве. Вероятно, это нужно для увеличения площади поверхности апикальной мембраны (Bresciani, Нøег, 2001). В некоторых участках электронно-прозрачный слой кутикулы может заходить между апикальными микроворсиками эпителиальных клеток.

По некоторым данным, у *Sacculina carcini* микровиллы эпидермиса могут проходить сквозь кутикулу и достигать гемолимфы хозяина (Bocquet-Vedrine et al., 1977). Однако более подробные исследования покровов *Sacculina carcini* и других видов ризецефал не подтвердили эти наблюдения (Bresciani, Нøег, 2001).

У некоторых видов, в том числе и у *Sacculina carcini*, на ультратонких срезах в покровах были обнаружены везикулы, природа которых остается неизвестной (Bresciani, Нøег, 2001). Они встречаются поодиночке или небольшими группами в толще кутикулы и в субкутикулярном пространстве. Везикулы одеты электронно-плотной оболочкой, которая напоминает либо клеточную мембрану, либо электронно-плотный наружный слой кутикулы. На некоторых электронных фотографиях отчетливо видно слияние оболочки пузырька с электронно-плотным внешним слоем кутикулы (Bresciani, Нøег, 2001). Однако авторы статьи специально отмечают, что им не ни разу не удалось наблюдать слияния этих везикул с апикальной мембраной эпителия (Bresciani, Нøег, 2001).

Гиподерма

Непосредственно под кутикулой расположены клетки гиподермы, которые образуют хорошо различимый клеточный слой. Как уже было сказано выше, апикальная мембрана эпителиальных клеток образует множество складок, выпячиваний и инвагинаций. Считается, что такая складчатость очень сильно увеличивает площадь поверхности мембраны. Между собой клетки эпидермиса соединены множественными септированными десмосомами, которые изолируют субкутикулярное пространство от нижележащих слоев клеток. При этом, однако, слой клеток гиподермы не подстилается базальной пластинкой (Bresciani, Нøег, 2001).

Клетки эпидермиса физиологически очень активны: в них во множестве встречаются митохондрии, диктиосомы аппарата Гольджи и разнообразные везикулы. Кроме того, на ультратонких срезах хорошо видны опущенные везикулы. Последние обнаружены как в цитоплазме эпидермальных клеток, так и в момент их формирования на апикальной мембране (Bresciani, Нøег, 2001).

Аксиальные клетки

Под гиподермой располагается слой аксиальных клеток. По имеющимся в литературе данным, они располагаются в один слой (Bresciani, Нøег, 2001). И на ультратонких, и на обычных гистологических срезах аксиальные клетки окрашиваются темнее эпидермальных. По мнению авторов (Bresciani, Нøег, 2001), эта разница в окраске обусловлена присутствием большого количества липидных капель и эндоплазматического ретикулюма в их цитоплазме. В клетках гиподермы также встречаются липидные капли, но они не так многочисленны и крупны (Bresciani, Нøег, 2001).

Мышцы

Уолкер (Walker) отмечал, что при вскрытии хозяина столоны паразита способны немного сокращаться (цит. по Bresciani, Нøeg, 2001). Это заставляло предполагать, что интерна должны содержать мышечные элементы, однако упоминание о таких структурах в морфологических работах отсутствовало. Лишь 2001 г. Брешиани и Хег на ультратонких срезах через интерну *Sacculina carcini* обнаружили участки настоящих мышечных волокон (Bresciani, Нøeg, 2001). Они описали концевые участки мышечных клеток с характерными коническими полудесмосомами. Авторы предположили, что, возможно, хотя бы часть мышечных клеток крепится непосредственно к кутикуле (Bresciani, Нøeg, 2001). Более полное описание всей мышечной системы интерн корнеголовых раков до выполнения нашей работы в литературе отсутствовало.

Центральный канал

В центральной части столона обычно располагается заполненная жидкостью полость — центральный канал (Bresciani, Нøeg, 2001.; Нøeg, 1995). В большинстве случаев он представляет собой правильный цилиндрический просвет, который достаточно четко отграничен от окружающего его слоя аксиальных клеток. У некоторых видов, например, у *Clistosaccus paguri*, центральный канал замещается системой лакун, залегающих в межклеточных пространствах слоя аксиальных клеток (Bresciani, Нøeg, 2001). У ряда представителей таксона *Akentronida* центральный канал, как правило, отсутствует полностью. В лучшем случае, его удается обнаружить только в самых крупных столонах.

Канал не отграничен от поверхности аксиальных клеток слоем внеклеточного матрикса (Bresciani, Нøeg, 2001).

При изучении ультратонких срезов через интерну *Peltogagestrella* sp. были обнаружены картины, напоминающие процесс голокриновой секреции липидов в просвет канала (Shukalyuk et al., 2001).

Брешиани и Хег (Bresciani, Нøeg, 2001) предполагают, что центральный канал выполняет функцию распределительной системы. Однако остается открытым вопрос, каков механизм, обеспечивающий перемещение жидкости в канале.

Стволовые клетки

У некоторых, так называемых «колониальных» представителей корнеголовых раков, в просвете центрального канала были обнаружены предположительно тотипотентные стволовые клетки (Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005). Наиболее

часто их находили рядом с местом образования новых почек экстерн и в составе самих почек. Как считают авторы этих исследований, на принадлежность этих клеток к стволовым указывает их морфология. Клетки обладают крупным пузырьковидным ядром с деспирализованным хроматином и крупным ядрышком. Базофильная цитоплазма занимает относительно небольшой объём клетки, что свидетельствует о высоком ядерно-цитоплазматическом отношении, как правило, характерным для стволовых клеток. При этом, в этих же клетках авторы обнаружили высокую активность щелочной фосфатазы, что является маркером стволовых клеток у млекопитающих. Авторы предполагают что эти стволовые клетки могут дифференцироваться в любые клетки тканей паразита. В частности из них развиваются линии половых и соматических клеток как экстерны, так и интерны (Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005). Однако данное предположение пока не было подтверждено современными методиками и поэтому пока рано с уверенностью утверждать о природе этих клеток.

Фолликулы

Для многих представителей группы *Kentrogonida* характерно наличие утолщений на концах некоторых периферических столонов. Эти вздутия в литературе называются фолликулами (Bresciani, Нøeg, 2001). У представителей разных семейств расположение таких фолликулов может немного различаться. Для видов сем. *Peltogastridae* характерно наличие фолликулов на концах столонов, располагающихся в цефалотораксе хозяина. Боковые ветви, отходящие от главного столона в абдомене, не несут никаких фолликулов на своих концах (Bresciani, Нøeg, 2001). У рода *Peltogaster* эти фолликулы хорошо различимы, так как они бесцветны и прозрачны в отличие от окрашенных в зеленый цвет столонов интерны (Bresciani, Нøeg, 2001). Согласно литературным данным, (Dornesco, Fischer-Piette, 1931; Perez, 1937) в фолликулах отсутствуют аксиальные клетки. Пэрес (Perez, 1937) считает, что фолликулы являются местами роста столона .

Как уже было сказано выше, фолликулы можно обнаружить лишь на части столонов у представителей всех трех семейств *Kentrogonida*. У *Akentrogonida* такие фолликулы не найдены (Bresciani, Нøeg, 2001).

Нервная система

В литературе присутствуют крайне скудные данные о нервной система представителей группы *Rhizosephala*. Известно лишь, что у некоторых представителей сем. *Sacculinida* в экстерне находили нечто похожее на ганглий (Нøeg, 1995). Никаких

данных, касающихся нервной системы интерны и происхождения нервной системы, в доступной литературе нет вообще.

6. Экстерна

Как уже было сказано выше, экстерна это наружная часть тела паразита, которая образуется в период его полового созревания. Экстерна соединена с располагающейся в теле хозяина интерной. Полностью сформированная экстерна представляет собой той или иной формы мешковидное образование, на одном из полюсов которого расположено небольшое отверстие — пора. Оно ведет в обширную полость, обычно называемую «мантийной». У молодых, еще только приступающих к размножению экстерн значительная часть внутреннего пространства занята разрастанием его базальной стенки, в котором располагается яичник. Мантийная полость при этом становится щелевидной. У полностью зрелых экстерн объем яичника уменьшается, а вот объем мантийной полости резко возрастает. В нее из яичника поступают яйца, которые здесь же претерпевают дальнейшее развитие, вплоть до окончательного формирования личинки. Мантийная полость функционально становится выводкой камерой.

У представителей группы *Kentrogonida* по бокам от яичника, в основании экстерны находятся два рецептакула, где располагается пара крайне редуцированных самцов.

Снаружи тело экстерны покрыто достаточно толстой кутикулой. Такая же кутикула, но только значительно более тонкая и эластичная одевает внутреннюю поверхность мантийной полости.

Под кутикулой залегает слой гиподермы. Ниже располагается толстый мышечный слой, пронизанный лакунами. Перистальтические сокращения мантийной стенки обеспечивают вентиляцию воды в мантийной полости для аэрации развивающихся личинок и собственных тканей экстерны (Høeg, 1995).

В центральной части экстерны располагается крупный яичник. Снаружи он также одет слоем мышечных волокон, поверх которой лежит кутикула, выстилающая мантийную полость. Кроме того, мышечные волокна проходят и в толще самого яичника. Они тянутся как в продольном, так и в поперечном направлении и делят яичник на отдельные трабекулы (Alvarez et al., 2010). В самом яичнике располагаются женские половые клетки, находящиеся на разных стадиях оогенеза. При этом у некоторых видов среди созревших ооцитов выделяется два типа клеток, различающихся по размеру. Предположительно различие в размерах обусловлено генетической детерминацией пола

будущей личинки, так как личинки самцов обычно крупнее личинок самок (Høeg, 1995; Korn, Rybakov, 2001; Rybakov et al., 2002).

Описанная выше организация экстерны в целом характерна для всех Rhizocerphala, однако детали строения могут сильно отличаться у представителей Kentrogonida и Akentrogonida (Walker, 2001; Rybakov, Høeg, 2002). Для представителей Kentrogonida характерны крупные экстерны с открытой мантийной полостью. На дистальном конце экстерны всегда присутствует пора, через которую проникают трихогоны самцов (см. ниже). Через эту же пору происходит выход созревших личинок (Alvarez et al., 2010). Строение рецептакулов может различаться у разных видов. У некоторых это два отдельных не связанных между собой рецептакула, в то время как у других возможно их срастание. В таком случае два сильно редуцированных самца располагаются в одной камере. Собственно, от самца, как такового, остается лишь участок сперматогенной ткани, который полностью «обслуживается» самкой.

У представителей группы Akentrogonida строение экстерны во многом отличается от описанного выше (Glennier et al., 2010). В первую очередь, разница проявляется в размерах экстерны. У Akentrogonida наблюдается тенденция к уменьшению линейных размеров экстерны (Høeg, 1995). Мантийная полость никогда не открывается во внешнюю среду. Пора, характерная для группы Kentrogonida, отсутствует. Из-за этого отличается и механизм проникновения самцов и вывода готовых личинок. Личинки самцов впрыскивают сперматогенную ткань через покровы экстерны, используя для этого одну из антенн. Этот механизм проникновения сходен с впрыскиванием зародышевых клеток, наблюдаемый у личинок самок при заражении хозяина. Выход личинок осуществляется через разрыв стенки экстерны, после чего экстерна сбрасывается. В отличие от экстерн Kentrogonida, способных многократно проходить цикл размножения, экстерны Akentrogonida могут размножаться всего один раз (Høeg, 1995)

Кроме того, в экстерне Akentrogonida полностью редуцированы рецептакулы для приема самцов. Сперматогенная ткань располагается либо на внутренней поверхности стенки мантии, либо на внешней стенке яичника. В отличие от представителей группы Kentrogonida, у которых количество рецептакулов и, соответственно, самцов всегда равно двум, у представителей Akentrogonida это не так детерминировано. Количество «самцов» в одной экстерне может варьировать от одного до десяти и более экземпляров (Høeg, 1995).

У «колониальных» форм (см. главу «колониальность») (один из представителей сем. Thomsonidae) мужские «гонады» развиваются не во всех, а лишь в нескольких экстернах. Все остальные экстерны при этом несут только женскую гонаду. Вероятно,

спермии попадают в другие экстерны через столоны интерны, которые связывают все экстерны между собой (Jespersen, Lützen, 1992.).

2. Жизненный цикл *Rhizocephala*

Жизненный цикл *Rhizocephala* в связи с переходом этой группы животных к эндопаразитизму приобрел несколько уникальных особенностей. Развитие личинок очень напоминает формирование личиночных стадий у их свободноживущих родственников — группа *Thoracica* из таксона *Cirripedia*. Для всех *Rhizocephala* характерно лецитотрофное вынашивание личинок в мантийной полости экстерны (Collis, Walker, 1994; Walossek et al., 1996). У представителей разных таксонов личинки покидают экстерну на разных стадиях развития. Так, у *Kentrogonida* личинки переходят к свободному образу жизни на стадии науплиуса, и последующее их превращение до формирования инвазионной стадии протекает во внешней среде. У *Akentrogonida* развитие в мантийной полости экстерны занимает больше времени. Стадию науплиуса личинки проходят под защитой материнского организма, и во внешнюю среду выходят уже готовые ципривидные личинки (Нюег, 1995). В отличие от личинок *Thoracica* науплиусы и циприсы корнеголовых раков полностью лишены пищеварительной системы. В остальном же строение личинок корнеголовых похоже на таковое личиночных стадий развития *Thoracica*. Однако следует отметить, что, несмотря на лецитотрофность, размеры личинок *Rhizocephala* значительно меньше размеров личинок других представителей *Cirripedia* (Нюег, 1995; Korn, Rybakov, 2001; Rybakov et al., 2002). Такое явление может быть определено несколькими факторами. Маленький размер личинок существенно сокращает запасы питательных веществ, которые они содержат. Таким образом, заметно уменьшается время жизни личинок в планктоне, так как ее энерговооруженность крайне низка. Но при этом значительно повышается количество личинок, производимых одной самкой. Кроме того, как считается, малый размер личинок может дать определенные преимущества после оседания их на хозяина. Маленькие размеры значительно понижается вероятность того, что хозяин заметит эту личинку и счистит ее (Нюег, 1995).

Исходно считалось, что *Rhizocephala* являются гермафродитами, так как в экстерне находили как яичник, так и семенники. Однако позднее было обнаружено, что эти животные все-таки раздельнополые (Walker, 2001). А мужские гонады в экстерне, как уже было сказано выше, это сильно редуцированные и видоизмененные самцы. Таким

образом, у этих паразитов проявляется криптогонохоризм. Эта особенность жизненного цикла значительно увеличивает вероятность встречи половых партнеров и успех размножения в целом (Нюег, 1995).

Половая дифференциация проявляется уже на личиночной стадии. У личинок представителей *Kentrogonida* отчетливо выражен половой диморфизм. Личинки самцов значительно крупнее личинок самок, и обладают более сложными органами чувств (Нюег, et al., 1998; Rybakov et al., 2002). По-видимому, это объясняется тем, что личинки самок ищут хозяина, в то время как личинки самцов заняты поиском уже зараженных особей хозяина, на котором уже сформировались половозрелые экстерны. Считается, что это более сложная поведенческая задача. Различия между личинками разных полов затрагивают некоторые ультраструктурные особенности (Glenner, et al., 1989; Нюег, 1995; Korn et al., 2000).

У представителей группы *Akentrogonida* подобный половой диморфизм на личиночной стадии не выражен.

Процесс детерминации пола у *Rhizosephala* изучен сравнительно мало. Согласно некоторым данным у *Kentrogonida* определение пола генетически детерминировано. Некоторые исследователи даже находили половые хромосомы у видов, относящихся к сем. *Peltogastridae* (Нюег, 1995). Что же касается группы *Akentrogonida*, то у них пол будущего организма зависит от конкретных условий, в которых оказываются личинки. От того, на какой субстрат она осядет, будет зависеть пол развивающегося из нее организма. В случае если личинка осела на незараженного хозяина то будет развиваться женский организм, а в случае прикрепления к экстерне – мужской (Нюег, 1995; Yamaguchi et al., 2014).

Время развития личинки в планктоне зависит от многих факторов. Важную роль играет температура воды, которая влияет на скорость метаболизма и расходования запасных питательных веществ. В среднем личинка проводит в воде от 2 дней до 3 недель (Нюег, 1995). Личинки (у *Kentrogonida* это личинки самок) оседают на кутикулу хозяина и прикрепляется цементными железами. Оседают личинки обычно в тех частях хозяина, где кутикула наименее склеротизована (например, на жабрах) (Нюег, 1995).

У личинок *Kentrogonida* в передней части осевшего циприса образуется кутикулярная капсула: кентрогон (подробнее см ниже). На вентральной стороне кентрогон несет полый стилет, который пробивает кутикулу хозяина, и через этот же стилет в гемоцель впрыскивается группа клеток кентрогона. Эта стадия жизненного цикла получила название вермигон (Glenner, Нюег, 1995.). Многие исследователи (Нюег, 1992;

Нøег, Rybakov, 2007; Pérez-Losada et al., 2002; Glenner, Нøег, 1994; Нøег et al., 2012) гомологизируют кентрогон с ювенильной стадией свободноживущих Thoracica.

Однако не у всех Rhizocephala в жизненном цикле сохраняется стадия кентрогона. Все представители таксона Akentrogonida полностью ее утратили. Соответственно, у них отсутствует характерный для кентрогона стилет для пенетрации кутикулы. Впрыскивание группы клеток в тело хозяина у Akentrogonida осуществляется через одну из антенн.

Строение вермигона изучено у сравнительно небольшого числа видов. Его морфология может сильно различаться. Например, у *Lernaeodiscus porcella* в тело хозяина впрыскивается всего одна клетка. У *Sacculina carcini* вермигон многоклеточный и округлый, однако, его строение плохо изучено (Нøег, 1995). Лучше всего изучен вермигон у *Loxothylacus ranopaei*. Это продолговатое тело, обычно состоящее из 2 слоев клеток с щелевидной полостью внутри. Внутри вермигона не были обнаружены ни нервные, ни мышечные клетки (nature vermigon), хотя науплиус и ципривидная личика Cirripedia обладают достаточно развитой нервной и мышечной системами (Glenner et al., 2000; Lagersson, 2002; Semmler et al., 2006, 2008, 2009). Вермигон мигрирует по лакунам гемоцеля к центральным участкам пищеварительной системы хозяина, где впоследствии и развивается в интерну. Следует отметить, что все органы и ткани паразита не наследуются от личинки, и формируются заново из эмбриональных клеток (Нøег, 1995). Интерна увеличивается в размерах и ветвится. На уже развитой интерне образуется экстерна, которая затем выпячивается во внешнюю среду. Чаще всего экстерны появляются в выводковых камерах хозяев, если такие имеются, либо в тех участках тела, где в норме хозяин вынашивает яйца. Скорее всего, это связано с подходящими условиями аэрации и защиты от внешних повреждений. Обычно прорастание экстерны синхронизируется с линькой хозяина. Сразу же после линьки кутикула хозяина тонкая и не представляет проблем для проникновения вновь образующейся экстерны из тела хозяина наружу. Однако не всем видам ризоцефала необходимо синхронизировать прорастание экстерны с линькой хозяина. Например, *Peltogaster paguri*, *Clistosaccus paguri* и *Sacculina carcini* способны выводить экстерну независимо от линьки хозяина.

Процесс прорастания экстерны опасен как для хозяина, так и для паразита, поэтому непосредственно перед прорастанием кутикула хозяина над экстерной заметно изменяется. В частности, кутикула хозяина над почкой формирует округлую впадину (Нøег, 1995).

Личинки самцов ищут половозрелую экстерну. У представителей таксона Kentrogonida личинка оседает на экстерну самки в районе мантийной поры. В теле личинки формируется кутикулярная капсула, которая является гомологом кентрогона

личинки самок. Через полый стилет в мантийную полость самки впрыскивается трихогон. Это гомолог вермигона самок. Трихогон мигрирует по мантийной полости в основание экстерны где располагаются парные рецептакулы, готовые к приему самцов. Трихогон остается в этом рецептакуле, увеличивается в размере и начинает функционировать как мужская гонада в составе экстерны. Это обстоятельство послужило причиной того, что корнеголовых раков изначально описали и долгое время считали гермафродитами (Müller F. 1862).

У представителей *Kentrogonida* всегда имеются два рецептакула с самцами. Подобный способ взаимоотношений самок и самцов у группы *Kentrogonida*, по мнению некоторых авторов, является плезиоморфным признаком (Нøег, 1995).

У представителей таксона *Akentrogonida*, так же как и при метаморфозе личинок самок, пропадает стадия кутикулярной капсулы (кентрогона) и инъекция трихогона осуществляется через антенну. Как уже было сказано выше, у большинства *Akentrogonida* мантийная полость замкнута, а мантийная пора отсутствует.. Поэтому попадание трихогона внутрь экстерны осуществляется через прокол ее стенки.

Экстерны всех *Kentrogonida* и некоторых *Akentrogonida* (*Duplorbidae*, *Chthamalophilidae*) способны к многократным циклам размножения. По окончании одного цикла размножения и вымета готовых личинок экстерна линяет. За счет линьки освобождается мантийная полость от личинок прошлого поколения и от эпибионтов внешней поверхности экстерны. Количество линек можно определить по характерным личинным кольцам на стебельке. У некоторых холодноводных видов экстерна может существовать достаточно долгое время: до 5 лет у *Peltogaster paguri* и до 10 лет у *Briarosaccus callos* (Нøег, 1995).

Все своеобразие жизненного цикла, присущего корнеголовым ракам, заключается в особенностях их метаморфоза, т. е. в превращении достаточно типичной свободноживущей личинки (науплиус, циприс) в крайне специализированный паразитический организм, полностью утратившим все признаки родства не только с «ракообразными», но и вообще с членистоногими. К сожалению, в настоящее время существует лишь одно детальное исследование, в котором подробно описано превращение *Loxothylacus ranoraei* (Glennner, 2001).

Весь метаморфоз личинки в лабораторных условиях и при комнатной температуре занимает 48–72 ч. Циприс оседает в жаберной камере хозяина — краба. Этот локус на теле хозяина наиболее пригоден для проникновения личинок, так как там встречается самая тонкая кутикула, а под покровами располагается множество кровеносных сосудов. Циприс прикрепляется антеннами к кутикуле хозяина. На концевых участках антенн

открываются отверстия цементных желез, секрет которых необходим для адгезии личинки на поверхности хозяина. В момент оседания этот секрет выделяется наружу. В целом процесс оседания и прикрепления личинки на поверхности тела хозяина во многом сходен с процессом оседания личинок свободноживущих *Cirripedia*.

Строение циприса также во многом похоже на строение личинок свободноживущих *Thoracica*. Но, как уже говорилось выше, у циприса *Rhizocephala* полностью отсутствует пищеварительная система. Личинка имеет достаточно развитую нервную систему и крупный науплиальный глаз. В передней части циприса располагаются крупные парные цементные железы. Их протоки проходят внутри антенн и открываются на концевом участке. Кроме того, в полости тела личинки имеются две группы клеток. Впереди от головного ганглия личинки локализуется группа «инвазионных клеток» (*invasion cells*), функция этих клеток не до конца ясна, но они оказываются в составе вермигона (см. ниже). Позади ганглия лежит еще одна группа клеток (*small posterior cells*), которые, как полагают, дают начало клеткам половой линии. У разных видов количество клеток в этих группах может сильно различаться (Glennner, 2001). У личинок свободноживущих *Thoracica* эти клетки отсутствуют.

Однако затем метаморфоз *Rhizocephala* приобретает уникальные особенности. В теле прикрепившегося циприса происходит формирование особой кутикулярной капсулы — кентрогона. Согласно многим литературным данным (Нюег 1992, 1995; Glennner, Нюег, 1994; Pérez-Losada et al., 2002; Нюег, Рыбаков, 2007; Нюег et al., 2012) процесс образования кентрогона это своеобразная линька. Формирующийся кентрогон занимает переднюю половину тела циприса. Эпидермис задней части мантийной полости отслаивается от кутикулы и мигрирует вперед. За его счет образуется задняя стенка кентрогона. Цементные железы, мышцы и нервная система, которые располагаются в полости формирующегося кентрогона, полностью дегенерируют. А эпителий выстилающий переднюю часть мантийной полости начинает расти — его клетки увеличиваются в размере, но при этом не делятся. Затем эти клетки частично отслаиваются от кутикулы и смешиваются с группой упоминавшихся выше инвазионных клеток (*invasion cells*). Морфологические различия между ними исчезают, так что различить их становится невозможно.

В этот момент начинает формироваться стилет. Через некоторое время внутри стилета снаружи образуется глубокая инвагинация. Она выстлана тонкой кутикулой, под которой лежат эпителиальные клетки. Считается, что это те самые клетки, которые выстлали переднюю мантийную полость циприса. Под слоем эпителиальных клеток располагается еще один слой клеток. Его происхождение пока не известно. Кроме того, с

этой инвагинацией ассоциирована еще одна компактная группа клеток (small posterior cells). Их условно можно разделить на 2 типа: клетки А и клетки В.

Собственно проникновение паразита в хозяина происходит следующим образом. В районе стилета на кутикулу хозяина выделяется некое вещество неизвестной природы и происхождения. Предполагается, что оно нужно для размягчения кутикулы и облегчает пенетрацию покровов хозяина стилетом.

После того как стилет пробил кутикулу, инвагинация, находящаяся в полости стилета и покрытая тонкой кутикулой и двумя слоями клеток, выворачивается наизнанку и оказывается в гемоцеле хозяина. Фактически эта уже стадия вермигона. Выворачивание вермигона происходит без участия мышечных сокращений. Скорее всего, в его основе лежит повышение осмотического давления в кентрогоне. Предполагается, что в самом кентрогоне происходит высвобождение гликогена из разрушающихся мышц. Полисахарид распадается на отдельные мономеры. В то же время кутикула кентрогона проницаема для воды, которая и поступает в кентрогон по градиенту осмотического давления.

Вермигон сверху покрыт кутикулой, которая раньше выстилала инвагинацию. Первое время вермигон еще соединён с кентрогоном тонкой кутикулярной трубкой. Но потом он начинает двигаться, и эта трубка рвется. После разрыва кутикулярной трубки на заднем конце тела должно оставаться отверстие, которое быстро замыкается. Однако сам механизм замыкания этого отверстия остается неясным.

Остается непонятным и механизм движения самого вермигона, так как настоящих мышечных клеток в его составе не было обнаружено. В эпителиальных клетках, однако, актиновые волокна были найдены (Glennner et al., 2000).

Вермигон состоит из 2 слоев клеток. Снаружи располагаются эпидермальные клетки, а внутри — коровые. Центральную часть вермигона занимает щелевидная полость, которая образовалась при выворачивании его из полости стилета. Коровые клетки, скорее всего, являются видоизмененными упоминавшимися ранее инвазионными клетками (invasion cells). Именно эти клетки выстилают центральную полость, которая тянется по всей длине вермигона.

В центральной части вермигона залегает так называемый «нуклеус». По общему мнению, эти клетки, которые раньше обозначались как «small posterior cells», и являются «почкой» будущей экстерны.

После освобождения от остатков стилета кентрогона в теле хозяина вермигон мигрирует по лакунам гемоцеля. Чаще всего он останавливается в районе крупной лакуны около кишки хозяина. Там вермигон начинает превращаться в развитую интерну. Он

увеличиваться в размерах и дает боковые ответвления. При дальнейшем развитии интерны в «почке», сформированной еще у вермигона, закладывается мантийная полость и вообще почти все органы экстерны.

Происхождение нервной и мышечной системы взрослого организма остается неизвестным.

3. Колониальность

Среди Rhizocephala довольно часто встречается амплификация женской половой системы и, как следствие, появление более чем одной экстерны. На одной интерне может сразу располагаться несколько экстерн (иногда до тысячи). Некоторые авторы (Нøег, 1995; Lützen ThiDu, 1999; Walker, 2001; Shukalyuk et al., 2001; Shukalyuk, 2002) рассматривают это явление, как пример «колониальности». Как правило, такие формы приобретают модульное строение. Каждый отдельный модуль состоит из экстерны и ассоциированного с ней участка интерны. При этом следует отметить, что все модули связаны друг с другом ветвями интерны. Таким образом, подобную модульную конструкцию можно трактовать как «колонию» (Догель, 1947), возникающую в результате недоведенного до конца бесполого размножения. У некоторых видов может происходить фрагментация этой колонии. У одних видов связь модулей с общей интерной сохраняется на протяжении всей жизни, тогда как у других имеет место настоящее разделение на отдельные организмы. Отдельные модули теряют связь с остальной интерной и приобретают настоящую индивидуальность (Shukalyuk et al., 2001; Shukalyuk, 2002).

4. Происхождение и систематика Rhizocephala

Вопрос о происхождении всей группы Rhizocephala до конца не решен. Согласно одним предположениям (Rees et al.,^[1]_{SEP}2014), корнеголовые раки берут начало от эпибионтных морских уток с редуцированным карликовым самцом. Согласно другой гипотезе (Walker, 2001), они происходят от общего для всех Cirripedia свободно плавающего предка.

Корнеголовые раки имеют довольно длительную палеонтологическую историю. Их ископаемые остатки обнаружены в первой половине девона. Их возраст насчитывает около 400 миллионов лет (Нøег, 1992; Walker^[1]_{SEP}, 2001).

Rhizocephala вместе с двумя другими таксонами — Thoracica и Acrothoracica, входят в состав группы Cirripedia. Палеонтологические данные указывают на то, что большинство древних Cirripedia были эпибионтами подвижных представителей Arthropoda (Glenner, Hebsgaard, 2006). Близость к гемолимфе хозяина, где много питательных веществ, возможно, привела к попыткам эпибионтов использовать этот ресурс.

Согласно литературным данным (Spears et al., 1994; Pérez-Losada et al., 2002; Glenner, Hebsgaard, 2006; Нøег, Rybakov, 2007; Perez-Losada et al., 2008; Perez-Losada et al., 2012), группа Rhizocephala вместе с Thoracica образуют сестринский таксон по отношению к Acrothoracica. Это позволяет предполагать, что предками корнеголовых раков, скорее всего, были древние формы с фильтрующим ротовым аппаратом. Считается, что успешный переход к эндопаразитизму произошел один раз, и это привело к появлению монофилетической группы Rhizocephala.

В современной фауне встречаются представители паразитических Thoracica. Их адаптации к паразитизму рассматриваются как возможные аналоги адаптаций, возникавших в процессе перехода к паразитизму девонских предков Rhizocephala. Среди представителей Thoracica довольно много эпибионтов обитающих на коже морских позвоночных и покровах различных беспозвоночных. Некоторые организмы погружаются довольно глубоко в кожу своих хозяев, но при этом они, в большинстве своем, не используют хозяина как непосредственный пищевой ресурс (Rees et al., ^[L]_{SEP}2014).

Наиболее яркими и специализированными представителями паразитических Thoracica являются *Anelasma squalicola* и *Rhizolepas* sp.

Anelasma squalicola паразитирует на коже акул. У них очень сильно редуцируются ловчие конечности, а вот ножка погружается в тело хозяина, разрастается и сильно ветвится. Считается, что *A. squalicola* абсорбируют питательные вещества из крови хозяина через кутикулу ножки. *Rhizolepas* sp. ведет сходный образ жизни, только паразитирует на полихетах. Следует отметить, что адаптации к паразитизму у этого вида выражены сильнее, чем у *A. squalicola*. Ножка у *Rhizolepas* sp. более разветвленная и соответственно обладает большей сорбционной поверхностью. Ловчие конечности подвергаются сильной редукции, а пищеварительная система полностью исчезает (Rees et al., 2014).

Согласно одной из существующих гипотез, предки современных Rhizocephala вели сходный образ жизни. Постепенно разрастающаяся ножка погружалась все глубже в тело хозяина, в то время как сначала конечности, а потом и остальное тело редуцировались. В

этом случае, интерна паразита представляет собой гомолог ножки *Lepadomorpha* (Rees et al., 2014), многие из которых ведут свободный образ жизни.

Сторонники другой точки зрения тоже сравнивают корнеголовых раков с морскими уточками. Однако, в соответствии с их взглядами, ножка *Lepadomorpha* является гомологом стилета, который сохраняется у плезиоморфной группы *Kentrogonida* (Glenner, 2001).

Еще одну гипотезу выдвинул Марченков (2001). По его мнению, процесс перехода к эндопаразитизму шел через мезопаразитизм, как это имеет место у копепод. В качестве переходного звена он указывает на вид *Chthamalophilus delagei* из сем *Chthamophilidae*, так как интерна этого паразита представляет собой диск, не несущий никаких выростов. Однако такой вариант происхождения корнеголовых раков представляется маловероятным, так как вид *C. delagei* оказывается одним из наиболее продвинутых и, скорее всего, его сильно упрощенная интерна это результат вторичной специализации, а не плезиоморфный признак.

Согласно классическим представлениям, таксон *Rhizocephala* разделяются на две группы: *Kentrogonida* (3 семейства) и *Akentrogonida* (6 семейств) (Walker, 2001). Название групп связано с наличием или отсутствием определенной стадии жизненного цикла — кентрогона. Как следует из названия, в жизненном цикле самок *Kentrogonida* присутствует стадия кентрогона. Все представители группы *Kentrogonida* паразитируют исключительно на десятиногих раках (*Decapoda*).

Представители группы *Akentrogonida* используют в качестве животных-хозяев более широкий спектр ракообразных. Кентрогон в жизненном цикле у этой группы отсутствует. Однако все шесть семейств, входящие в состав этой группы, сильно различаются между собой. Несмотря на это согласно современной филогении эта группа все же является монофилитической.

Филогенетические отношения внутри самой группы корнеголовых раков не могут считаться окончательно установленными. Данные молекулярной систематики плохо согласуются с классической системой построенной на основе только морфологических признаков (Glenner, Hebsgaard, 2006). Гленнер и Хебсгаард утверждают, что группу *Kentrogonida* нельзя считать монофилетичным таксоном. Даже некоторые семейства, входящие в состав *Kentrogonida*, на деле оказываются полифилетическими группами. Так, например, часть сем. *Peltogastridae* занимает базальное положение среди корнеголовых раков, а вид *Peltogaster paguri* вообще оказывается сестринским таксоном по отношению ко всем остальным *Rhizocephala*. В то же время другие представители того же семейства оказываются на удаленных ветвях филогенетического дерева таксона *Rhizocephala*.

Сходня картина наблюдается и в отношении сем. Sacculinidae, которое, по-видимому, также включает несколько не связанных между собой групп.

Наличие кентрогона считается плезиоморфным признаком. Гленнер и Хебсгаард (Glennner, Hebsgaard, 2006) гомологизируют кентрогон с ювенильной стадией развития свободноживущих Thoracica. Представители монофилетичной группы Akentrogonida, утратившие кентрогон, считаются наиболее продвинутыми среди Rhizocephala. Эволюция Akentrogonida шла по пути упрощения строения интерны, уменьшения размеров экстерны и редукции рецептакулов для приема самцов.

Так как наше исследование не касается вопросов систематики, в дальнейшем мы будем использовать традиционную систему семейств, основанную на морфологических признаках.

Сем. Polysaccidae

Семейство Polysaccidae крайне немногочисленно, в его состав входит всего один род (*Polysaccus*) и два вида. Эти животные паразитируют на роющих креветках (п/отр Thalassinidea). Оба вида этого семейства колониальные. Обычно на одном хозяине можно найти до 50 экстерн, располагающихся на одной интерне. Наиболее часто экстерны можно обнаружить на вентральной стороне первых сегментов абдомена хозяина (Lützen, Takahashi 1996; Нøег, Rybakov, 2007).

Интерна представлена системой нерегулярно ветвящихся столонов, располагающихся в районе брюшной нервной цепочки хозяина. Иногда некоторые столоны могут заходить в торакс хозяина, но эти столоны обычно немногочисленны и не проникают на большую длину. Диаметр столонов в среднем составляет около 60 мкм. В центре столонна всегда присутствует полость канала (Lützen, Takahashi 1996).

Прорастание экстерн всегда тесно связано с линькой хозяина. Все экстерны появляются одновременно и сразу же после линьки, когда кутикула хозяина наиболее мягкая. За время своего созревания экстерна претерпевает три линьки. Внутри самой экстерны располагается яичник и несколько участков сперматогенной ткани. Из оплодотворенных яйцеклеток развиваются циприсовидные личинки, минуя стадию науплиуса (Lützen, Takahashi, 1996; Нøег, Rybakov, 2007).

Так как хозяева этих паразитов ведут роющий образ жизни, зачастую паразиту приходится сталкиваться с пониженным содержанием кислорода в воде. Для обеспечения личинок и тканей кислородом экстерна совершает перистальтические движения за счет сокращения мышц. Авторы утверждают, что не обнаружили никаких элементов нервной

системы и предположили, что сокращения мышц обусловлено миогенным способом (Lützen, Takahashi, 1996).

Сем. Mucetomorphidae

Данных касающихся семейства Mucetomorphidae крайне мало, и они отрывочны. Представители этого таксона паразитируют на креветках (Caridea). Интерна слабо развита и распространяется не более чем на 1, 2 сегмента абдомена. Большинство столонов интерны залегают в районе брюшной нервной цепочки хозяина (Bresciani, Нøег, 2001).

Сем. Thompsonidae

Все представители этого семейства имеют колониальную организацию и, одна интерна может нести на себе до тысячи экстерн. Интерна хорошо развита и пронизывает все тело хозяина, в том числе и конечности. Экстерны чаще всего локализируются на конечностях хозяина. При этом экстерны отходят от интерны на очень близком расстоянии друг от друга. Относительно хорошо изучено лишь несколько видов. (Bresciani, Нøег, 2001; Lützen, Pham, 1999; Нøег, Lützen, 1993)

Thompsonia litoralis — паразит литоральных крабов, вид найден в окрестностях Сингапура (Lützen, Jespersen, 1992). После внедрения интерна развивается в течении 4.5 месяцев. Прорастание большого количества экстерн связано с линькой, так как в это время кутикула наиболее мягкая. Чаще всего экстерны прорастают на абдомене и на базальных члениках конечностей на их вентральной стороне. Через 2.5 месяца экстерны достигают половой зрелости и еще через 2 месяца они заполнены зрелыми эмбрионами. Количество экстерн в момент прорастания может достигать 1000, однако, по мере созревания их количество сокращается до 150—300. К моменту появления личинок их остается всего 10—50. Вероятно, потеря экстерн происходит в результате механических повреждений.

Система столонов оплетает ЦНС и все главные нервные стволы хозяина. Кроме этого, интерна также обильно оплетает гепатопанкреас и пронизывает гемоцель. На вентральной стороне тела хозяина непосредственно под гиподермой залегают плотная сеть столонов, от которой отходят ветви к экстернам.

Сами столоны имеют толщину 8–30 мкм. В центре столоня располагается полость (канал).

Сформированная экстерна имеет овальную форму, а ее размеры составляют около 700 мкм в длину. Экстерна соединяется с интерной стебельком с синусоидным каналом внутри. В районе стебелька кутикула хозяина образует полукруглое впячивание. Пора (отверстие ведущее в мантийную полость) отсутствует. Все тело экстерны покрыто тонкой кутикулой которая утолщается к стебельку. Стенка экстерны, т. е. стенка мантийной полости состоит из 2 слоев эпителиальных клеток. В дистальной части экстерны эти два слоя клеток сближены, а в базальной части экстерны между ними залегает слой соединительной ткани. Никаких мышц в экстерне обнаружить не удалось. В самой дистальной части экстерны внутренний пласт эпителия переходит в группу крупных округлых клеток. В центральной части экстерны располагается яичник. Он занимает большую часть ее внутреннего объема. Сбоку от яичника лежит сперматогенная ткань. При этом, до сих пор не известно, каким образом происходит осеменение экстерны. Вероятно, личинки самцов механически пробивают кутикулу экстерны и вводят в мантийную полость последней сперматогенную ткань.

Эмбрионы развиваются в мантийной полости до стадии циприса и выходят наружу через разрыв стенки экстерны.

Заражение паразитом влияет на хозяев по-разному в зависимости от их пола. На репродуктивную функцию самцов паразит достоверно не влияет. Что касается самок, то гонада у них морфологически не отличается от гонады незараженных особей, но при этом производит гораздо меньшее количество яиц. Достоверного влияния паразита на вторичные половые признаки хозяина не показано.

Модификации поведения зараженных хозяев детально не изучено, правда, есть данные, что зараженные крабы питаются не так активно.

Жизненный цикл изучен не до конца. Известно, что стадия кентрогона отсутствует, но никто не наблюдал сам процесс развитие интерны паразита в хозяине (Lützen et al. 1992; Høeg, Lützen, 1993; Lützen, Pham, 1999; Bresciani, Høeg, 2001).

Thompsonia dofleini. В целом организация тела особей этого вида очень напоминает морфологию самок вида *Thompsonia litoralis*. Однако у *T. dofleini* была обнаружена интересная особенность размножения. У остальных изученных форм этого семейства сперматогенная ткань располагается либо в мантийной полости каждой половозрелой экстерны, либо напрямую ассоциирована с яичниками. Оплодотворяются уже созревшие ооциты. После оплодотворения сперматогенная ткань обычно разрушается. Но у *Thompsonia dofleini* развитие сперматогенной ткани осуществляется иначе. У этого вида встречаются экстерны двух типов. Е-экстерны несут только яичники, и таких экстерн большинство. Но при этом есть и S-экстерны. Исходно они развиваются точно так же как

и E-экстерны. В них начинает формироваться яичник, однако после внедрения самца и проникновения сперматогенной ткани экстерна начинает развиваться другим путем. Яичник дегенерирует, и все пространство экстерны начинает заполнять сильно разросшаяся сперматогенная ткань. Считается, что передача спермы происходит через столоны интерны (Jespersen, Lützen 1992).

Сем. Chthamalophilidae

В отличие от всех других, представители этого семейства паразитируют на Balanomorpha. Строение интерны так же сильно отличается от других Rhizosephala. Стебелек, соединяющий экстерну и интерну, заканчивается крупным диском, по размеру сопоставимым с экстерной. От края этого диска отходят столоны, которые глубоко проникают в тело хозяина, однако при этом они не повреждают внутренние органы (Bresciani, Нøeg, 2001). Циприсовидные личинки утратили способность плавать. Вместо этого они ходят на антеннах по субстрату. Вероятно, эта особенность связана с кругом хозяев, которые сами утратили подвижность. Balanomorpha чаще всего образуют плотные колонии. Соответственно, поселяющимся на них паразитам не нужно совершать длительные миграции в поисках хозяина (Нøeg, 1995).

Один из представителей этого семейства — *Chthamalophilus delagei* представляет особый интерес. Это единственный вид среди всех Rhizosephala, который полностью утратил трофическую систему в виде разветвленной системы столонов. Стебелек, на котором располагается экстерна, переходит в крупный лопастной диск, от которого никакие столоны не отходят. Существенные отличия проявляются и на ультраструктурном уровне. Апикальные мембраны клеток эпидермиса интерны несут гораздо меньше складок, чем это характерно для других Rhizosephala. Почти полностью отсутствует субкутикулярное пространство, кутикула плотно прилегает к эпидермису. В отличие от представителей других семейств кутикула видов, относящихся к сем. Chthamalophilidae, однослойная. По своей структуре этот слой схож с электронно-светлым слоем кутикулы остальных Rhizosephala. Апикальная поверхность кутикулы лишена микровыростов и почти всегда плотно прилегает к тканям хозяина. В некоторых участках было замечено, что микровилли клеток эпидермиса глубоко вдаются в кутикулу, но не ясно, проходят ли эти выросты сквозь кутикулу, или заканчиваются в ее толще. Вообще, клетки эпидермиса у этого вида не очень похожи на клетки, осуществляющие активный транспорт веществ с высоким уровнем метаболизма, как это обычно свойственно другим Rhizosephala.

Под эпидермисом располагается центральная область интерны с крупными и сильно вакуолизированными клетками. В вакуолях клеток содержатся липидные капли. Центрального канала и других лакунарных систем нет, в том числе и в стебельке. (Bresciani, Нøeg, 2001)

Сем. Duplorbidae

Представители этого семейства, которое рассматривается как сестринская группа сем. Chthamalophilidae и паразитируют на представителях группы Peracarida. Интерна этих ракообразных вполне развита и пронизывает практически все тело хозяина. Особенно плотно столоны паразита оплетают доли гепатопанкреаса и элементы нервной системы. На одной интерне почти всегда располагается несколько экстерн, при этом не происходит фрагментации интерны: все столоны, несущие экстерну, связаны между собой. Только самые крупные столоны имеют центральный канал, более мелкие лишены его (Bresciani, Нøeg, 2001).

Сем. Clitosaccidae

Это семейство малочисленно. Описаны только 2 рода, которые довольно сильно отличаются друг от друга и по своей морфологии, и по спектру используемых хозяев.

Sylon hyppolites паразитирует на различных видах креветок (Caridea) и имеет вполне развитую интерну, которая проникает как в абдомен, так и в цефалоторакс (Bresciani, Нøeg, 2001). Пучок столонов залегает под вентральным эпителием в абдомене и продолжается до 5 абдоменального сегмента. Наибольшего обилия система столонов достигает в районе вентральной нервной цепочки хозяина. В этом же месте интерна соединяется с экстерной. Лутцен (Lützen, 1981) называет этот пучок столонов «вентральным абдоменальным главным столоном», однако ничего общего в строении этого образования с главным столоном Peltogastridae (см. ниже) нет. Это просто плотное скопление ветвящихся столонов. Кпереди эти столоны продолжают в цефалоторакс, где плотно оплетают гепатопанкреас хозяина и дают ветвь, направленную на дорсальную сторону тела хозяина. На дорсальной стороне цефалоторакса хозяина система столонов продолжается назад от сердца и доходит до 3 сегмента абдомена. (Bresciani, Нøeg, 2001)

Другой вид этого семейства — *Clitosaccus paguri* паразитирует на раках отшельниках и имеет менее развитую интерну чем *Sylon hyppolites*. Интерна в основном расположена в абдомене хозяина, и только частично проникает в цефалоторакс. При

наличии половозрелой экстерны, интерна оплетает гепатопанкреас, но никогда не проходит сквозь вентральную мышечную ленту, и таким образом, не достигает брюшной нервной цепочки. Очень часто на одном хозяине может находиться более одной экстерны. Но после формирования почки новой экстерны, интерна фрагментируется. Таким образом, каждая экстерна имеет свою собственную интерну (Bresciani, Нøeg, 2001).

Сем. Lernaediscidae

Паразитируют на декаподах, преимущественно на представителях рода *Galathea*. В статьях, посвященных филогении группы *Rhizosephala*, сем. *Lernaediscidae* сближают с сем. *Peltogastridae*. Однако строение интерны больше напоминает вариант, характерный для сем. *Sacculinidae* (см. ниже). Интерна представителей этого семейства имеет вид хаотично ветвящихся столонов. И, так же как и у *Sacculinidae*, лишена каких-либо центральных элементов, например, главного столона. Главное отличие от сакуллинид заключается в том, что эти достаточно беспорядочно расположенные столоны никогда не прорастают глубоко в тело хозяина. Ветви интерны пронизывают абдомен и цефалоторакс хозяина, но не было замечено ни одного случая их проникновения в конечности. У некоторых видов отсутствует центральный канал в столоне (Bresciani, Нøeg, 2001; Воуко, Harvey, 2000).

Сем. Sacculinidae

Представители этого семейства имеют наиболее разветвленную интерну среди всех *Rhizosephala*. Однако интерна этих ракообразных лишена каких-либо центральных элементов. Отсутствует так называемый главный столон, характерный для *Peltogastridae*. Ветви интерны хаотично ветвятся. Столоны интерны часто проникают во многие внутренние органы хозяина, в том числе оплетают элементы нервной системы и заходят в конечности хозяина. (Bresciani, Нøeg, 2001).

Согласно современным взглядам группа *Sacculinidae* распадается на несколько групп, не очень тесно связанных друг с другом. Таким образом, это таксон нельзя считать монофилетическим (Gløner, Hebsgaard, 2006).

Среди представителей этого семейства встречаются как «одиночные» формы, так и «колониальные». У «колониальных» видов наблюдается регионализация интерны. Она подразделяется на функциональные части. Выделяется трофическая интерна, где в основном происходит поглощение питательных веществ из гемоцели хозяина, и

репродуктивная интерна, где на столонах образуется множество почек экстерн (Shukalyuk, 2002).

Сем. Peltogastridae

Большинство представителей этого семейства паразиты ракообразных из группы Anomura. На данный момент известно 38 видов, относящихся к 14 родам. Однако постоянно обнаруживают и описывают новые виды (Yoshida et al., 2011).

Наиболее хорошо интерна развита в абдомене хозяина. Интерна представителей этого семейства состоит из главного столона и боковых ветвей (периферических столонов). Главный стolon проходит практически по всей длине абдомена хозяина. Примерно посредине главного столона от него отходит ветвь к экстерне. Главный стolon на всем своем протяжении несет многочисленные боковые ветви, которые пронизывают тело хозяина. Строение боковых ветвей разных видов в зависимости от их родовой принадлежности может существенно различаться. Для представителей рода *Peltogastrella* характерны короткие, не ветвящиеся боковые ветви, в то время как у видов рода *Peltogaster* эти боковые столонны гораздо длиннее и могут ветвиться. Таким образом, главный стolon представителей этого рода напоминает «конский хвост». Что касается видов рода *Septosaccus*, то они обладают очень сложноорганизованными боковыми ветвями. Каждая первичная боковая ветвь делится на более тонкие ветви последующих уровней. Таким образом, каждая боковая ветвь напоминает сосну.

В передней части абдомена главный стolon теряет боковые ветви и проникает в цефалоторакс. Уже внутри цефалоторакса ветвление столонны утрачивает черты регулярности. Неправильный характер ветвей несколько напоминает ветвление столоннов у видов сем. Sacculinidae. Эти столонны могут оплетать различные внутренние органы цефалоторакса, в том числе и элементы нервной системы. Отличительной чертой столоннов цефалоторакса является большое количество фолликулов на концевых участках. Некоторые из этих столоннов могут вторично прорасти в абдомен, но их легко отличить от системы боковых столоннов главного канала.

Известны также «колониальные» представители этого семейства. В тех случаях, когда у паразита происходит амплификация половой системы и присутствует несколько экстерн (это характерно для представителей рода *Peltogastrella*), интерна делится на две функциональные части. Одна часть: трофическая, осуществляет поглощение питательных веществ из полости хозяина. Кроме трофической части, есть еще и генеративная часть

интерны. На столонах генеративной интерны располагаются множественные экстерны и почки развивающихся экстерн (Shukalyuk et al., 2001).

Столоны интерны представителей сем. Peltogastridae часто ярко окрашены в зеленый цвет. Согласно литературным данным в столонах этих ракообразных был обнаружен гемоглобин (Bresciani, Нøег, 2001). А зеленый цвет обусловлен наличием биливердина, продукта распада гемоглобина. Столоны интерны других семейств в основном бесцветны и прозрачны, что создает трудности при препарировании (Bresciani, Нøег, 2001).

Известны также представители сем. Peltogastridae, паразитирующие не на раках отшельниках, а на других ракообразных. Однако они практически не изучены (Bresciani, Нøег, 2001).

Сем. Peltogastridae, согласно данным молекулярной систематики, как и Sacculinidae, не является монофилетическим. А вид *Peltogaster paguri* иногда считают сестринским таксоном по отношению ко всем остальным представителям Rhizocephala (Glenner, Hebsgaard, 2006).

5. Влияние паразита на хозяина

В ходе адаптивной эволюции к эндопаразитическому образу жизни корнеголовые ракообразные утратили практически все системы органов, характерные для свободноживущих родственников. Однако они приобрели высокоспециализированные механизмы, позволяющие им вступать в тесную связь и управлять своим хозяином.

Rhizocephala оказывают значительное влияние на хозяина на морфологическом, физиологическом и даже на поведенческом уровне (Alvarez et al., 2002; Нøег, 1995; Bresciani, Нøег, 2001; Lützen et al., 2018).

Степень воздействия паразита на хозяина очень сильно различается в зависимости от многих факторов.

Прежде всего, степень влияния на хозяина определяется систематическим положением конкретного паразита. В целом наиболее сильный эффект оказывают представители группы Kentrogonida. Более специализированные и продвинутые в эволюционном отношении Akentrogonida склонны меньше вмешиваться в жизнь хозяина (Нøег, 1995).

Влияние паразита на хозяина может быть очень разносторонним. Для многих представителей Rhizocephala характерна паразитарная кастрация хозяина. Так как

производство половых продуктов энергетически затратный процесс, кастрация позволяет паразиту получать больше питательных веществ (Bresciani, Nøeg, 2001). Однако не всегда происходит полное разрушение гонады хозяина. Чаще всего имеет место угнетение вителлогенеза и сперматогенеза при сохранении морфологической целостности гонады (Nøeg, 1995).

Большинство представителей Sacculinidae изменяют внешний вид хозяина, в частности имеет место, так называемая, «феминизация» самцов крабов. У последних происходит разрастание абдомена, который принимает форму и размеры свойственные абдомену самок. Считается, что это морфологическое изменение обеспечивает паразиту механическую защиту экстерны, которая у саккулин всегда располагается непосредственно под подогнутым брюшком хозяина (Bresciani, Nøeg, 2001; Kristensen et al., 2012). Было показано, что и нервная система зараженного хозяина подвергается серьезным изменениям. Так, у зараженных хозяев часто происходит дегенерация Y-органа (Nøeg, 1995).

Развитая система столонов представителей семейства Sacculinidae пронизывает почти все тело хозяина. В первую очередь, столоны паразита оплетают и проникают в вентральную ганглиозную массу хозяина. У представителей других семейств Kentrogonida также было отмечено тяготение столонов к элементам центральной нервной системы хозяина (Nøeg, 1995). Однако, к сожалению, детального описания столонов, проникающих в ганглии вентральной нервной цепочки хозяина, в доступной литературе нет.

Непосредственные механизмы воздействия паразита на организм хозяина достаточно многообразны. Прямое механическое воздействие разрастающихся столонов интерны паразита на ткани органы хозяина, если и имеет место, то весьма ограничено по своим последствиям. А вот химические сигналы, посылаемые паразитом, по-видимому, весьма разнообразны. Так, модификация физиологического состояния хозяина проявляется уже на ранних стадиях заражения, когда паразит еще не имеет развитой системы столонов. Кроме того, не было обнаружено случаев реакции иммунной системы хозяина на столоны паразита (Bresciani, Nøeg, 2001). Более того, контроль за состоянием хозяина может осуществляться без непосредственного контакта паразита с тканями хозяина (Bresciani, Nøeg, 2001). Гистологическая структура столонов паразита, ассоциированных с нервной системой хозяина, по мнению некоторых исследователей, скорее отражает их секреторную функцию, в отличие от трофических столонов, локализуемых в гемоцеле (Nøeg, 1995).

Предполагается, что паразит может секретировать какие-либо вещества в тело хозяина, либо, наоборот, избирательно отбирать из гемолимфы какие-то сигнальные молекулы хозяина (Bresciani, Нюег, 2001).

Наиболее важным для паразита аспектом жизни хозяина является его линочный цикл. Поэтому почти все представители Rhizocephala в той или иной степени влияют на процесс линьки хозяина. Особенно это важно для паразита в период развития и функционирования экстерны. При этом было показано, что линька хозяина не блокируется полностью, а только приостанавливается. После сбрасывания экстерны линочный цикл запускается заново. Есть данные о том, что появление экстерн синхронизируется с линькой хозяина (Нюег, 1995; Alvarez et al., 2010).

Кроме того, значительно изменяется метаболизм зараженного хозяина. Так, к примеру, потребление кислорода сильно повышается у зараженных крабов (Robles et. al. 2002). Помимо этого несколько снижается толерантность хозяев к изменениям солености (Alvarez et. al. 2002). Гемолимфа зараженного хозяина также несколько отличается по составу от гемолимфы незараженного. Снижается общая осмолярность гемолимфы, концентрация ионов хлора и натрия, но при этом повышается концентрация белка, гемоглобина и глюкозы (Shirley et. al. 1986). С другой стороны, некоторые исследования не выявили каких-либо значимых различий между гемолимфой зараженных и незараженных хозяев (Zacher et. al. 2018).

Влияние паразита распространяется не только на морфологию и физиологический статус, но и на поведение хозяина. Хозяин реагирует на появляющуюся экстерну как на собственные развивающиеся яйца, при этом такая реакция наблюдается не только у самок но и у зараженных феминизированных самцов. Поэтому хозяин не пытается счистить экстерну со своего тела. Кроме того, в момент расселения личинок паразита хозяин демонстрирует сходные поведенческие паттерны, как и при расселении собственных личинок (Нюег, 1995; Takahashi et. al., 1997). Зараженные крабы демонстрируют сниженную двигательную активность, менее агрессивны и больше времени проводят в убежищах. При этом зараженные крабы более прожорливы (Bishop, Cannon 1979; Innocenti et. al., 2003; Vazquez-Lopez et. al., 2006; Vázquez-López 2010; Toscano et. al., 2014; Larsen et. al., 2015; Belgrad, Griffen 2015; Pérez-Miguel 2017).

6. Специфичность к хозяину

Большинство Rhizocephala не проявляют сильной специфичности к одному виду хозяев. Известны случаи (например, *Sacculina carcini*), когда один вид паразита встречается у 10 и более видов хозяев. Несмотря на то, что эти раки могут сравнительно

легко переходить на новые виды хозяев, они обычно сохраняют тесную связь со своим предковым хозяином (Нюег, 1995).

Глава IV. Результаты и обсуждение

1. Мышечные системы интерны

Результаты

В ходе проведенного исследования были обнаружены и описаны мышечные системы в интерне у представителей двух семейств корнеголовых ракообразных: Peltogastridae (*Peltogaster paguri*) и Sacculinidae (*Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*). В то же время у вида из третьего семейства Lernaediscidae (*Lernaediscus sp.*) в столонах интерны мышечные элементы отсутствуют.

Мышечные системы в интерне корнеголовых ракообразных описаны впервые. В литературе отсутствуют какие либо описание мышечных систем этой группы животных.

У представителей вида *P. paguri* в стенке главного столона были обнаружены мышечные волокна, хорошо видимые на гистологических срезах. Мышцы залегают в слое аксиальных клеток и располагаются под углом к продольной оси главного столона (рис. 1). Мышечные элементы обнаруживаются как в дистальном участке главного столона (рис 1А, В), так и в проксимальном (рис 1С). Некоторые отростки мышечных волокон заходят на небольшую глубину в проксимальные отделы периферических выростов (рис 1D), остальная же часть бокового столона полностью лишена каких-либо сократимых элементов. Все обнаруженные мышечные волокна имели отчетливую поперечную исчерченность (Рис 2 С, D).

С помощью методик иммуногистохимического окрашивания и конфокальной лазерной микроскопии удалось визуализировать мышечную систему интерны. Мышечные волокна интерны образуют однонаправленную правозакрученную спираль, расположенную вдоль главного столона (Рис 2А, В). Большинство крупных пучков мышечных волокон располагаются под углом к продольной оси. Однако есть и более тонкие волокна, которые образуют своеобразные анастомозы между крупными пучками. Ответвления от спиральных пучков мышечных волокон могут заходить в проксимальные участки периферических столонков. Таким образом, спиральная мышечная система оплетает центральный канал главного столона.

Мышечная система неоднородна вдоль главного столона. В дистальной его части плотность расположения мышечных волокон заметно уменьшается (рис. 3А). Здесь мышцы не образуют сложную спиральную систему, в которой все они связаны между собой, а лежат отдельно друг от друга. Небольшой концевой участок главного столона полностью лишен мышечных элементов (рис. 3В). Так как концевой участок главного столона является растущим участком интерны, можно предположить, что мышечные волокна закладываются там уже после образования полости в центральном канале.

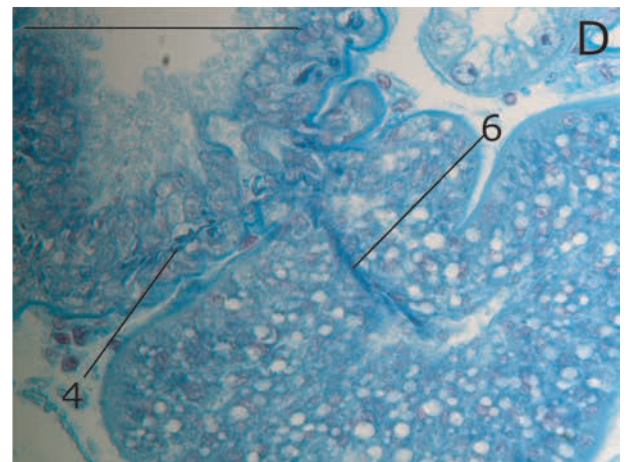
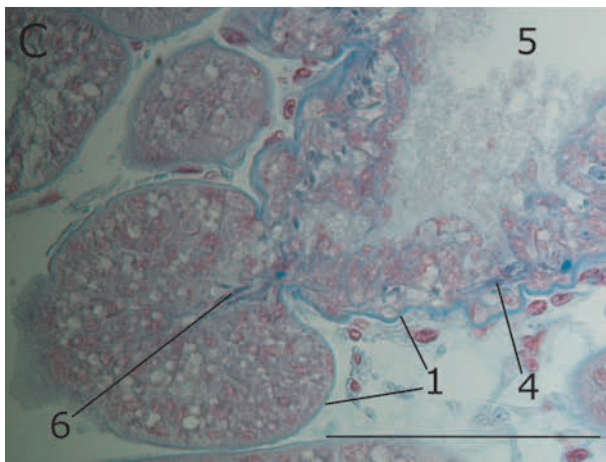
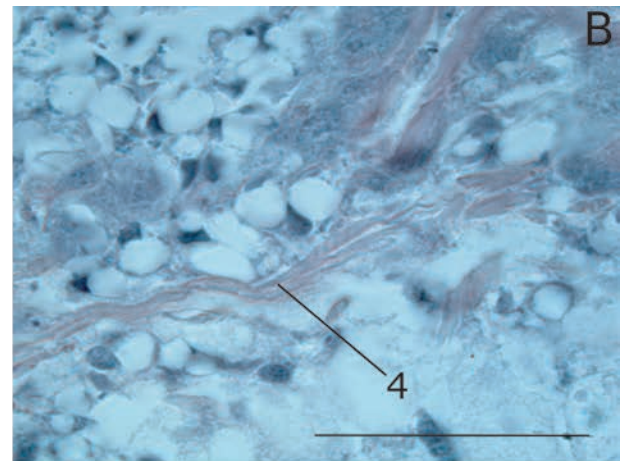
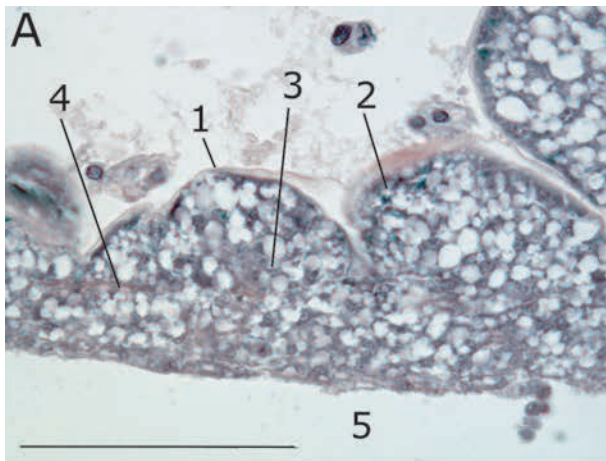


Рис. 1. Мышечные волокна в стенке главного столона представителей вида *Peltogaster paguri*.
 А, В - Мышечные волокна в дистальном участке главного столона, С, D - Мышечные волокна в проксимальном участке главного столона.
 1- кутикула, 2-гиподермальные клетки, 3- аксиальные клетки, 4- мышечные клетки в стенке главного столона, 5- центральный канал главного столона, 6- мышечные отростки заходящие в периферические выросты.

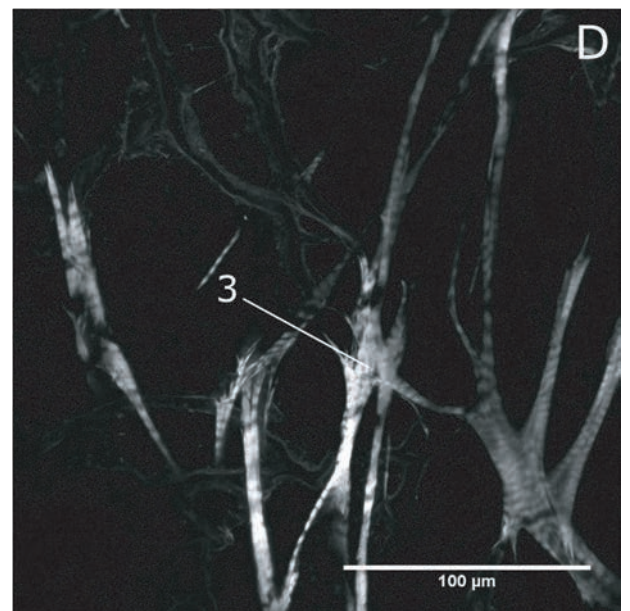
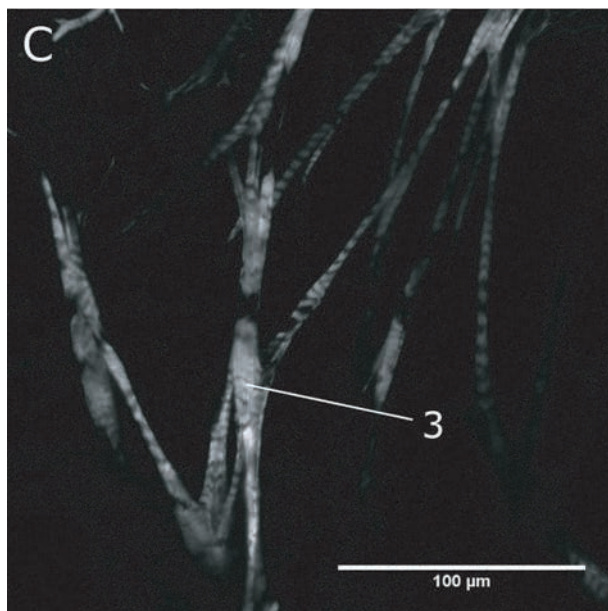
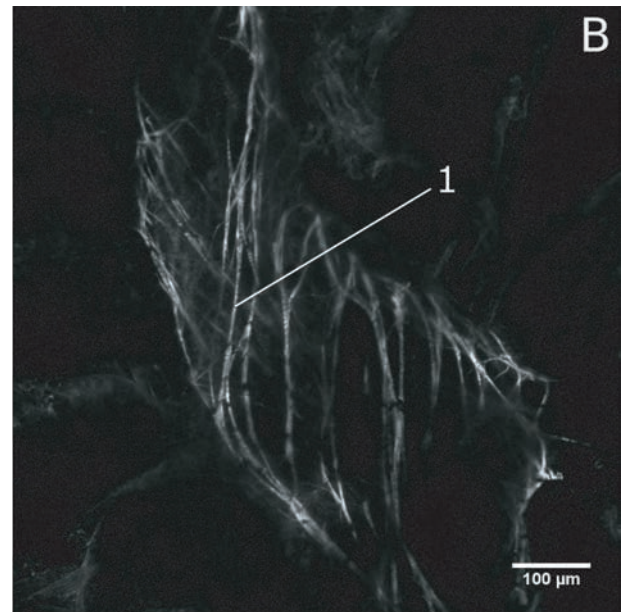
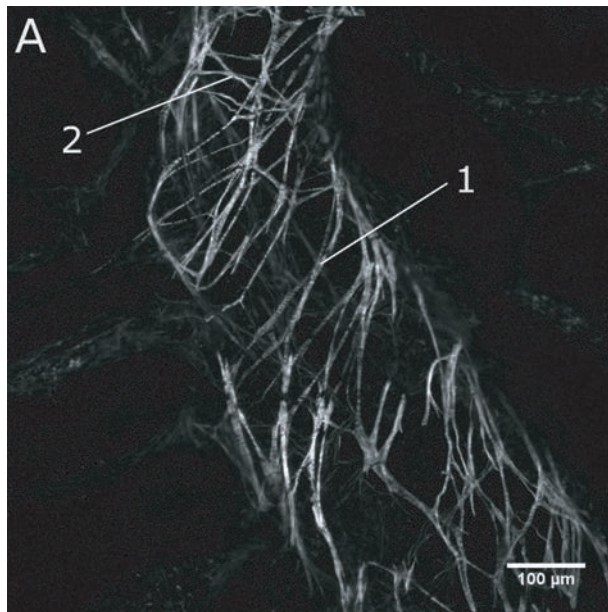


Рис. 2. Мышечные волокна в стенке главного столона представителей вида *Peltogaster paguri*.

Конфокальная Z-проекция, окрашивание фаллоидином.

А, В - Мышечные волокна в дистальном участке главного столона, С, D - Поперечно полосатая исчерченность мышечных волокон.

1- крупные спиральные мышечные волокна, 2- более тонкие анастомозирующие мышечные волокна, 3- поперечно-полосатая исчерченность мышечных волокон.

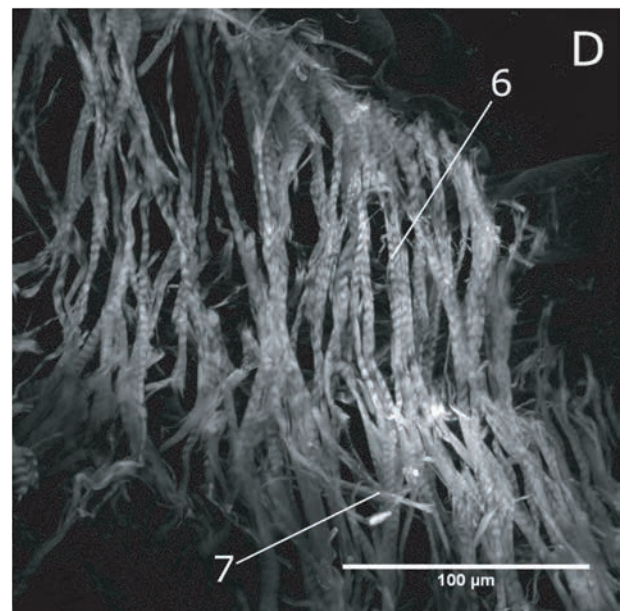
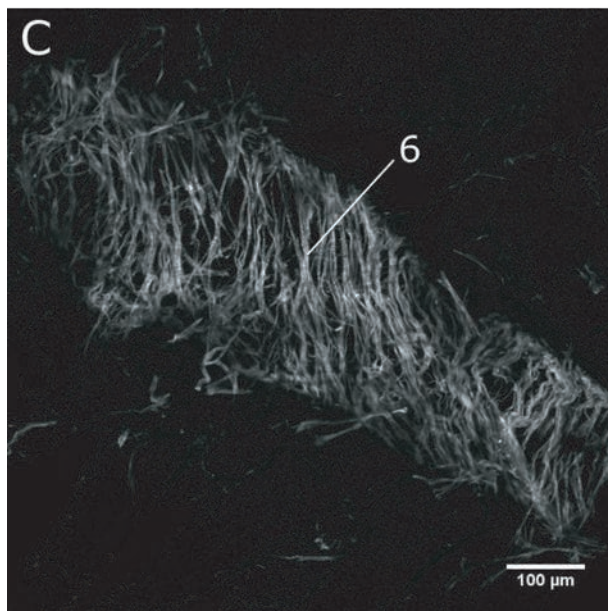
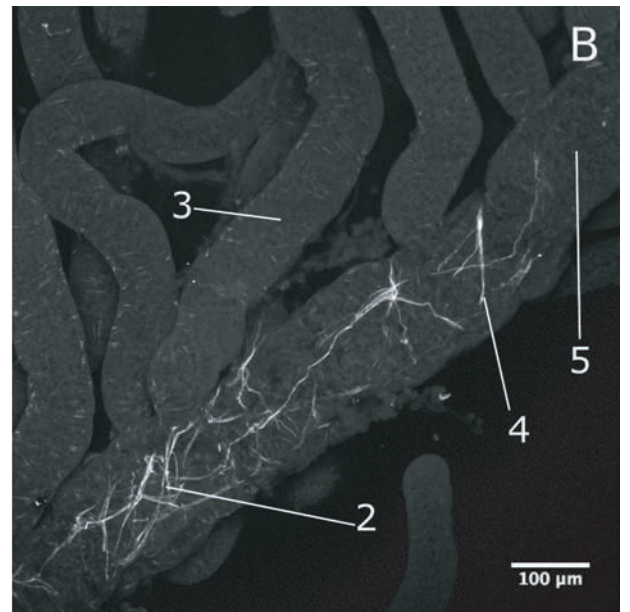
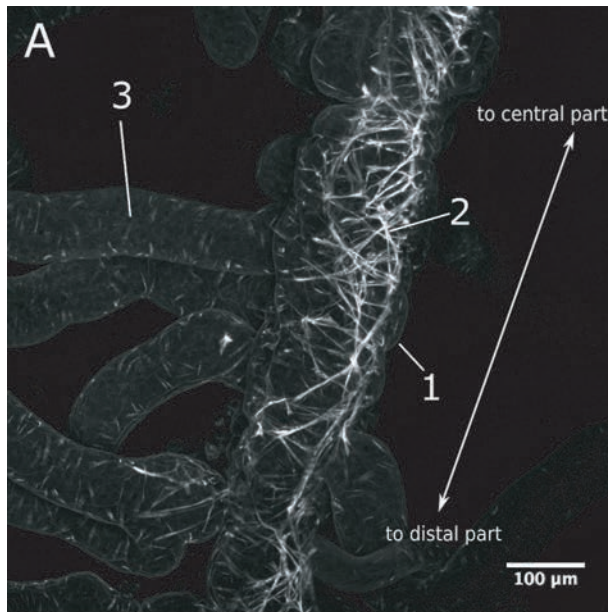


Рис. 3. Мышечные волокна в стенке главного stolona представителей вида *Peltogaster paguri*.

Конфокальная Z-проекция, окрашивание фаллоидином.

А, В - Мышечные волокна в самом дистальном участке главного stolона, С, D - Мышечные волокна в центральном участке главного stolона.

1- главный stolон, 2- мышечные волокна, 3- периферические выросты, 4- отдельно лежащие мышечные волокна, 5- дистальный участок главного stolона, лишенный мышечных волокон, 6- крупные спиральные мышечные волокна, 7- тонкие анастомозирующие волокна.

В то же время проксимальный участок главного столона (приближенный к месту присоединения экстерны) характеризуется более высокой плотностью расположения мышечных волокон, сохраняя при этом общую спиральную организацию (рис. 3 С, D).

По результатам исследования мышечной системы была построена обобщенная схема ее строения (рис. 4)

Мышечные элементы так же были обнаружены в столонах двух представителей семейства Sacculinidae (*Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*). Однако, обнаруженная мышечная система по своей организации принципиально отличается от мышечной системы представителей семейства Peltogastidae, описанной выше. В стенке каждого из обследованных столонів располагаются множественные звездчатые мышечные элементы (рис 5А). Каждый мышечный элемент состоит из нескольких сократимых поперечнополосатых волокон, ориентированных в разных направлениях (рис 5В, С). Отдельные звездчатые мышечные элементы соединены с соседними тонкими волокнами (рис 5В, С, D, 6А, В). Таким образом получается, что все мышечные элементы образуют единую мышечную сеть, оплетающую центральный канал столонів, что хорошо видно при визуализации мышечной системы на криосреззах (рис 6С). Чаще всего наблюдались столонів с несколькими рядами мышечных элементов, однако в некоторых дистальных и тонких участках столонів (предположительно растущие участки) был обнаружен только один ряд сократимых звездчатых элементов (рис 5А).

Для родственного вида *Sacculina pilosella* характерно схожее строение мышечной системы в интерне. В каждом из обследованных столонів были обнаружены звездчатые мышечные элементы, соединённые тонкими фибриллами в общую сеть (рис 7А, В). Незначительное отличие заключалось в том, что плотность расположения мышечных элементов в столонів *Sacculina pilosella* была несколько выше, чем у *Polyascus polygenea*.

Также в ходе работы были обследованы трофические столонів представителей вида *Laernodiscus* sp. из семейства Laernodiscidae. Однако, никаких мышечных элементов в столонів этого вида обнаружить не удалось.

Обсуждение

Мышечная система интерны корнеголовых ракообразных долгое время оставалась неизученной. Лишь в одной статье встречается упоминание о наличии мышечных волокон в интерне представителей группы Rhizocephala (Bresciani Нøeg, 2001). На одном из ультратонких срезов авторам попался фрагмент мышечной клетки.

В данной работе удалось впервые визуализировать и описать мышечную систему интерны четырех видов корнеголовых, относящихся к двум семействам.

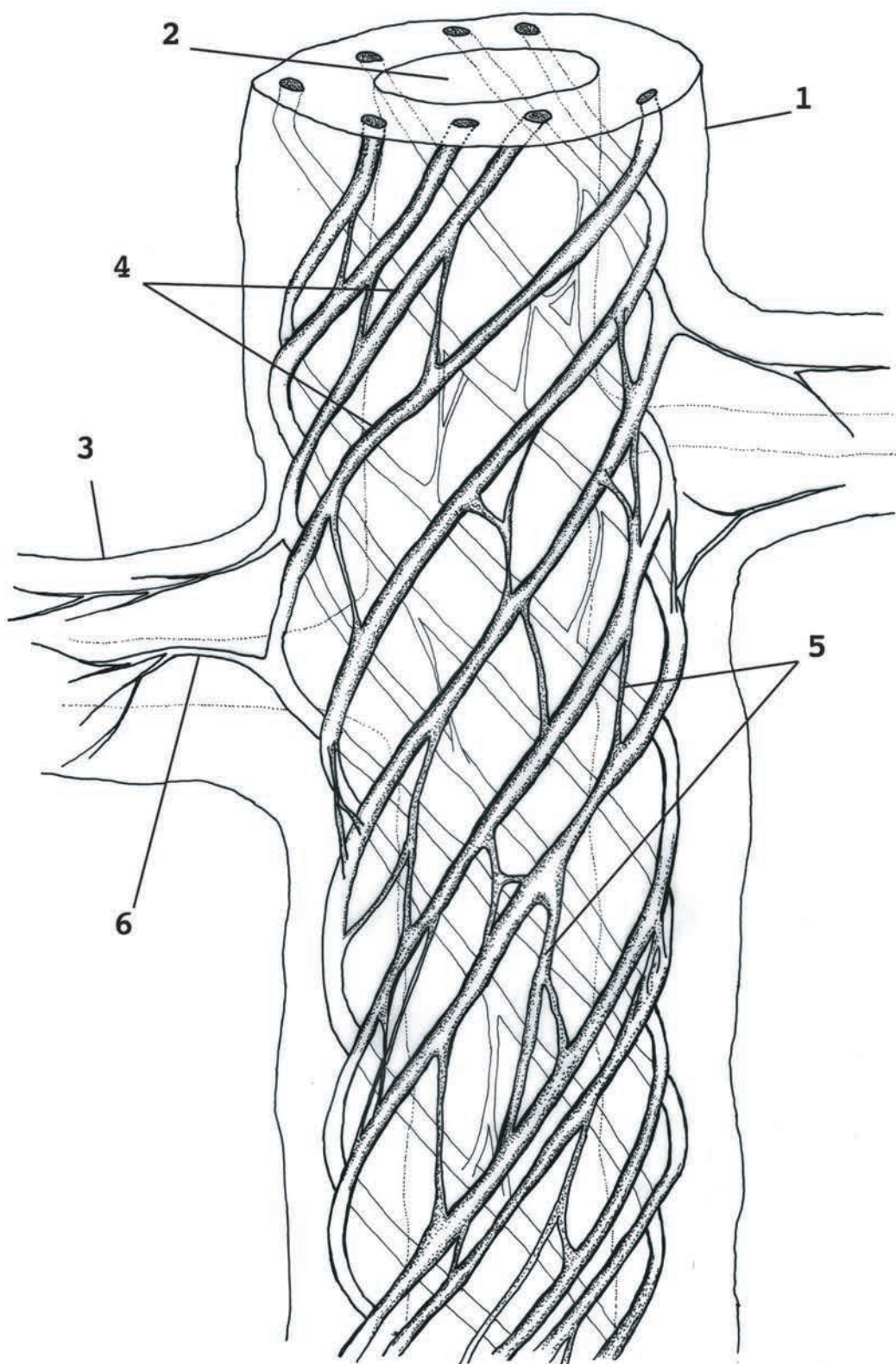


Рис. 4. Схема организации мышечной системы главного столона.

1- главный стolon, 2- полость канала главного столона, 3- периферический стolon, 4- крупные спиральные мышечные волокна, 5- более мелкие мышечные волокна, 6- мышцы, заходящие в проксимальные участки периферических столонов.

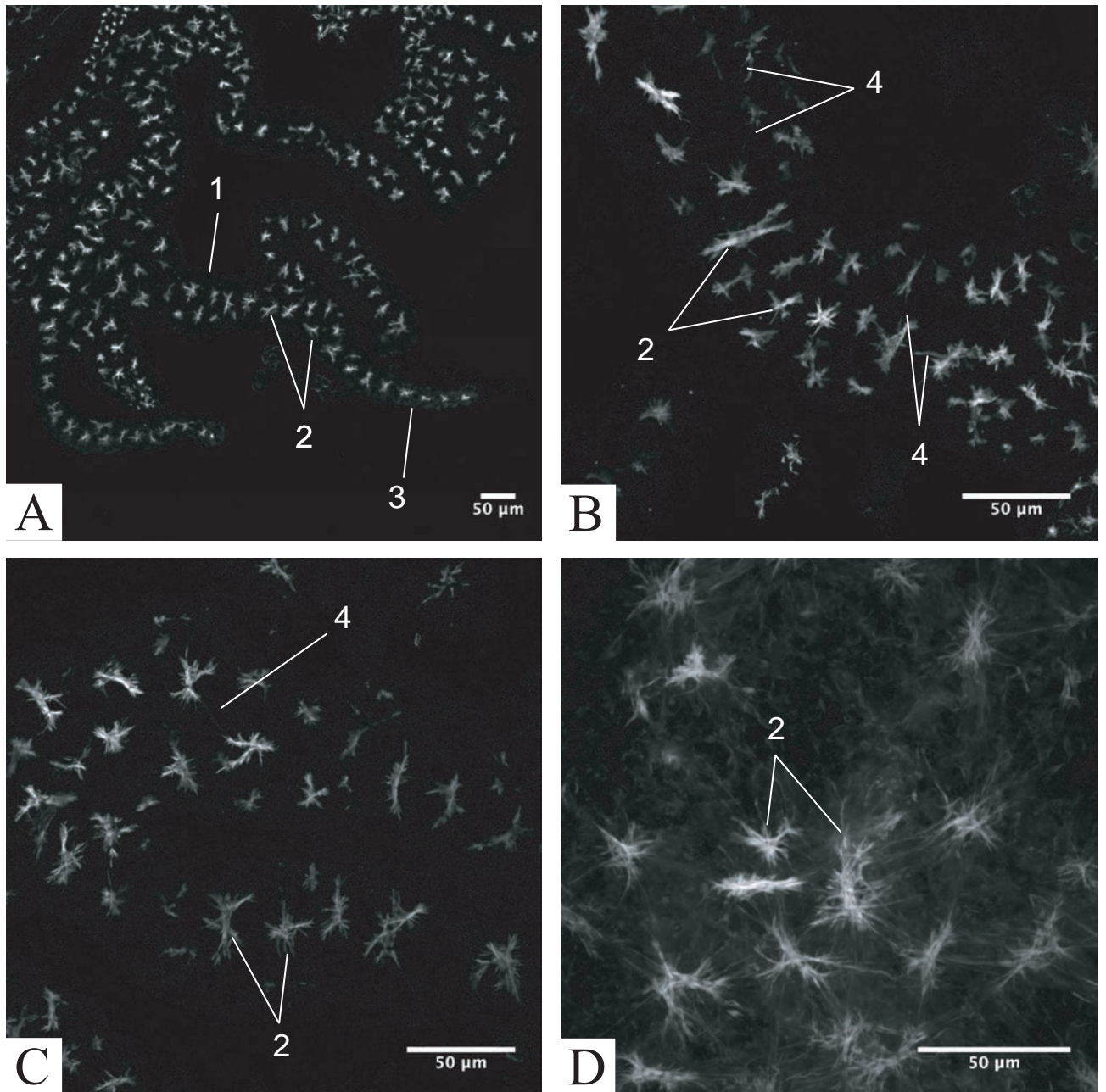


Рис. 5. Мышечные волокна в стенке столонов представителей вида *Polyascus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание фаллоидином (A, B, C, D).
 1- Трофические столоны, 2- звездчатые мышечные элементы, 3- растущий столон, 4- мышечные волокна между отдельными звездчатыми мышечными элементами.

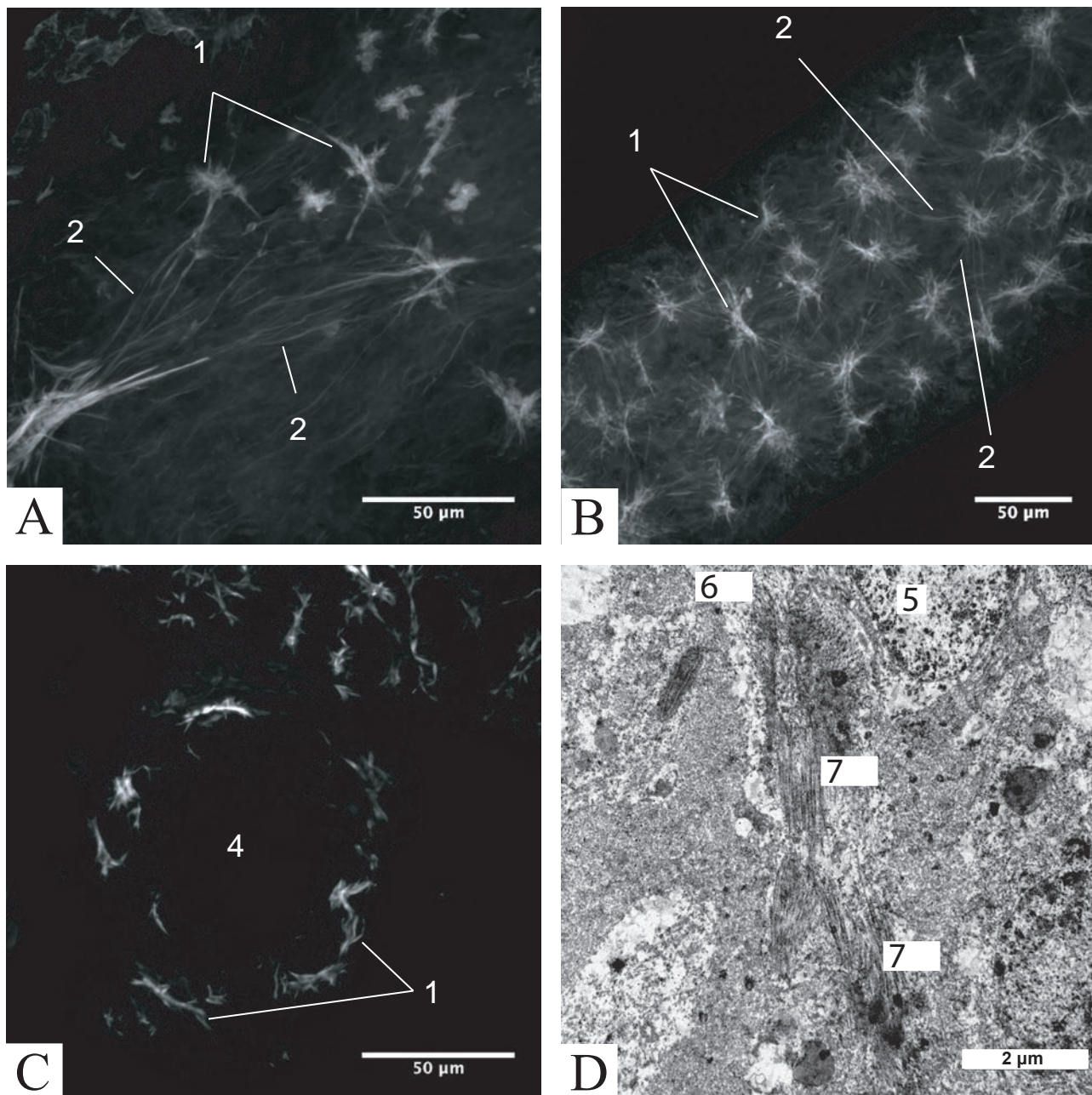


Рис. 6. Мышечные розетки в стенке столонов *Polyascus polygenea*. А — Мышечные волокна соединяющие соседние мышечные розетки. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином; В — фрагмент столона с мышечными розетками. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином; С — поперечный криосрез столона с мышечными розетками в стенке интерны. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином; D — мышечное волокно с тонофилламентами. ТЕМ.
 Сокращения: 1- мышечные сократимые элементы; 2- мышечные отростки; 3- центральный канал; ; 5- ядро; 6- тонофилламенты; 7- миофиломенты.

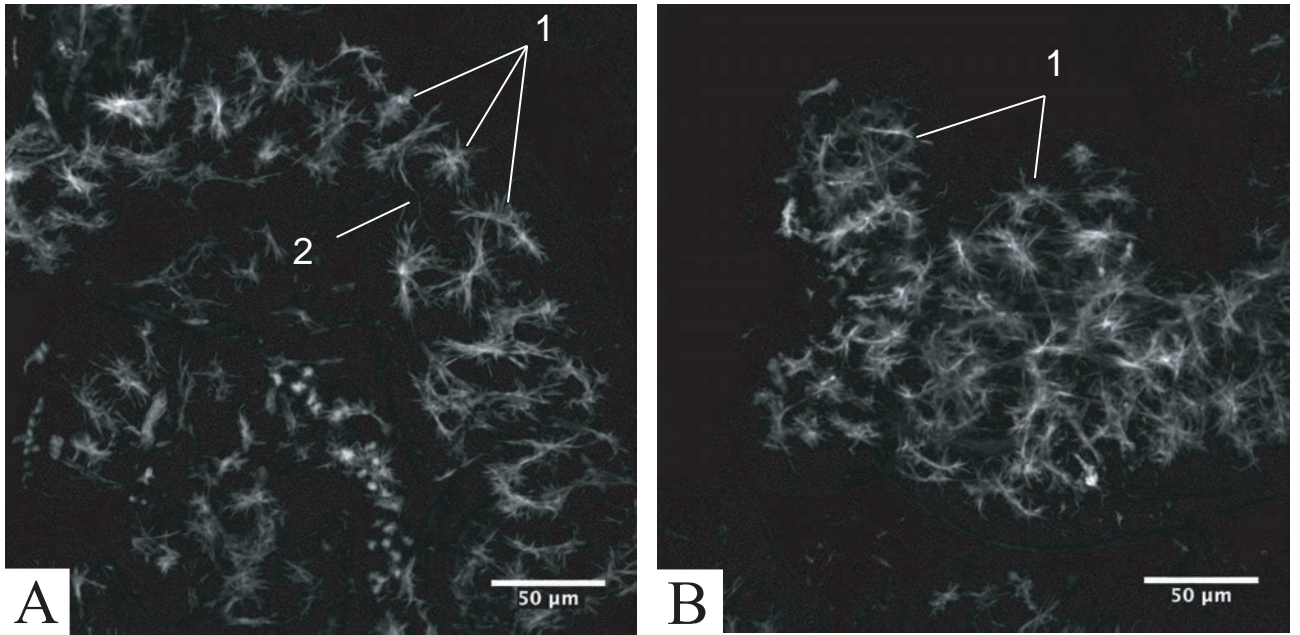


Рис 7. Сократимые мышечные элементы в интерне *Sacculina pilosella*. Z-проекция конфокальных снимков, мечение фаллоидином. А–В — Столоны *S. pilosella* с мышечными розетками а стенке тела. 1- мышечные сократимые элементы; 2- мышечные отростки между отдельными мышечными элементами.

Строение мышечной системы и ее расположение в теле паразита указывает на то, что скорее всего она важна для реализации распределительной функции. Интерна корнеголовых раков может достигать значительных размеров. Так как паразит обычно разрастается по всему телу хозяина, расстояния от дистальных концов интерны до экстерны соизмеримо с размером хозяина (до десятков сантиметров). Диффузия на таких расстояниях не эффективна, поэтому паразиту необходимо наличие какой-либо распределительной системы. Скорее всего функцию распределительной системы берет на себя полость центрального канала. Сокращение мышц обеспечивает перистальтическое движение столонов и транспорт жидкости в полости центрального канала. Таким образом, питательные вещества, которые попадают в центральный канал столона, перемещаются по интерне и, в итоге, транспортируются и до экстерны.

Нами было обнаружено значительное различие в строении мышечных систем у представителей разных семейств (спиральная мышечная лента у представителей сем. *Peltogastridae* и звездчатые мышечные элементы у представителей сем. *Sacculinidae*). Мы предполагаем, что столь значительное различие обусловлено разницей в общей морфологии интерн представителей этих семейств. Интерна у видов рода *Peltogaster* состоит из главного столона и периферических выростов, отходящих от него (рис 8). Таким образом, полость главного столона является центральным элементом распределительной системы. Спиральные мышечные волокна располагаются в стенке именно главного столона и отсутствуют в периферических выростах. Мы предполагаем, что центральный канал главного столона выполняет роль пропульсаторного органа (своего рода «сердце»). Сокращаясь, мышечные волокна обеспечивают конвекционный транспорт жидкости в центральном канале главного столона. Перемещение жидкости в главном столоне в свою очередь приводит к движению жидкости, заполняющей каналы периферических столонов. Таким образом, происходит обмен и перемещение содержимого каналов всей интерны. В то же время интерна представителей семейства *Sacculinidae* устроена принципиально иначе: она представлена сетью случайно ветвящихся столонов, которые пронизывают все тело хозяина и оплетают внутренние органы. При этом отсутствуют какие-либо центральные элементы, такие, как главный столон у представителей семейства *Peltogastridae*. Поэтому для успешного транспорта жидкости по полости интерны необходимо наличие сократимых элементов в каждом столоне.

Мышечная система взрослых представителей группы *Rhizosephala* интересна и с эволюционно-морфологической точки зрения. Согласно описанию жизненного цикла этих животных (Bresciani Нøeg, 2001), вермигон не наследует никаких органов от

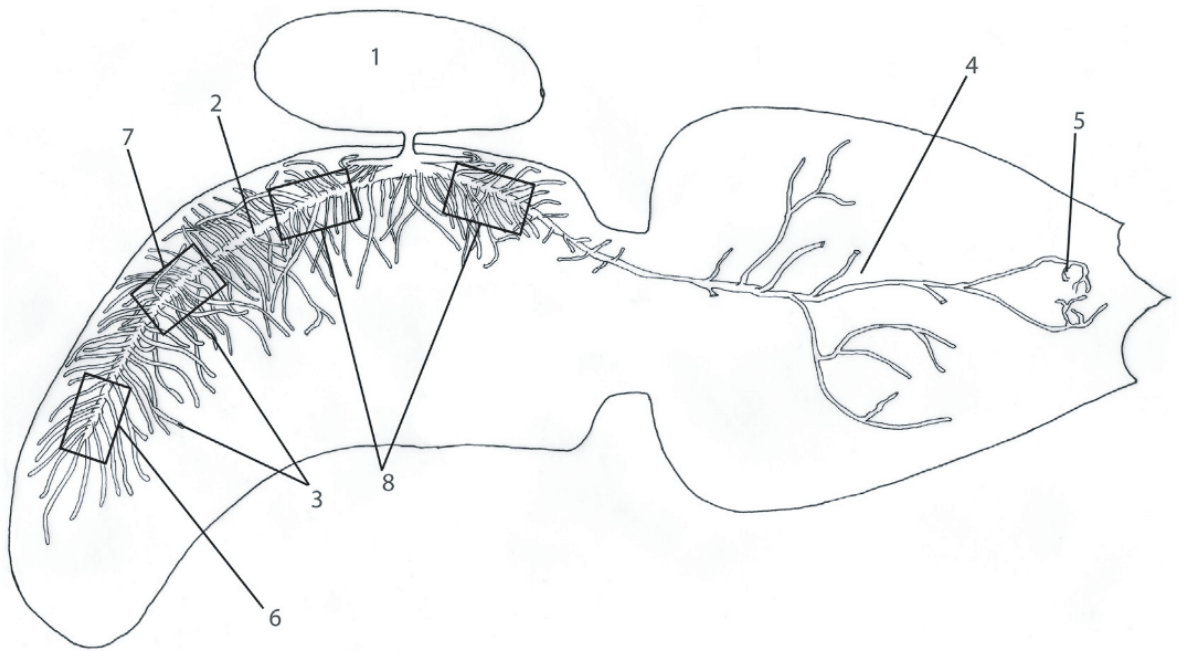


Рис. 8. Общая схема тела представителя вида *Peltogaster paguri*.

1- экстерна, 2-главный стolon, 3- периферические выросты, 4- интерна в цефалотораксе хозяина, 5- столонь оплетающие головной ганглий хозяина, 6- дистальный участок главного столонь, 7, 8- проксимальный участок главного столонь.

циприсовидной личинки (в том числе и мышечную систему). Таким образом, мышечная система у взрослого животного формируется *de novo* второй раз в пределах одного онтогенеза. При этом данная вторичная мышечная система, по-видимому, появилась сравнительно недавно. Два обнаруженных типа строения мышечных систем (у двух семейств корнеголовых раков) уникальны и не имеют каких-либо аналогов среди Metazoa. Мы предполагаем, что это связано именно с тем, что эти мышечные системы возникли вторично.

Остается открытым вопрос о происхождении вторичных мышечных систем в разных семействах корнеголовых раков. Возможно, что вторичная мышечная система образовалась у предка корнеголовых и вследствие своей эволюционной «молодости» крайне пластична и соответствует организации интерны. В некоторых группах она могла быть вторично утрачена – например, у представителей семейства Laermodiscidae. С другой стороны, возможно, что мышечные системы в разных группах корнеголовых ракообразных возникали независимо.

На данный момент не известны способы иннервации мышечной системы интерны у корнеголовых ракообразных. Попытки визуализировать нервную систему интерны с помощью иммуногистохимических методов не дали результатов. При этом на тех же самых препаратах нервная система хозяина окрашивается нормально, что говорит о том, что дело не в недостатках методики или же плохом качестве реактивов. Нервная система интерны никогда ранее не была описана в литературе. Таким образом, непонятно, как иннервируются мышцы интерны. К сожалению, пока на данный вопрос нельзя дать какого-либо однозначного ответа, но можно предложить три варианта генерации импульса:

1. Возможно в интерне есть небольшой нервный ганглий, который ни разу не удавалось обнаружить. Этот ганглий генерирует нервные импульсы для мышечных клеток, а так как все мышечные элементы интерны связаны между собой, то нервный импульс распространяется по всей мышечной системе.
2. Известны примеры, когда некоторые исходно мышечные клетки развиваются в пейсмейкеры, которые так же, как и нервные клетки, способны генерировать импульсы и запускать процессы деполяризации плазматической мембраны. Пейсмейкеры встречаются в мышцах, которым не надо совершать сложных движений, но при этом необходимо постоянное ритмичное сокращение, например, в сердечной мускулатуре. Так как для осуществления перистальтики столонов интерны корнеголовых

ракообразных не требуется какой-то сложной и слаженной работы разных отдельных мышечных элементов, возможно, что пейсмейкеров хватает для того, чтобы задавать постоянный и непрерывный ритм сокращения мышц.

3. В литературе имеются сведения, что в экстерне есть некий нервный ганглий. Однако со времен первого описания (Delage, 1884) не было документальных подтверждения его наличия. Но если предположить, что нервный ганглий все же имеется и иннервирует мышцы экстерны, то возможно, что импульсы также могут передаваться и к интерне. Однако при этом непонятно, как происходит работа мышц на ранней стадии развития интерны, пока экстерна еще не сформирована.

К сожалению на данный момент из за недостатка информации мы не можем склониться ни к одному из этих вариантов.

2. Взаимодействие с нервной системой хозяина.

Результаты

Столоны конрнеголовых раков пронизывают все тело хозяина и обычно располагаются в гемоцеле между органами хозяина, но при этом не прорастают в сами органы. Мы обнаружили, что некоторые трофические столоны были ассоциированы с участками брюшной нервной цепочки хозяина. Эти столоны прорастают вглубь ганглиев, и их дистальные участки лежат в толще нервной ткани хозяина. Подобный феномен был обнаружен у всех обследованных видов конрнеголовых ракообразных, однако детали строения столонов, проникающих в нервную ткань хозяина, значительно отличаются.

Некоторые из трофических столонов представителей вида *Peltoaster paguri* были ассоциированы с первым, вторым и третьим абдоминальными ганглиями брюшной нервной цепочки хозяина (*Pagurus pubescens*). Торакальный отдел нервной цепочки при этом остается нетронутым паразитом (Рис 9В). Столоны паразита подходят вплотную к ганглию хозяина и проникают сквозь оболочку ганглия (рис 10А). Дистальные концы столонов характеризуются особым строением; из-за характерной формы мы назвали их *бокаловидными органами* (рис 10В, С). Размер бокаловидных органов составляет около 100 мкм в длину. Гистологическая структура столонов, которые подходят к ганглиям, ничем заметно не отличается от нормальных трофических столонов (рис 10D), однако при пересечении границы ганглия морфология столон заметно меняется. Глубже места проникновения столон в нервную ткань хозяина клетки столон имеют другую форму,

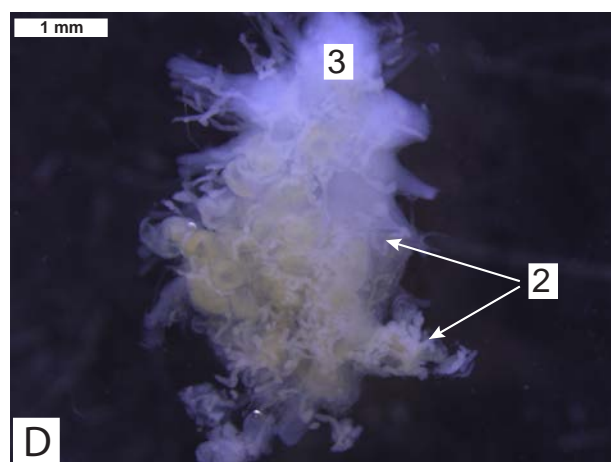
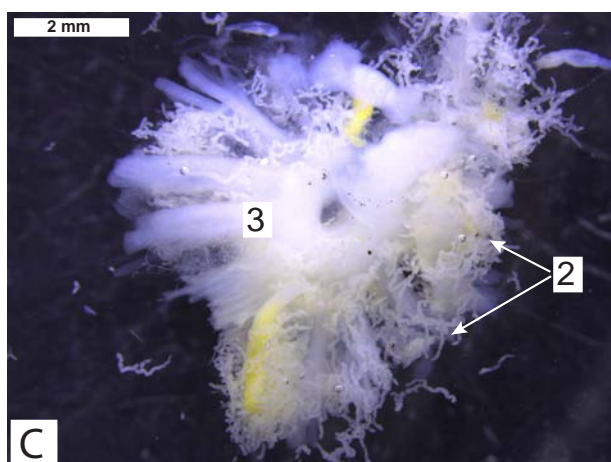
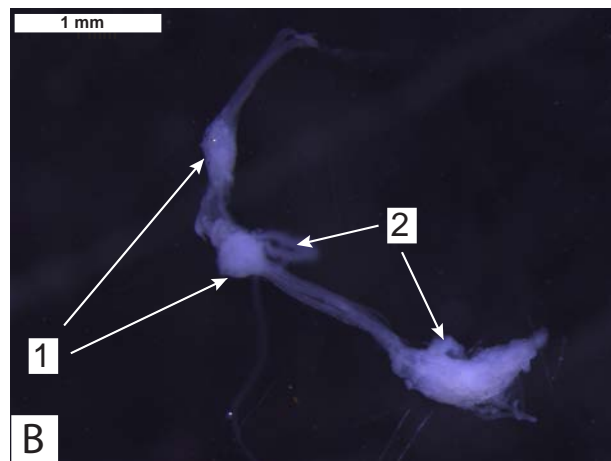
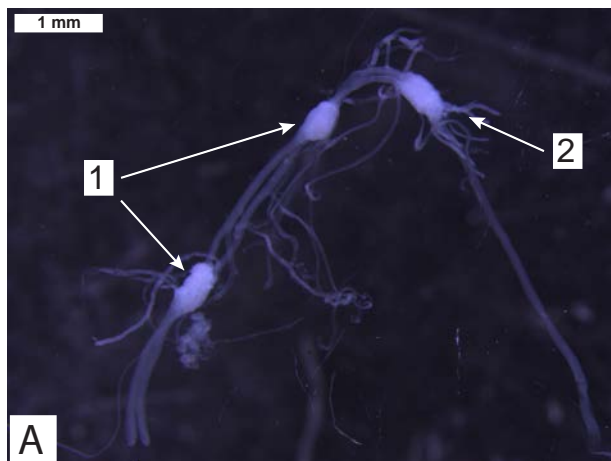


Рис. 9. А – Абдоминальный участок брюшной нервной цепочки хозяина со столонами *Peltogastrella gracilis*, В – Абдоминальный участок брюшной нервной цепочки хозяина со столонами *Peltogaster paguri*, С – Торакальная ганглиозная масса хозяина со столонами *Polyascus polygenea*, D – Торакальная ганглиозная масса хозяина со столонами *Sacculina pilosella*. 1- ганглии абдоминального участка брюшной нервной цепочки хозяина, 2- столоны паразита, 3- торакальная ганглиозная масса хозяина.

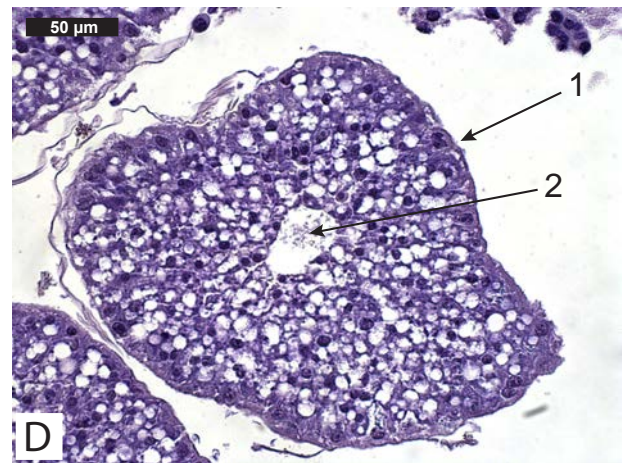
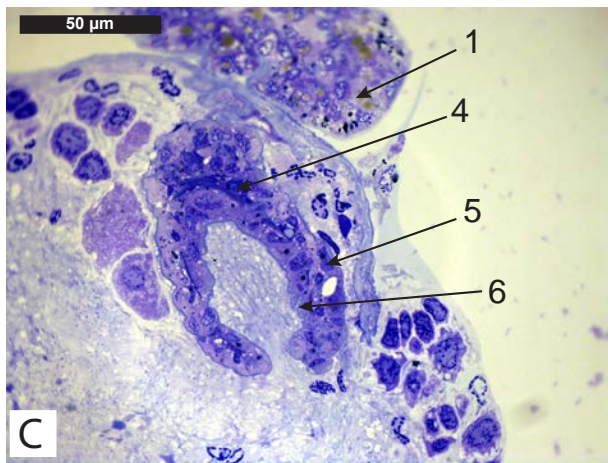
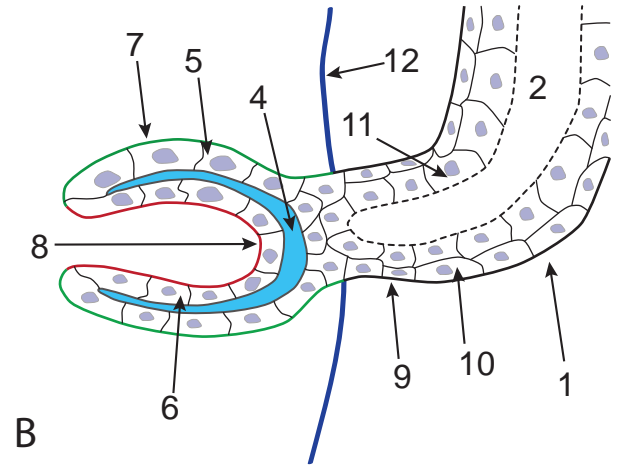
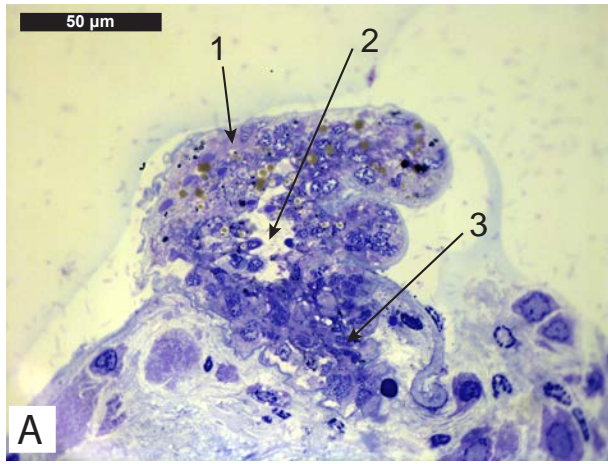


Рис. 10 А, С – Срезы бокаловидного органа (*P. paguri*) лежащего в толще нервного ганглия хозяина (*Pagurus pubescens*). В – Схема бокаловидного органа *P. paguri*. D – Нормальный трофический столон (*P. paguri*) лежащий в гемоцели хозяина (*P. pubescens*).

1-столон ассоциированный с нервным ганглием, 2-центральный канал, 3-часть столона внутри нервного ганглия, 4-внеклеточный матрикс между слоями клеток бокаловидного органа, 5-внешний слой клеток, 6-внутренний слой клеток, 7-внешняя поверхность бокаловидного органа (зеленый цвет), 8-внутренняя поверхность бокаловидного органа (красный цвет), 9-обычная кутикула на поверхности столона, 10-слой эпителиальных клеток, 11-слой аксиальных клеток, 12-оболочка ганглия.

пропадают многочисленные вакуоли, характерные для обычных трофических столонов, отсутствует «типичное» для интены разделение клеток на эпителиальные и гиподермальные, а центральный канал исчезает (рис 10B). Стенка бокаловидного органа состоит из двух слоев кубических клеток (внешнего и внутреннего), и достаточно толстого слоя оптически плотного внеклеточного матрикса между ними (рис 10B, C).

Ультраструктура также заметно отличается от трофических столонов. Почти для всех корнеголовых ракообразных характерно сходное строение кутикулы, покрывающей трофические столоны. Снаружи лежит относительно тонкий электронно-плотный слой, который образует множественные микровыросты, обращенные в полость тела хозяина. Под ним лежит более толстый электронно-светлый гомогенный слой кутикулы (рис 11C). Глубже располагаются клетки гиподермы, апикальная мембрана которых, в свою очередь, формирует микровилли, обращенные в обширное субкутикулярное пространство (рис 11C). Трофические столоны *P. raguri* снаружи одеты такой же обычной для ризоцефал кутикулой. В то же время, кутикула, покрывающая бокаловидный орган, значительно отличается от кутикулы обычных трофических столонов. Внутренняя поверхность бокаловидного органа покрыта однослойной кутикулой с редко расположенными микровыростами, обращенными в сторону нервной ткани хозяина (рис 11A, B). При этом толщина микровыростов значительно больше, чем у микровыростов кутикулы трофических столонов (рис 11C). Под слоем кутикулы лежат клетки гиподермы, апикальная мембрана которых образует множественные микровилли. Однако, в отличие от трофических столонов, микровилли значительно длиннее и уложены очень плотно, так что субкутикулярное пространство почти не выражено и представляет собой систему тонких лакун между этими микровиллиями (рис 11A, B).

Кутикула наружной поверхности бокаловидного органа также является однослойной, и в целом похожа на кутикулу его внутренней поверхности, но клетки гиподермы прилегают к ней вплотную и не образуют микровилли. Апикальная поверхность покрыта редко расположенными микровыростами (рис 11D, 12A).

Сами клетки бокаловидного органа также значительно отличаются по ультраструктуре от обычных эпителиальных или аксиальных клеток. В них отсутствуют вакуоли с липидными каплями, характерные для обычных трофических столонов. При этом в цитоплазме клеток встречаются обширные поля шероховатого эндоплазматического ретикулума.

Оптически плотный слой между двумя слоями клеток бокаловидного органа оказался гомогенным внеклеточным матриксом с округлыми электронно-плотными включениями (рис 12B, C, D).

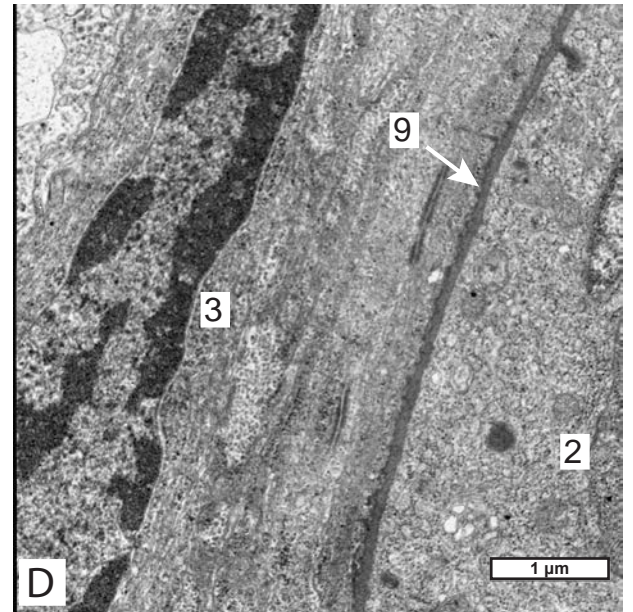
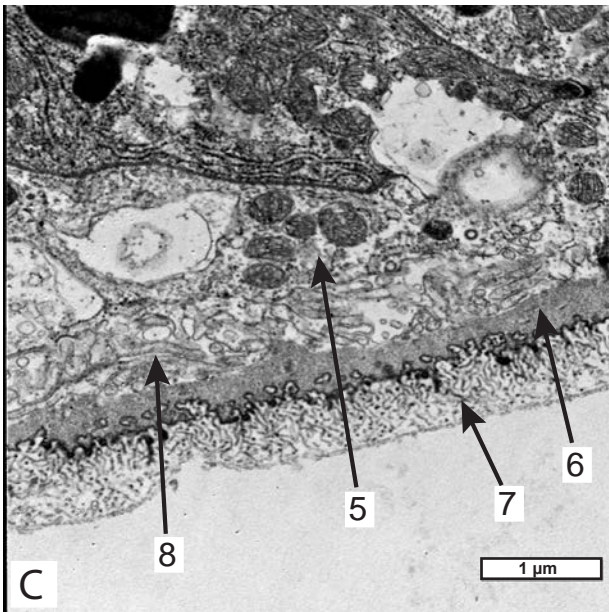
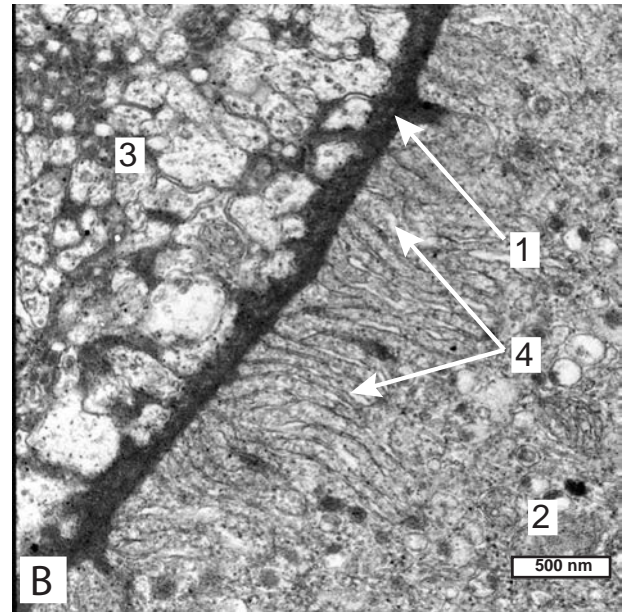
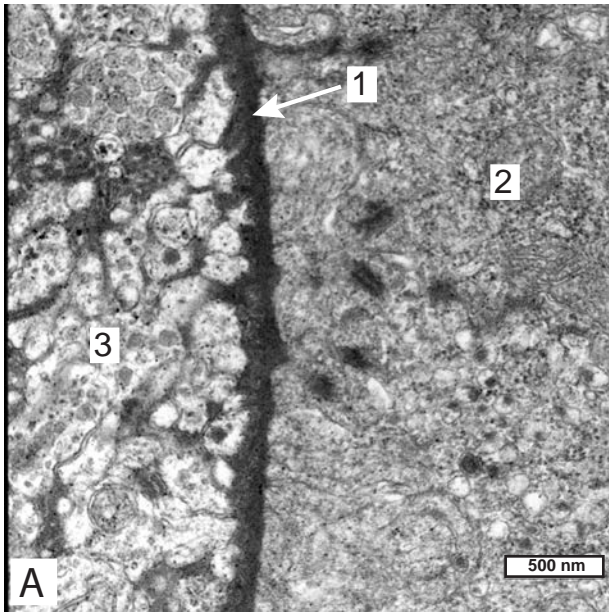


Рис 11. А, В – Кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа *P. raguri*, С – Кутикула обычного трофического столона *P. raguri*, D – Кутикула на внешней стороне бокаловидного органа. 1-кутикула внутренней поверхности бокаловидного органа, 2-ткани паразита, 3-нервная ткань хозяина, 4-микровилли под слоем кутикулы, 5-гиподермальные клетки, 6-гомогенный слой кутикулы, 7-микровыросты электронно-плотного слоя кутикулы, 8-микровилли гиподермальных клеток, 9 кутикула на внешней стороне бокаловидного органа

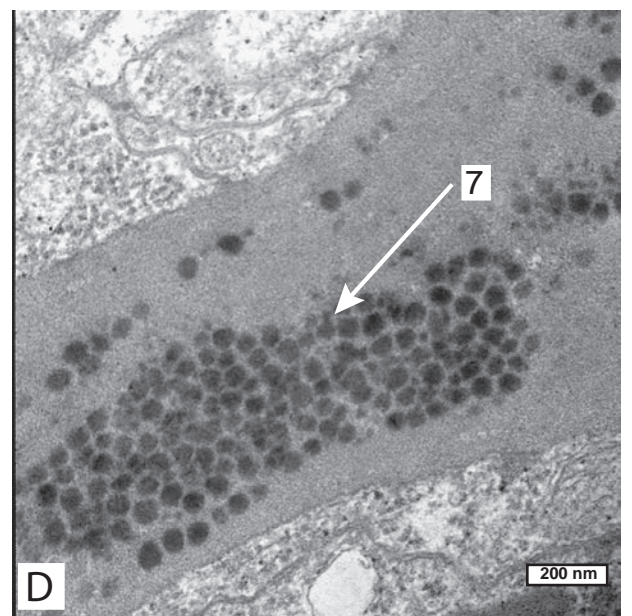
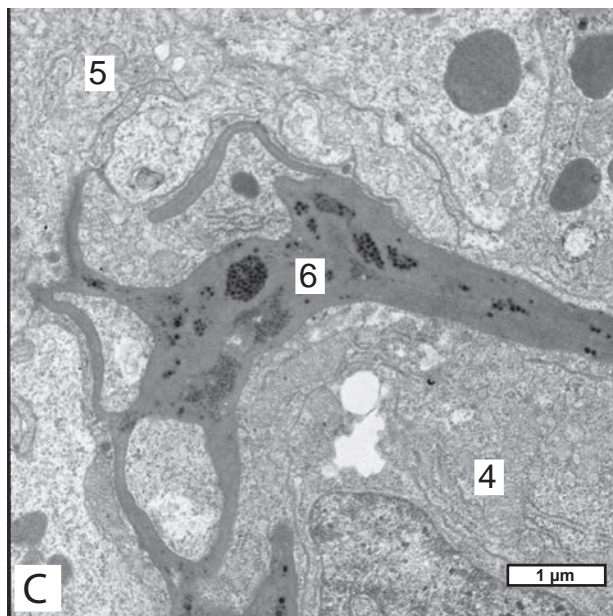
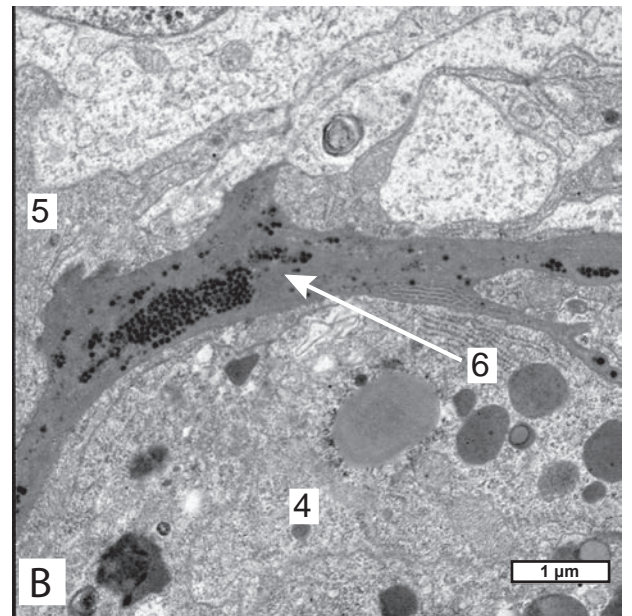
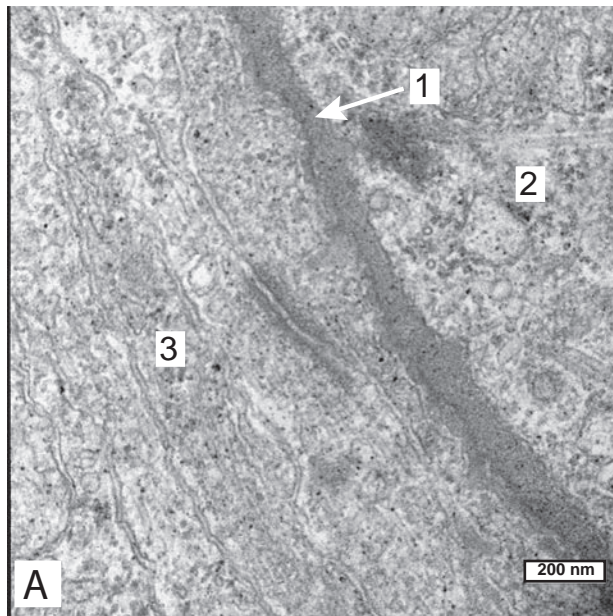


Рис. 12. А - Кутикула на внешней стороне бокаловидного органа *P. paguri*, В-D - Внеклеточный матрикс между слоями клеток бокаловидного органа.
 1- кутикула на внешней стороне бокаловидного органа, 2- ткань паразита, 3- нервная ткань хозяина, 4- внутренний слой клеток бокаловидного органа, 5- внешний слой клеток бокаловидного органа, 6- внеклеточный матрикс между двумя слоями клеток, 7- округлые электронно-плотные включения внеклеточного матрикса.

Взаимодействие с нервной системой хозяина было изучено у еще одного представителя семейства Peltogastridae – *Peltogastrella gracilis*. У этого вида также, как и у описанного выше *P. paguri*, были обнаружены столоны, обвивающие 1-3 абдоминальные ганглии брюшной нервной цепочки хозяина (рис 9А). Эти столоны также проникают под оболочку ганглия и внедряются в нервную ткань хозяина (рис 13А). Концевые участки этих столонов также преобразованы в бокаловидные органы (рис 13А, В). Однако, имеется ряд отличий этих органов от таковых у *P. paguri*. Столоны, ассоциированные с нервными ганглиями у *P. gracilis*, значительно более многочисленны чем у *P. paguri*. При этом бокаловидные органы, располагающиеся в толще нервной ткани хозяина, примерно в два раза меньше, чем у *P. paguri* - их длина составляет около 50 микрон (рис 13В).

Стенка бокаловидного органа *P. gracilis* состоит всего из одного слоя кубических клеток (рис 13В). В самих клетках на гистологических и полутонких срезах хорошо видны крупные вакуоли с гомогенным содержимом (рис 13В). Нервная ткань хозяина, которая находится внутри воронки бокаловидного органа, несколько отличается от обычной (на гистологических срезах она более темно окрашена) (рис 13А). Наряду со сформированными бокаловидными органами мы обнаружили столоны, заканчивающиеся утолщениями, которые напоминали фолликулы на концах трофических столонов (рис 13С).

Кутикула, выстилающая внутреннюю поверхность бокаловидного органа *P. gracilis*, состоит из двух слоев: электронно-плотного и электронно-светлого (рис 14А). Апикальная поверхность кутикулы несет многочисленные микровыросты, обращенные в сторону нервной ткани хозяина (рис 14А), однако эти микровыросты заметно крупнее и реже расположены, чем на трофических столонах (рис 14В). Наружная поверхность бокаловидного органа также как и внутренняя покрыта двуслойной кутикулой, но она несет значительно меньше микровыростов и сами они меньше по размеру (рис 14С).

Апикальная мембрана клеток гиподермы образует кайму из микровиллей, которые лежат в субкутикулярном пространстве (рис 14А). Сами микровилли относительно длинные, и лежат не так плотно, как в бокаловидном органе у *P. paguri*. Дистальные концы микровилли достигают кутикулы (рис 15С). В клетках бокаловидного органа были обнаружены огромные поля ЭПР со вздутыми цистернами, наполненные гомогенным содержимом (рис 15А, С).

Как уже было сказано выше, уже на гистологическом уровне было видно, что нервная ткань хозяина внутри воронки бокаловидного органа претерпевает некоторые изменения (рис 13А). Исследования с помощью ТЕМ показало, что практически вся нервная ткань, располагающаяся внутри бокаловидного органа, подвергается деградации

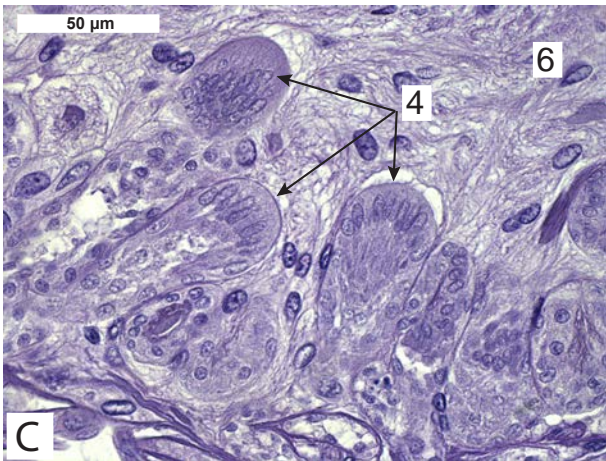
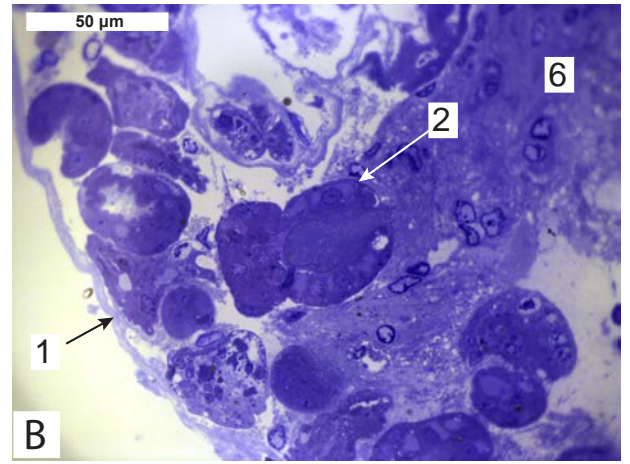
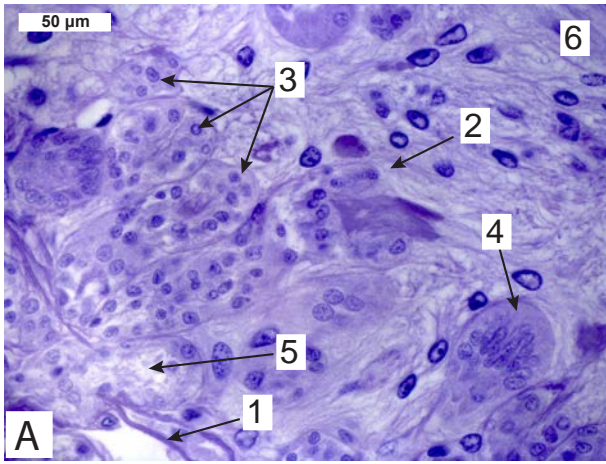


Рис. 13. А, В, С – Столоны *P. gracilis* внутри нервного ганглия хозяина.
 1- оболочка ганглия, 2- бокаловидный орган, 3- столонны, 4- фолликулы на концах растущих столонов,
 5- столон проникающий под оболочку ганглия, 6- нервная ткань хозяина.

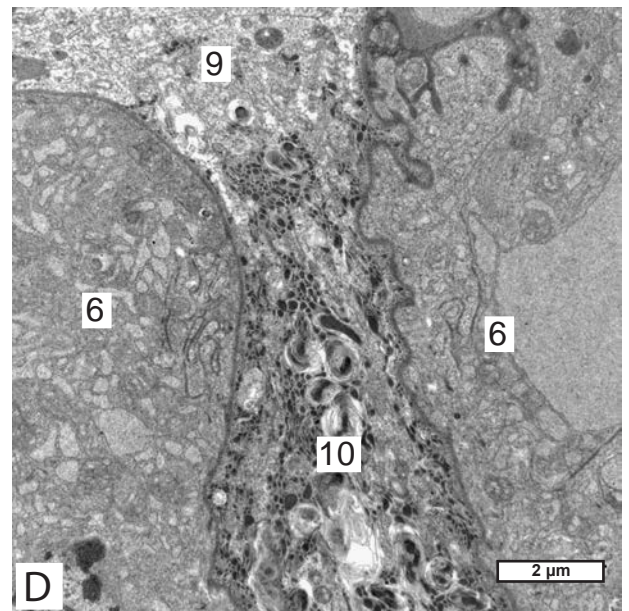
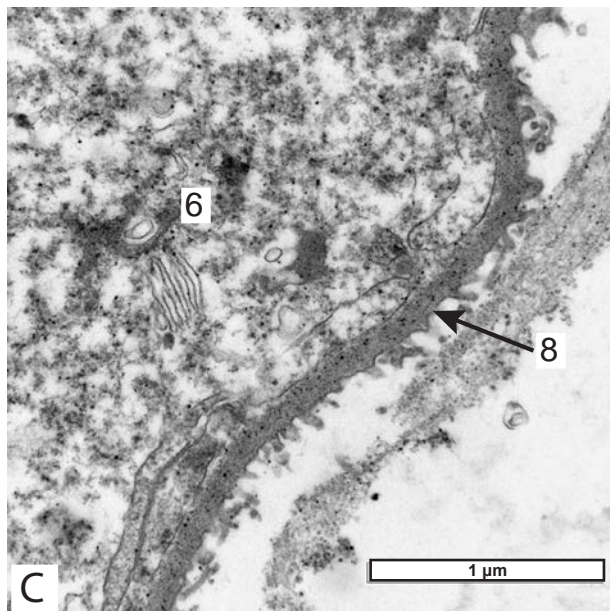
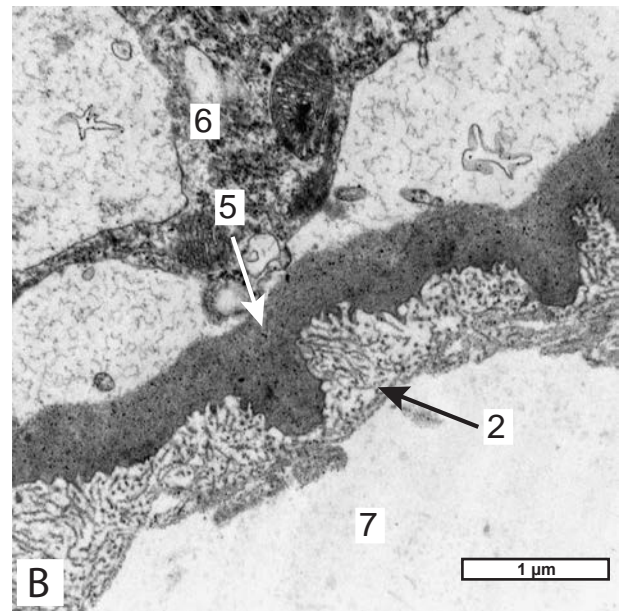
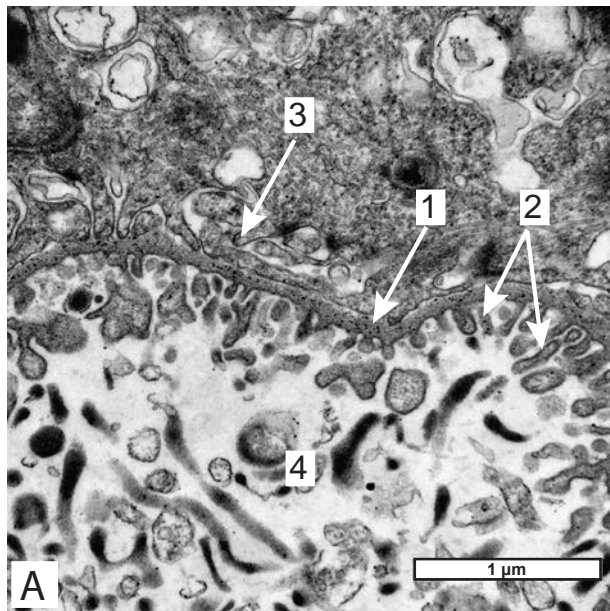


Рис. 14. А – Кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа *P. gracilis*, В – Кутикула нормального трофического столона *P. gracilis*, С – Кутикула на внешней поверхности бокаловидного органа *P. gracilis*, D – Продольный срез через устье бокаловидного органа *P. gracilis*. 1- кутикула, 2- микровыросты кутикулы, микровилли под кутикулой, 4- нервная ткань хозяина, 5- кутикула нормального трофического столона, 6- ткань паразита, 7- полость тела хозяина, 8- кутикула на внешней поверхности бокаловидного органа, 9- нервная ткань хозяина за пределами воронки бокаловидного органа, 10- видоизмененная нервная ткань хозяина внутри воронки бокаловидного органа.

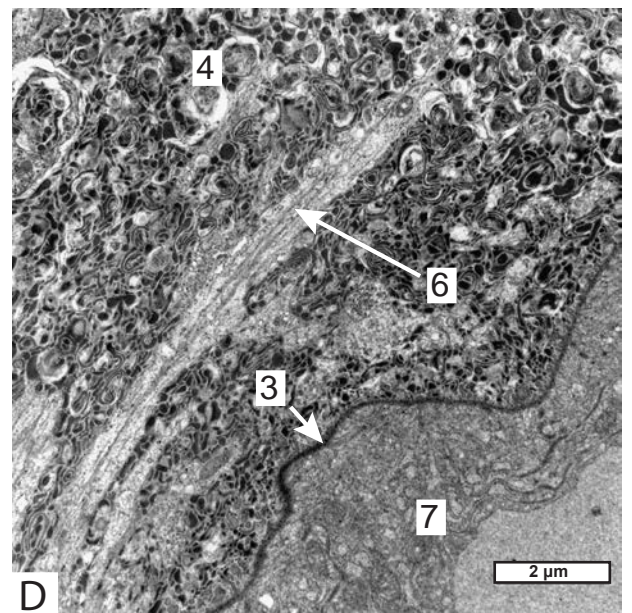
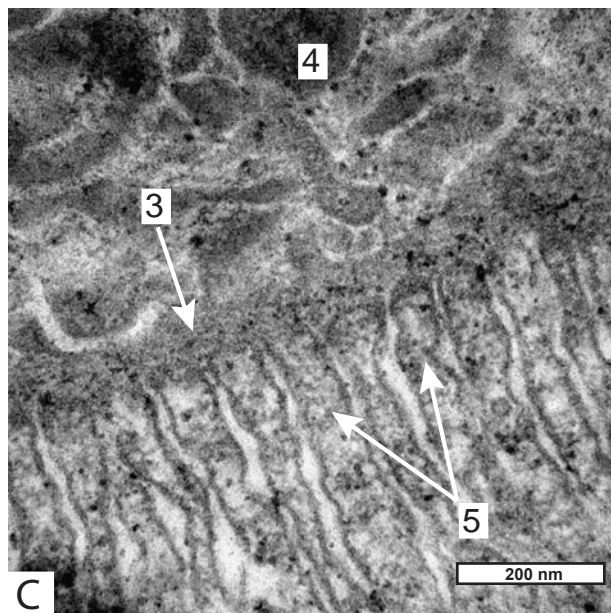
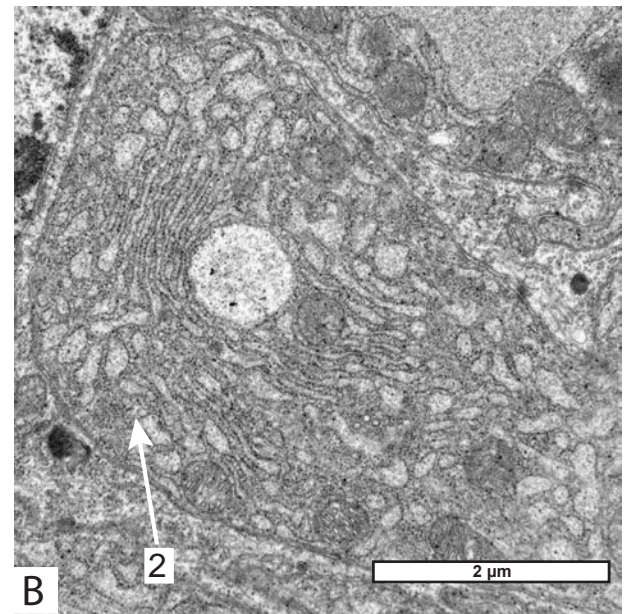
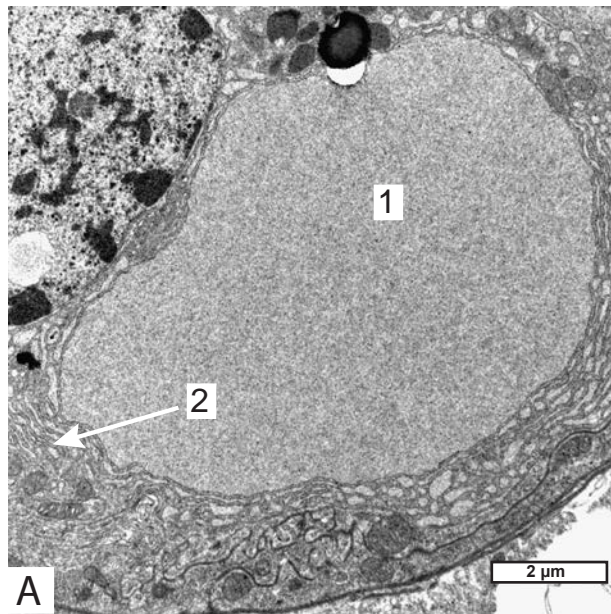


Рис. 15. А, В – Вздутые цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулума в клетках бокаловидного органа *P. gracilis*, С – Кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа *P. gracilis*, D – Видоизмененная нервная ткань хозяина внутри воронки бокаловидного органа. 1- вздутые цистерны ЭПР, 2- ЭПР, 3- кутикула на внутренней поверхности бокаловидного органа, 4-нервная ткань хозяина, 5-микровилли гиподермальных клеток, 6- нервное волокно хозяина, 7- ткань бокаловидного органа.

(рис 14D, 15D). Обнаруженные картины напоминают лизосомную автофагию нейронов. Следует отметить, что для вида *P. paguri* не характерны подобные дегенеративные изменения нервной ткани хозяина внутри воронки бокаловидного органа.

Также мы исследовали взаимодействие с нервной системой хозяина у представителей двух видов из семейства Sacculinidae — *Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*. Оба этих вида корнеголовых паразитируют на крабах.

Было обнаружено, что столоны представителей вида *Polyascus polygenea* ассоциированы с торакальными ганглиями брюшной нервной цепочки хозяина (*Hemigrapsus sanguineus*). Поражены преимущественно задние ганглии торакального отдела нервной системы (рис 9C).

Столоны *Polyascus polygenea* проникают под оболочку ганглия и лежат в толще нервной ткани (рис 16A-D). При этом было обнаружено, что некоторые столоны проникают не только в сами ганглии, но также и в нервы, отходящие от них (рис 17). Каких-либо специализированных органов на концах столонов, наподобие бокаловидных органов, не найдено. Столоны, проникающие в нервы и ганглии хозяина, весьма многочисленны и могут занимать значительный объем нервной ткани (рис 16, 17).

На гистологическом уровне столоны интерны *Polyascus polygenea*, расположенные в толще нервной ткани хозяина, не очень сильно отличаются от обычных трофических столонов. Но на ультраструктурном уровне наблюдаются некоторые отличия. Кутикула, покрывающая эти столоны, двуслойная с очень тонким наружным электронно-темным слоем и более толстым электронно-светлым, гомогенным слоем. На апикальной поверхности кутикулы располагаются множественные плотно уложенные микровыросты (рис 18). Однако эти микровыросты совершенно не похожи на микровыросты нормальных трофических столонов (рис 18D), они значительно толще и короче. Электронно-светлый слой заходит внутрь каждого микровыроста (рис 18C).

В столонах *Polyascus polygenea*, проникающих в нервную ткань хозяина, встречаются мышечные элементы, не отличающиеся от мышечных элементов трофических столонов (рис 19, 20).

Интересные результаты также были получены с помощью методики изготовления криосрезов ганглиев хозяина, пораженных столонами *Polyascus polygenea*, с последующим окрашиванием флуоресцентно-мечеными антителами. Было обнаружено, что вблизи столонов паразита повышена концентрация некоторых нейромедиаторов, таких, как серотонин (рис 19A, B, 20). Также в самих столонах часто встречаются некие везикулы, которые связываются с антителами к серотонину (рис 21).

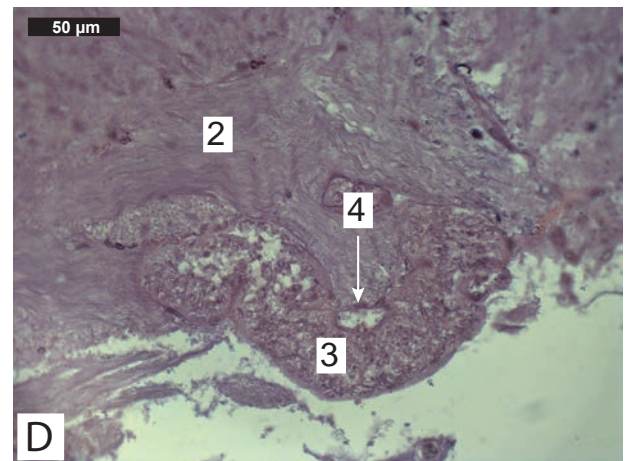
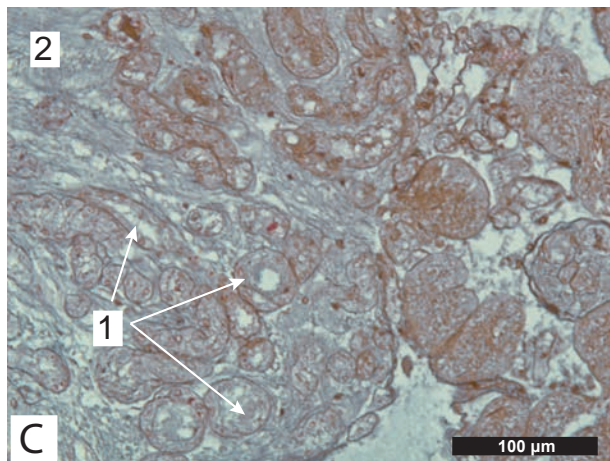
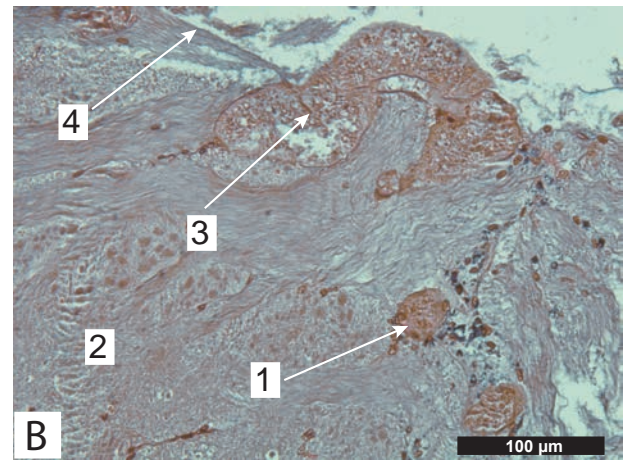
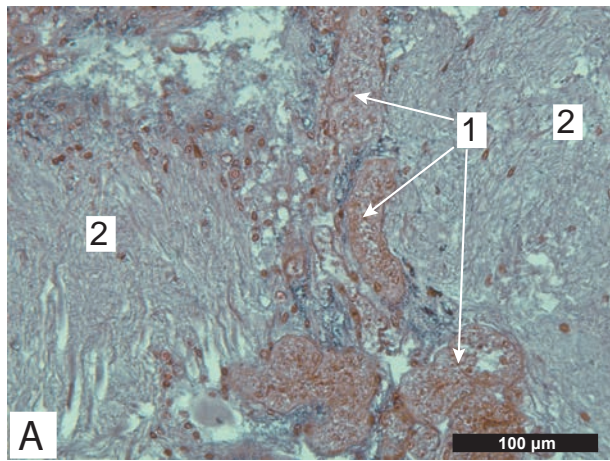


Рис. 16. А-D - Столоны *P. polygenea* внутри нервных ганглиев хозяина. 1- столбы в толще нервной ткани хозяина, 2- нервная ткань хозяина, 3- столон проникающий под оболочку нервного ганглия, 4- оболочка нервного ганглия,

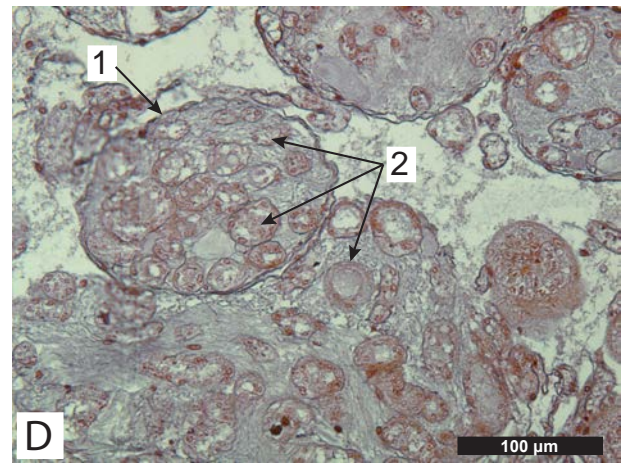
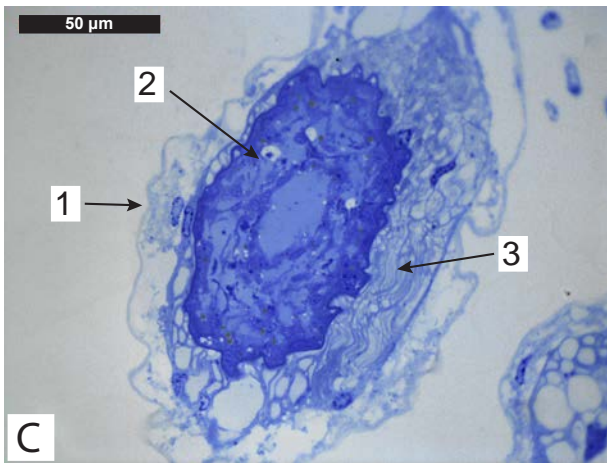
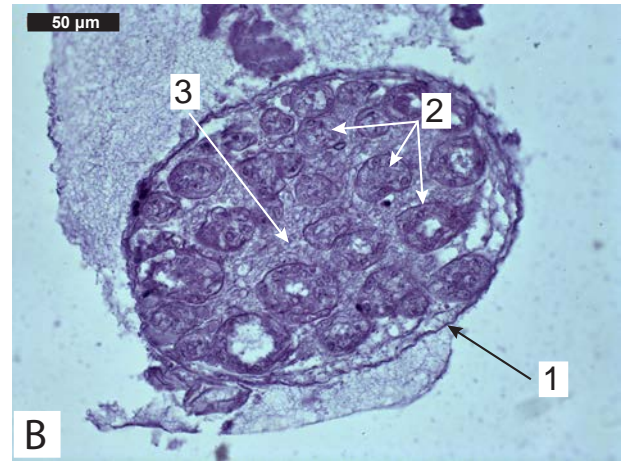


Рис. 17. А-D - Столоны *P. polygenea* в нервных стволах хозяина.
 1- нервный ствол, 2- столоны паразита, 3- нервная ткань хозяина.

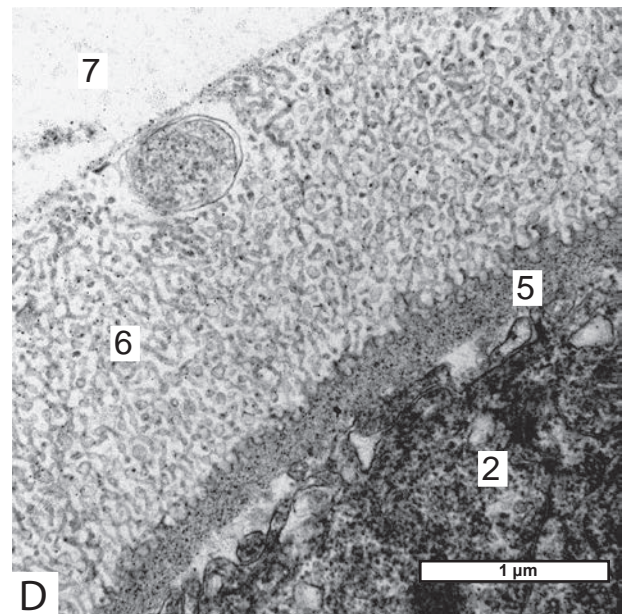
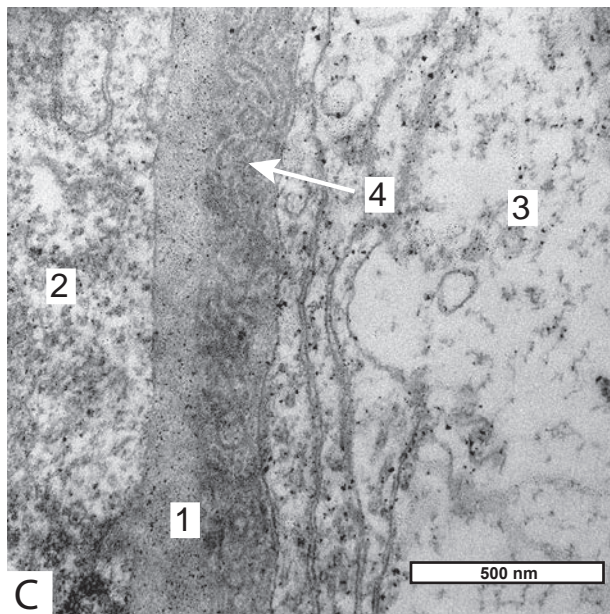
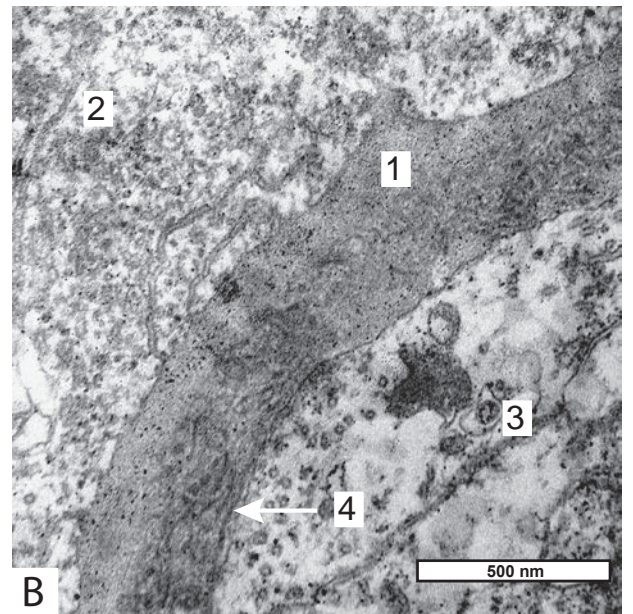
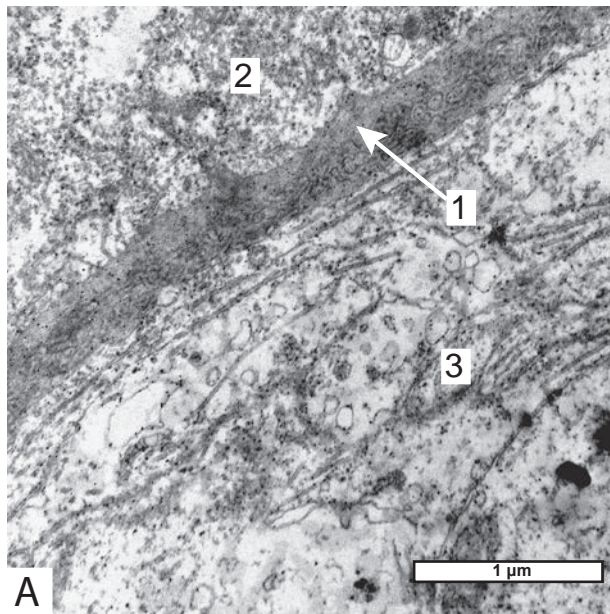


Рис. 18. А-С - Кутикула покрывающая столонь *P. polygenea* находящиеся в толще нервной ткани хозяина, D - Кутикула нормального трофического столоня *P. polygenea*.
 1- кутикула покрывающая столонь *P. polygenea* находящиеся в толще нервной ткани, 2- ткань паразита, 3- нервная ткань хозяина, 4- микровыросты кутикулы столоней ассоциированных с нервной тканью хозяина, 5- кутикула нормального трофического столоня, 6- микровыросты "нормальной" кутикулы, 7- полость тела хозяина.

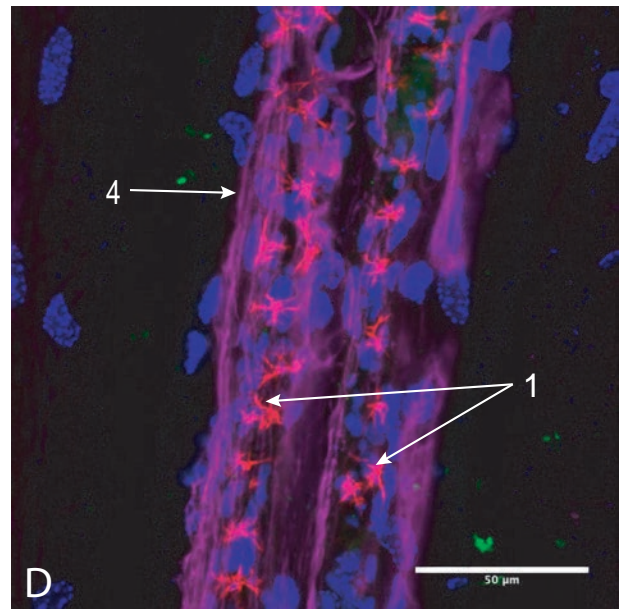
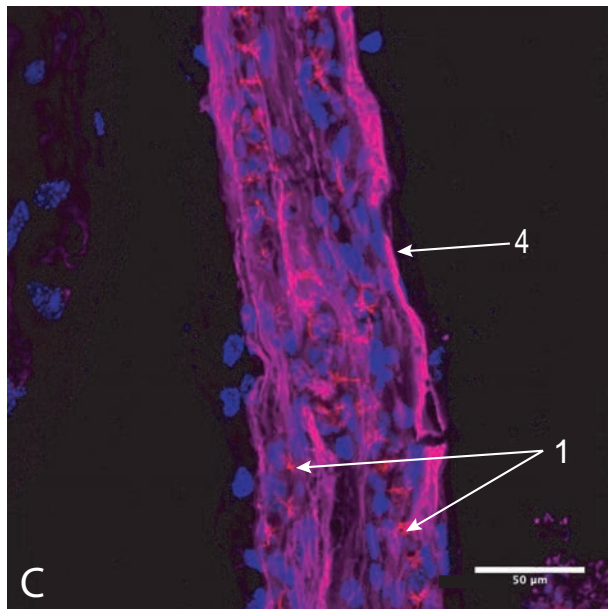
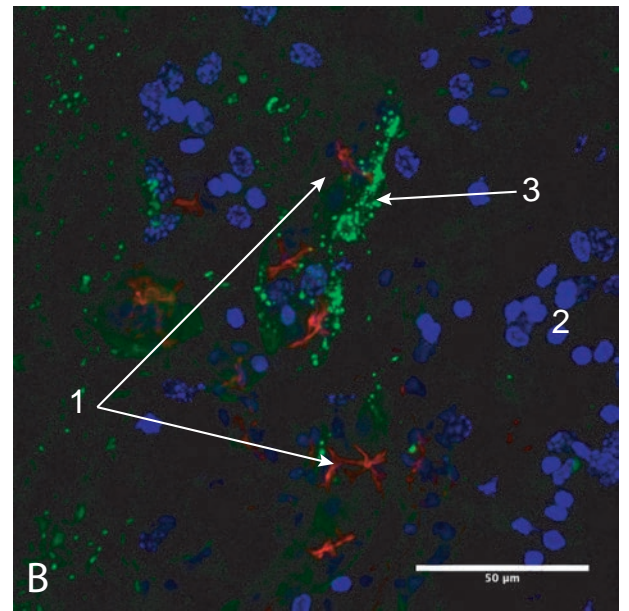
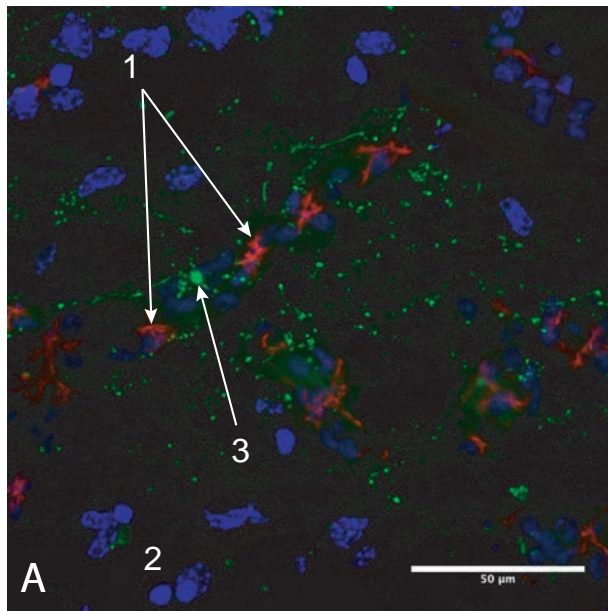


Рис. 19. А, В - Криосрезы нервного ганглия *Hemigrapsus sanguineus* пораженные столонами паразита *Polyascus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание: DAPI (синий), фаллоидин (красный), 5HT (зеленый).

С, D - Нервные стволы *Hemigrapsus sanguineus* внутри которых располагаются столонны паразита *Polyascus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание: DAPI (синий), фаллоидин (красный), α-тубулин (magenta).

1- мышечные волокна маркирующие столонны паразита, 2- нервная ткань ганглия хозяина, 3- скопление серотонина, 4- нервный ствол хозяина.

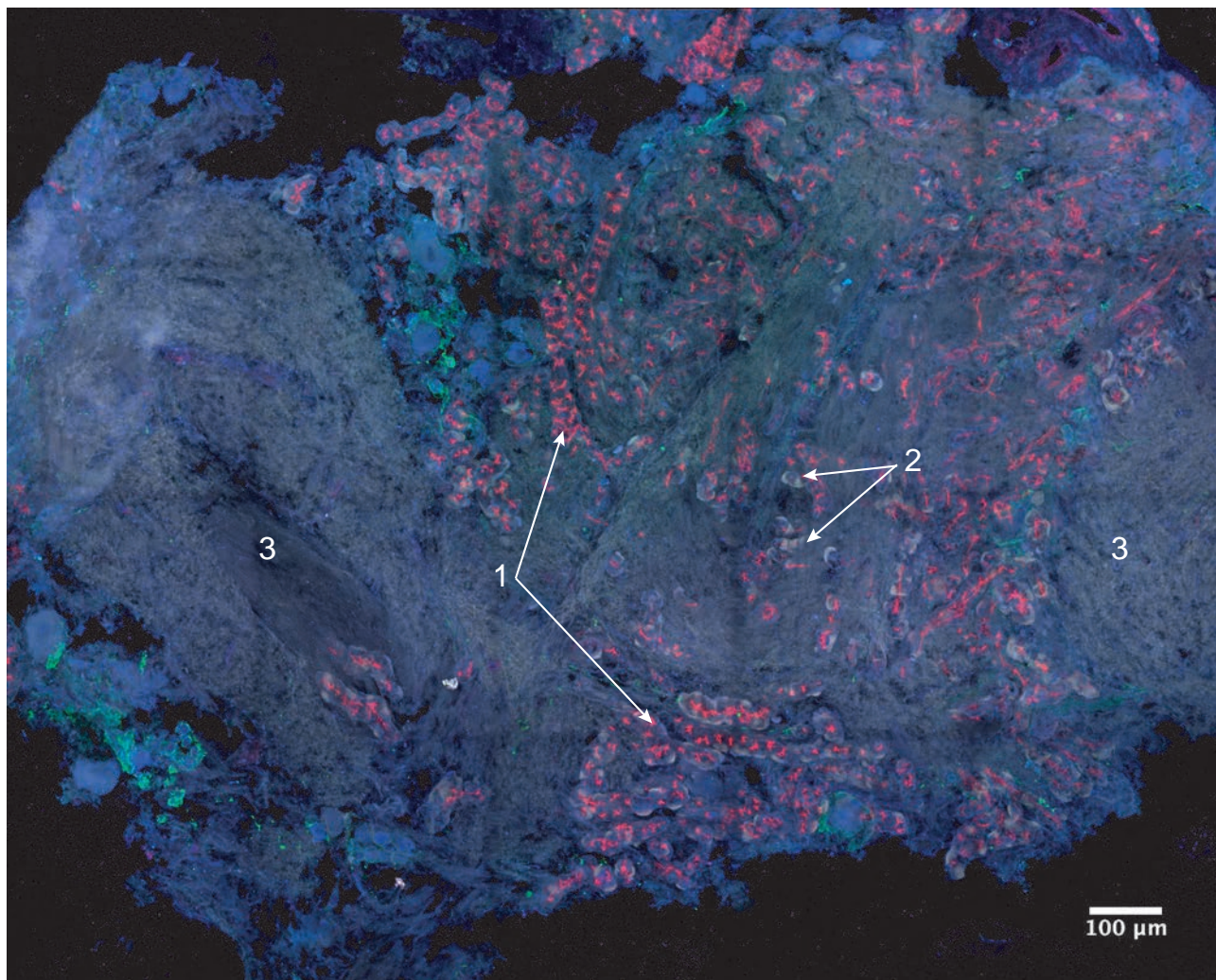


Рис. 20. Криосрез нервного ганглия *Hemigrapsus sanguineus* пораженного столонами паразита *Polyas-cus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание: фаллоидин (красный), 5HT (белый), тирозин гидролаза (зеленый), VGLUT2 (синий).

1- мышечные волокна маркирующие столоны паразита, 2- скопление серотонина, 3- нервная ткань ганглия хозяина.

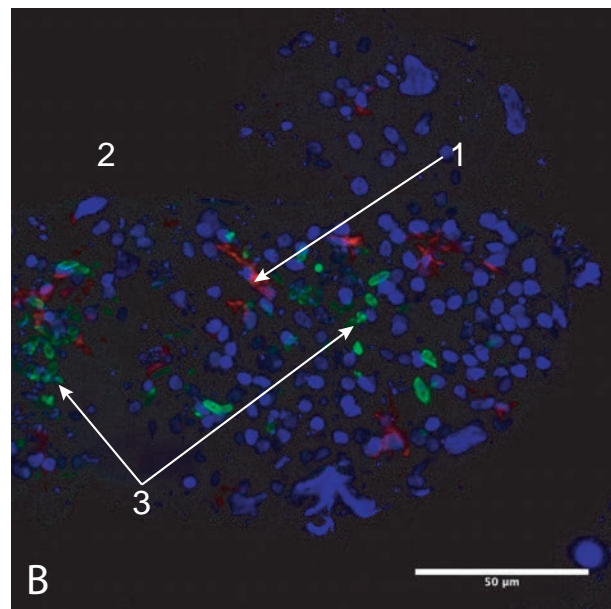
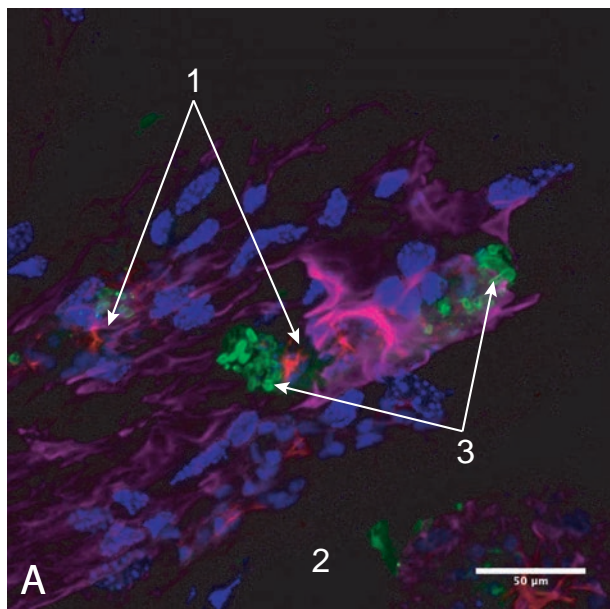


Рис. 21. А, В - Криосрезы нервного ганглия *Hemigrapsus sanguineus* пораженные столонами паразита *Polyascus polygenea*. Конфокальная Z-проекция, окрашивание: DAPI (синий), фаллоидин (красный), 5HT (зеленый), α -тубулин (magenta).
 1- мышечные волокна маркирующие столонны паразита, 2- нервная ткань ганглия хозяина, 3- скопление серотонина в тканях паразита.

Представители вида *Sacculina pilosella* демонстрировали сходные тенденции во взаимодействии с НС хозяина как и представители *Polyascus polygenea*. Нервные ганглии торакального отдела брюшной нервной цепочки и нервные стволы, отходящие от них, также были поражены столонами паразита (рис 9D). При этом в ганглиях хозяина встречаются два разных типа столонов: (1) относительно тонкие столонны без каких-либо специализированных структур, которые в основном локализованы в нейропиле ганглия хозяина (рис 22), и (2) столонны, дистальные концы которых преобразованы в бокаловидные органы (рис 22А-С). Бокаловидные органы всегда располагаются по периферии ганглия.

Бокаловидные органы, обнаруженные у представителей вида *Sacculina pilosella*, имеют ряд отличий от бокаловидных органов представителей семейства Peltogastridae. Стенка бокаловидного органа *Sacculina pilosella* сложена несколькими слоями клеток; на дне воронки располагается участок выраженного столбчатого эпителия (рис 22В).

Помимо описанного выше контакта у всех рассмотренных видов корнеголовых раков мы обнаружили еще один сайт связи паразита с нервной системой хозяина. На гистологических срезах (*Peltogaster paguri*) хорошо видно, что в узких промежутках между столоннами, а также на поверхности самих столонов часто располагаются как отдельные клетки, так и целые скопления клеток хозяина (рис. 23А-Г). В литературе упоминается, что гемоциты хозяина могут оседать на поверхность столонов паразита (Bresciani, Hoeg, 2001). Однако обнаруженные нами клеточные скопления не были похожи на отдельные амебоциты (рис. 23В). В составе этих скоплений можно было наблюдать несколько типов клеток. Во-первых, это клетки с длинными отростками. Иногда эти отростки, принадлежащие разным клеткам, образуют своеобразные тяжи разной толщины. Данные клетки обычно распластаны по поверхности столонов паразита, а образуемые ими тяжи, как бы оплетают их (рис. 23В). Во-вторых, немного в стороне от тяжей располагаются компактные группы крупных округлых клеток с зернистой цитоплазмой (рис. 23С, D). Такие же клетки с гранулированной цитоплазмой изредка встречаются поодиночке. Сходные результаты были получены на представителях всех из обследованных видов.

Сканограммы поверхности столонов *P. paguri* выявили разнообразие клеточных элементов хозяина, приуроченных к поверхности столонов. Как и было отмечено в литературе, на поверхности паразита адгезированы немногочисленные амебоциты (рис. 24 С). Однако они составляют лишь малую часть клеток хозяина, ассоциированных с покровами паразитов. Значительно обильнее представлены многочисленные ветвящиеся тяжи разной толщины, оплетающие столонны (рис. 24В, D). В тесной связи с этими тяжами

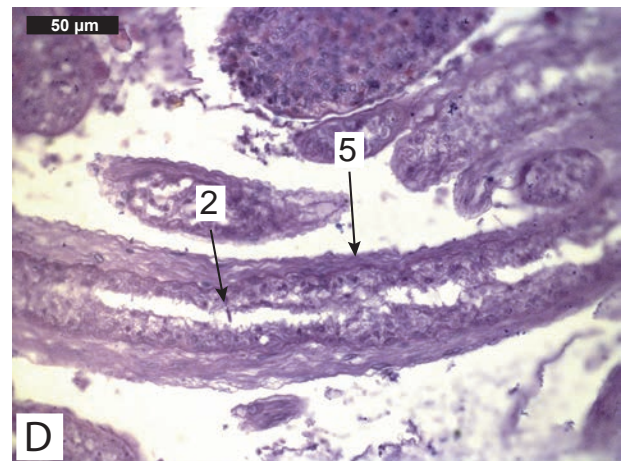
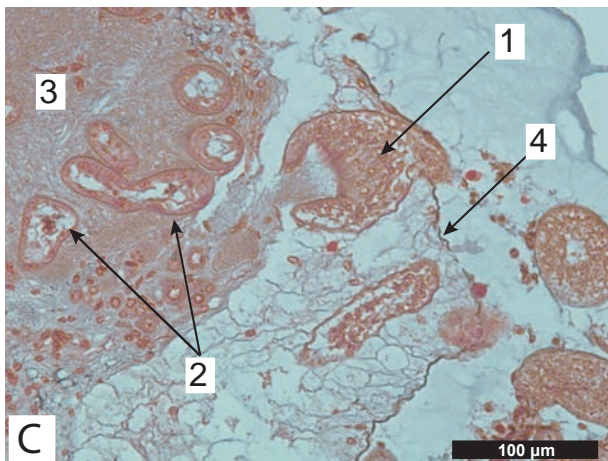
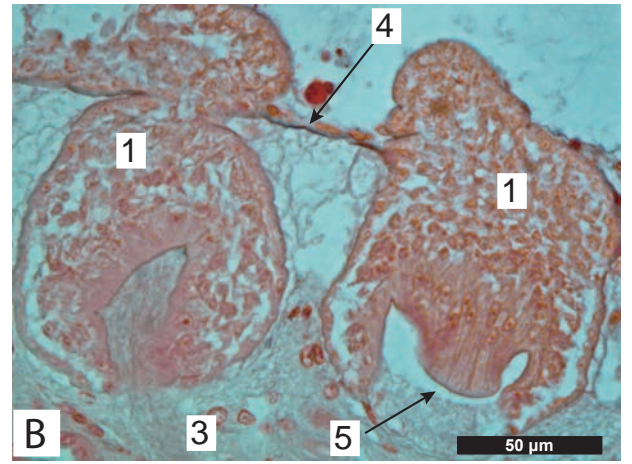
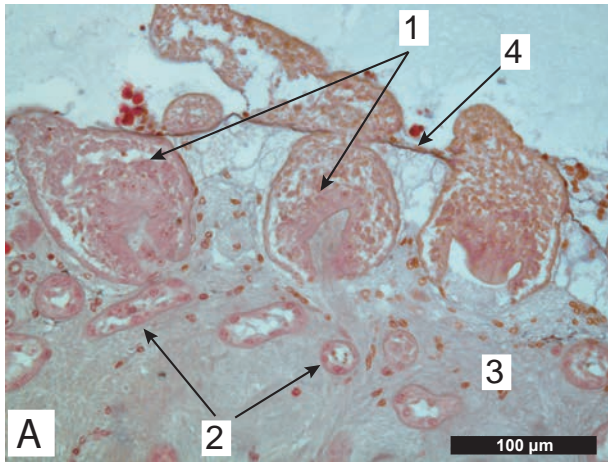


Рис. 22. А-С - Бокаловидные органы и столоны паразита *Sacculina pilosella* в толще нервного ганглия хозяина *Pugettia quadridens*. D - Нервный ствол *Pugettia quadridens* со столонем *Sacculina pilosella* внутри.

1- бокаловидные органы на периферии нервного ганглия, 2- тонкие столоны лежащие в нейропиле хозяина, 3- нервная ткань хозяина, 4- оболочка ганглия, 5- столон паразита внутри нервного ствола хозяина.

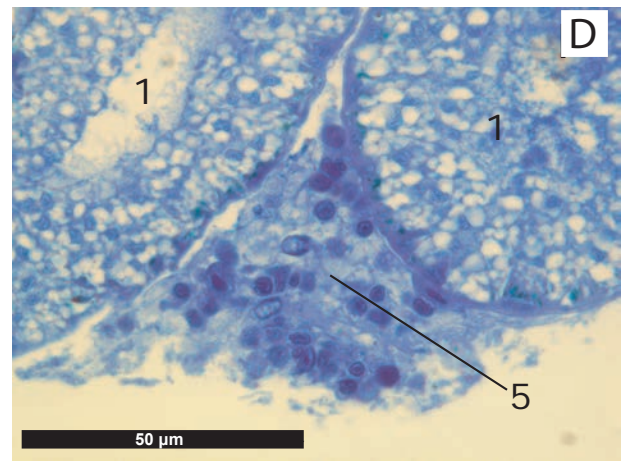
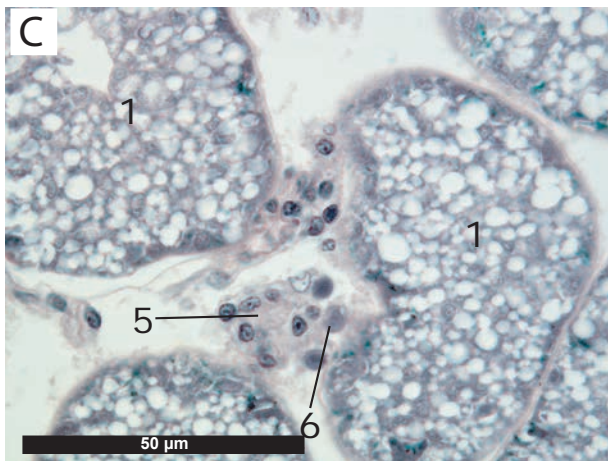
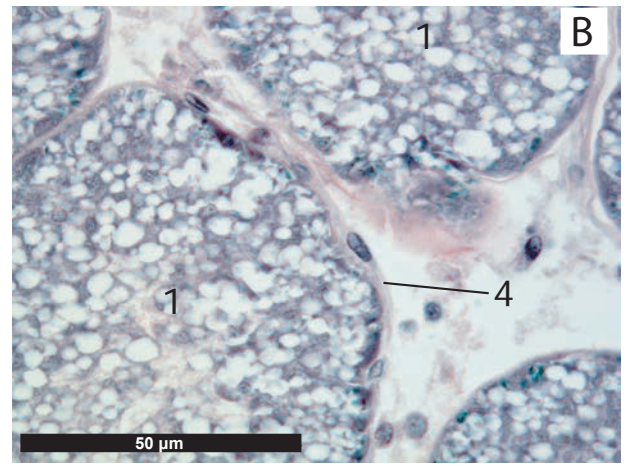
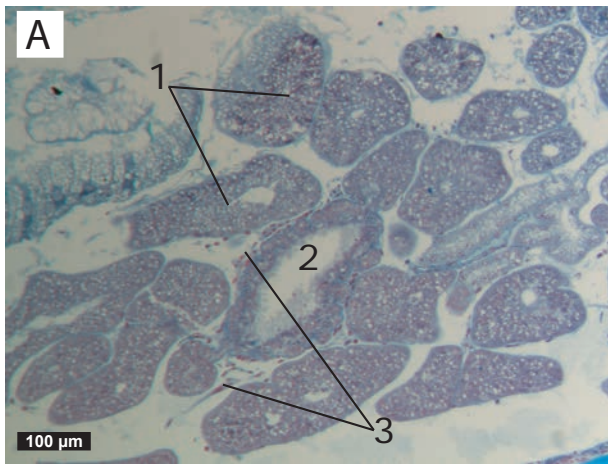


Рис. 23. А - Поперечный срез через главный стolon и периферические stolоны. В-Д - Срез через stolоны паразита и оплетающую их ткань хозяина. Масштаб 100 мкм.
 1 - периферические stolоны, 2 - главный стolon, 3 - тяжи ткани хозяина, 4 - клетка хозяина, распластанная по поверхности stolона паразита, 5 - группы клеток ткани хозяина, 6 - клетка с гранулярной цитоплазмой.

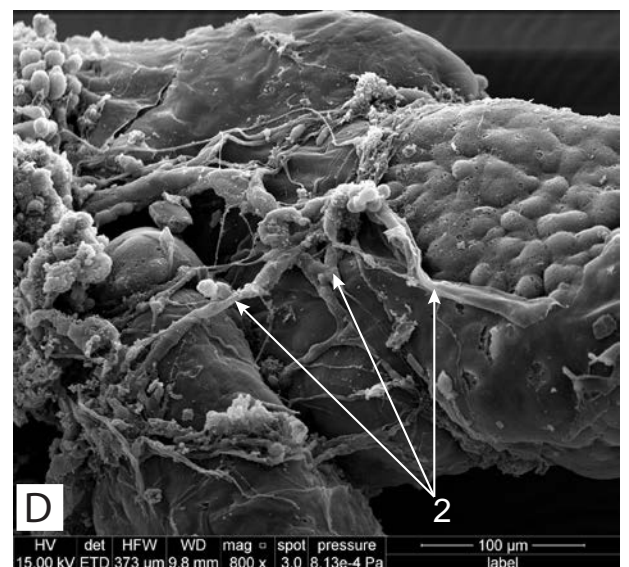
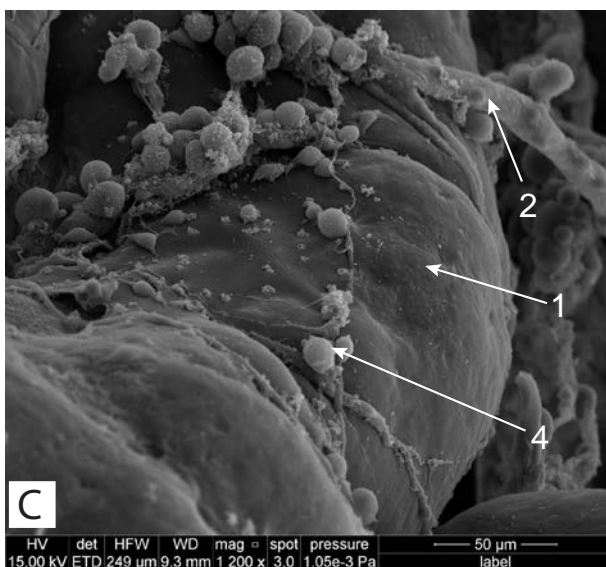
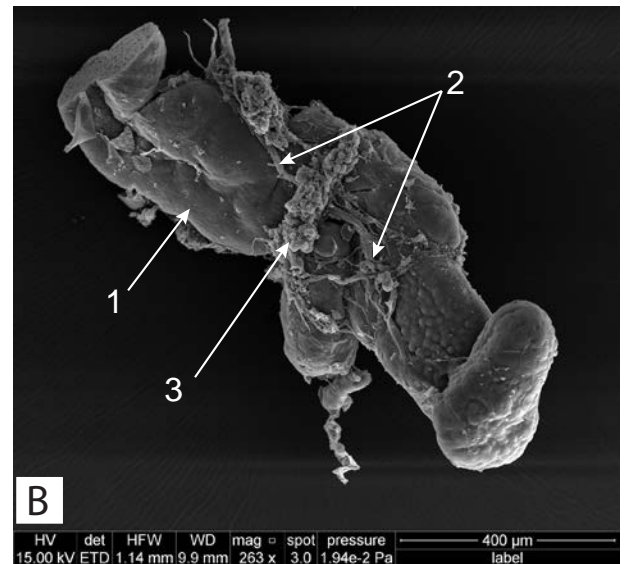


Рис. 24. А - Клетки на поверхности столонов *P. polygenea* окрашенные нитратом серебра. В, С, D - тяжи из ткани хозяина оплетающие столоны *P. paguri*. 1- стolon паразита, 2- тяжи тканей хозяина, 3- группы клеток хозяина ассоциированные с тяжами, 4- отдельные клетки на поверхности столон.

оказываются и компактные группы клеток (рис. 24В). По своим размерам и характеру расположения они похожи группы клеток, о которых было сказано ранее.

Компактные группы клеток с зернистой цитоплазмой, обнаруженные нами на сканограммах, видны так же и на фотографиях полученных с помощью конфокального микроскопа. Ядра этих клеток хорошо окрашиваются красителем Hoechst и DAPI и заметно отличаются от ядер паразита (рис. 25В).

Окраска с помощью антител к α -тубулину, серотонину и FMRF-амиду показала, что клетки и отходящие от них тяжи — это элементы нервной системы хозяина (рис. 25, 26). Серотонин-эргические нейроны как одиночные (рис. 25D), так и собранные в неправильные группы (рис. 25D) формируют диффузную сеть, оплетающую интерну паразита.

Для выявления элементов нервной системы мы произвели прижизненное окрашивание трофических столонов *Polyascus polygenea* нитратом серебра. Данная методика так же выявила наличие нервного плексуса оплетающего столон (рис. 24А).

Обсуждение

Корнеголовые ракообразные известны своей способностью брать под контроль тело хозяина. Они способны изменять морфологию, метаболизм, гормональный статус, а также и поведение хозяина (Alvarez et al., 1995; Hoeg, 1995; Bresciani, Hoeg, 2001; Walker, 2001; Alvarez et al., 2002; Bortolini, Alvarez, 2008; Kristensen et al., 2012). К сожалению, до недавнего времени было неизвестно, каким образом и с помощью каких структур происходит это тесное паразит-хозяинное взаимодействие.

В ходе данной работы удалось описать два различных типа структур, вовлеченных в прямое взаимодействие корнеголовых ракообразных и нервной системы хозяев: (1) модифицированные столон, проникающие в ганглии брюшной нервной цепочки хозяина, и (2) волокна периферической нервной системы хозяина, оплетающие трофические столон интерны.

Ранее в литературе встречались упоминания о том, что корнеголовые ракообразные способны внедряться в нервные ганглии хозяев. Так, к примеру, С. Нильсен описывал, что некоторые столон *P. paguri* и *Gemmosaccus sulcatus* ассоциированы с задней частью торакального ганглия и следующих за ним первых трех абдоминальных ганглиев нервной цепочки хозяина (Nielsen, 1970). Столон проникали под оболочку ганглия, и их концевые участки располагались в толще нервной ткани хозяина. На иллюстрациях, приведенных в этой работе (Nielsen, 1970, p. 26) хорошо видны структуры, похожие на обнаруженные нами бокаловидные органы, однако автор не приводит их описания и даже

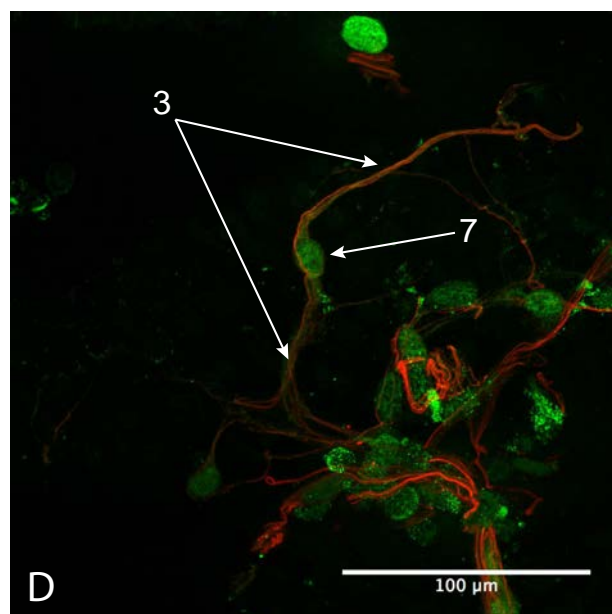
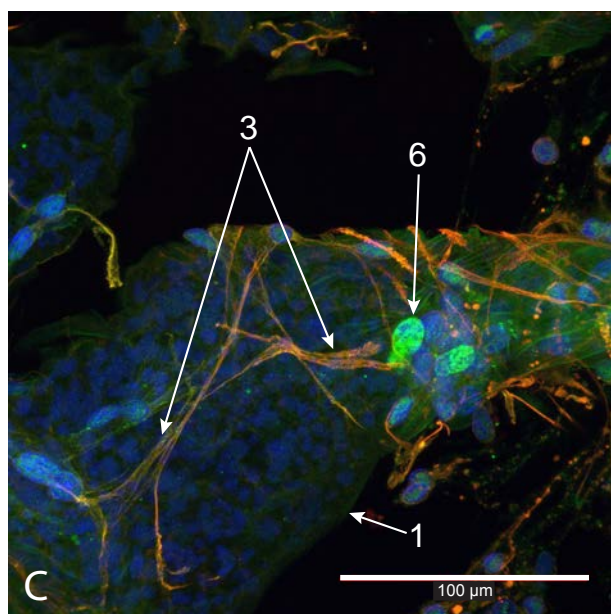
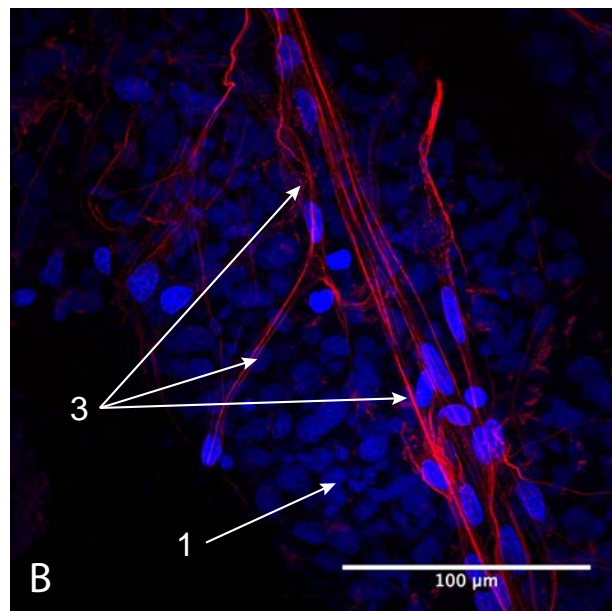
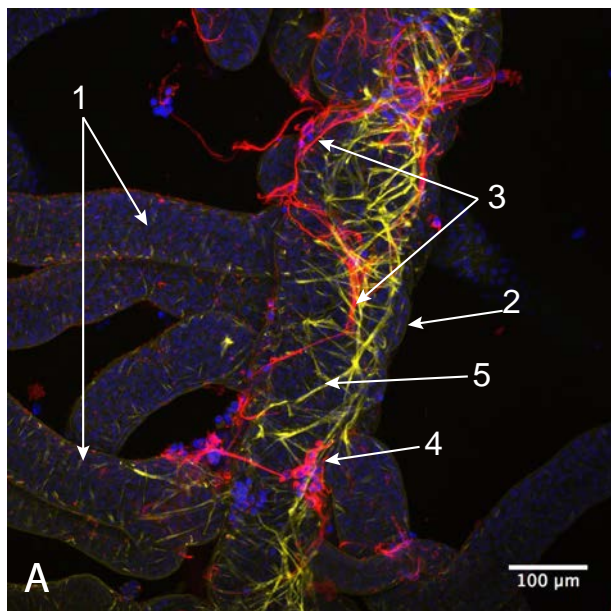


Рис. 25. А, В – Главный стolon и боковые выросты *P. paguri* оплетенные нервными волокнами хозяина, С – Нервные волокна хозяина на поверхности столонов *P. polygenea*, D – Нейрон хозяина на поверхности столона *P. paguri*.

Конфокальные Z-проекции, DAPI (синий), фаллоидин (желтый), 5HT/FMRF-амид (зеленый), α -тубулин (красный).

1- стolon паразита, 2- главный стolon, 3- нервные волокна хозяина, 4- тела клеток ассоциированные с нервными тяжами хозяина, 5- мышечные волокна, 6- тело нейрона окрашенное FMRF-амидом, 7- тело нейрона окрашенное серотонином.

не упоминает о них в своей статье. Сходные структуры были также обнаружены в толще нервной ткани ганглиев крабов, зараженных представителями семейства Sacculinidae (Rubiliani, Payen, 1979; Payen et al., 1981). Но авторы описали только гистологическое строение этих органов.

Среди различных групп паразитических организмов встречается не так много примеров, когда паразит напрямую контактирует с нервной системой хозяина. Лишь некоторые ленточные черви, трематоды, нематоды и скребни на определенных стадиях их жизненного цикла вступают во взаимодействие с центральной нервной системой хозяина (Seppälä et. al, [SEP]2004; Helluy, Holmes, [SEP]2005; Dezfuli et. al, [SEP]2007; Shaw et. al. 2008; Lafferty, Kuris 2009; Coats 2010; Poulin 2010; Goodman, Johnson, 2011; Hammond-Tooke [SEP] et. al. 2012; Lafferty, Shaw 2013; Adamo 2013). При этом перечисленные выше паразиты никогда не достигают столь высокого уровня интеграции с нервной системой хозяина, как ризоцефалы.

Следует отметить, что корнеголовые ракообразные не очень сильно снижают выживаемость хозяина (Alvarez et. al. 1995; Alvarez et. al. 2002; Bortolini, Alvarez 2008), хотя они могут занимать значительный объем тела хозяина (до 15-20%) (Nagler et. al. 2017) и значительно модифицировать его строение и метаболизм. Это связано прежде всего с тем, что жить они могут очень продолжительное время и выживание паразита напрямую зависит от выживания хозяина поэтому им не выгодно сильно вредить хозяину, что хорошо соотносится с концепцией оптимальной вирулентности. Скорее всего именно с этим и связан тот факт, что столоны паразита никогда не прорастают и не разрушают никаких внутренних органов хозяина; единственным исключением является центральная нервная система. Как было показано в данной работе, столоны некоторых видов корнеголовых (*Polyascus polygenea* и *Sacculina pilosella*) могут достигать очень высокой численности и занимать значительный объем нервной ткани (рис 8, 9). Несмотря на такое сильное поражение нервной системы, хозяин не теряет основных жизненно важных функций. Это позволяет предположить, что паразит не нарушает нормального функционирования нервной системы, а воздействует на хозяина с помощью высокоспециализированных молекулярных механизмов. Скорее всего именно близкое филогенетическое родство корнеголовых ракообразных с их хозяевами позволяет этим паразитам достигать такого высокого уровня интеграции с хозяином.

В ходе работы были описаны высокоспециализированные столоны принимающие непосредственное участие во взаимодействии между паразитом и хозяином. Часто эти столоны имеют бокаловидное строение дистального конца.

Бокаловидные органы у обоих представителей сем *Peltogastridae* значительно отличаются от трофических столонов как общей морфологией, тканевой организацией, так и ультраструктурой клеток. Подобные различия позволяют сделать вывод от том, что скорее всего эти органы выполняют функции, отличные от функций трофических столонов.

Наличие обширной каймы из микровиллей, которые лежат в субкутикулярном пространстве, и большое количество митохондрий указывают на высокий уровень транспортной активности клеток бокаловидного органа. Крупные поля шероховатого эндоплазматического ретикулума со вздутыми цистернами (рис 7) указывают на то, что и процессы синтеза идут в этих клетках крайне активно. Подобные вздутые цистерны ЭПР скорее всего являются секреторными везикулами. У представителей вида *Polyascus polygenea* в столонах, располагающихся в толще нервной ткани, обнаруживаются некоторые везикулы, окрашенные антителами к серотонину, эти везикулы по размеру и форме схожи с вздутыми цистернами ЭПР обнаруженными нами в клетках бокаловидных органов *Peltogastrella gracilis*. Скорее всего содержимое этих везикул (серотонин) секретируется в нервную ткань хозяина.

Можно предположить, что посредством этих специализированных столонов, располагающихся в толще нервной ткани хозяина, паразит может как секретировать различные вещества (предположительно нейромедиаторы и нейрогормоны), так и поглощать их из нервной ткани хозяина. К сожалению до сих пор остается неясным механизм транспорта веществ через кутикулу паразита (Bresciani, Hoeg, 2001).

Все перечисленные выше особенности столонов, находящихся в толще нервной ткани хозяина, позволяют предположить, что они в большой степени принимают участие в модификации физиологического статуса, личного цикла и поведения хозяина.

При этом наблюдались некоторые различия в строении этих столонов даже в пределах одного семейства. Бокаловидные органы у видов *P. paguri* и *P. gracilis* различаются по размеру, некоторым деталям ультраструктуры, а также по уровню воздействия на нервную ткань хозяина. Чем обусловлены эти различия – пока не очень понятно, однако можно предположить, что эти органы все же выполняют сходную функцию.

Сформированные бокаловидные органы лежат в толще нервной ткани хозяина, однако не очень понятно, каким образом они проникают под оболочку ганглия. В ходе работы были обнаружены некоторые столоны с фолликулами на дистальном конце (рис 13С). Можно предположить, что клетки фолликула выделяют какие-то вещества,

растворяющие оболочку ганглия и позволяющие столонам прорасти внутрь. Затем фолликул трансформируется в бокаловидный орган.

У представителей вида *Sacculina pilosella* также были обнаружены бокаловидные органы, расположенные по периферии нервного ганглия именно там, где лежат тела нейронов (рис 14А). Несмотря на то, что бокаловидные органы у этого вида значительно отличаются по своей морфологии от бокаловидных органов представителей семейства Peltogastridae, скорее всего они выполняют сходную функцию. Однако кроме бокаловидных органов были также обнаружены столонны, располагающиеся в центральной части ганглия (в нейропиле). К сожалению, на данный момент пока нет данных, касающихся ультраструктуры этих столоннов, поэтому делать какие-то выводы пока рано.

В отличие от *S. pilosella*, у *P. polygenea* не было обнаружено никаких структур похожих на бокаловидные органы. Вероятно, их функцию выполняют немодифицированные столонны, располагающиеся в толще нервной ткани.

В ходе работы было также обнаружено, что трофические столонны интерны у представителей всех обследованных видов (*P. paguri*, *P. gracilis*, *S. pilosella*, *P. polygenea*) оплетены сетью из тяжёлых тканей хозяина. Окраска нитратом серебра и антителами к α -тубулину и нейромедиаторам выявила нервную природу этой ткани (рис 24, 25). Таким образом был обнаружен ещё один сайт прямого контакта паразита с нервной системой хозяина (на этот раз – с периферической). Скорее всего данный контакт также принимает участие во взаимодействии паразита с хозяином. Скорее всего функции бокаловидных органов и нервного оплетения трофических столоннов различаются.

Следует отметить, что подобная реакция нервной системы на присутствие паразита не типична, вряд ли можно рассматривать этот феномен как защитную реакцию хозяина. Вероятно, паразит выделяет аналоги нейроростовых факторов и нейротрофинов хозяина и, таким образом привлекает рост нейронов. В настоящее время нами уже получен дифференциальный транскриптом представителей вида *Peltogaster reticulata*, и в дальнейшем его анализ позволит выявить потенциальные белки, секретируемые в полость хозяина и привлекающие рост нервной ткани.

Литературные данные, касающиеся собственной нервной системы взрослых корнеголовых раков, крайне скудны. Нервный ганглий был описан в экстерне (Delage, 1884), однако эти сведения довольно старые и пока не подтверждены современными методиками. Какие-либо литературные данные, описывающие нервную систему паразита в интерне, полностью отсутствуют. Нам также не удалось обнаружить никаких следов нервной системы самого паразита. Все это ставит множество новых вопросов:

1. Есть ли вообще нервная система у паразитической стадии корнеголовых раков, учитывая отсутствие окраски антителами против α -тубулина, который является основным белком цитоскелета отростков нейронов.
2. Если нервная система все же имеется, то как и из каких клеток она формируется у развивающейся интерны, или же возникает только в экстерне?
3. Каким образом происходит иннервация мышечных волокон интерны?

Глава V. Выводы

По результатам проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

- 1) Некоторые корнеголовые раки обладают развитой мышечной системой в интерне, которая, по-видимому, обеспечивает функцию распределения питательных веществ.
- 2) Мышечные системы у разных представителей корнеголовых ракообразных устроены принципиально по-разному, что, скорее всего, зависит от общей морфологии интерны:
 - a) *Peltogaster paguri* имеет однонаправленную спиральную мышечную систему, располагающуюся в стенке главного столона;
 - b) столоны интерны *Sacculina pilosella* и *Polyascus polygenea* несут звездчатые мышечные элементы, соединенные между собой тонкими сократимыми фибриллами;
 - c) у вида *Lernaeodiscus sp.* не было обнаружено никаких мышечных элементов в интерне.
- 3) В ходе работы было обнаружено два сайта прямого контакта корнеголовых ракообразных с нервной системой хозяина.
 - a) Все обследованные виды корнеголовых ракообразных имеют специализированные столоны, ассоциированные с нервной системой хозяина.
 - i) У представителей семейства Peltogastridae (*Peltogastrella grasilis* и *Peltogaster paguri*) обнаружены специализированные бокаловидные органы на концевых участках столон, располагающихся в толще нервной ткани хозяина.
 - ii) Интерна *Sacculina pilosella* так же несет бокаловидные органы на дистальных участках столон по периферии нервного ганглия хозяина. Кроме бокаловидных органов были обнаружены тонкие морфологически не модифицированные столоны в нейропиле ганглия.
 - iii) У представителей вида *Polyascus polygenea* бокаловидные органы обнаружены не были. Зато во множестве выявлены тонкие, морфологически не модифицированные столоны, пронизывающие всю толщу ганглия хозяина.
 - b) Трофические столоны всех обследованных видов корнеголовых ракообразных оплетены сетью из тяжелой нервной ткани хозяина. Некоторые из этих нейронов окрашивались антителами против серотонина и FMRF-амида.

Глава VI. Заключение

В данном исследовании нам удалось обнаружить и описать мышечные системы в интерне у нескольких видов корнеголовых ракообразных. В литературе какие-либо данные о строении мышечных систем в интерне отсутствовали. Более того, большинство авторов статей, касающихся морфологии этих животных, вообще игнорировали вопрос наличия каких-либо сократимых элементов в интерне. Поэтому данное исследование является первой работой такого рода, проведенной на представителях группы корнеголовых раков.

Мы предполагаем, что мышечные системы, обнаруженные в интерне у нескольких видов корнеголовых ракообразных, выполняют распределительную функцию. Они обеспечивают перистальтику столонов и тем самым осуществляют транспорт питательных веществ в центральном канале.

Согласно данным о жизненном цикле *Rhizocephala* мышечная система не наследуется взрослым организмом от личинки. Таким образом получается, что у этих животных мышечная система возникает дважды в течении одного онтогенеза. И если мышечная система личинки ничем принципиально не отличается от таковой у свободноживущих родственников, то архитектоника мышечной системы взрослого организма не имеет каких-либо аналогов среди известных групп Metazoa. Скорее всего, мышечная система взрослого организма сравнительно молодая с эволюционной точки зрения. Это может также объяснить и обнаруженные принципиальные различия в строении мышечных систем интерны у представителей разных семейств корнеголовых, которые указывают на высокую эволюционную пластичность этих структур.

Полученные результаты ставят множество новых вопросов и открывают поле для дальнейших исследований эволюционных тенденций в развитии мышечных систем среди всех представителей корнеголовых ракообразных.

Так же в данном исследовании нам удалось обнаружить и описать морфологические структуры, участвующие в прямом контакте корнеголовых ракообразных с нервной системой хозяина. Были выявлены как столоны паразита, внедряющиеся в ганглии нервной системы хозяина, так и фрагменты периферической нервной системы хозяина, самостоятельно оплетающие трофические столоны паразита. Мы предполагаем, что все эти структуры принимают непосредственное участие в сложных паразито-хозяинных взаимодействиях. Полученные результаты открывают возможность для дальнейшего более углубленного изучения механизмов воздействия паразита на хозяина уже с применением молекулярных и биохимических методик.

Список литературы

1. Догель В. А., 1947. Зоология беспозвоночных. М. 4 изд.
2. Исаева В. В., Шукалюк А. И., Кизилова Е. А. Выявление стволовых клеток в колониальной интерне корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis* и *Sacculina polygenea* на паразитической стадии жизненного цикла //Цитология. – 2003. – Т. 45. – №. 8. – С. 758-763.
3. Марченков А. В. Особенности паразитизма веслоногих и корнеголовых раков //Паразитология. – 2001. – Т. 35. – №. 2. – С. 89-97.
4. Adamo S. A. Parasites: evolution's neurobiologists //Journal of Experimental Biology. – 2013. – Т. 216. – №. 1. – С. 3-10.
5. Alvarez F., Alcaraz G., Robles R. Osmoregulatory disturbances induced by the parasitic barnacle *Loxothylacus texanus* (Rhizocephala) in the crab *Callinectes rathbunae* (Portunidae) //Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 2002. – Т. 278. – №. 2. – С. 135-140.
6. Alvarez F., Bortolini J. L., Høeg J. T. Anatomy of virgin and mature externae of *Loxothylacus texanus*, parasitic on the dark blue crab *Callinectes rathbunae* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae) //Journal of morphology. – 2010. – Т. 271. – №. 2. – С. 190-199.
7. Alvarez F., Hines A. H., Reaka-Kudla M. L. The effects of parasitism by the barnacle *Loxothylacus panopaei* (Gissler)(Cirripedia: Rhizocephala) on growth and survival of the host crab *Rhithropanopeus harrisi* (Gould)(Brachyura: Xanthidae) //Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 1995. – Т. 192. – №. 2. – С. 221-232.
8. Belgrad B. A., Griffen B. D. Rhizocephalan infection modifies host food consumption by reducing host activity levels //Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 2015. – Т. 466. – С. 70-75.
9. Bishop R. K., Cannon L. R. G. Morbid behaviour of the commercial sand crab, *Portunus pelagicus* (L.), parasitized by *Sacculina granifera* Boschma, 1973 (Cirripedia: Rhizocephala) //Journal of Fish Diseases. – 1979. – Т. 2. – №. 2. – С. 131-144.
10. Bocquet-Védrine J., Chassard-Bouchaud C., Hubert M. Ultrastructure et fonction d'absorption du tégument des racines de la Sacculine (Crustacé Cirripède parasite) //Biol Cell. – 1977. – Т. 30. – С. 165-170.
11. Bortolini J. L., Alvarez F. Hepatopancreas alteration of the blue crab *Callinectes sapidus* by the rhizocephalan barnacle *Loxothylacus texanus* //Journal of invertebrate pathology. – 2008. – Т. 99. – №. 3. – С. 354-356.

12. Boyko C. B., Harvey A. W. A review of the family Lernaediscidae (Cirripedia: Rhizocephala). I. The genus *Lernaediscus* Müller, 1862: new synonymy, hosts, range extensions, and the description of a new species // *Journal of Crustacean Biology*. – 2000. – T. 20. – №. 4. – C. 663-673.
13. Bresciani J., Høeg J. T. Comparative ultrastructure of the root system in rhizocephalan barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Journal of Morphology*. – 2001. – T. 249. – №. 1. – C. 9-42.
14. Coats J., Poulin R., Nakagawa S. The consequences of parasitic infections for host behavioural correlations and repeatability // *Behaviour*. – 2010. – C. 367-382.
15. Collis S. A., Walker G. The morphology of the naupliar stages of *Sacculina carcini* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Acta Zoologica*. – 1994. – T. 75. – №. 4. – C. 297-303.
16. Delage Y. Évolution de la Sacculine (*Sacculina carcini* Thomps.) crustacé endoparasite de l'ordre nouveau des kentrogonides // *Archives de Zoologie experimentale et generale*. – 1884. – T. 2. – C. 417-436.
17. Dezfuli B. S. et al. Histopathological and ultrastructural observations of metacercarial infections of *Diplostomum phoxini* (Digenea) in the brain of minnows *Phoxinus phoxinus* // *Diseases of aquatic organisms*. – 2007. – T. 75. – №. 1. – C. 51-59.
18. Dornesco G. T., Fischer-Piette E. Données cytologiques sur les “racines” de la Sacculine, crustacé parasite // *Bull Histol Appl*. – 1931. – T. 8. – C. 213-221.
19. Glenner H. Cypris metamorphosis, injection and earliest internal development of the Rhizocephalan *Loxothylacus panopaei* (Gissler). Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae // *Journal of morphology*. – 2001. – T. 249. – №. 1. – C. 43-75.
20. Glenner H. et al. Cypris ultrastructure, metamorphosis and sex in seven families of parasitic barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Acta Zoologica*. – 1989. – T. 70. – №. 4. – C. 229-242.
21. Glenner H. et al. Invasive vermigon stage in the parasitic barnacles *Loxothylacus texanus* and *L. panopaei* (Sacculinidae): closing of the rhizocephalan life-cycle // *Marine Biology*. – 2000. – T. 136. – №. 2. – C. 249-257.
22. Glenner H. et al. The monophyletic origin of a remarkable sexual system in akentrogonid rhizocephalan parasites: a molecular and larval structural study // *Experimental parasitology*. – 2010. – T. 125. – №. 1. – C. 3-12.
23. Glenner H., Hebsgaard M. B. Phylogeny and evolution of life history strategies of the parasitic barnacles (Crustacea, Cirripedia, Rhizocephala) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2006. – T. 41. – №. 3. – C. 528-538.

24. Glenner H., Høeg J. T. A new motile, multicellular stage involved in host invasion by parasitic barnacles (Rhizocephala) //Nature. – 1995. – T. 377. – №. 6545. – C. 147.
25. Glenner H., Høeg J. T. Metamorphosis in the Cirripedia Rhizocephala and the homology of the kentrogon and trichogon //Zoologica Scripta. – 1994. – T. 23. – №. 2. – C. 161-173.
26. Goodman B. A., Johnson P. T. J. Disease and the extended phenotype: parasites control host performance and survival through induced changes in body plan //PLoS One. – 2011. – T. 6. – №. 5. – C. e20193.
27. Hammond-Tooke C. A., Nakagawa S., Poulin R. Parasitism and behavioural syndromes in the fish *Gobiomorphus cotidianus* //Behaviour. – 2012. – C. 601-622.
28. Helluy S., Holmes J. C. Parasitic manipulation: further considerations //Behavioural processes. – 2005. – T. 68. – №. 3. – C. 205-210.
29. Høeg J. T. et al. Metamorphosis in balanomorphan, pedunculated, and parasitic barnacles: a video-based analysis. – 2012.
30. Høeg J. T. The biology and life cycle of the Rhizocephala (Cirripedia) //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 1995. – T. 75. – №. 3. – C. 517-550.
31. Høeg J. T. The phylogenetic position of the Rhizocephala: are they truly barnacles? //Acta Zoologica. – 1992. – T. 73. – №. 5. – C. 323-326.
32. Høeg J. T., Lützen J. Comparative morphology and phylogeny of the family Thompsoniidae (Cirripedia, Rhizocephala, Akentrogonida), with descriptions of three new genera and seven new species //Zoologica Scripta. – 1993. – T. 22. – №. 4. – C. 363-386.
33. Høeg J. T., Rybakov A. V. Cypris larvae in *Polysaccus mediterraneus* and *Mycetomorpha vancouverensis*: their importance in analyzing the phylogeny and sexual evolution of parasitic barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) //Israel Journal of Ecology and Evolution. – 2007. – T. 53. – №. 1. – C. 9-31.
34. Høeg J., Hosfeld B., Jensen P. G. TEM studies on the lattice organs of cirripede cypris larvae (Crustacea, Thecostraca, Cirripedia) //Zoomorphology. – 1998. – T. 118. – №. 4. – C. 195-205.
35. Innocenti G., Pinter N., Galil B. S. Observations on the agonistic behavior of the swimming crab *Charybdis longicollis* Leene infected by the rhizocephalan barnacle *Heterosaccus dollfusi* Boschma //Canadian Journal of Zoology. – 2003. – T. 81. – №. 1. – C. 173-176.

36. Jespersen A., Lützen J., 1992. *Thompsonia dofleinia* colonial akentrogonid rhizocephalan with dimorphic, ova- or sperm-producing, externae (Crustacea, Cirripedia). *Zoomorphology* 112, 105-116.
37. Korn O. M., Rybakov A. V. Larval development in the rhizocephalan barnacle *Sacculina pilosella* //Russian Journal of Marine Biology. – 2001. – T. 27. – №. 3. – C. 177-179.
38. Korn O. M., Rybakov A. V., Kashenko S. D. Larval development of the rhizocephalan *Sacculina polygenea* (Crustacea: Cirripedia) //Russian Journal of Marine Biology. – 2000. – T. 26. – №. 5. – C. 373-377.
39. Kristensen T. et al. The selective advantage of host feminization: a case study of the green crab *Carcinus maenas* and the parasitic barnacle *Sacculina carcini* //Marine biology. – 2012. – T. 159. – №. 9. – C. 2015-2023.
40. Lafferty K. D., Kuris A. M. Parasitic castration: the evolution and ecology of body snatchers //Trends in parasitology. – 2009. – T. 25. – №. 12. – C. 564-572.
41. Lafferty K. D., Shaw J. C. Comparing mechanisms of host manipulation across host and parasite taxa //Journal of Experimental Biology. – 2013. – T. 216. – №. 1. – C. 56-66.
42. Lagersson N. C. The ultrastructure of two types of muscle fibre cells in the cyprid of *Balanus amphitrite* (Crustacea: Cirripedia) //Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. – 2002. – T. 82. – №. 4. – C. 573-578.
43. Larsen M. H., Høeg J. T., Mouritsen K. N. Influence of infection by *Sacculina carcini* (Cirripedia, Rhizocephala) on consumption rate and prey size selection in the shore crab *Carcinus maenas* //Journal of experimental marine biology and ecology. – 2013. – T. 446. – C. 209-215.
44. Lützen J. Ø. et al. *Thompsonia dofleini*, a colonial akentrogonid rhizocephalan with dimorphic, ova-or sperm-producing, externae (Crustacea, Cirripedia) //Zoomorphology. – 1992. – T. 112. – №. 2. – C. 105-116.
45. Lützen J. Observations on the rhizocephalan barnacle *Sylon hippolytes* M. Sars parasitic on the prawn *Spirontocaris lilljeborgi* (Danielssen) //Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 1981. – T. 50. – №. 2-3. – C. 231-254.
46. Lützen J., Jensen K. H., Glenner H. Life history of *Sacculina carcini* Thompson, 1836 (Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae) and the intermolt cycle of its host, the shore crab *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758)(Decapoda: Brachyura: Carcinidae) //Journal of Crustacean Biology. – 2018. – T. 38. – №. 4. – C. 413-419.
47. Lützen J., Jespersen Å. A study of the morphology and biology of *Thompsonia littoralis* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) //Acta Zoologica. – 1992. – T. 73. – №. 1. – C. 1-23.

48. Lützen J., Pham Thi Du, 1999. Three colonial Rhizocephalans from Mantis shrimps and a crab in VietNam, Including *Pottsiaserenei*, new species (Cirripedia: Rhizocephala: Thomsoniidae). *Journal of Crustacean Biology*. 19, 4, 902-907.
49. Lützen J., Takahashi T. Morphology and biology of *Polysaccus japonicus* (Crustacea, Rhizocephala, Akentrogonida, Polysaccidae, fam. n.), a parasite of the ghost-shrimp *Callinassa japonica* // *Zoologica Scripta*. – 1996. – T. 25. – №. 2. – C. 171-181.
50. Lützen J., ThiDu P. Three colonial rhizocephalans from mantis shrimps and a crab in Vietnam, including *Pottsia serenei*, new species (Cirripedia: Rhizocephala: Thomsoniidae) // *Journal of Crustacean Biology*. – 1999. – T. 19. – №. 4. – C. 902-907.
51. Mouchel-Vielh E. et al. Molecules and the Body Plan: TheHoxGenes of Cirripedes (Crustacea) // *Molecular phylogenetics and evolution*. – 1998. – T. 9. – №. 3. – C. 382-389.
52. Müller F. 1862. Die Rhizocephalan, eine neue Gruppe schmarotzender Kruster. *Arch Naturgesch*. 28: 1–9.
53. Nagler C. et al. The bigger, the better? Volume measurements of parasites and hosts: Parasitic barnacles (Cirripedia, Rhizocephala) and their decapod hosts // *PloS one*. – 2017. – T. 12. – №. 7. – C. e0179958.
54. Nielsen S. O. The effects of the rhizocephalan parasites *Peltogaster paguri* Rathke and *Gemmosaccus sulcatus* (Lilljeborg) on five species of paguridan hosts (Crustacea Decapoda) // *Sarsia*. – 1970. – T. 42. – №. 1. – C. 17-32.
55. Payen G. G. et al. Infestations expérimentales de crabes juvéniles par la sacculine. Ultrastructure des racines parasitaires en croissance et relations avec la niasse ganglionnaire ventrale de l'hôte // *Canadian Journal of Zoology*. – 1981. – T. 59. – №. 9. – C. 1818-1826.
56. Pérez C. Sur les racines des Rhizocéphales // *Comptes Rendus du XIIe Congres International de Zoologie*, 1937. – 1937.
57. Pérez-Losada M. et al. Reanalysis of the relationships among the Cirripedia and the Ascothoracida and the phylogenetic position of the Facetotecta (Maxillopoda: Thecostraca) using 18S rDNA sequences // *Journal of Crustacean Biology*. – 2002. – T. 22. – №. 3. – C. 661-669.
58. Pérez-Losada M. et al. The tempo and mode of barnacle evolution // *Molecular phylogenetics and evolution*. – 2008. – T. 46. – №. 1. – C. 328-346.
59. Pérez-Losada M., Høeg J. T., Crandall K. A. Deep phylogeny and character evolution in Thecostraca (Crustacea: Maxillopoda) // *Integrative and comparative biology*. – 2012. – T. 52. – №. 3. – C. 430-442.

60. Pérez-Miguel M., Drake P., Cuesta J. A. Experimental predatory behavior of the stone crab *Eriphia verrucosa* (Forskål, 1775)(Decapoda, Brachyura, Eriphiidae) //Nauplius. – 2017. – T. 25.
61. Poulin R. Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions //Advances in the Study of Behavior. – Academic Press, 2010. – T. 41. – C. 151-186.
62. Rees D. J. et al. On the origin of a novel parasitic-feeding mode within suspension-feeding barnacles //Current Biology. – 2014. – T. 24. – №. 12. – C. 1429-1434.
63. Robles R., Alvarez F., Alcaraz G. Oxygen consumption of the crab *Callinectes rathbunae* parasitized by the rhizocephalan barnacle *Loxothylacus texanus* as a function of salinity //Marine Ecology Progress Series. – 2002. – T. 235. – C. 189-194.
64. Rubiliani C., Payen G. G. Modalités de la destruction des régions neurosécrétrices des crabes *Carcinus maenas* (L.) et *C. mediterraneus* Czerniavsky infestés par la sacculine //General and Comparative Endocrinology. – 1979. – T. 38. – №. 2. – C. 215-228.
65. Rybakov A. V. et al. Larval development in *Peltogasterella* studied by scanning electron microscopy (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) //Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology. – 2002. – T. 241. – №. 3. – C. 199-221.
66. Rybakov A. V., Høeg J. T. The ultrastructure of retinacula in the Rhizocephala (Crustacea: Cirripedia) and their systematic significance //Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology. – 2002. – T. 241. – №. 2. – C. 95-103.
67. Semmler H. et al. Immunocytochemical studies on the naupliar nervous system of *Balanus improvisus* (Crustacea, Cirripedia, Thecostraca) //Arthropod structure & development. – 2008. – T. 37. – №. 5. – C. 383-395.
68. Semmler H. et al. Preliminary results on the anatomy of the larval musculature of *Balanus improvisus* (Darwin, 1854)(Crustacea: Cirripedia: Thecostraca) using phalloidin staining in combination with confocal laserscanning microscopy //Invertebrate Reproduction & Development. – 2006. – T. 49. – №. 3. – C. 207-212.
69. Semmler H. et al. Three-dimensional reconstruction of the naupliar musculature and a scanning electron microscopy atlas of nauplius development of *Balanus improvisus* (Crustacea: Cirripedia: Thoracica) //Arthropod structure & development. – 2009. – T. 38. – №. 2. – C. 135-145.
70. Seppälä O., Karvonen A., Valtonen E. T. Parasite-induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke–fish interaction //Animal Behaviour. – 2004. – T. 68. – №. 2. – C. 257-263.

71. Shaw J. C. et al. Parasite manipulation of brain monoamines in California killifish (*Fundulus parvipinnis*) by the trematode *Euhaplorchis californiensis* //Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2008. – T. 276. – №. 1659. – C. 1137-1146.
72. Shirley S. M., Shirley T. C., Meyers T. R. Hemolymph responses of Alaskan king crabs to rhizocephalan parasitism //Canadian journal of zoology. – 1986. – T. 64. – №. 8. – C. 1774-1781.
73. Shukalyuk A. I. et al. Stem cells in the reproductive strategy of colonial rhizocephalan crustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) //Invertebrate Reproduction & Development. – 2005. – T. 48. – №. 1-3. – C. 41-53.
74. Shukalyuk A. I. Organization of interna in *Sacculina polygenea* (Crustacea: Rhizocephala) //Russian Journal of Marine Biology. – 2002. – T. 28. – №. 5. – C. 329-335.
75. Shukalyuk A. I. Organization of interna in *Sacculina polygenea* (Crustacea: Rhizocephala) //Russian Journal of Marine Biology. – 2002. – T. 28. – №. 5. – C. 329-335.
76. Shukalyuk A. I., Baiborodin S. I., Isaeva V. V. Organization of the Interna of the Rhizocephalan Barnacle *Peltogasterella gracilis* //Russian Journal of Marine Biology. – 2001. – T. 27. – №. 2. – C. 113-115.
77. Spears T., Abele L. G., Applegate M. A. Phylogenetic study of cirripedes and selected relatives (Thecostraca) based on 18S rDNA sequence analysis //Journal of Crustacean Biology. – 1994. – T. 14. – №. 4. – C. 641-656.
78. Takahashi T., Iwashige A., Matsuura S. Behavioral manipulation of the shore crab, *Hemigrapsus sanguineus* by the rhizocephalan barnacle, *Sacculina polygenea* //Crustacean Research. – 1997. – T. 26. – C. 153-161.
79. Toscano B. J., Newsome B., Griffen B. D. Parasite modification of predator functional response //Oecologia. – 2014. – T. 175. – №. 1. – C. 345-352.
80. Vázquez-López H. et al. Affection of Swimming Capacity in *Callinectes Rathbunae* (Crustacea: Brachyura) Caused by *Loxothylacus Texanus* (Crustacea: Rhizocephala) //Research Journal of Fisheries and Hydrobiology. – 2010. – T. 5. – №. 2. – C. 76-80.
81. Vázquez-López H. et al. Observations on the behavior of the dark crab *Callinectes rathbunae* Contreras parasitized with the rhizocephalan *Loxothylacus texanus* Boschma. – 2006.
82. Walker G. Introduction to the rhizocephala (Crustacea: Cirripedia) //Journal of morphology. – 2001. – T. 249. – №. 1. – C. 1-8.

83. Walossek D., Høeg J. T., Shirley T. C. Larval development of the rhizocephalan cirripede *Briarosaccus tenellus* (Maxillopoda: Thecostraca) reared in the laboratory: a scanning electron microscopy study // *Hydrobiologia*. – 1996. – T. 328. – №. 1. – C. 9-47.
84. Yamaguchi S., Høeg J. T., Iwasa Y. Evolution of sex determination and sexually dimorphic larval sizes in parasitic barnacles // *Journal of theoretical biology*. – 2014. – T. 347. – C. 7-16.
85. Yoshida R. et al. A new genus and two new species of Peltogastridae (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) parasitizing hermit crabs from Okinawa Island (Ryukyu Archipelago, Japan), and their DNA-barcodes // *Zoological science*. – 2011. – T. 28. – №. 11. – C. 853-863.
86. Zacher L. S., Horstmann L., Hardy S. M. A field-based study of metabolites in sacculinized king crabs *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) and *Lithodes aequispinus* Benedict, 1895 (Decapoda: Anomura: Lithodidae) // *Journal of Crustacean Biology*. – 2018. – T. 38. – №. 6. – C. 794-803.