

УДК 576.893.1 : 595.371

НОВЫЕ ВИДЫ МИКРОСПОРИДИЙ ИЗ АМФИПОД ДНЕПРОВСКОГО БАССЕЙНА

Н. А. Овчаренко, Д. П. Курандина

Описаны три новых вида микроспоридий из бокоплавов *Orchestia bottae*, *Dikerogammarus villosus*, *Pontogammarus crassus* днепровских водохранилищ, дельты Днепра и Днепровского лимана. Спорогональный плазмодий *Gurleya orchestiae* диаметром около 8 мкм формирует 4-ядерные панспоробласты с 1-ядерными спорами $4.35 (4.0-4.9) \times 2.63 (2.3-3.0)$ мкм. Споры *Nosema dikerogammari* 2-ядерные, кабачковидные $4.3 (3.7-4.8) \times 1.9 (1.7-2.2)$ мкм. Споры *N. pontogammari* овальные, $2.3 (2.1-2.8) \times 1.5 (1.2-1.8)$ мкм (окраска по Гейденгайну); 2.4×1.6 мкм (окраска по Романовскому—Гимза).

К настоящему времени из амфипод описано 16 видов микроспоридий, относящихся к 5 родам (Bulnheim, 1975; Sprague, 1977; Larsson, 1983). Еще для 7 видов микроспоридий установлена только родовая принадлежность (Jonhston, Brooks, 1968; Desportes e. a., 1976; Loubès, 1979). В СССР описан один вид (Lira, 1967). Сообщение о находке *Amblyospora amphipodae* у *D. villosus* (Овчаренко, 1982) требует уточнений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор материала проводили в течение 1980—1985 гг. в разные сезоны года в трех днепровских водохранилищах (Киевское, Кременчугское, Каховское), в дельте Днепра и Днепровском лимане. Методом полного паразитологического вскрытия исследовано свыше 18 000 экз. амфипод, относящихся к 15 видам. Микроспоридии обнаружены у трех видов: *Orchestia bottae*, *Pontogammarus crassus*, *Dikerogammarus villosus*.

Основным методом исследования была работа с живым материалом. Обнаруженных микроспоридий исследовали на тушевых и водных препаратах, мазках и гистологических срезах. Мазки фиксировали метанолом и окрашивали азур-эозином по Романовскому—Гимза, а также фиксатором Буэна с последующей окраской железным гематоксилином по Гейденгайну. Гистологические срезы толщиной 5—10 мкм окрашивали по Маллори. Сухие мазки использовали для исследования ядерного аппарата с применением окраски по Вайзеру (Weiser, 1976). Измерения проводили с помощью окулярной микрометрической шкалы.

Gurleya orchestiae sp. n. (рис. 1)

Х о з я и н: *Orchestia bottae* Edwards, 1840.

Л о к а л и з а ц и я: мышечная ткань.

М е с т о н а х о д к и: Днепровский лиман в районе пос. Покровские хутора (июль, 1983).

С т а д и и р а з в и т и я: 2- и 4-ядерные клетки диаметром 4.2—5.5 мкм, возможно, относятся к стадиям мерогонии. Спорогония протекает путем формирования споронтом 4 ядер, дающих начало четырем 1-ядерным споронтом, окруженным панспоробластической оболочкой (спорофорная везикула). Диаметр споронта около 8 мкм. Панспоробластическая оболочка нестойкая, после

ее исчезновения споробласты удерживаются некоторое время вместе слизистым секретом, затем распадаются.

С п о р ы: изоморфные, овальной формы, в группах по четыре или свободные. Споровый индекс — 1.65. Размеры $4.35 (4.0-4.9) \times 2.63 (2.3-3.0)$ мкм. Поляропласт и задняя вакуоль занимает около четверти длины споры каждый. Споры тонкостенные, при фиксации и окраске иногда деформируются. Ядерное вещество размещено в центре споры.

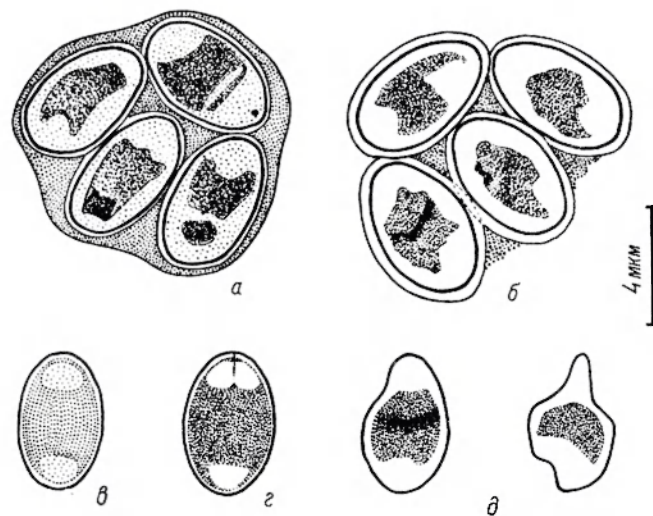


Рис. 1. Стадии развития и споры *Gurleya orchestiae*.

a — панспоробласт; *б* — зрелые споры после разрыва панспоробластической оболочки; *в, г* — живые споры (*г* — фазовый контраст); *д* — те же споры после окраски по Романовскому—Гимза.

Д и ф ф е р е н ц и а л ь н ы й д и а г н о з: Формирование 4-ядерным споронтом четырех односпоровых споробластов, объединенных панспоробластической оболочкой, дает основание отнести описываемый вид к роду *Gurleya* Doflein, 1898. От остальных видов этого рода, описанных из высших ракообразных, данный вид отличается формой, размером и структурными особенностями спор и стадий спорогонии (табл. 1). Характерными особенностями вида являются овальные, тонкостенные споры, деформирующиеся при фиксации.

Nosema dikerogammari sp. n. (рис. 2)

Х о з я е в а: *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), значительно реже — *Pontogammarus crassus* (Sars, 1894).

Л о к а л и з а ц и я: клетки мышечной ткани. При высокой интенсивности заражения споры микроспоридий заполняют промежутки между мышечными волокнами.

М е с т а н а х о д о к: Киевское, Кременчугское, Каховское водохранилища, дельта Днепра, Днепровский лиман (апрель—ноябрь, 1982—1985 гг.).

С т а д и и р а з в и т и я: меронты и споры 2-ядерные. Ядра меронтов в виде диплокарионов $2.1-2.2 \times 1.0-1.5$ мкм. На препаратах, окрашенных по Романовскому—Гимза, встречаются 4-ядерные стадии с ядрами диаметром $3.0-3.9$ мкм.

С п о р ы: округло-цилиндрические с незначительным сужением одного из полюсов (кабачковидные). Поляропласт расположен на более широком полюсе споры, занимает $\frac{2}{5}$ ее длины. Задняя вакуоль размещена несколько латерально, ее границы не установлены. На водных препаратах светлая зона, соответствующая задней вакуоли, занимает около половины длины споры; на мазках, окрашенных азур-эозином, она заметна в виде узкой прерывистой зоны. Постеросома расположена на более узком полюсе споры. Споры 2-ядерные с округлыми ядрами, расположенными одно над другим (окраска по Вайзеру). Диаметр ядра около 1.5 мкм у молодых и около 0.9 мкм у зрелых спор. Иногда встречаются

4 тератоспоры округло-цилиндрической или колбасовидной формы. 2-ядерные споры одиночные, макроспоры иногда в группах по четыре. Размеры спор: $4.3 (3.7-4.9) \times 1.9 (1.7-2.2)$ мкм. Споровый индекс 2.3 (2.0—2.9).

Д и ф ф е р е н ц и а л ь н ы й д и а г н о з: Образование одиночных 2-ядерных спор и диплокариотический путь развития дают основание отнести данный вид к роду *Nosema* Naegeli, 1887. От других видов этого рода, паразитирующих у амфипод, *N. dikerogammari* отличается формой, размером и структурными особенностями спор (табл. 2). Характерным для данного вида является расположение на более широком конце споры поляропласта, латеральное расположение задней вакуоли, образование 4-ядерных тератоспор.

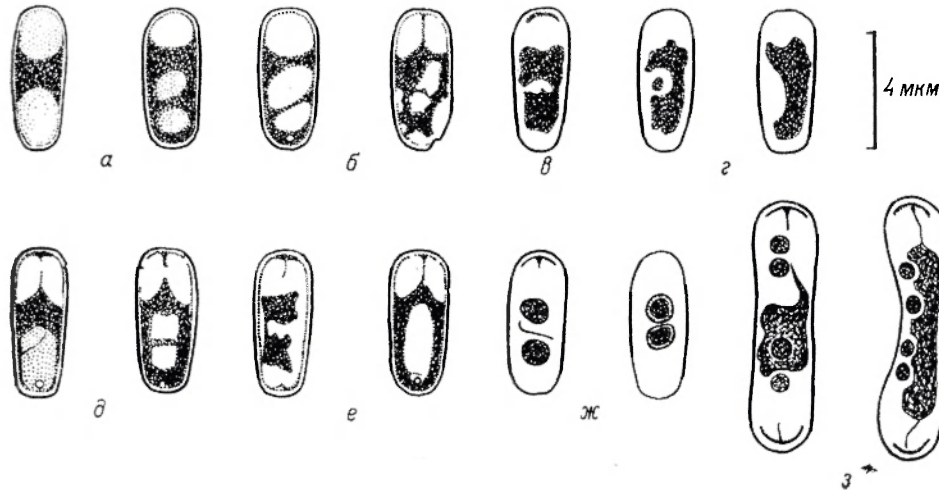


Рис. 2. Споры *Nosema dikerogammari*.

а, б — живые споры (б — фазовый контраст); в, з — после окраски по Романовскому—Гимза; д, е — после окраски по Гейденгайну; ж — после окраски на ядра по Вайзеру; з — тератоспоры. Окраска: орцеин+азурозин по Романовскому—Гимза.

Nosema pontogammari sp. n. (рис. 3, 4)

Х о з я и н: *Pontogammarus crassus*.

Л о к а л и з а ц и я: клетки мышечной ткани; при высокой интенсивности заражения также промежутки между мышечными волокнами.

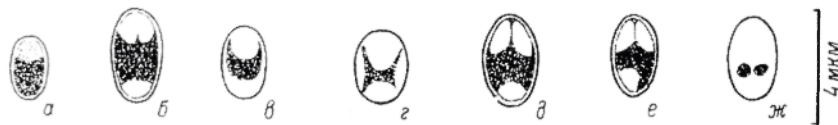


Рис. 3. Споры *N. pontogammari*.

а, б — живые споры (б — фазовый контраст); в, г — после окраски по Романовскому—Гимза; д, е — после окраски по Гейденгайну; ж — после окраски на ядра по Вайзеру.

М е с т а н а х о д о к: Киевское, Кременчугское водохранилища, Днепровский лиман (июнь—октябрь 1981—1985 гг.).

С т а д и и р а з в и т и я: меронты 2-ядерные, размеры не установлены.

С п о р ы: овальные. Поляропласт занимает треть длины споры, задняя вакуоль — четверть. Споры 2-ядерные. Ядерное вещество при окраске гематоксилином по Гейденгайну занимает несколько более трети длины споры. Тератоспор не обнаружено. Макроспоры 2-ядерные, нормальной структуры. Размеры спор $2.3 (2.1-2.8) \times 1.5 (1.2-1.8)$ мкм. При окраске по Романовскому—Гимза средние размеры спор 2.4×1.6 мкм. Основную массу спор (около 60 %) составляют споры размерной группы $2.3-2.5 \times 1.4-1.5$ мкм. Макроспоры размерами $2.6-2.8 \times 1.6-1.8$ мкм составляют около 8 %. Видимая в световой микроскоп структура спор всех размерных групп одинакова. Споровый индекс 1.5—1.6.

Т а б л и ц а 1
Сравнительная характеристика микроспоридий рода *Gurleya* из высших ракообразных (Malacostraca)

Вид микроспоридий	Хозяин	Места находок	Споры				Примечание
			форма	размеры (мкм)	оболочка	полярoplast *	
<i>Gurleya miyairii</i> (Kudo, 1924)	Decapoda: <i>Atyephira</i> sp.	Япония	Округлая	3 (диаметр)			Описание вида требует уточнений Диаметр споронта 5—6 мкм Диаметр споронта около 8 мкм
<i>G. pontica</i> Ovcharenko, 1984	Decapoda: <i>Palaemon elegans</i>	СССР (Черное море, Днепроовско-Бугский лиман)	Яйцевидная	3.5—3.7 × 2.3—2.5	Толстая	0.5	
<i>G. orchestiae</i> sp. n.	Amphipoda: <i>Orchestia bottae</i>	СССР (Днепроовский лиман)	Овальная	4.0—4.9 × 2.3—3.0	Тонкая	0.25	

Примечание. * Указана часть длины споры, занимаемая полярoplastом.

Т а б л и ц а 2
Сравнительная характеристика микроспоридий рода *Nosema* из бокоплавов (Amphipoda)

Вид микроспоридий	Хозяева	Места находок	Локализация	Споры		Примечание
				форма	размеры (мкм)	
<i>Nosema gammari</i> Ryckeghem, 1930	<i>Gammarus pulex</i>	Бельгия	Мышцы	Овальная	1.5 × 3.4	После фиксации
<i>N. kozhovi</i> Lipa, 1967	<i>Brandtia lata lata</i>	СССР (Байкал)	Кишечный эпителий, другие ткани	»	3.3—3.9 × 2.1 × 2.2 2.5—4.0 × 1.8—2.1	
<i>N. typica</i> Grizel, 1974	<i>G. pungens</i>	Франция	Мышцы	Овальная, грушевидная	5.0—5.5 × 2.0—2.5	
<i>N. rivulogammari</i> Larsson, 1983	<i>Rivulogammarus pulex</i>	Швеция	»	Овальная, слегка грушевидная	1.5—2.0 × 1.2 4.4 × 1.8	Полярoplast расположен на более широком конце споры Окраска по Романовскому—Гимза
<i>N. dikerogammari</i> sp. n.	<i>Dikerogammarus villosus</i> , очень редко <i>Pontogammarus crassus</i>	СССР (Днепроовский лиман)	»	Кабачковидная	3.7—4.9 × 1.7—2.2	
<i>N. pontogammari</i> sp. n.	<i>Pontogammarus crassus</i>	СССР (Днепроовский бассейн)	»	Овальная	2.1—2.8 × 1.2—1.8 2.4 × 1.6	

Д и ф ф е р е н ц и а л ь н ы й д и а г н о з: Диплокариотический путь развития, свободные, 2-ядерные споры, один тип спорогонии дают основание отнести данный вид к роду *Nosema*. От известных в этом роде видов микроспоридий из амфипод *N. pontogammari* отличается размерами спор (табл. 2).



Рис. 4. *N. pontogammari* в мышцах *P. crassus*.
С — споры микроспоридий; М — зона мышц, свободная от паразитов ($\times 600$). Окраска по Маллори.

ПАТОГЕНЕЗ И ЭПИЗООТОЛОГИЯ

Все три вида микроспоридий поражают мышцы амфипод. При высокой интенсивности заражения поражается практически вся мускулатура, при этом тело хозяина приобретает светлую окраску. При невысокой интенсивности заражения споры *N. dikerogammari* и *N. pontogammari* видны на гистопрепаратах у периферических зон вокруг мышечных пучков. Реже поражаются отдельные волокна, тогда споры видны между мышечными волокнами; однако в абсолютном большинстве случаев в начале патологического процесса поражаются периферические зоны мышц. Постепенно зона пораженных тканей расширяется к центру пучка. Большая часть пораженной мышцы (за исключением тонкого пучка мышечных волокон в центре мышцы) превращается во вместилище спор (рис. 4); мышца при этом сохраняет подвижность. При сильной инвазии клеточные оболочки между отдельными мышечными клетками исчезают, но ядра сохраняются, образуя многоядерный синцитий, ограниченный единой оболочкой, сохраняющей форму мышцы. Пораженная мышца несколько утолщается, приобретая в отраженном свете желтовато-белый цвет.

Диагноз на микроспориоз ставится на основании паразитологического вскрытия. При невысокой интенсивности инвазии в начале патологического процесса пораженные особи внешне не отличаются от здоровых. Пораженные участки мышечной ткани удается заметить, просматривая конечности исследуемых амфипод при увеличении $16\times$ в отраженном свете на черном фоне. Здоровые мышцы имеют вид прозрачных тяжей, при микроспориозе заметны желтовато-белые участки. Экстенсивность заражения *D. villosus* и *P. crassus*, как правило, не превышала 0.5—1.8%. Микроспоридии *N. dikerogammari* и *N. pontogammari* отмечены во всех днепровских водохранилищах и Днепровском лимане на протяжении всего периода исследований диффузно, не вызывая характера эпизоотий.

Л и т е р а т у р а

- О в ч а р е н к о Н. А. К фауне микроспоридий кормовых водных беспозвоночных низовьев Днепра и Днепровского лимана. — В кн.: Современные проблемы протозоологии. (Матер. к 3-му съезду Всес. об-ва протозологов). Вильнюс, 1982. 266 с.
V u l n e i m Н. Р. Microsporidian infections of Amphipods with special reference to host-parasite relationships: A review. — Mar. Fish. Rev., 1975, vol. 37, N 5—6, p. 39—45.

- Desportes J. T., Ginsburger Vogel, Zerlibc. Mise en evidence de 2 Microsporidies des genres Nosema et Thelohania chez le Crustacé Amphipode Orchestia gammarellus (Pallas). — J. Protozool., 1976, vol. 23, p. 39—49.
- Johnston C. A., Brooks W. H. Microsporidiosis in fresh-water amphipods of North Carolina. — J. Elisha Mitchell Sci. Soc., 1968, vol. 84, p. 446.
- Larsson R. On two Microsporidia of the Amphipod Rivulogammarus pulex — light microscopical and ultrastructural observations on Thelohania muelleri (Pfeiffer, 1895) and Nosema rivulogammari n. sp. (Microspora, Thelohaniidae and Nosematidae). — Zool. Anz., 1983, N 5—6, S. 299—323.
- Lipa J. J. Nosema kozhovi sp. n., a new microsporidian parasite of Brandtia lata lata (Crustacea, Gammaridae) of Baical lake. — Acta Protozool., 1967, vol. 5, N 7, p. 93—96.
- Loubès C. Ultrastructure, sexualité dimorphisme sporogonique des Microsporidies (Protozoaires): Incidences taxonomiques et biologiques. — Thèse Acad. de Montpellier. Univ. des Sci. Techniq. Languedoc, 1979. 68 p.
- Sprague V. Annotated list of species of Microsporidia. — Comparative Pathobiology, 1977, vol. 2, p. 31—400.
- Weiser J. Staining of the nuclei of microsporidian spores. — J. Invertebrate Pathol., 1976, vol. 28, N 1, p. 147—149.

Институт гидробиологии АН УССР,
Киев

Поступила 24.06.1986

NEW SPECIES OF MICROSPORIDIA FROM AMPHIPODS
OF THE DNIEPER BASIN

N. A. Ovcharenko, D. P. Kurandina

S U M M A R Y

Three new species of Microsporidia from muscules of *Orchestia bottae*, *Dikerogammarus villosus* and *Pontogammarus crassus* of the Dnieper basin are described. Spores of *Glugea orchestiae* uninuclear, oval $4.35 (4.0-4.9) \times 2.63 (2.3-3.0)$ mkm, in 4 spored sporophorous vesicles. Spores of *Nosema dikerogammari* binuclear, marrow-shaped $4.3 (3.7-4.8) \times 1.9 (1.7-2.2)$ mkm. Polaroplast occupies $\frac{2}{5}$ of the spore. Spores of *N. pontogammari* binuclear, oval $2.3 (2.1-2.8) \times 1.5 (1.2-1.8)$ mkm. Polaroplast occupies $\frac{1}{3}$ of the spore.
