

УДК 576.6+576.895.42+576.851.71

ЭКОЛОГИЯ

А. А. АВАКЯН, В. Е. СИДОРОВ, С. М. ЧЕБАНОВ

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СИМБИОЗА
РИККЕТСИОПОДОБНЫХ СИМБИОНТОВ И АРГАСОВЫХ КЛЕЩЕЙ
(ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

(Представлено академиком А. И. Опариным 29 I 1973)

Изучение закономерностей внутриклеточного симбиоза имеет важное значение для формирования теоретических основ симбиоза и управления взаимоотношениями партнеров в системе «хозяин — симбионт».

В последние годы получены новые данные, проливающие свет на общие закономерности внутриклеточного паразитизма (¹). В связи с этим большой интерес представляют исследования не только явно выраженных паразитарных отношений, но и такой формы симбиоза, как мутуализм, когда хозяин и симбионт длительное время сосуществуют друг с другом, образуя при этом более или менее устойчивую систему.

Согласно критериям Р. Глезера (²), мутуалистами следует считать те микроорганизмы, численность которых находится под контролем хозяина, а их встречаемость является обязательной для любой особи данного вида хозяина. В соответствии с этими критериями для исследований были выбраны риккетсиоподобные симбионты рода *Wolbachia* (р.с.), которые являются облигатными обитателями клеток яичников, мальпигиевых сосудов и в ряде случаев других органов клещей (³⁻⁵). Они передаются поколениям хозяина наследственным, трансovarиальным путем и не циркулируют в природе, вне организма.

В настоящее время проводится интенсивное изучение ультраструктурной организации этих микроорганизмов (⁶⁻¹⁰). Однако цикл развития р.с. и механизмы тонкого взаимодействия с клеткой хозяина, сопровождающие это развитие, остаются невыясненными. Отсутствуют конкретные данные относительно факторов, определяющих динамику численности р.с. в организме сытых и голодных клещей. Знание всех этих вопросов дает возможность полнее и глубже оценить особенности симбиоза между р.с. и клещами.

Представленная работа посвящена изучению особенностей ультраструктурной организации р.с. на протяжении всего цикла их развития в аргасовых клещах (*Alveonassus lahorensis* Neumann, *Argas persicus* Oken, *Ornithodoros papillipes* Birulia) и выяснению влияния гопотрофического ритма хозяина на динамику численности р.с.

В работе использовали яичники (я.) и мальпигиевы сосуды (м.с.) самок клещей. Эти органы фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на буфере Хэнкса с постфиксацией в 1% растворе четырехокиси осмия на буфере Шестранда. Ткань заключали в эпоп 812. Вся обработка объектов осуществлялась в специальном приспособлении (¹¹). Ультратонкие срезы контрастировали спиртовым раствором уранилacetата и цитратом свинца по методу Рейнольдса и просматривали в электронном микроскопе.

Проведенные исследования показывают, что цикл развития р.с. всех трех видов клещей складывается из трех стадий, которые мы назвали: 1) стадия репродукции, 2) стадия консервации и 3) стадия активации.

Стадия репродукции. Спустя 7—30 дней после кормления самок на морских свинках р.с. располагаются группами в виде микроколоний

(рис. 1А) в цитоплазме клеток я. и м. с. Каждая микроколония отделена от цитоплазмы ограничивающей вакуолярной мембраной (в.м.) толщиной 120 Å и насчитывает от 5 до 14, а иногда до 40 особей р.с. на срезах колонии. Все особи отделены друг от друга обширной электронно-прозрачной зоной. На фоне этой зоны выделяются лизосомоподобные пузырьки с размерами от 50 до 100 мμ в диаметре.

Симбионты исследованных видов клещей представлены на этой стадии двумя морфологическими вариантами (рис. 1А). Первый — продолговатые, палочковидные формы с размерами по длине 1—1,2μ, иногда 2μ и более. Второй — короткие, кокковидные, овальные формы, длина которых составляет 0,5—0,6μ. Наличие двух морфологических вариантов р.с. подтверждается также результатами негативного контрастирования фосфорновольфрамовой кислотой. Тело симбионтов снаружи покрыто клеточной стенкой (к.с.) толщиной 110 Å (рис. 1А, Б). К.с. состоит из трех слоев: двух осmioфильных, толщиной 30 Å, и среднего осmioфобного, толщиной 40 Å. Цитоплазматическая мембрана (цп.м.) расположена внутрь от к.с. Она также состоит из трех слоев. Каждый слой имеет толщину 30 Å. Между к.с. и цп.м. находится электронно-прозрачный слой, достигающий 100μ и более.

В центре риккетсиоплазмы имеется плотная для электронов зона, от которой ответвляются фибриллы толщиной от 20 до 1000 Å, соответствующие нуклеиду риккетсий и бактерий. По периферии риккетсиоплазмы рассеяны гранулы типа рибосом, собранные в «грозди» диаметром 30—40 мμ.

Характерной особенностью биологии р.с. является их бинарное деление (рис. 1Б). Деление особей сопровождается образованием перетяжки и перераспределением вещества риккетсиоплазмы. Образование перетяжки осуществляется путем инвагинации к.с. и цп.м. внутрь риккетсиоплазмы. Процесс размножения наблюдается в клетках я. и м.с. только в первые недели после питания клещей.

Наши наблюдения над развитием р.с. в трех видах аргасовых клещей дают основания полагать, что эти микроорганизмы являются родственными: все они имеют одинаковые морфологические характеристики и размножаются подобно некоторым грам-отрицательным бактериям с помощью перетяжки⁽¹²⁾. Размножение р.с. происходит в специальных вакуолях только после кормления хозяина. Полиморфизм особей обусловлен, по всей видимости, процессами роста и размножения.

Стадия консервации. Спустя один месяц после питания клещей деление р.с. прекращается. Свободное пространство, разделявшее прежде симбионтов, исчезает, и они оказываются упакованными в систему дополнительных мембран (рис. 1 В, Г). Количество таких мембран у особей одной и той же колонии варьирует. Так, у одного симбионта их может быть 3—4 и более, в то время как у другого, близлежащего, дополнительные мембраны могут отсутствовать. Местоположение этих мембран относительно тела р.с. также не бывает строго определенным. Они зачастую окаймляют лишь отдельный участок тела, а не весь организм симбионта. По периферии дополнительных мембран располагаются описанные ранее пузырьки

Рис. 1. А — ультраструктура колонии риккетсиоподобных симбионтов на стадии репродукции, 45 000×; Б — деление риккетсиоподобного симбионта с помощью перетяжки, 60 000×; В, Г — ультраструктура колонии риккетсиоподобных симбионтов на стадии консервации, 45 000×; Д — Е — ультраструктура колоний с дегенерирующими симбионтами: Д — 45 000×, Е — 30 000×; Ж — стадия активации риккетсиоподобных симбионтов, 10 000×. В.м — вакуолярная мембрана, к.с — клеточная стенка, цп.м — цитоплазматическая мембрана, ф.н — фибриллы нуклеоида, р — рибосомы, э.с — электронно-прозрачный слой, л.п — лизосомоподобные пузырьки, д.м — дополнительные мембраны, н — вновь образованные полости клеток хозяина, к.д — колонии с дегенерирующими симбионтами, о.в.м — остатки вакуолярной мембраны

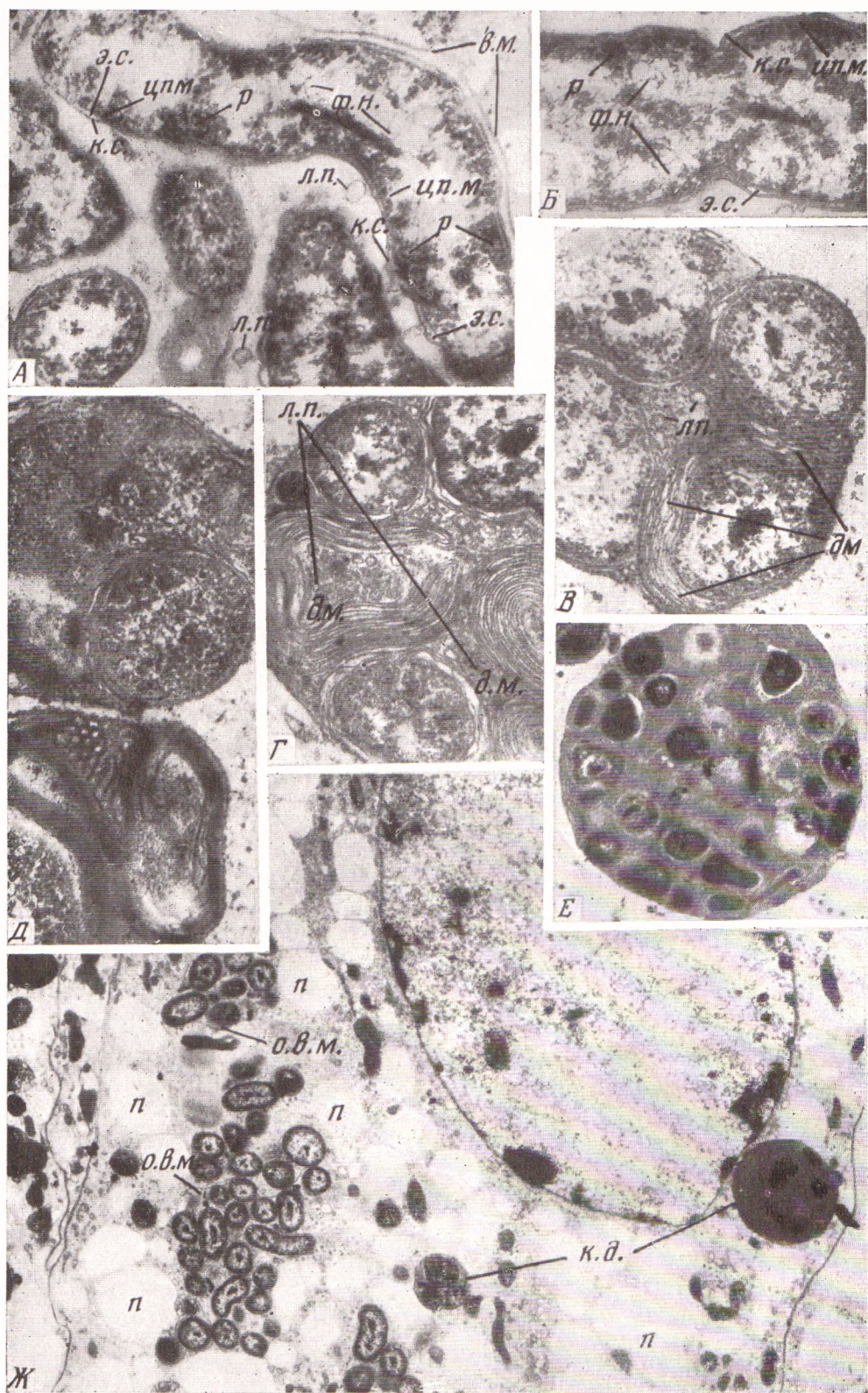


Рис. 1

типа лизосом. Число их по мере голодания хозяина возрастает. Во многих колониях дополнительные мембраны образуют вокруг лизосомоподобных пузырьков своеобразные карманы (рис. 1Г). Создается впечатление, что дополнительные мембраны служат для изоляции р.с. от лизосомоподобных пузырьков. Морфология р.с. и расположение элементов риккетсиоплазмы остаются прежними. Однако пространство между к.с. и цп.м. исчезает, и они тесно соприкасаются друг с другом.

При длительном голодании хозяина (1 год и более), наряду с описанными формами р.с. (стадия консервации), начинают преобладать колонии с дегенерирующими симбионтами (рис. 1Д, Е). Наличие подобных форм симбионтов у клещей было описано ранее⁽⁸⁾. Авторы предположили, что деструкция р.с. вызвана действием ферментов, находящихся в лизосомоподобных пузырьках. Действительно, в колониях с дегенерирующими р.с. лизосомоподобные пузырьки исчезают, а тело симбионтов, дополнительные мембраны и отграничивающая вакуолярная мембрана подвергаются лизису.

Стадия активации. Эта стадия (рис. 1Ж) начинается непосредственно после кормления клеща и характеризуется выходом р.с. из вакуолярной мембраны, рассредоточением лизосомоподобных пузырьков и дополнительных мембран. После кратковременного контакта с цитоплазмой р.с. проликают во вновь образованные полости клетки хозяина, после чего формируется отграничивающая вакуолярная мембрана.

Таким образом, результаты изучения морфогенеза р.с. показывают, что цикл их развития, включающий стадии репродукции, консервации и активации, определяется гонотрофическим ритмом хозяина.

Оценивая взаимоотношения хозяина и р.с. с учетом стадий развития последних, следует подчеркнуть, что регуляция численности популяции симбионтов хозяином осуществляется на каждом отдельном этапе их совместного существования.

Так, после кормления клеща численность симбионтов начинает увеличиваться. Однако возможность для прохождения начальных стадий развития предоставляется симбионтам лишь в тех немногочисленных клетках, где имеются полости для формирования новых колоний. Основная же часть популяции р.с. продолжает оставаться на стадии консервации. Не исключено, что при каждом кормлении хозяина в приросте численности популяции участвуют лишь отдельные генерации р.с.

Голодание хозяина сопровождается неуклонным снижением численности популяции р.с. Об этом свидетельствует факт появления и последующего увеличения колоний с дегенерирующими симбионтами. Сокращение численности популяции р.с. происходит также за счет того, что клетка элиминирует колонии р.с. в просвет м.с. и в межклеточные полости яичника. Эти сведения известны из работ^(6, 13), а также неоднократно регистрировались при наших наблюдениях. Важно подчеркнуть, что в каждой клетке хозяина элиминируются лишь отдельные колонии, но не вся их совокупность.

Изложенные наблюдения могут служить конкретным подтверждением известного положения⁽¹⁾ о том, что численность симбионтов-мутуалистов находится под контролем хозяина и никогда не достигает уровня, на котором бы их присутствие оказалось губительным для хозяина.

В теоретическом плане полученные данные представляют возможность подойти к решению вопроса о критериях внутриклеточного симбиоза.

Этот вопрос является одним из ключевых в современной теории симбиоза. Критерии «польза — вред», с помощью которых классифицируются все явления симбиоза, являются формальными признаками. Они исключают возможность проведения количественного экологического анализа системы «хозяин — симбионт» на основе концепции^(14, 15) об организме хозяина как среде обитания для других организмов. Более глубоким признаком, отражающим экологический характер симбиоза, является критерий

эффективности регуляции численности симбионтов хозяином. В соответствии с этим критерием внутриклеточный симбиоз определяется нами как способ существования организмов в единой системе, в которой организм хозяина, являясь средой обитания, регулирует с той или иной степенью эффективности численность популяции симбионтов, независимо от воздействия последних как друг на друга, так и на организм хозяина.

Институт эпидемиологии и микробиологии
им. П. Ф. Гамалея
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
26 I 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Авакян, Изв. АН СССР, 2, 246 (1970). ² R. W. Glaser, Biol. Bull. Marine Biol. Lab., 39, 133 (1920). ³ E. V. Cowdry, J. Exp. Med., 41, 817 (1925). ⁴ E. Mudrow, Zs. Parasitenk., 5, 1, 138 (1932). ⁵ W. Iaschke, Zs. Parasitenk., 5, 3—4, 515 (1933). ⁶ M. A. Roshdy, J. Insect. Pathol., 3, 148 (1961). ⁷ M. A. Roshdy, J. Invertebr. Pathol., 11, 2, 155 (1968). ⁸ H. Hecker, A. Aeschlimann, M. J. Burckhardt, Acta tropica, 25, 3, 256 (1968). ⁹ В. Е. Сидоров, С. М. Чебанов, Второе акарологическое совещание, 2, Киев, 1970, стр. 132. ¹⁰ C. Reinhardt, A. Aeschlimann, H. Hecker, Zs. Parasitenk., 39, 201 (1972). ¹¹ С. М. Чебанов, В. Е. Сидоров, Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1, 113 (1972). ¹² А. А. Авакян, Л. Н. Кац, И. В. Павлова, Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных, 1972. ¹³ В. Н. Крючечников, В. Е. Сидоров, Паразитология, 3, 2, 110 (1969). ¹⁴ Е. Н. Павловский, Природа, 1, 80 (1934). ¹⁵ А. А. Филиппенко, Уч. зап. Ленингр. гос. унив., 13, 4, 4 (1937).