

¹ Павлодарский государственный университет имени С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан² Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан(E-mail: ¹ ualiewa_rimta@mail.ru, ¹ kanakam61@mail.ru, ² zhangazin_sayan@mail.ru)**Процесс формирования скорлупы яиц на примере трематоды *Dendrihobilharzia purverulenta* (Braun, 1901)**

Аннотация: В настоящей работе показан процесс формирования скорлупы яиц на примере трематоды *Dendrihobilharzia purverulenta* (Braun, 1901). Формирование скорлупы яиц связано с морфофункциональными особенностями желточников и железы Мелиса. Желточные гранулы в оотипе или проксимальном отделе матки высвобождают белки для дублирования под действием агентов. Тельце Мелиса трематоды *Dendrihobilharzia purverulenta* – многофункциональный орган, обеспечивающий: активацию процесса высвобождения скорлупового материала из желточных клеток; формирование резистентной яйцевой оболочки в результате наслаивания на нее скорлупового материала; облегчение процесса перемещения яиц по петлям матки за счет «мукозных» веществ, выделяющихся клетками второго типа. Таким образом, желточные фолликулы и тельце Мелиса трематоды *Dendrihobilharzia purverulenta* представляют единый функциональный блок, который обеспечивает образование резистентной скорлупы яиц.

Ключевые слова: гельминты, трематоды, женская репродуктивная система, желточники, желточные клетки, тельце Мелиса.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-126-1-90-95>

Известно, что Класс Trematoda включает исключительно паразитические формы плоских червей. В связи с этим у них сформировались разнообразные морфологические и функциональные адаптации к паразитическому образу жизни. Одна из них – колоссальная плодовитость, что обеспечивает возможность быстрого и широкого расселения и обнаружения хозяев. В случае, когда не все эмбриональные стадии гельминтов могут попасть в необходимые условия для дальнейшего развития и продолжения жизненного цикла, для паразитических организмов «работает» закон «большого числа половых продуктов» – яиц [1], в результате чего увеличивается вероятность завершения цикла развития и появление следующего поколения. Поэтому для трематод как паразитических организмов интенсивная половая продуктивность имеет большое значение – этому подчинена структурная и функциональная организация всех отделов гермафродитной половой системы мариты. Понимание адаптивных механизмов, лежащих в основе обеспечения большого числа яиц, важно с точки зрения прикладных и фундаментальных аспектов проблемы.

Для исследования выбрана трематода *Dendrihobilharzia purverulenta*, на примере которой показан процесс формирования скорлупы яиц.

Материал и методы исследования

Объектом исследования является трематода *Dendrihobilharzia purverulenta* (Braun, 1901), относящаяся к подотряду Schistosomatata (Skrjabin, Schulc, 1937), семейству Schistosomatidae (Loos, 1899) из кровеносной системы (кровеносное русло) Красноголовой чернети (*Aythya ferina*).

Фиксирующие смеси и режим фиксации были выбраны в зависимости от целей исследования. Для гистологического исследования в качестве фиксирующего материала использована жидкость Буэна. Работа с материалом исследования началась с помещения трематод в биопсийные кассеты, после чего объект исследования прошел стадию отмывки от фиксирующей жидкости в 70 % спирте в течение 1-го дня.

Проводка материала осуществлялась с помощью гистопроцессора Medite TPC-15 (Medite, Германия), где исследуемый материал прошел стадии обезвоживания и парафинирования тканей по программе Standart 1.

Обезвоженный и пропитанный парафином материал был залит в парафиновые блоки. Тонкие срезы толщиной 5-7 микрон получали с помощью ротационного микротомы. Окрас полученных срезов осуществлялся гематоксилин-эозином по методу Эрлиха [2].

Полученные гистологические микропрепараты рассмотрены на световом микроскопе Keyence Vx-9000 (Keyence, Япония) с дальнейшим фотографированием срезов на разных увеличениях.

Для электронно-микроскопического исследования собранный гельминтологический материал был зафиксирован в забуференном 0,1М какодилатным буфером (рН 7,4) 3 % растворе глутарового альдегида, после чего постфиксирован в 1% растворе четырехокси осмия (на 0,1 М какодилатном буфере). Материал дегидратировали уранилацетатом в 70 ° спирте. В качестве заливочной среды использовали смолы аралдит и эпон 812. Ультратонкие срезы толщиной 60-100 нм готовили стекляннм ножом на ультрамикротоме «Ultratome III» (LKB, Швеция). Срезы контрастировали цитратом свинца по Reynolds E. [3]. Полученные препараты просматривали и фотографировали на электронном микроскопе «JEM-100 CXII» («JEOL», Япония).

Результаты исследования

Зрелые желточные клетки *Dendrihobilharcia purverulenta* представлены крупными размерами. Ядро часто смещено к краевой зоне клетки разросшимся числом зрелых желточных глобул. Специализированные клетки содержат плотно упакованные электронно-плотные скорлуповые глобулы. Глобулы содержат крупные скорлуповые гранулы, количество которых уменьшается за счет слияния последних друг с другом (рисунок 1). Количество митохондрий уменьшается. Между глобулами расположены сети гранулярного эндоплазматического ретикулума. Количество свободных рибосом и полисом уменьшено. Гликоген не выявлен. Зрелые специализированные желточные клетки поступают по желточным протокам в область оотипа, где скорлуповый материал идет на построение оболочки яйца.

Клетки тельца Мелиса первого типа, расположенные возле оотипа, имеют овальную или удлиненную форму, близко расположены друг к другу (рисунок 1). Железистые клетки второго типа локализуются дистально от оотипа.

В формирующемся яйце трематоды *Dendrihobilharcia purverulenta* по его краевой зоне расположены скорлуповые глобулы, синтезирующиеся в желточных клетках (рисунок 2). Глобулы содержат большое количество скорлуповых гранул маленького размера, по сравнению с имеющимися в желточных глобулах зрелых специализированных желточных клетках, расположенных вблизи формирующегося яйца (рисунок 1 и 2). Возле скорлуповых глобул, находящихся в яйце, наблюдаются единичные скорлуповые гранулы. Между гранулами в глобулах уже нет электронно-светлого пространства и четкой оболочки у скорлуповых глобул (рисунок 2). Глобулы находятся на стадии разрушения и выделения скорлупового секрета, образуя по периферии яйца, в области его оболочки гомогенное содержимое. Цитоплазма яйца имеет выраженную зернистость и представлена содержимым средней электронной плотности. В цитоплазме видны округлые скопления веществ, отделенные от матрикса тонкой оболочкой. По-видимому, данные образования содержат группу веществ белковой природы (ферменты, энзимы), ускоряющие процесс разрушения скорлупового материала (рисунок 2). Данные комплексы встречаются по всему сечению яйца, особенно в области разрушающихся скорлуповых глобул.

Анализ результатов исследования

Анатомическая связь железы Мелиса и желточных клеток с проксимальными отделами женской репродуктивной системы трематоды *Dendrihobilharcia purverulenta* является доказательством, что данные структуры участвуют в процессе формирования яйцевой скорлупы.

Процесс образования яйца у *Dendrihobilharcia purverulenta* проходит в оотипе, куда открываются желточные протоки, поставляющие зрелые желточные клетки. Как описано в классических источниках, сюда же поступают сперматозоиды из семяприемников и поступает из яичника яйцеклетка [4].

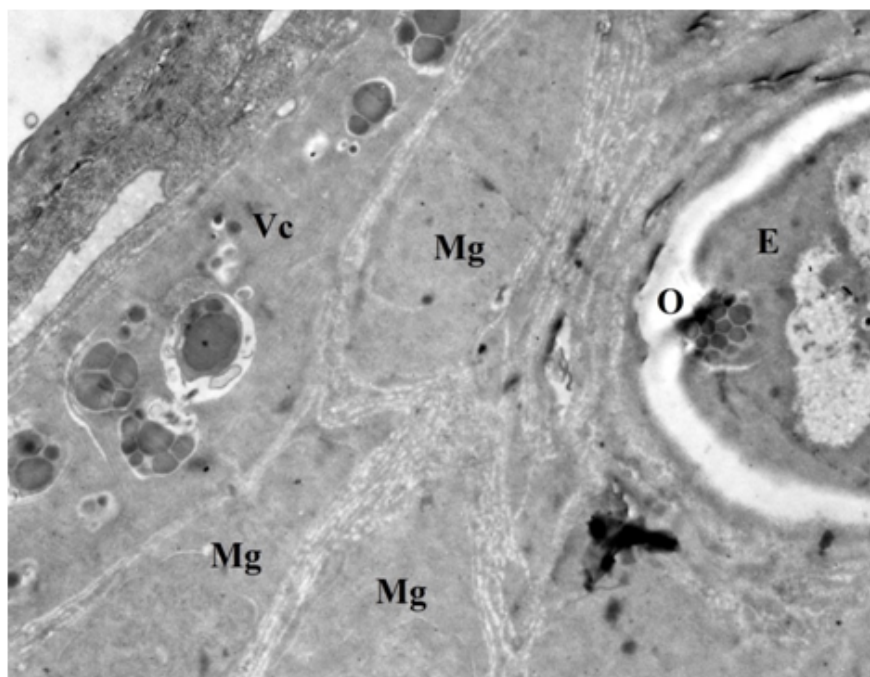


Рисунок 1 – Участок в районе оотипа *Dendrothobilharzia purverulenta* (x10000)
Vc – желточная клетка; Mg – клетка тельца Мелиса; E – формирующееся яйцо; O – оотип

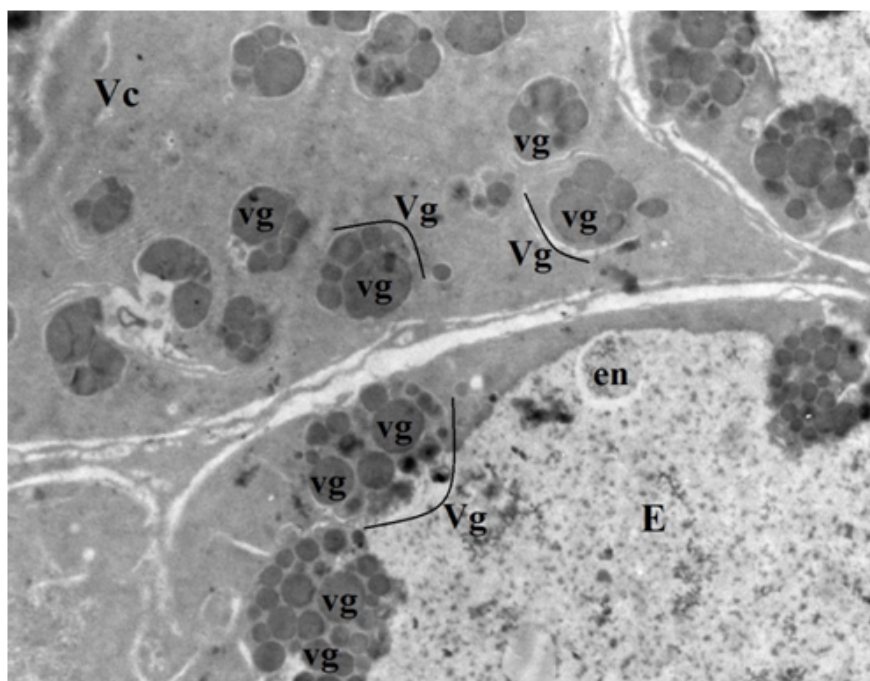


Рисунок 2 – Зрелая желточная клетка вблизи формирующегося яйца *Dendrothobilharzia purverulenta* (x10000)
Vc – желточная клетка; E – формирующееся яйцо; Vg – скорлуповые глобулы; vg – скорлуповые гранулы; en – энзимы

Скорлуповые глобулы, содержащие скорлуповые гранулы, локализуются на периферии, примыкая к первичной мембране яйца. Цитоплазма оплодотворенного яйца у изученной трематоды имеет единые ультраструктурные характеристики и представлена зернистой структурой умеренной электронной плотности. Окруженные тонкой оболочкой структуры в цитоплазме мы интерпретируем как структуры, содержащие энзимы. Они встречаются по

всему сечению яйца, в том числе вблизи скорлуповых глобул. По нашему мнению, именно под действием вышеописанных ферментов происходит ускорение процесса разрушения скорлуповых гранул. Скорлуповые вещества, выделяющиеся при разрушении гранул участвуют в построении скорлупы яиц трематод.

Роль тельца Мелиса при формировании и синтезе оболочки яйца, исходя из ранее проведенных наших исследований, очень важна [5-6]. Железа Мелиса в составе женской половой системы выполняет три основные функции:

- 1) инактивирует рН среды матки и сдвиг его в щелочную сторону;
- 2) обеспечивает формирование первичной мембраны, на внутренней поверхности которой аккумулируется материал скорлуповых глобул;
- 3) создает среду для действия ферментов, обеспечивающих дублирование белков скорлуповых глобул и формирование резистентной скорлупы яиц.

Мукоидная составляющая секрета тельца Мелиса облегчает продвижение яиц по петлям матки, выполняя роль смазки [5-6].

Основываясь на результатах электронно-микроскопических исследований желточников и тельца Мелиса трематоды *Dendrothobilharzia purverulenta*, составили общую схему процесса образования скорлупы яиц (рисунок 3).

На схеме представлены клетки железы Мелиса двух типов, зрелая желточная клетка и участок формирующегося яйца. Клетка тельца Мелиса первого типа стимулирует процесс высвобождения скорлуповых глобул из зрелых желточных клеток. Скорлуповый материал в ооците начинает разрушаться под действием веществ-агентов, мы называем их ферментами, в результате чего выделяется скорлуповое содержимое. Под действием секрета клетки тельца Мелиса первого типа происходит инактивация рН содержимого матки в щелочную сторону, скорлуповое вещество объединяется с образованием тонкой яичевой оболочки. Секрет клеток железы Мелиса второго типа участвует в ускорении продвижения сперматозоидов к ооципу и облегчает процесс продвижения яиц по петлям матки.

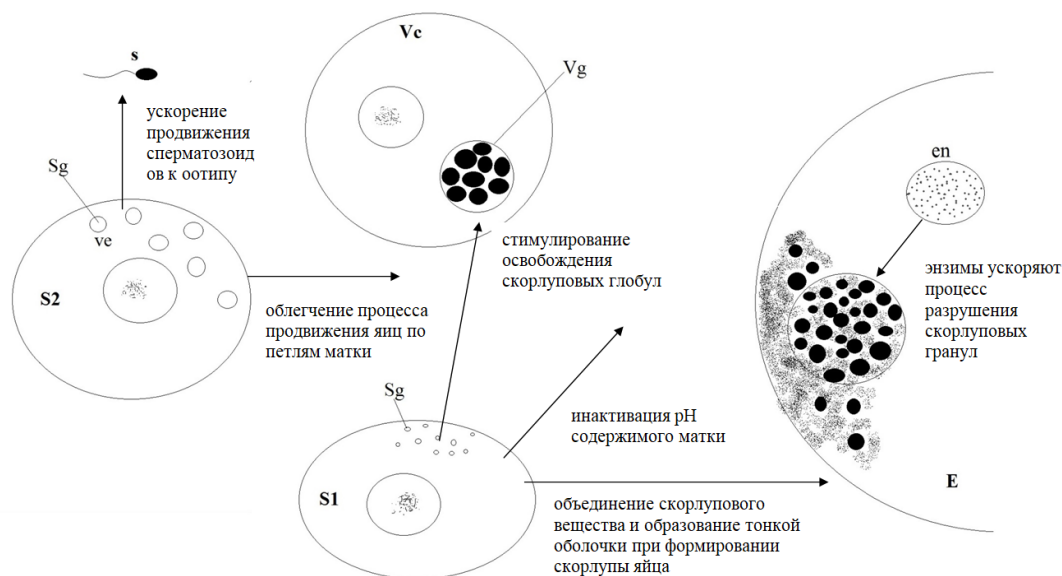


Рисунок 3 – Схема процесса формирования скорлупы яиц трематод

Vc – желточная клетка; S1 – клетка тельца Мелиса первого типа; S2 – клетка тельца Мелиса второго типа; E – формирующееся яйцо; Sg – секреторные гранулы; ve – везикулы; en – ферменты

Список литературы

- 1 Скрыбин К.И. Трематоды животных и человека / К.И. Скрыбин. – М.: Издательство Акад. наук СССР, 1947. – Т. 1. – 516 с.
- 2 Кисели Д. Практическая микротехника и гистохимия / Д. Кисели.– Будапешт : Изд-во АН Венгрии, 1962. – 399 с.
- 3 Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // J. Cell Biology. – 1963. – No 17. – P. 208-212.
- 4 Гинцинская Т.А., Добровольский А.А. Частная паразитология / под ред. Ю.И. Полянского. – М.: Высшая школа, 1978. – Т. 1. – 303 с.
- 5 Уалиева Р.М., Ахметов К.К. Особенности структурной организации железы Мелиса трематоды с недифференцированным телом *Dendriothilharcia purverulenta* (Braun, 1901) // Актуальные вопросы и перспективы развития современной науки: матер. III-й междунар. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – СПб., 2017. – С. 15-20.
- 6 Уалиева Р.М., Ахметов К.К. Функциональная морфология тельца Мелиса некоторых видов трематод с недифференцированным и дифференцированным телом // Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. – 2017. – №4(119). – С. 467-475.

Р.М. Уалиева¹, К.К. Ахметов², С.Б. Жангазин³

¹ С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан

² Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

Dendriothilharcia purverulenta (Braun, 1901) трематодасы негізінде жұмыртқа қабығының түзілу процесі

Аңдатпа: Осы жұмыста *Dendriothilharcia purverulenta* (Braun, 1901) трематодасы негізінде жұмыртқа қабығының түзілу процесі көрсетілген. Жұмыртқа қабығының түзілу процесі сарыуыз бездері мен Мелис денешігінің функционалды ерекшеліктеріне байланысты. Сарыуыз түйіршіктері оотипте немесе жатырдың проксималды бөлімінде агенттердің әсерінен жұмыртқа қабығының қалыптасуы үшін ақуыздарды босатады. *Dendriothilharcia purverulenta* трематоданың Мелис денешігі – мультифункционалды мүше, ол жұмыртқа қабығын алғашқы мембранасының түзілуін; без секреттерінің агенттері жұмыртқа қабығын материалдарын сарыуыз граналарынан босап шығуын; жұмыртқа қабығын түзілу үрдістерін қамтамасыз етеді. Осылайшы, *Dendriothilharcia purverulenta* трематоданың трематоданың сарыуыз фолликулалары мен Мелис денешігі жұмыртқа қабығын резистентті болып түзілуін қамтамасыз ететін, функционалды жүйе. Таким образом, желточные фолликулы и тельце Мелиса трематоды *Parastrigea robusta* представляют единый функциональный блок, который обеспечивает образование резистентной скорлупы яиц.

Түйін сөздер: гельминттер, трематодалар, ұрғашы көбею жүйесі, сарыуыздылар сарыуызды жасушалар, Мелиса денешігі.

R.M. Ualiyeva¹, K.K. Akhmetov¹, S.B. Zhangazin²

¹ S. Toraihyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan

² L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

The process of egg shell formation by the example of trematode *Dendriothilharcia purverulenta* (Braun, 1901)

Abstract: This paper shows the process of egg shell formation on the example of the trematode *Dendriothilharcia purverulenta* (Braun, 1901). It was established that the process of egg shell formation is associated with morphofunctional features of vitelline glands and Mehlis' glands. Vitellines' granules in the ootype or proximal uterus, release proteins for tanning under the influence of agents. Mehlis' glands of trematode *Dendriothilharcia purverulenta* is a multifunctional organ that provides: activation of the process of release of the shell material from vitelline glands; the formation of a resistant egg shell as a result of layering the shell material on it; facilitating the process of moving eggs through the uterus loops due to "mucosal" substances secreted by the second type of cells. Thus, the vitelline follicles Mehlis' glands of trematode *Dendriothilharcia purverulenta* represent a single functional unit that ensures the formation of a resistant egg shell.

Keywords: helminths, trematodes, female reproductive system, yolk gland, yolk cells, Mehlis' gland.

References

- 1 Skryabin K.I. Trematody zhivotnyh i cheloveka [Trematodes of animals and humans], (Publishing House Academy of Sciences, Moscow, 1947)[in Russian].
- 2 Kiseli D. Prakticheskaya mikrotekhnika i gistohimiya [Practical microtechnology and histochemistry] (Publishing House of the Academy of Sciences of Hungary, Budapest, 1962)[in Russian].
- 3 Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy, J. Cell Biology, **17**, 208-212 (1963).
- 4 Gincinskaya T.A., Dobovol'skij A.A. Chastnaya parazitologiya [Private parasitology], Vysshaya shkola [High school], **1**, 208-212, (1963) [in Russian].
- 5 Ualiyeva R.M., Ahmetov K.K. Osobennosti strukturoj organizacii zhelezy Melisa trematody s nedifferencirovanym telom *Dendriothilharcia purverulenta* (Braun, 1901) [Features of the structural organization of the Melissa nym telom *Dendriothilharcia purverulenta* (Braun, 1901) [Features of the structural organization of the Melissa

Trematoda gland with an undifferentiated body *Dendrihobilharzia purverulenta* (Braun, 1901)], Aktual'nye voprosy i perspektivy razvitiya sovremennoj nauki: mater. III-j mezhdunar. nauch.-prakt. konf. studentov, aspirantov i molodyh uchenyh [Actual issues and prospects of development of modern science: mater. III Intern. scientific-practical conf. students, graduate students and young scientists], 15-20 (2017) [in Russian].

- 6 Ualieva R.M., Ahmetov K.K. Funkcional'naya morfologiya tel'ca Melisa nekotoryh vidov trematod s nedifferencirovannym i differencirovannym telom [Functional morphology of the Melissa calf of some species of trematodes with an undifferentiated and differentiated body], Vestnik ENU im. L.N. Gumileva [Bulletin of ENU. L.N. Gumilev], 4 (119), 467-475, (2017) [in Russian].

Сведения об авторах:

Р.М. Уалиева – PhD, старший преподаватель кафедры Биологии и экологии, Павлодарский государственный университет имени С. Торайгырова, ул. Ломова, 64, Павлодар, Казахстан.

Ахметов К.К. – д.б.н., профессор, декан факультета Химических технологий и естествознания, Павлодарский государственный университет имени С. Торайгырова, ул. Ломова 64, Павлодар, Казахстан.

С.Б. Жангазин – PhD, старший преподаватель кафедры Биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, ул. К.Мунайтпасова, 13, Астана, Казахстан.

Р.М. Уалиева – PhD, senior teaching assistant of the Department of Biology and ecology, S. Toraygyrov Pavlodar state university, st. Lomova, 64, Pavlodar, Kazakhstan.

К.К. Ахметов – doctor of biological sciences, professor, dean of the faculty of Chemical technology and natural science, S. Toraygyrov Pavlodar state university, st. Lomova, 64, Pavlodar, Kazakhstan.

С.Б. Жангазин – PhD, senior teaching assistant of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, st. K. Munaytpasova, 13, Astana, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 23.01.2019