

УДК 576.893.195 : 595.771

© 1993

**МИКРОСПОРИДИЯ TOXOSPORA VOLGAE GEN. N., SP. N.
ИЗ ЛИЧИНОК ХИРОНОМИД РОДА CORYNONEURA**

В. Н. Воронин

Описана микроспоридия из жирового тела личинок хирономид рода *Corynoneura*. На основании тонкой морфологии длинноцилиндрических С-образных спор простейшее отнесено к новому виду нового рода *Toxospora*.

Современный период в изучении микроспоридий характеризуется переходом от светооптического к электронно-микроскопическому уровню исследований. В результате у внешне сходных форм этих мельчайших простейших часто выявляются значительные ультраструктурные различия, что служит основанием для пересмотра их систематического положения. Наглядным примером является ревизия микроспоридий рода *Thelohania*, приведшая к образованию на его основе сем. *Thelohaniidae* с 8 новыми родами (Hazard, Oldacre, 1975). В то же время диагноз многих родов по-прежнему базируется только на светооптических данных. Так, микроспоридии, имеющие палочковидные споры, изогнутые в виде буквы «С» или подковы, относятся к роду *Toxoglugea* Leger et Hesse, 1924. Этот род немногочислен и включает в себя около 10 видов микроспоридий, паразитирующих преимущественно в личинках водных насекомых (Sprague, 1977). На ультратонком уровне изучен только один вид *Toxoglugea variabilis* Larsson, 1980, что крайне недостаточно, учитывая мнение о сборном характере этого рода (Исси, 1986). Необходимость дальнейшего изучения представителей этого рода послужила основанием для проведения электронно-микроскопического исследования микроспоридии, выделенной из личинки комара рода *Corynoneura* и образующей споры характерной С-образной формы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В сентябре 1990 г. в прибрежной зоне Горьковского водохранилища была взята проба бентоса, которую сразу просмотрели под малым увеличением стереомикроскопа МБС-9. Живая личинка комара-звонца рода *Corynoneura*, выделявшаяся среди других своим неестественно белым цветом, была помещена в каплю воды на предметное стекло и разрезана поперек на 2 равные части. После подтверждения в ходе микроскопирования наличия микроспоридиоза у личинки сразу из одной половины ее тела был приготовлен водный препарат по ранее предложенной методике (Воронин, Исси, 1974), другая — перенесена в 2.5%-ный раствор глутаральдегида на какодилатном буфере. Через сутки зафиксированный материал промыли в том же буфере с последующей постфиксацией в 1.5%-ном растворе четырехокси осмия в течение 2 ч. В лабораторных условиях кусочек личинки обезводили в восходящем ряду спиртов

и залили в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали 3 ч в насыщенном водном растворе уранилацетата и 5 мин в цитрате свинца, после чего просматривали на электронном микроскопе JEM-100С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение строения микроспоридии из личинки комара рода *Corynoneura* посредством световой и электронной микроскопии показало, что она по своим признакам относится к новому виду нового рода.

Toxospora volgae gen. n., sp. n. (рис. 1, 2)

Хозяин: личинка комара рода *Corynoneura* (Diptera, Chironomidae).
Локализация: жировое тело.

Место находки: Горьковское водохранилище бассейна Волги.

Описание вида. Световому микроскопированию подвергли только живые споры паразита, в то время как все деспоровые стадии, а также внутреннее строение спор было изучено посредством электронной микроскопии. Из наиболее ранних стадий развития наблюдали только клетки с диплокарионами, которые, очевидно, являются начальным этапом спорогонии. Дальнейшее развитие паразита протекало внутри спорофорного пузырька (панспоробласта) с тонкой, слабо заметной оболочкой. В результате ряда последовательных бинарных делений спорогонального плазмодия формируются 8 одноядерных споробластов, заполняющих собой всю полость спорофорного пузырька (рис. 1, а). Незначительное свободное пространство последнего содержит мелкие электронноплотные гранулы секрета. Все клетки, образующиеся в результате деления спорогонального плазмодия, имеют крупные одиночные ядра, а их цитоплазма заполнена многочисленными параллельно лежащими мембранами шероховатого эндоплазматического ретикулума и рибосомами. При переходе к спорообразованию споробласты вытягиваются и сжимаются, становясь чрезвычайно высоко электронноплотными (рис. 1, а). Образующееся в результате этого процесса дополнительное пространство в полости спорофорного пузырька заполнено небольшим количеством мельчайших электронноплотных гранул.

В водных препаратах округлые панспоробласты, содержащие по 8 плотно уложенных спор, имеют диаметр 5—6 мкм. Большое количество высвободившихся из панспоробластов одиночно лежащих спор позволяет предположить, что оболочка спорофорного пузырька (панспоробласта) не обладает высокой прочностью и легко разрушается (рис. 1, б). Большинство спор сильно изогнуто. Они имеют подково- или С-образную форму. Толщина спор составляет 0.7—0.8 мкм при расчетной выпрямленной длине 6—8 мкм. Задняя вакуоль не просматривается возможно из-за слабой контрастности самих спор.

Ультратонкое строение основных споровых органелл изучаемого вида имеет ряд характерных особенностей. У якорного диска, прилегающего изнутри к переднему концу споры, в срединной части четко видны два тонких электронноплотных слоя, а наружный, обращенный к плазмалемме толстый электронноплотный слой плавно переходит в полярный сак (рис. 2, а). Полярoplast состоит из переднего пластинчатого и заднего мелкокамерного участков. Пластины переднего участка полярoplastа на поперечном срезе споры располагаются ровными концентрическими слоями вокруг полярной трубки (рис. 2, б). На продольном срезе споры эти пластины лежат также ровными рядами, но идущими параллельно полярной трубке (рис. 2, а). При большом увеличении каждая из пластин полярoplastа состоит из 2 электронно-прозрачных слоев, разделенных тонкой прослойкой электронноплотного материала. В свою очередь пластины полярoplastа отделены друг от друга тонким слоем электронно-

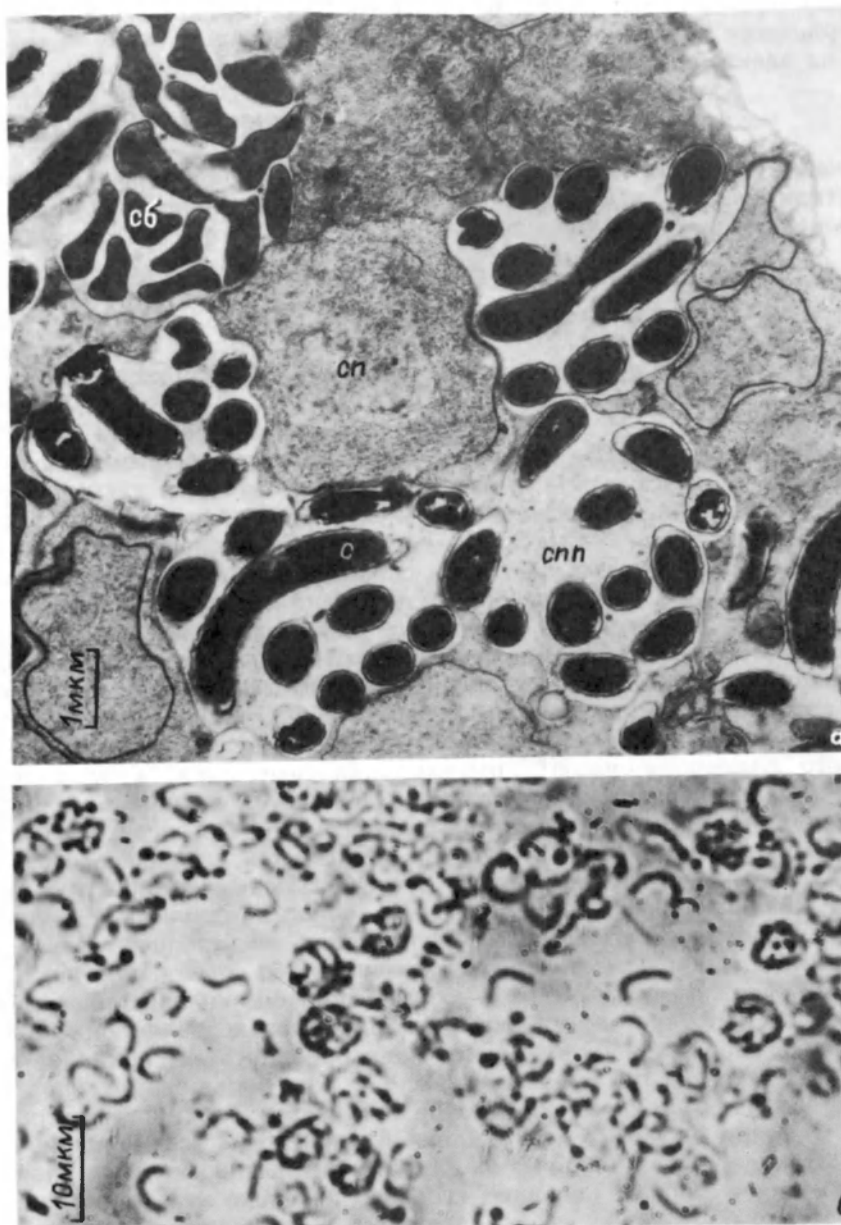


Рис. 1. Строение стадий развития микроспоридии *Toxospora volgae* gen. n., sp. n.

Fig. 1. The ultrastructure of developing stages of *Toxospora volgae* gen. n., sp. n.

a — ультратонкий срез споронтов, споробластов и спор; *b* — живые споры в спорофорных пузырьках и лежащие изолированно в водном препарате; *c* — споры; *cb* — споробласты; *cn* — споронты; *cnn* — спорофорные пузырьки.

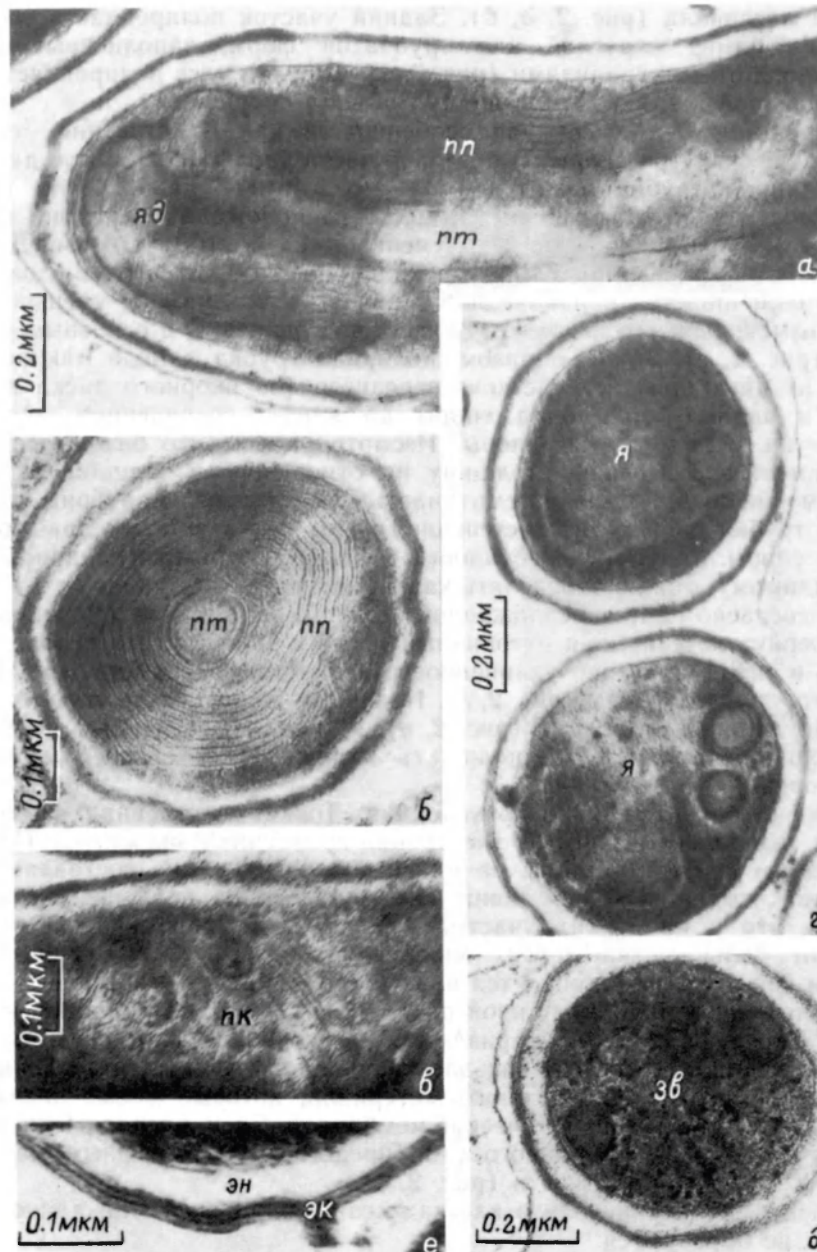


Рис. 2. Ультраструктура споры *Toxospora volgae* gen. n., sp. n.

Fig. 2. The ultrastructure of the spore of *Toxospora volgae* gen. n., sp. n.

а — продольный срез переднего конца споры; б — поперечный срез переднего полюса споры с пластинчатой частью полярропласта; в — продольный срез споры с мелкокамерной частью полярропласта; г — поперечные срезы споры в месте расположения ядра; д — поперечный срез заднего полюса споры; е — поперечный срез стенки споры при большом увеличении; яд — якорный диск; пт — полярная трубка; нп — пластинчатая часть полярропласта; нк — камерная часть полярропласта; я — ядро; зв — задняя вакуоль; эн — эндоспора; эк — экзоспора.

плотного материала (рис. 2, а, б). Задний участок полярпласта состоит из небольших камер округлой или трубчатой форм, заполненных мелкими электронноплотными гранулами (рис. 2, в). В целом весь полярпласт относительно большой и занимает свыше 1/3 объема споры.

Полярная трубка имеет ряд особенностей как по строению, так и по расположению внутри споры. В передней части споры от якорного диска и до ядра полярная трубка лежит центрально и имеет наибольшую толщину, которая составляет 120—130 нм. В месте расположения ядра она проходит вдоль стенки споры, а ее диаметр уменьшается до 100—110 нм. Достигнув конца споры, трубка, образуя дугу, поворачивает обратно, идет вдоль стенки споры и оканчивается в районе ядра, при этом ее диаметр уменьшается до 90 нм с изменением внутреннего строения по сравнению с основным участком трубки (рис. 2, г). Таким образом, полярная трубка данной микроспоридии состоит из двух прямых участков: переднего (от якорного диска до конца споры) и заднего (от конца споры до ядра), соединенных дуговидным участком на заднем полюсе споры. Несмотря на то, что базальный участок трубки имеет значительную толщину по отношению к толщине споры, его, по нашему мнению, нельзя рассматривать как типичный манубрий, поскольку сужение трубки происходит постепенно, и она уже в районе ядра смещается к стенке споры. Учитывая особенности в форме и строении полярной трубки, ее, по-видимому, можно определить как удлинненно-воронковидную и гетерофильную, согласно ранее предложенной нами классификации (Воронин, 1989), и полусвернутую, учитывая дуговидный изгиб в задней части споры.

Ядро в споре одно, оно удлиненное и крупное, его диаметр приближается к диаметру полости споры (рис. 2, г). Наличие в задней части споры характерного гранулярного материала (рис. 2, д), обычно заполняющего полость задней вакуоли, позволяет предположить наличие этой органеллы у данной микроспоридии.

Оболочка споры типично трехслойная. Тонкая внутренняя плазмалемма отделяет содержимое споры от электронно-прозрачной эндоспоры. Последняя относительно хорошо развита, ее максимальная толщина составляет 45 нм. Интересно, что на переднем конце споры эндоспора практически такой же толщины, что и на других участках споры. Этим описываемый вид отличается от большинства других микроспоридий, у которых эндоспора на переднем конце споры истончается или просто исчезает. Экзоспора, наружный слой оболочки, гладкая, толщиной около 15 нм. Она неоднородная и состоит из ряда чередующихся слоев различной электронной плотности. В средней части экзоспоры лежат 3 тонких электронноплотных слоя, разделенных прослойкой менее электронноплотного материала, которые имеют значительное сходство с унитарной плазматической мембраной. Слои, расположенные внутри и наружу от этого мембранного слоя представлены аморфным материалом средней электронной плотности (рис. 2, е).

Паразитофорные вакуоли в клетках хозяина при развитии данной микроспоридии не образуются.

Д и ф ф е р е н ц и а л ь н ы й д и а г н о з. Из 9 видов микроспоридий рода *Toxoglugea*, описанных из водных насекомых, 5 зарегистрированы у личинок двукрылых, из которых 2 вида у хирономид (см. таблицу). По размеру спор к описываемому виду наиболее близок *T. chironomi* Debaisieux, 1931, однако у последнего споры значительно толще и не так сильно согнуты, как у найденного вида, что позволяет рассматривать его как новый. По ультраструктуре он имеет как сходство, так и отличие от *Toxoglugea variabilis*, единственного представителя рода *Toxoglugea*, изученного с помощью электронной микроскопии (Larsson, 1980). У обоих видов идентично строение экзоспоры и передней части полярпласта, но при этом различается организация задней части полярпласта и полярной трубки. В то время как у *T. variabilis* задняя часть поляр-

Список видов микроспоридий рода *Toxoglugea* с указанием хозяина и размера спор
 The list of microsporidian species belonging to the genus *Toxoglugea* with the references
 on the hosts and spores dimensions

Вид микроспоридии, автор	Вид хозяина (отряд, семейство)	Размер спор длина × ширина (в мкм)
<i>T. vibrio</i> Leger et Hesse, 1924	<i>Ceratopogon</i> sp. (Diptera, Ceratopogonidae)	3.5 × 0.3
<i>T. chironomi</i> Debaisieux, 1931	<i>Chironomus</i> sp. (Diptera, Chironomidae)	6—7 × 3—4 6—7 × 1—1.5*
<i>T. mercieri</i> (Poisson) Jirovec, 1936	<i>Notonecta viridis</i> (Heteroptera, Notonectidae)	4.5—5 × 1.5
<i>T. gerridis</i> Poisson, 1941	<i>Aquarius najas</i> (Heteroptera, Gerridae)	4.5 × 0.8
<i>T. chloroperlae</i> Weiser, 1946	<i>Chloroperla</i> sp. (Plecoptera, Perlidae)	2 × 0.2—0.5
<i>T. missiroli</i> Weiser, 1961	<i>Anophelis maculipennis</i> (Diptera, Culicidae)	4—5 × 1.5
<i>T. tillargi</i> Kalavati, Narasimhamurti, 1978	<i>Tholymis tillarga</i> (Odonata, Libellulidae)	3.5—5.4 × 1.8—2
<i>T. corynoneurae</i> Voronin, 1979	<i>Corynoneura</i> sp. (Diptera, Chironomidae)	3.8 × 2.1
<i>T. variabilis</i> Larsson, 1980	<i>Bezzia</i> sp. (Diptera, Ceratopogonidae)	3 × 0.5—0.7
<i>Toxospora volgae</i> gen. et sp. n.	<i>Corynoneura</i> sp. (Diptera, Chironomidae)	6—8 × 0.7—0.8

Примечание. * Промеры спор, сделанные по рисунку автора (Weiser, 1961).

пласта состоит из немногочисленных, рыхло лежащих пластин, у описываемого вида она представлена мелкими беспорядочно лежащими камерами (трубками), заполненными тонкогранулированным материалом. Полярная трубка у *T. variabilis* типично изофилярная, образует 3—4 витка в задней части споры. У данного вида она прямая, изогнутая, у заднего полюса на 180°, достаточно длинная (составляет примерно 1.5 длины споры) и ее концевой участок тоньше и другого строения, нежели у основной части трубки. Кроме того, у описываемого вида, очевидно, имеется и задняя вакуоль, а у *T. variabilis* она отсутствует. По нашему мнению, различия в строении полярной трубки у этих двух видов микроспоридий выходят за рамки видового уровня. Равнозначные различия в строении полярной трубки были использованы для выделения новых родов в сем. Thelohaniidae (Hazard, Oldacre, 1975) и в сем. Bacillidiidae (Larsson, 1990). По строению полярной трубки, а также наличию мелкокамерной (трубчатой) части поляропласта обнаруженный вид близок к палочковидным спорам микроспоридий родов *Helmichia* Larsson, 1982 и *Cylindrospora* Issi et Voronin, 1986. Таким образом, имея общие черты как с видом *Toxoglugea variabilis*, так и с представителями родов с палочковидными микроспоридиями, описываемый вид занимает как бы промежуточное положение между ними и может быть отнесен к любому из них, но с существенными оговорками. Исходя из этого, мы полагаем, что имеются достаточные основания для обоснования на базе описанного вида нового рода, который предлагаем назвать *Toxospora*, чтобы подчеркнуть его близость к роду *Toxoglugea*. Считаем, что С-образная форма спор должна по-прежнему рассматриваться в качестве важного таксономического признака, так как она связана со своеобразным способом укладки 8 длинных спор в полости спорофорного пузырька (панспоробласта), в результате чего последний приобретает сферическую форму. Наличие двух родов микроспоридий с С-образноизогнутыми спорами при их различном строении позволяет поставить вопрос о выделении их в новое самостоятельное сем. Toxoglugeidae, близкое к Thelohaniidae и Cylindrosporidae.

Д и а г н о з *Toxospora* gen. n. Микроспоридии, начальные стадии спорогонии которых имеют диплокариотический ядерный аппарат. Спорогония протекает в тонкостенном спорофорном пузырьке и заканчивается образованием 8 длинноцилиндрических С-образноизогнутых спор. Споры с одним ядром и не свернутой в спираль полярной трубкой.

Типовой вид: *T. volgae* из личинок хирономид рода *Corynoneura*.

Споры длинноцилиндрические, С-образной формы, $6-8 \times 0.7-0.8$ мкм. Поляропласт состоит из передней пластинчатой и задней мелкокамерной частей. Полярная трубка изогнута у заднего полюса споры под углом 180° , превышает длину споры в 1.5 раза. Базальная часть полярной трубки толще и иного строения, нежели апикальная. Эндоспора хорошо развита, экзоспора гладкая и тонкая, мембранного строения.

С п и с о к л и т е р а т у р ы

- Воронин В. Н. Классификация полярных трубок микроспоридий на основе их ультратонкой организации // Цитология. 1989. Т. 31, № 9. С. 1010—1015.
- Воронин В. Н., Исси И. В. О методиках работы с микроспоридиями // Паразитология. 1974. Т. 8, вып. 3. С. 272—273.
- Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Протозоология. 1986. Вып. 10. С. 6—136.
- Hazard E. I., Oldacre S. W. Revision of Mycosporida (Protozoa) close to Thelohania with description of one new family, eight new genera, and thirteen new species // US. Dept. Agr. Techn. Bull. 1975. N 1530, ARS. 104 p.
- Larsson R. Ultrastructured study of *Toxoglugea variabilis* n. sp. (Microsporida: Thelohaniidae) a microsporidian parasite of the biting midge *Bezzia* sp. (Diptera: Ceratopogonidae) // Protistologica, 1980. T. 16, N 1. P. 17—32.
- Larsson R. *Rectispora reticulata* gen. et sp. nov. (Microsporida, Bacilliidae), a new microsporidian parasite of *Pomatothrix hammoniensis* (Michaelsen, 1901) (Oligochaeta, Tubificidae) // Europ. T. Protistol. 1990. Vol. 26, N 1. P. 55—64.
- Sprague V. Systematics of the Microsporidia // Comparative Pathobiology. Vol. 2. N. Y., 1977. P. 1—510.
- Weiser J. Die Mikrosporidien als Parasiten der Insecten // Monograph. angew. Entomol. 1961. N 17. S. 1—149.

ГосНИОРХ, Санкт-Петербург

Поступила 28.02.1992

THE MICROSPORIDIUM *TOXOSPORA VOLGAE* GEN. N., SP. N. FROM CHIRONOMIDAE LARVAE OF THE GENUS *CORYNONEURA*

V. N. Voronin

Key words: microsporidium, ultrastructure, sporogony, spora, *Toxospora volgae* gen. n., sp. n.

S U M M A R Y

The ultrastructure of the octosporous microsporidium *Toxospora volgae* gen. n., sp. n. is studied. In the beginning of sporogony there is diplocaryon. Stages of sporogony are limited by thin and fragile envelope of the sporophorous vesicle. The C-form, $0.7-0.8 \times 6-8$ mm long spores have one elongated nucleus, a layered exospore and a polar tube of unusual construction. The polaroplast consists of two parts — anterior closely packed lamellae and posterior tube/chambered. The microsporidium is compared to *Toxoglugea* microsporidia. The taxonomic relations between the genera *Toxoglugea* and *Toxospora* are discussed.