

УДК 576.895.133

**ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ УЛЬТРАТОНКОМ СТРОЕНИИ  
ТЕГУМЕНТА “ЦИСТАКАНТА” СКРЕБНЯ  
*NEOECHINORHYNCHUS BERINGIANUS* MIKHAILOVA,  
ATRASHKEVICH, 2008  
(EOACANTHOCEPHALA, NEOECHINORHYNCHIDAE)**

© 2024 г. К. В. Кусенко\*, @, В. П. Никишин\*, @

\*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, ул. Портовая, 18, Магадан, 685000 Россия

@E-mail: kusenko.kseniya@yandex.ru

@E-mail: nikishin@ibpn.ru

Поступила в редакцию 22.08.2023 г.

После доработки 03.11.2023 г.

Принята к публикации 03.11.2023 г.

Впервые для представителей класса Eoacanthocephala изучена ультраструктура тегумента метасомы развивающегося скребня *Neoechinorhynchus beringianus* (Neoechinorhynchidae). Показано, что у полностью сформированных акантелл этого вида отсутствует циста, характерная для цистакантов подобных стадий развития у представителей других классов скребней, и функцию защиты от ответной реакции хозяина выполняет толстый слой гликокаликса на поверхности тегумента. Тегумент представлен типичным сим-пластом, включает стандартный набор слоев (поперечно-полосатый, войлочно-волокнистый, радиально-волокнистый и трубчатый) и подстилается базальной пластинкой и двумя слоями мышц. Отсутствие у исследованных развитых акантелл цисты не позволяет применять к ним термин “цистакант”.

**Ключевые слова:** *Neoechinorhynchus beringianus*, цистакант, акантелла, тегумент, гликокаликс, световая микроскопия, электронная микроскопия.

**DOI:** 10.31857/S1026347024050054, **EDN:** uloimp

Покров паразитических червей, включая скребней (акантоцефалов), представляет собой уникальное образование, позволяющее, с одной стороны, осуществлять обменные процессы с окружающей средой/организмом хозяина, с другой, защищаться от ответной негативной реакции хозяина. Доминирующую роль в выполнении этих функций, безусловно, выполняет поверхностный участок покрова, имеющий непосредственный контакт с окружающей средой. Поскольку акантоцефалы являются биогельминтами и характеризуются сложными жизненными циклами с участием нескольких хозяев, их покров должен быть адаптирован ко всем хозяевам.

Морфология покрова взрослых скребней изучена на примере нескольких, преимущественно модельных, видов с применением как световой, так и электронной микроскопии; эти результаты обобщены в ряде обзоров (Meyer, 1933; Nicholas, 1967; Богоявленский, Иванова, 1978; Miller, Dunagan, 1985; Herlyn, 2000; Taraschewski, 2000; Никишин, 2004; и др.). Значительно меньше работ было посвящено изучению ультратонкого строения

акантелл, развивающихся в промежуточных хозяевах, и цистакантов, причем в большинстве случаев объектами этих исследований были представители классов Palaeacanthocephala и Archiacanthocephala (Butterworth, 1969; Marchand, Grita-Timoulali, 1992; Никишин, 2004). Свето-микроскопическое строение покровов у представителей класса Eoacanthocephala на разных стадиях жизненного цикла изучено на примерах нескольких видов рода *Neoechinorhynchus* (Богоявленский, Иванова, 1978; Al-Sady, 2009; Lourenco *et al.*, 2018; и др.). Сведения же об ультраструктуре покровов у взрослых представителей этого класса ограничены результатами детального исследования стенки тела скребня *Octospinifer macilentus* с применением трансмиссионного электронного микроскопа (Beermann *et al.*, 1974) и переднего и заднего участков тела скребня *Neoechinorhynchus cephalic* с применением сканирующей электронной микроскопии (Kaur, Sanil, 2021); ультраструктура же акантелл скребней этого класса остается не изученной. В настоящем сообщении представлены первые результаты изучения покрова метасомы поздней акантеллы

скребня *Neoechinorhynchus beringianus* Mikhailova, Atrashkevich, 2008 с использованием световой и трансмиссионной электронной микроскопии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вид *N. beringianus* описан от девятииглой колюшки *Pungitius pungitius* Linnaeus, 1758 — основного дефинитивного хозяина и, кроме Магаданской области, распространен на Чукотке, Аляске, Камчатке, Сахалине и в Приморье. К типичным местообитаниям паразита относятся речные старицы и водоемы на морском побережье, заселенные колюшками. В число его окончательных хозяев, помимо девятииглой колюшки, входят лососевые, хариусы, ряпушка, налим, подкаменщик, а промежуточными хозяевами служат мелкие пресноводные ракушкообразные рачки рода *Candona*.

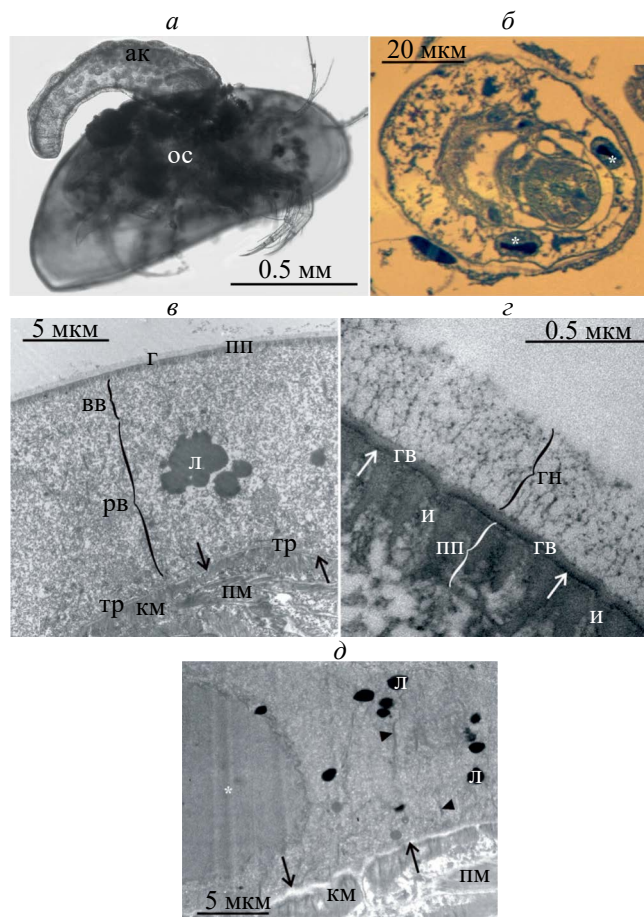
Мы изучили полностью сформированных акантелл из остракод, собранных в озере Черное бассейна Верхней Колымы — уникальном очаге, в котором обитает изолированная популяция девятииглой колюшки. Живых скребней фиксировали в 2%-ном растворе глутарового альдегида на 0.1 М фосфатном буфере, постфиксировали в 1–2%-ном растворе тетраоксида осмия на 0.2 М буфере, обезвоживали и заключали в смесь эпон и аралдита. В процессе обезвоживания образцы контрастировали 1%-ным раствором уранилацетата в 70%-ном спирте в течение ночи. Тотальные препараты и полутонкие срезы, окрашенные смесью метиленового синего и кристаллического фиолетового, просматривали в световых микроскопах Carl Zeiss Imager.D1 и Olympus CX41 и фотографировали цифровыми фотоаппаратами AxioCam MRc (Zeiss) и Olympus E-420, соответственно. Тонкие срезы просматривали в электронном микроскопе JEM 1400 Plus. Все полученные фотографии обрабатывали с использованием пакета программ Corel DRAW Graphics Suite X5.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рисунке 1а представлен общий вид акантеллы с промежуточным хозяином; на рисунке 1б — ее поперечный срез. Покров изученных акантелл представляет собой типичный симпластический тегумент, толщиной до 30 мкм (рис. 1). Снаружи тегумент покрыт слоем гликокаликса (рис. 1в, г), толщиной до 1 мкм, в составе которого визуальнo выделяются два подслоя (рис. 1г). Непосредственно к поверхности тегумента прилежит внутренний подслой гликокаликса, толщиной до 70 нм, образованный электронно-плотным гомогенным материалом. Остальная часть гликокаликса (его внешний подслой) представлена рыхлым материалом,

состоящим из тонких переплетающихся филаментов и электронно-плотных зерен.

Поверхность тегумента покрыта цитоплазматической мембраной, сливающейся с тонким электронно-плотным покровным комплексом (10–20 нм толщиной) (рис. 1г), структура которого на имеющихся препаратах не определяется. Глубже



**Рис. 1.** Акантеллы скребня *N. beringianus* (а — самка, в-д — самцы; а-б — световая микроскопия, в-д — электронная микроскопия). а — Остракода р. *Candona* с выделившейся акантеллой в связи с механическим повреждением раковины промежуточного хозяина; б — акантелла в промежуточном хозяине; в — общий вид тегумента метасомы; г — ядерный участок тегумента метасомы; д — наружный участок тегумента метасомы. ак — Акантелла; вв — ойлочно-волоконный слой тегумента; г — гликокаликс; гв — внутренний слой гликокаликса; гн — наружный слой гликокаликса; и — инвагинаты поперечно-полосатого слоя; км — слой кольцевых мышц; л — липиды; ос — остракода; пм — слой продольных мышц; пп — поперечно-полосатый слой тегумента; рв — радиально-волоконный слой тегумента; тр — трубчатый слой тегумента; стрелка белая — покровный комплекс; головка стрелки черная — волокна радиально-волоконного слоя тегумента; звездочка — ядра тегумента.

в составе тегумента отчетливо различаются поперечно-полосатый, войлочно-волоконистый, радиально-волоконистый и трубчатый слои (рис. 1в).

Поперечно-полосатый слой, толщиной 0.35–0.40 мкм, характеризуется многочисленными инвагинатами наружной цитоплазматической мембраны. Диаметр инвагинатов колеблется в пределах 50–80 нм; — их содержимое электронно-светлое неясной структуры. Цитоплазма слоя более плотная, чем в других участках тегумента (рис. 1г).

Войлочно-волоконистый слой, толщиной около 2.5 мкм, имеет неясную исчерченность в более или менее продольном направлении. В составе этого слоя выявляются многочисленные волокна, ориентированные параллельно тегументу, митохондрии и везикулы различного диаметра (рис. 1в).

Радиально-волоконистый слой самый толстый, толщиной 10–15 мкм, также не имеет отчетливых границ и характеризуется наличием лакун, тегументных ядер, липидных капель и везикул, визуально менее многочисленных, чем в войлочно-волоконистом слое (рис. 1в). Кроме того в этом слое чаще, чем в других слоях наблюдаются радиально ориентированные волокна, пронизывающие тегумент от его внутренней цитоплазматической мембраны до покровного комплекса.

Количество ядер у скребней исследуемого вида постоянное — пять дорзальных и одно вентральное. Ядра характеризуются округлой или овальной формой, слегка волнистой оболочкой и включают по одному ядрышку грушевидной (реже гантелевидной) формы, отчетливо наблюдаемых на светомикроскопических препаратах (рис. 1б). Наибольший диаметр одного из ядер на электроннограмме составил 14 мкм (рис. 1д).

Толщина трубчатого слоя не превышает 1.5 мкм (рис. 1в). Он образован множеством инвагинатов цитоплазматической мембраны, изнутри ограничивающей тегумент. В цитоплазме этого слоя наблюдаются многочисленные пузырьки, предположительно являющиеся расширенными окончаниями инвагинатов.

Под тегументом располагаются слои кольцевых и продольных мышц, отделенные от тегумента базальной пластинкой (рис. 1в, д).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гистологическая организация тегумента взрослых скребней *N. beringianus*, а также его ультраструктура были рассмотрены ранее (Кусенко и др., 2012; Кусенко, Никишин, 2013а, б). Особенности тегумента исследованных здесь акантелл в сравнении со взрослыми червями являются ожидаемые размерные различия, а также морфология тегументных ядер. В настоящем исследовании мы не обнаружили массивных внутриядерных включений, отмеченных

в ядрах взрослых червей, а сами ядра характеризуются более правильными округлыми очертаниями и меньшими размерами. Изменение морфологии этих ядер у взрослых червей, возможно, связано с ростом паразитов в окончательном хозяине.

Наличие толстого слоя гликокаликса на поверхности тегумента полностью сформированных цистакантов характерно для скребней классов *Palaeacanthocephala* и *Archiacanthocephala* (Wright, Lumsden, 1968; Никишин, 1986; Никишин и др., 1994; Dezfuli, Giari, 1999; и др.). Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что и представители класса *Eoacanthocephala*, по крайней мере, вид *N. beringianus*, не являются исключением. Таким образом, подтверждается ранее высказанное предположение, что толстый слой гликокаликса на поверхности тегумента является особенностью тканевых форм, как минимум, многих паразитических червей (Никишин, 2016, 2018). Можно предполагать, что столь развитый слой гликокаликса защищает тканевых паразитов от ответной клеточной реакции хозяина, например, от “гемоцитной атаки” в организме промежуточного хозяина (Никишин, 2016, 2018; и др.).

Наиболее примечательной особенностью исследованных акантелл является отсутствие цисты, окружающей цистакантов классов *Palaeacanthocephala* и *Archiacanthocephala* (Crompton, 1967; Mercer, Nicholas, 1967; Никишин, 1999, 2004; и др.). Вывод об отсутствии цисты у акантелл *Eoacanthocephala* ранее был сделан на основе результатов светомикроскопических исследований ряда других видов (Merritt, Pratt, 1964; Harms, 1965; Cable, Dill, 1967; Uglem, Larson, 1969; и др.), однако однозначное подтверждение этого факта с применением электронной микроскопии получено впервые. Более того, у исследованных акантелл не обнаружен и механизм формирования цисты, обязательными компонентами которого, например, у представителей класса *Palaeacanthocephala* являются микроворсинки на поверхности тегумента (Nikishin, 1992). Таким образом, отсутствие цисты у исследованных скребней, достигших стадии, инвазионной для окончательного хозяина, не позволяет именовать их термином “цистакант”; предпочтительнее использовать термин “акантелла” (Петроченко, 1956; и др.) или “сформированная акантелла”.

Функция цисты, по мнению большинства исследователей, заключается в защите развивающейся акантеллы от гемоцитного ответа промежуточного хозяина (Lackie, 1975; Nickol, 1985; Никишин, 1999; и др.). Защитную функцию, но предположительно более многообразную, выполняет также толстый слой гликокаликса, характерный для стадий жизненного цикла, предшествующих стадии жизни в окончательном хозяине (Никишин, 2016; 2018). В частности, участие цисты и гликокаликса в защите от гемоцитной атаки организма промежуточного

хозяина (ракообразного) экспериментально показано на примере цистицеркоидов цестод (Никишин, Лебедев, 2011). Можно предполагать, что у акантелл класса Eoacanthocephala защитные функции отсутствующей цисты принимает на себя гликокаликс.

По всей вероятности, отсутствие цисты является характерной особенностью сформированных акантелл других видов класса Eoacanthocephala. В таком случае стратегия взаимоотношений с промежуточными хозяевами акантелл класса Eoacanthocephala, не имеющих цисту, должна отличаться от стратегии взаимоотношений с промежуточными хозяевами цистакантов скребней классов Palaeacanthocephala и Archiacanthocephala, формирующих цисту как дополнительную защитную структуру. Будущие исследования должны подтвердить или опровергнуть это предположение.

Авторы выражают благодарность Е.И. Михайловой за любезно предоставленную фотографию к рисунку (Рис. 1а).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования проведены при выполнении государственного задания «Гельминты в биоценозах Северо-Восточной Азии: биоразнообразие, морфология и молекулярная филогенетика» (номер регистрации 1021060307693-0).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Для достижения целей данного исследования не требовалось одобрения комитетов по этике исследований, поскольку экспериментальная работа проводилась с нерегулируемыми видами беспозвоночных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Богоявленский Ю.К., Иванова Г.В. Микроструктура тканей скребней. М.: Наука, 1978. 217 с.
- Кусенко К.В., Михайлова Е.И., Никишин В.П. Гистология покровных тканей скребня *Neoechinorhynchus beringianus* // Вестник Северо-Восточного государственного университета. 2012. Вып. 18. С. 40–48.
- Кусенко К.В., Никишин В.П. Ультраструктура тегумента метасомы скребней класса Eoacanthocephala на примере *Neoechinorhynchus beringianus*. Материалы V Всероссийского съезда Паразитологического общества при РАН “Паразитология в изменяющемся мире”. Новосибирск, 2013а. С. 102.
- Кусенко К.В., Никишин В.П. Ультраструктура покровов метасомы скребня *Neoechinorhynchus beringianus*, ассоциированного с бактериями. Материалы докладов Всероссийской научной конференции “Чтения памяти академика К.В. Симакова”. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2013б. С. 145–147.
- Никишин В.П. Тонкое строение стенки метасомы цистаканта скребня *Polymorphus strumosoides* (Acanthocephala, Polymorphidae) // Паразитология. 1986. Т. 20. Вып. 5. С. 403–408.
- Никишин В.П. Циста вокруг личинок акантоцефалов как элемент хозяинно-паразитарного пространства. В кн.: Наука на северо-востоке России. К 275-летию российской академии наук. Магадан, СВНЦ ДВО РАН, 1999. С. 139–149.
- Никишин В.П. Цитоморфология скребней: покровы, защитные оболочки, эмбриональные личинки. М.: ГЕОС, 2004. 233 с.
- Никишин В.П. Модификации гликокаликса скребней // Известия РАН. Серия биологическая. 2018. № 1. С. 42–54. DOI: 10.7868/S000233291801006X
- Никишин В.П., Плужников Л.Т., Леонов С.А. Ультраструктура покровов цистакантов *Polymorphus magnus* (Acanthocephala, Polymorphidae) // Паразитология. 1994. Т. 28. № 1. С. 52–59.
- Петроченко В.И. Акантоцефалы (скребни) домашних и диких животных. М.: Изд-во АН СССР, 1956. Т. 1. 436 с.
- Al-Sady R.S. The life cycle and larval development of *Neoechinorhynchus iraqensis* // Al-Haitman Journal for Pure and Applied Science. 2009. V. 22. № 2. P. 9–14.
- Beermann I., Arai H.P., Costerton J.W. The ultrastructure of the lemnisci and body wall of *Octospinifer macilentus* (Acanthocephala) // Canadian Journal of Zoology. 1974. V. 52. № 5. P. 533–535.
- Butterworth P. The development of the body wall of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) in its intermediate host *Gammarus pulex* // Parasitology. 1969. V. 59. P. 373–388.
- Cable R.M., Dill W.T. The morphology and life history of *Pallisentis fractus* Van Cleave and Bangham, 1949 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) // Journal of Parasitology. 1967. V. 53. № 4. P. 810–817.
- Crompton D.W.T. Studies on the haemocytic reaction of *Gammarus* spp., and its relationship to *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) // Parasitology. 1967. V. 57. P. 389–401.
- Dezfuli B.S., Giari L. Amphipod intermediate host of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala), parasite of water birds, with notes on ultrastructure of host-parasite interface // Folia parasitologica. 1999. V. 46. № 2. P. 117–122.
- Harms C.E. The life cycle and larval development of *Octospinifer macilentus* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) // Journal of Parasitology. 1965. V. 51. № 2. P. 286–293.
- Herlyn H. Zur Ultrastruktur, Morphologie und Phylogenie der Acanthocephala. Berlin: Logos Verlag Berlin, 2000. 131 p.

- Kaur P., Sanil N. Morphological and molecular characterization of *Neoechinorhynchus* (*N.*) *cephali* n. sp. (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) Stiles and Hassall 1905 infecting the flathead grey mullet *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) from the southwest coast of India // Parasitology Research. 2021. V. 120. P. 3123–3136.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07252-2>
- Lackie A.M. The activation of infective stages of endoparasites of vertebrates // Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society. 1975. V. 50. № 3. P. 285–323.
- Lourenço F.S., Morey G.A.M., Malta J.C.O. The development of *Neoechinorhynchus buttnerae* (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) in its intermediate host *Cypridopsis vidua* in Brazil // Acta Parasitologica. 2018. V. 63. № 2. P. 354–359.  
DOI: 10.1515/ap-2018-0040
- Marchand B., Grita-Timoulali Z. Comparative ultrastructural study of the cuticle of larvae and adults of *Centrorhynchus milvus* Ward, 1956 (Acanthocephala, Centrorhynchidae) // Journal of Parasitology. 1992. V. 78. № 2. P. 355–359.
- Meyer A. Acanthocephala. In: Dr H.G. Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft MBH, 1933. Bd. 4. Abt. 2. Buch 2. Lief 2. S. 333–582.
- Mercer E.H., Nicholas W.L. Ultrastructure of the capsule of the larval stages of *Moniliformis dubius* (Acanthocephala) in the cockroach *Periplaneta americana* // Parasitology. 1967. V. 57. № 1. P. 169–174.
- Merritt S.V., Pratt I. The life history of *Neoechinorhynchus rutili* and its development in the intermediate host (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) // Journal of Parasitology. 1964. V. 50. № 3. P. 394–400.
- Miller D.M., Dunagan T.T. Functional morphology. In: Biology of the Acanthocephala. Edited by D.W.T. Crompton, B.B. Nickol. Cambridge University Press, 1985. P. 73–123.
- Nicholas W.L. The biology of the Acanthocephala // Advances in Parasitology. 1967. V. 5. P. 205–315.
- Nickol B.B. Epizootiology. In: Biology of Acanthocephala. Edited by D.W.T. Crompton, B.B. Nickol. Cambridge University Press, 1985. P. 307–346.
- Nikishin V.P. Formation of the capsule around *Filicollis anatis* (Acanthocephala) in its intermediate host // Journal of Parasitology. 1992. V. 78. № 1. P. 127–137.
- Nikishin V.P. Morphofunctional diversity of glycocalyx in tapeworms // Biology Bulletin Reviews. 2017. V. 7. № 2. P. 160–177.  
DOI: 10.1134/S2079086417020050
- Nikishin V.P., Lebedev D.V. Experimental evidence of the defense role of the exocyst in the metacystode of *Microssomacanthus lari* Belogurov et Kulikov, in Spasskaja, 1966 (Cestoda: Hymenolepididae) // Russian Journal of Marine Biology. 2011. V. 37. № 1. P. 80–83.  
DOI: 10.1134/S106307401101010X
- Taraschewski H. Host-parasite interactions in Acanthocephala: a morphological approach // Advances in Parasitology. 2000. V. 46. P. 1–179.
- Uglen G.L., Larson O.R. The life history and larval development of *Neoechinorhynchus saginatus* Van Cleave and Bangham, 1949 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) // Journal of Parasitology. 1969. V. 55. № 6. P. 1212–1217.
- Wright R.D., Lumsden R.D. Ultrastructural and histochemical properties of the acanthocephalan epicuticle // Journal of Parasitology. 1968. V. 54. № 6. P. 1111–1123.

## First knowledge on the ultrathin structure of the tegument “Cystacanth” of the acanthocephala *Neoechinorhynchus beringianus* Mikhailova, Atrashkevich, 2008 (Eoacanthocephala, Neoechinorhynchidae)

K. V. Kusenko<sup>#</sup>, V. P. Nikishin<sup>#</sup>

*Institute of Biological Problems of the North, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences,*

*st. Portovaya, 18, Magadan, 685000 Russia*

*<sup>#</sup>E-mail: kusenko.kseniya@yandex.ru*

*<sup>#</sup>E-mail: nikishin@ibpn.ru*

For the first time, the ultrastructure of the metasoma tegument of the developing acanthocephalan *Neoechinorhynchus beringianus* (Neoechinorhynchidae) was studied at representatives of the Eoacanthocephala class. Completely developed acanthellae of this species were shown to have no cyst, which is a characteristic feature of cystacanths of similar development stages in representatives of other acanthocephalan classes; and the protection function from the host response is performed by a thick layer of glycocalyx on the tegument surface. The tegument is represented by a typical symplast, including a standard set of layers (cross-striated, felt-fibrous, radially fibrous and tubular), and is underlain by a basal plate and two layers of muscles. The absence of a cyst in the completely developed acanthellae under study does not allow using the term “cystacanth” concerning them.

*Keywords: Neoechinorhynchus beringianus, cystacanthus, acanthella, tegument, glycocalyx, light microscopy, electron microscopy*