

УДК 576.6+576.895.42+576.851.71

ЭКОЛОГИЯ

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

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

(Представлено академиком А. И. Опарным 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<sup>(1)</sup>. 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<sup>(2)</sup>, 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<sup>(3-5)</sup>. Они передаются поколениям хозяина наследственным, трансовариальным путем и не циркулируют в природе, вне организма.

В настоящее время проводится интенсивное изучение ультраструктурной организации этих микроорганизмов<sup>(6-10)</sup>. 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 (*Alveonasus lahorensis* Neumann, *Argas persicus* Oken, *Ornithodoros papillipes* Birulia) и выяснению влияния гонотрофического ритма хозяина на динамику численности р.с.

В работе использовали яичники (я.) и мальпигиевые 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<sup>(11)</sup>. Ультратонкие срезы контрастировали спиртовым раствором ураплатетата 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. 1A) в цитоплазме клеток я. и м. с. Каждая микроколония отделена от цитоплазмы отграничивающей вакуолярной мембраной (в.м.) толщиной 120 Å и насчитывает от 5 до 14, а иногда до 40 особей р.с. на срезе колонии. Все особи отделены друг от друга обширной электронно-прозрачной зоной. На фоне этой зоны выделяются лизосомоподобные пузырьки с размерами от 50 до 100 мкм в диаметре.

Симбионты исследованных видов клещей представлены на этой стадии двумя морфологическими вариантами (рис. 1A). Первый — продольговатые, щалочковидные формы с размерами по длине 1—1,2 мкм, иногда 2 мкм и более. Второй — короткие, кокковидные, овальные формы, длина которых составляет 0,5—0,6 мкм. Наличие двух морфологических вариантов р.с. подтверждается также результатами пегативного контрастирования фосфорновольфрамовой кислотой. Тело симбионтов снаружи покрыто клеточной стенкой (к.с.) толщиной 110 Å (рис. 1A, Б). К.с. состоит из трех слоев: двух осмиофильных, толщиной 30 Å, и среднего осмиофобного, толщиной 40 Å. Цитоплазматическая мембра (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 100 мкм и более.

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

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.

Наше наблюдение 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. 1В, Г). Количество таких мембран у особей однотипной и той же колонии варьирует. Так, у одного симбионта их может быть 3—4 и более, в то время как у другого, близлежащего, дополнительные мембранны 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 размножения, 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, ф.н. — фибрillы пуклеонда, р — рибосомы, э.с. — электронно-прозрачный слой, л.п. — лизосомоподобные пузырьки, д.м. — дополнительные мембранны, п — вновь образованные полости клеток хозяина, к.д. — колонии с дегенерирующими симбионтами, о.в.м. — остатки вакуолярной мембраны

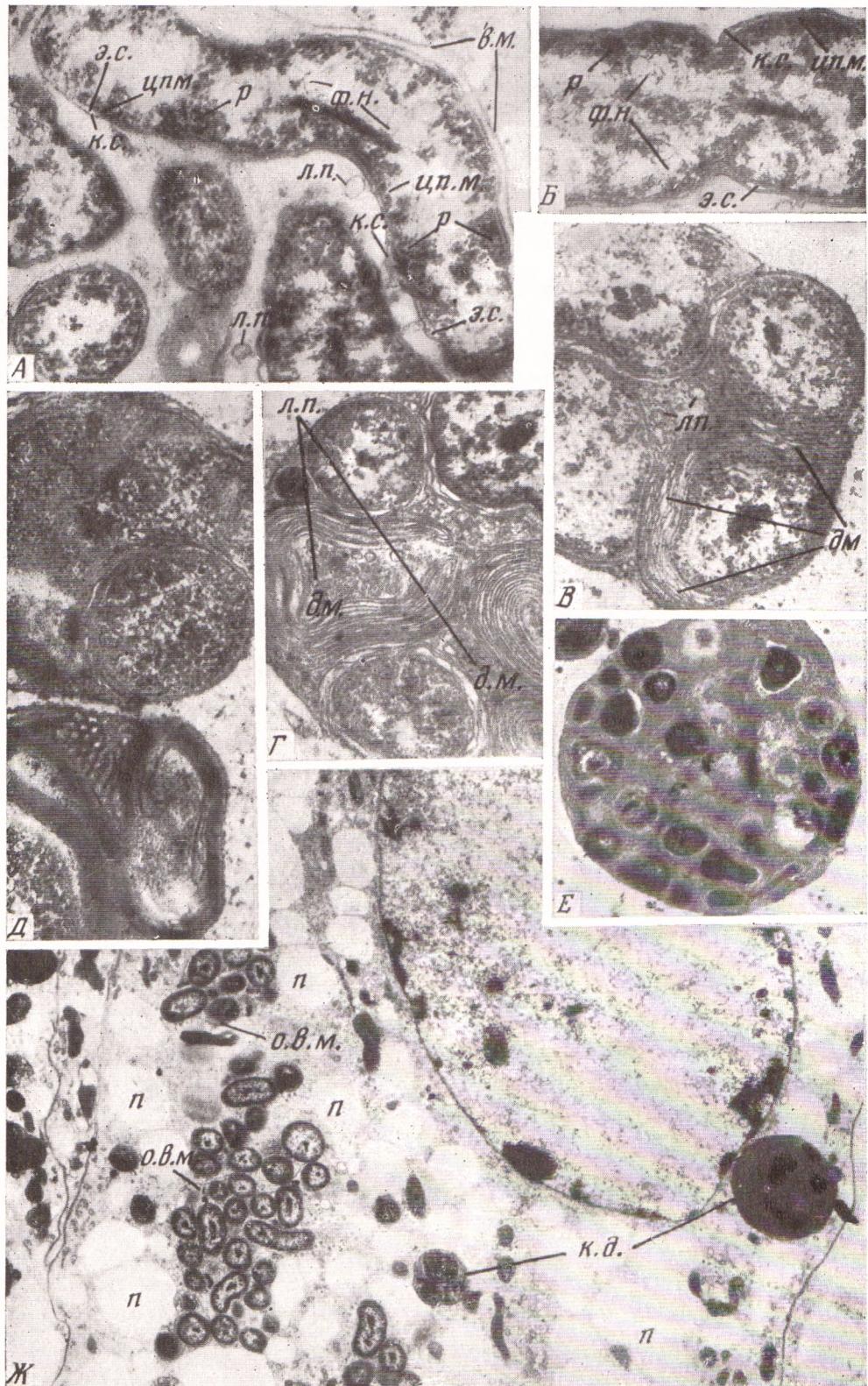


Рис. 1

Зак. 2328, т. 211, № 3, А. А. Авакян и др.

типа лизосом. Число их по мере голодания хозяина возрастает. Во многих колониях дополнительные мембранные образуют вокруг лизосомоподобных пузырьков своеобразные карманы (рис. 1Г). Создается впечатление, что дополнительные мембранные 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<sup>(8)</sup>. 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 мембранные и ограничивающая вакуолярная мембрана подвергаются лизису.

Стадия активации. Эта стадия (рис. 1Ж) начинается непосредственно после кормления клеща и характеризуется выходом р.с. из вакуолярной мембранны, рассредоточением лизосомоподобных пузырьков и дополнительных мембраний. После кратковременного контакта с цитоплазмой р.с. пропикуют во вновь образованные полости клетки хозяина, после чего формируется ограничивающая 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 простоте 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<sup>(6, 13)</sup>, 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<sup>(1)</sup> о том, что численность симбионтов-мутиуалистов 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<sup>(14, 15)</sup> 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. Н. Ф. Гамалеи  
Академии медицинских наук СССР  
Москва

Поступило  
26 I 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

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