

О ПАРАЗИТИРОВАНИИ МИКРОСПОРИДИЙ
(MICROSPORIDIA, NOSEMATIDAE)
В ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКОЛЕНИЯХ
И ЦЕРКАРИЯХ ТРЕМАТОД ИЗ ПРЕСНОВОДНЫХ
МОЛЛЮСКОВ

В. Н. Воронин

Государственный научно-исследовательский институт
озерного и речного рыбного хозяйства (ГосНИОРХ), Ленинград

В статье дается описание трех видов микроспоридий из партеногенетических поколений и церкарий трематод, два из которых являются новыми. Обсуждается систематическое положение этих видов простейших в свете последних изменений в диагнозе рода *Nosema*.

Летом 1970 г. при изучении церкарий и партенит трематод из моллюсков оз. Долгого Ленинградской области было обнаружено, что они в некоторых случаях заражены микроспоридиями (Воронин, 1971). В дальнейшем в нашем распоряжении оказался материал еще по двум видам микроспоридий из трематод. Простейшие отряда *Microsporidia* известны как гиперпаразиты круглых и плоских червей уже с конца прошлого века. В работах Дольфуса (Dollfus, 1946), Вайзера (Weiser, 1951) и Диссенайк (Dissanaike, 1957) дан обзор этих микроспоридий. Кроме того, данные по этим простейшим из трематод и их личинок суммированы в статьях Спрэга (Sprague, 1964), Каннинг и Баш (Canning a. Basch, 1968), Шигиной и Грובה (1972).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Партеногенетические поколения и церкарии трематод из моллюсков четырех видов (*Lymnaea palustris* Müll., *L. stagnalis* L., *L. ovata* Drap. и *Coretus corneus* L.) из оз. Долгого Ленинградской области были исследованы на зараженность их микроспоридиями. С 1970 по 1972 г. было просмотрено 1452 моллюска, которые выделяли 12 видов церкарий, принадлежащих к 7 семействам: *Plagiorchiidae* (3), *Echinostomatidae* (2), *Diplostomatidae* (2), *Strigeidae* (1), *Schistosomatidae* (2), *Azygiidae* (1) и *Notocotylidae* (1). Микроспоридиями были заражены только партениты и церкарии двух видов трематод сем. *Plagiorchiidae* и одного вида сем. *Echinostomatidae* из моллюска *Lymnaea palustris*.

В конце 1972—начале 1973 г. было исследовано 23 моллюска *Melanopsis praemorsa* L., выделяющих церкарии вида *Cercaria rhionica* VIII Olenov et Dobrovolskiy. Эти моллюски были собраны в долине р. Риони Западного Кавказа А. А. Добровольским из Ленинградского университета и переданы им в наше распоряжение, за что приносим ему большую благодарность. Спороцисты и очень редко церкарии данного вида трематод были поражены микроспоридиями.

Из пищеварительной железы моллюсков, зараженных партенитами трематод, в свою очередь пораженными простейшими, готовили мазки

и срезы. Мазки фиксировали в метаноле и окрашивали по Романовскому-Гимза. Срезы толщиной 5—6 мк окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну, либо по Романовскому-Гимза. Для выявления слизистых капсул у спор приготавливали тушевые препараты. В этих же препаратах в пузырьках воздуха наблюдали выброс полярных нитей. С помощью окуляр-микрометра было промерено по 50 живых и окрашенных спор каждого вида микроспоридий. Были проведены также опыты по определению продолжительности жизненного цикла простейших из партенит трематод сем. *Plagiorchiidae*. В экспериментах использовали моллюсков из тех же биотопов, где были обнаружены и зараженные особи. Условно свободными от гиперпаразитов считали тех моллюсков, из которых примерно в течение недели выходили церкарии, не зараженные микроспоридиями. В 12 опытах было использовано 44 моллюска *L. palustris*. В течение нескольких часов им скармливали пищеварительную железу моллюска, в которой находились спороцисты и церкарии, содержащие споры микроспоридий. Через сутки после заражения начинали тщательный просмотр церкарий, выходящих из подопытных моллюсков. Окончательно вопрос о заражении партенит простейшими решался путем вскрытия моллюсков. В целях определения специфичности этого же вида микроспоридий были сделаны попытки заразить таким путем церкарии, спороцисты или редии пяти других видов трематод, которые в природе были свободны от микроспоридий. Для этой цели использовали моллюсков *L. palustris*, выделяющих церкарии сем. *Diplostomatidae*, *L. stagnalis*, продуцирующих церкарии сем. *Echinostomatidae* и *Notocotylidae*, и *C. corneus*, зараженных партенитами сем. *Plagiorchiidae* и *Diplostomatidae*.

Nosema xiphidiocercariae sp. n.

Х о з я и н: спороцисты, церкарии и метацеркарии двух видов трематод сем. *Plagiorchiidae* из моллюска *Lymnaea palustris* Müll. **Л о к а л и з а ц и я:** клетки зародышевых шаров и эмбрионов церкарий и клетки паренхимы спороцист, церкарий и метацеркарий. **М е с т о о б н а р у ж е н и я:** оз. Долгое Ленинградской области. **Ч а с т о т а в с т р е ч а е м о с т и:** в 1970 г. партениты и церкарии двух видов трематод в 15 из 39 зараженных ими моллюсков были инвазированы микроспоридиями (38%). В 1971—1972 гг. интенсивность заражения гиперпаразитами составила соответственно 16 и 29%. Наблюдали как единичное, так и почти 100% поражение спороцист и церкарий.

Размер спор микроспоридий из трематод (в мк)

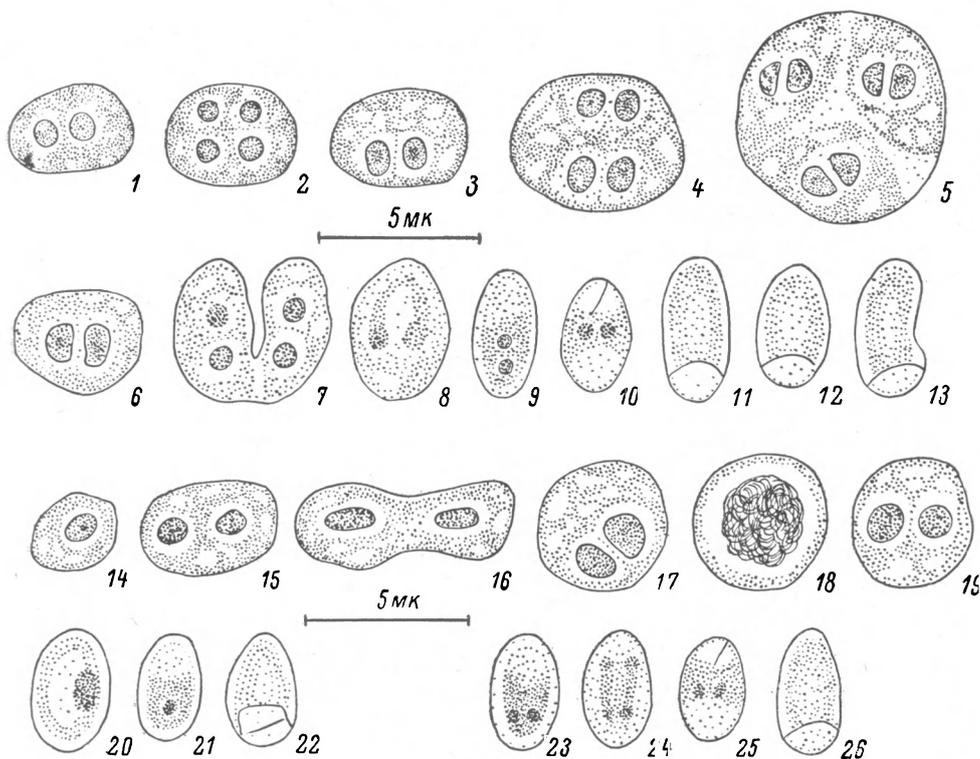
Состояние спор	<i>Nosema xiphidiocercariae</i> sp. n.	<i>Nosema rhionicae</i> sp. n.	<i>Nosema echinostomi</i>
Живые	4.5 (3.8—5.2)× 2.3 (1.9—2.4)	4.3 (4.0—4.7)× ×2.85 (2.7—3.1)	4.7 (4.3—5.2)× ×2.8 (2.6—3.0)
Окрашенные по Романовскому-Гимза	4.0 (4.3—3.5)× ×2.3 (2.0—2.4)	4.0 (3.8—4.3)× ×2.75 (2.6—3.1)	4.2 (4.4—3.9)× ×2.8 (2.7—3.0)
Окрашенные железным гематоксилином	3.6 (3.2—4.1)× ×2.0 (1.6—2.2)	—	3.7 (3.4—4.1)× ×2.0 (1.7—2.2)

О п и с а н и е в и д а. На мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза, удалось проследить некоторые стадии жизненного цикла этого гиперпаразита (рис. 1—13). По характеру окраски цитоплазмы, форме и расположению ядер можно было выделить два типа меронтов. Для меронтов первого типа характерны небольшие размеры, темно-фиолетовая окраска цитоплазмы и наличие двух, реже одного ядра. Меронты второго типа имели более светлую цитоплазму, 2, 4, редко 6 ядер, которые часто лежали парами. Двухъядерные споробласты и споры лежали в мазках поодиночке, что позволило отнести этот вид к роду *Nosema*.

Живые, вариабельные по размерам и форме споры имели на более

широком конце хорошо видимую вакуоль. Длина полярной нити достигала 90—110 мк. Размер живых и окрашенных спор приведен в таблице.

П а т о г е н е з. Зараженные спороцисты теряли свою обычную желтую окраску, становились белыми, иногда деформированными. Сильно пораженные зародышевые клеточки и эмбрионы церкарий, представляя собою мешок со спорами паразита, теряли способность к дальнейшему развитию. Однако некоторые слабо инвазированные церкарии все же выходили из моллюсков в воду. На теле и хвосте таких церкарий споры микроспоридий лежали в виде скоплений, образующих опухолевидные возвышения, а иногда располагались и в просвете экскреторного пузыря.



Стадии развития и споры микроспоридий из трематод.

Nosema xiphidiaercariae sp. n. (1—13): 1—5 — шизонты; 6—7 — споронты; 8 — споробласт; 9 — спора, окрашенная по Романовскому-Гимза; 10 — спора, окрашенная железным гематоксилином; 11—13 — живые споры. *Nosema rhionicae* sp. (14—22): 14—16 — шизонты; 17 — диплокарион; 18 — зигота; 19 — споронт; 20 — споробласт; 21 — спора, окрашенная по Романовскому-Гимза; 22 — живая спора. *Nosema echinostomi* (23—26): 23—24 — споры, окрашенные по Романовскому-Гимза; 25 — спора, окрашенная железным гематоксилином; 26 — живая спора.

Обычно лишь 1—2% выходящих из моллюска церкарий было заражено гиперпаразитами.

П р о д о л ж и т е л ь н о с т ь р а з в и т и я. Опыты по заражению партенит двух видов трематод микроспоридиями показали, что жизненный цикл паразита протекает довольно быстро. Уже на 6—7-й день после скармливания моллюскам инфицированного материала из них выходили церкарии со зрелыми спорами простейших. Если моллюсков помещали на длительное время в холодильник, то церкарии, не выходя из спороцист, превращались в метацеркарий. Последние в этом случае также были поражены простейшими.

С п е ц и ф и ч н о с т ь. Попытки экспериментального заражения микроспоридиями других видов трематод, как показало вскрытие моллюсков на 8—10-й день после инфицирования, были безуспешными.

Д и ф ф е р е н ц и а л ь н ы й д и а г н о з. До настоящего времени микроспоридии были отмечены как паразиты стiletных церкарий лишь в двух случаях. Шеллер (Schaller, 1959) наблюдал *Nosema* sp. в двух

видах церкарий из моллюска *Tropidiscus (Planorbis) planorbis* L. Споры этой микроспоридии имели размеры $2.3-3.4 \times 1.1-1.5$ мк, значительно меньшие, чем у описываемого нами вида (4.5×2.2). Т. А. Гинецинская (1968) находила микроспоридий рода *Nosema* в спороцистах и церкариях *Xiphidiocercaria* sp. I Ginetz. Из моллюска *Lymnaea stagnalis* L., однако, так как описание паразита в ее работе не приведено, мы не можем сравнить виды, и считаем наш вид новым. Видовое название дано по хозяину.

Типовой материал хранится в коллекциях ГосНИОРХа и в Отделе микробиометода Всесоюзного института защиты растений.

Nosema rhionicae sp. n.

Х о з я и н: спороцисты и очень редко церкарии стригеоидной трематоды *Cercaria rhionica* VIII Olenov et Dobrovolskiy из моллюска *Melanopsis praemorsa*. **Л о к а л и з а ц и я:** клетки паренхимы. **М е с т о о б н а р у ж е н и я:** водоемы в долине р. Риони Западного Кавказа. **Ч а с т о т а в с т р е ч а е м о с т и:** в партенитах трематод из 10 собранных осенью 1972 г. моллюсков гиперпаразитов обнаружено не было. Зато во всех 13 моллюсках, вскрытых после 5-месячного содержания в лаборатории, были спороцисты, пораженные простейшими. От 50 до 100% спороцист содержали огромное количество спор микроспоридий.

О п и с а н и е в и д а. Стадии развития паразита в мазках были весьма разнообразные (рис. 14—22). Наиболее часто встречались одноядерные, реже двухядерные меронты. Один раз был отмечен четырехядерный меронт. Его ядра по своей структуре значительно отличались от ядер обычных меронтов и больше напоминали стадию диплокариона. Клетки с одним большим и рыхлым ядром рассматривали как зиготу. Эта и последующие стадии развития отличались от меронтов более слабым окрашиванием и вакуолизацией цитоплазмы. В результате деления двухядерных споронтов формировалось два одноядерных споробласта. Молодые споры также имели одно ядро.

Зрелые живые споры были характерной яйцевидной формы. Крупная вакуоль занимала примерно $\frac{1}{3}$ объема споры. Длина полярной нити составляла в среднем 140 (110—190) мк. У спор, как показало изучение тушевых препаратов, имелась небольшая слизистая капсула. Характер спорогонии и одиночное расположение спор в мазках и тканях хозяина показывают на принадлежность данного вида к роду *Nosema*.

П а т о г е н е з. Микроспоридии этого вида паразитировали главным образом в стенках спороцист. Пораженные клетки заполнялись спорами паразита, сильно гипертрофировались, что значительно уменьшало просвет полости спороцист. Подвижность последних уменьшалась, а цвет из желтоватого в норме становился белым. Форма тела не претерпевала существенных изменений, и только на переднем конце спороцист образовывались небольшие бугорки, содержащие споры паразита. Так как после пяти месяцев содержания моллюсков в лабораторных условиях они практически перестали выделять церкарий, а спороцисты уже не содержали зародышевых шаров, то мы не можем говорить о поражении зародышевых шаров и церкарий микроспоридиями. Лишь однажды в гепатопанкреасе моллюска наблюдали полностью сформировавшуюся церкарию, в клетках тела и хвоста которой диффузно лежали споры гиперпаразита. Деформация тела церкарии была незначительной и в отличие от незараженных личинка была более темной.

Д и ф ф е р е н ц и а л ь н ы й д и а г н о з. Подразделение на виды внутри любого рода микроспоридий основано на различиях в форме и размерах спор, с учетом приспособленности к паразитированию в том или ином хозяине или группе хозяев. По этим признакам данный вид может быть сравним только с *Nosema strigeoideae* Hussey, 1971. Корт с соавторами (Cort et al., 1960) описал микроспоридию рода *Nosema*, обнаруженную в 12 видах партенит стригеоидных трематод из 10 видов северо-американских пресноводных моллюсков, но не дал ей названия. Хасей (Hussey, 1971) нашла этот же вид в спороцистах и церкариях *Diplostomum flexi-*

caudum, повторно описала его и дала ему название *N. strigeoideae*. По данным Корта, овальные споры этого вида имеют размер 4.9×3 мк, а по данным Хасей — 4.7×3.1 мк. Микроспоридия из спороцист *Cercaria rhionica* VIII имеет споры меньшего размера (4.3×2.85 мк), и типично яйцевидную форму. Учитывая эту разницу в размерах и форме спор, данный вид микроспоридий рассматриваем как новый и предлагаем ему название *Nosema rhionicae*. Видовое название дано по месту обнаружения паразита.

Типовой материал находится в коллекциях ГосНИОРХа и в Отделе микробиометода Всесоюзного института защиты растений.

Nosema echinostomi Brumpt, 1922

Микроспоридия этого вида была впервые найдена в редиях, церкариях и метацеркариях эхиностоматидных трематод из моллюсков *Lymnaea limosa*, собранных в окрестностях Парижа. Споры паразита эллипсоидные, длиной около 5 мк. Подробное описание вида отсутствует (цитировано по Dollfus, 1946).

Осенью 1972 г. при вскрытии моллюсков *Lymnaea palustris*, собранных на оз. Долгом, были обнаружены пораженные микроспоридиями редии одного вида трематод сем. *Echinostomatidae*. Гиперпаразиты были отмечены у 3 из 10 зараженных паразитами моллюсков. Пораженность трематод микроспоридиями была настолько низкой, что это не позволило провести детального изучения обнаруженного вида простейшего.

Живые споры паразита были правильной овальной формы с несколько расширенным задним концом, на котором была хорошо видна вакуоль (рис. 23—26). Окраска мазков азур-эозином и срезов железным гематоксилином выявила у спор наличие двух ядер. Одиочное расположение спор в мазках послужило основанием для отнесения этого вида микроспоридий к роду *Nosema*.

Споры паразита развивались в клетках стенок редий, причем каких-либо изменений в форме их тела не наблюдали; тогда как единичные церкарии были поражены микроспоридиями, зараженных метацеркарий не встречали.

Близкое сходство в форме и размерах спор, принадлежность хозяев к одному семейству трематод позволило отнести найденного нами паразита к виду *Nosema echinostomi* Brumpt. Этот вид отличается от *Nosema xiphidiocercariae* sp. n. более правильной и постоянной формой спор, несколько большими размерами и различным окрашиванием спор азур-эозином. Кроме того, *N. echinostomi* в нашем материале поражала преимущественно клетки стенок редий, что также отличает ее от *N. xiphidiocercariae* с равным успехом инвазировавшей клетки как спороцист, так и церкарий.

ОБСУЖДЕНИЕ

Систематика микроспоридий, построенная с учетом формы и строения спор паразитов и особенностей их жизненных циклов (главным образом спорогонии), претерпевает сейчас серьезные изменения. Так например, получены данные, заставившие по-новому трактовать диагноз рода *Nosema*. Исходя из того, что все три описываемых вида микроспоридий трематод отнесены к роду *Nosema*, необходимо более подробно остановиться на этом вопросе.

С конца прошлого века и до последних лет к роду *Nosema* относили те виды микроспоридий, у которых из одного споронта образуется один споробласт и затем одна спора. Однако в 1969 г. Ишихара (Ishihara, 1969) установил, что у *Nosema bombycis*, типового вида рода *Nosema*, из одного споронта образуется не один, а два споробласта, и затем две споры. Такой же характер спорогонии носит и у другого вида этого рода — *N. apis* (Cali, 1971). Новый диагноз рода *Nosema* поставил под сомнение существование сразу двух других родов семейства *Nosematidae* — *Perezia* Leger et Duboscq, 1909 и *Glugea* Thelohan, 1891, у которых из одного

споронта также формируются 2 споробласта и 2 споры. Кали (Cali, 1971) на основе детального изучения морфогенеза у видов *N. bombycis* и *N. apis* не только подтвердила наблюдения Ишихары, но и обнаружила дополнительные особенности в жизненных циклах этих видов. По ее данным, для большинства стадий жизненного цикла *N. bombycis* и *N. apis*, включая споры, характерно наличие ядер, устроенных по типу диплокариона. Этот признак Кали считает существенным и предлагает включить его в диагноз рода *Nosema*.

При изучении жизненных циклов *N. xiphidiocercariae* sp. n. и *N. rhionicae* sp. n. нами получены данные, которые не согласуются полностью с наблюдениями Кали. Так, если для микроспоридии *N. xiphidiocercariae* действительно характерна парность ядер на протяжении почти всего жизненного цикла, то у стадий *N. rhionicae* этого не наблюдается. В то же время одиночное расположение спор в мазках и характер спорогонии, при котором из одного споронта образуются две споры, не вызывает сомнений в принадлежности последнего вида к роду *Nosema*; поэтому мы считаем, что вводить в диагноз рода *Nosema* в качестве одного из его основных признаков положение об устройстве ядер по типу диплокариона преждевременно. Лишь после тщательного изучения жизненных циклов многих микроспоридий, отнесенных ранее к роду *Nosema*, можно будет сделать вывод о том, присуще ли положение, выдвинутое Кали, всем видам рода *Nosema*.

Л и т е р а т у р а

- В о р о н и н В. Н. 1971. О паразитировании микроспоридии *Nosema* sp. в партеногенетических стадиях двух видов трематод. Физиология, морфология и болезни сельскохозяйственных животных. Лен. вет. инст. : 148—150.
- Г и н е ц и н с к а я Т. А. 1968. Трематоде, их жизненные циклы, биология и эволюция. Изд. «Наука», Л. : 261—263.
- Ш и г и н а Н. Г. и Г р о б о в О. Ф. 1972. *Nosema diplostomi* sp. n. — гиперпаразит метацеркарий рода *Diplostomum* из хрусталиков глаз рыб. Паразитол., 6 (5) : 469—475.
- C a l i A. 1971. Morphogenesis in the genus *Nosema*. Proc. 4th Intern. Colloq. Insect Pathol : 431—438.
- C a n n i n g E. U. a. B a s c h P. F. 1968. *Perezia helminthorum* sp. nov. a microsporidian hyperparasite of trematode larvae from Malaysian snails. Parasitology, 58 : 341—347.
- C o r t W. W., H u s s e y K. L. and A m e e l D. T., 1960. Studies on microsporidian hyperparasite of strigeoid trematodes. J. Parasitol., 46 (3) : 317—325.
- D i s s a n n a i k e A. S. 1957. On protozoa hyperparasitic in helminths' with some observation on *Nosema helminthorum* Moniez, 1887. J. Helminth., 31 : 47—64.
- D o l l f u s R. Ph. 1946. Parasites (animaux et végétaux) des helminthes'. Encyclopédie Biologique, Paris, 27 : 16—27.
- H u s s e y K. L. 1971. A microsporidian hyperparasite of strigeoid trematodes, *Nosema strigeoideae* sp. n. J. Protozool., 18 : 676—679.
- I s h i h a r a R. 1968. Growth of *Nosema bombycis* in primary cell culture of mammalian and chicken embryos. J. Invertebr. Pathol., 11 (2) : 328—329.
- S c h ä l l e r G. 1959. Microsporidienbefall und Degenerationerscheinungen der Trematodenlarven im Zwischenwirt (*Tropidiscus planorbis*). Z. wiss. Zool. A., 162 (1—2) : 144—190.
- S p r a g u e V. 1964. *Nosema dollfusi* n. sp. (Microsporidia, Nosematidae) a hyperparasite of *Bucephalus cuculus* in *Crassostrea virginica*. J. Protozool., 11 (3) : 381—385.
- W e i s e r J. 1951. A contribution to the knowledge of the microsporidia of parasitic helminths. Vestnik Čsl. zool., spol., 15 : 79—84.

ON PARASITISM OF MICROSPORIDIANS (MICROSPORIDIA, NOSEMATIDAE) IN PARTHENOGENETIC GENERATIONS AND CERCARIAE OF TREMATODES FROM FRESHWATER MOLLUSKS

V. N. Voronin

S U M M A R Y

The paper describes three species of microsporidians from parthenogenetic generations and cercariae of trematodes, two of which are new ones. The systematic position of these species is discussed in the light of recent changes in the diagnosis of the genus *Nosema*.