

УДК 595.422:591.3

И. А. Акимов, А. В. Ястребцов

**ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПАРАЗИТИЧЕСКОГО КЛЕЩА
VARROA JACOBSONI (MESOSTIGMATA, VARROIDAE)**

Эмбриональное развитие клещей — один из наиболее интересных вопросов как общей, так и частной акарологии, но изучение его на таких мелких объектах связано с большими методическими трудностями. Этим, вероятно, объясняется сравнительно небольшое число публикаций, содержащих часто противоречивые сведения. Большинство статей по вопросам эмбриологии клещей проанализированы в сводках Т. Е. Хьюза (Hughes, 1959) и О. М. Ивановой-Казас (1979). Эмбриология гамазовых клещей изучалась несколькими авторами (Wagren, 1940, 1941, Zukovski, 1965), но их данные касаются описания первых этапов дробления и позднего органогенеза. Появившаяся недавно работа западногерманских исследователей (Mautz, Hirschtman, Kemnitzer, 1986) по эмбриологии *Varroa jacobsoni* очень краткая, основана только на изучении тотальных препаратов, а толкование результатов спорно. Таким образом, в настоящее время отсутствуют описание последовательных этапов эмбрионального развития гамазовых клещей, так же как и столь необходимые для сравнительного анализа сведения по закладке сомитов, образованию конечностей и судьбе IV пары ног, порядку образования основных систем органов. Настоящая работа является первой попыткой решить эти вопросы на примере паразитического клеща *Varroa jacobsoni*, являющегося модельным объектом при изучении особенностей морфологии различных систем органов (Акимов и др., 1988).

Материал и методика. Для исследования использовали самок на различных этапах репродуктивного цикла. Гистологические исследования проводили как на самих самках, так и на яйцах, отпрепарированных из утеруса. Уточнение топографии отдельных элементов проводили на тотальноокрашенных препаратах и с помощью растрового электронного микроскопа JSM-35С. Срезы окрашивали азаном по Гейденгайну (Роскин, Левинсон, 1957).

Репродуктивная система самки и особенности развития яиц. Репродуктивная система самки *V. jacobsoni* леляптидного типа и в деталях была описана нами ранее (Акимов, Ястребцов, 1984). Самка-основательница, зашедшая в незапечатанную ячейку расплода, содержит в яичнике ооциты на первых этапах цитоплазматического роста. Ооциты соединяются с питающей тканью яичника с помощью специализированных клеток «ножки», фолликулярный эпителий отсутствует, и питание осуществляется по нутриментарному типу. Питание самок на личинках расплода инициирует начало вителлогенеза, причем к большому росту приступает только один ооцит в яичнике, расположенный обычно антеродорсально. Относительно редко (не более 2 %) встречаются самки, в яичнике которых можно наблюдать два ооцита, приступивших к вителлогенезу одновременно, но один из них постепенно отстаёт по скорости накопления желтка и в конце концов его окончательное созревание задерживается. Резкое увеличение объема ооцита приводит к тому, что на последних этапах вителлогенеза он теряет свою округлую форму, и периферические участки располагаются в свободном пространстве между дивертикулами кишечника и мальпигиевыми сосудами, ооцит принимает форму многоугольника, достигает размеров 170—200 мкм (по длинной оси) и не имеет каких-либо следов полярности (рис. 2, 1, 10). Ядро занимает центральное положение, слабо окрашивается, содержит небольшое количество зерен хроматина и достигает диаметра 21—26 мкм. Ядрышко не просматривается. Цитоплазма заполнена большим коли-

чеством желточных гранул, окрашивающихся с различной интенсивностью и маскирующих ядро. Ширина эктоплазмы не превышает 5 мкм, она тесно прилежит к дивертикулам кишечника и просвет между мембраной ооцита и базальной мембраной кишечного эпителия не превышает 1 мкм.

Процессы, связанные с образованием синкариона при оплодотворении не наблюдались, но на последних этапах вителлогенеза ядро перемещается ближе к периферической части ооцита, а через некоторое время вновь занимает центральное положение. Для *V. jacobsoni* характерен гапло-диплоидный характер детерминации пола (Steiner et al., 1982).

После окончания вителлогенеза и, возможно, после оплодотворения зрелое яйцо проходит через яйцевод и попадает в утерус, где и происходит его дальнейшее развитие. При попадании яйца в утерус, оно приобретает овальную форму и в значительной степени деформирует внутренние органы, располагаясь несколько латерально от продольной оси самки.

Чаще всего наблюдается правостороннее смещение яйца в утерусе (рис. 2, 15), хотя треть яиц располагается с левой стороны. Деятельность секреторного эпителия утеруса приводит к образованию вокруг яйца вторичной (скорлуповой) оболочки.

Бластуляция. Яйцо относится к центролецитальному типу, характерному для большинства членистоногих (Иванова-Казас, 1979). Процессы дробления на начальных этапах бластуляции, которые приводили бы к образованию отдельных бластомеров или «желточных пирамид», не наблюдались. Бластодерма обособляется равномерно вдоль всей поверхности яйца, и на ранних этапах клеточные границы практически не просматриваются. Клетки кубической формы, цитоплазма интенсивно окрашивается, ядра относительно крупные, и интенсивность их окраски меньше, чем окружающей цитоплазмы. На поздних этапах бластуляции клетки принимают пирамидальную форму, и бластодерма представляет собой уже своеобразный многорядный эпителий. В процессе бластуляции плотность желточных гранул не изменяется. Размеры образующейся перибластулы достигают 300×200 мкм и в дальнейшем практически не меняются.

Образование зародышевых листков. Процесс образования зародышевых листков начинается на антеровентральной поверхности перибластулы, ориентированной в утерусе самки сходным образом с ориентацией осей самки. В результате дифференциации бластодермы происходит впячивание группы клеток, отличающихся большими размерами (рис. 1; 2, 3, 8). В дальнейшем эта группа клеток мезэнтодермы разделяется на латерально расположенный слой мезодермальных клеток и медиальный слой энтодермальных клеток (рис. 2, 9), при этом образуется короткая зародышевая полоска. На первых этапах образования зародышевых слоев первичные вителлофаги в желтке отсутствуют, но после дифференциации трех слоев среди гранул желтка встречаются отдельные амебоидные клетки, являющиеся вторичными вителлофагами, образованными, вероятно, в результате дифференциации мезэнтодермы. В процессе размножения клеток мезодермы и энтодермы и их миграции каудально, зародышевая полоска вытягивается и занимает практически всю медиовентральную поверхность эмбриона. После удлинения происходит сегментация зародышевой полоски на сомиты (рис. 2, 4, 11, 12; 3: 1). Одновременно образуются шесть хорошо различимых сомит с ножными буграми. Эта часть соответствует подосоме взрослых клещей. Образование зачатков конечностей в опистосоме не наблюдалось. Энтодермальные клетки мигрируют вдоль желточной массы, охватывают ее, но пока не образуют единого слоя. Эктодермальные клетки укорачиваются, и эктодерма подвергается эпителизации. Образуется эмбриональная кутикула.

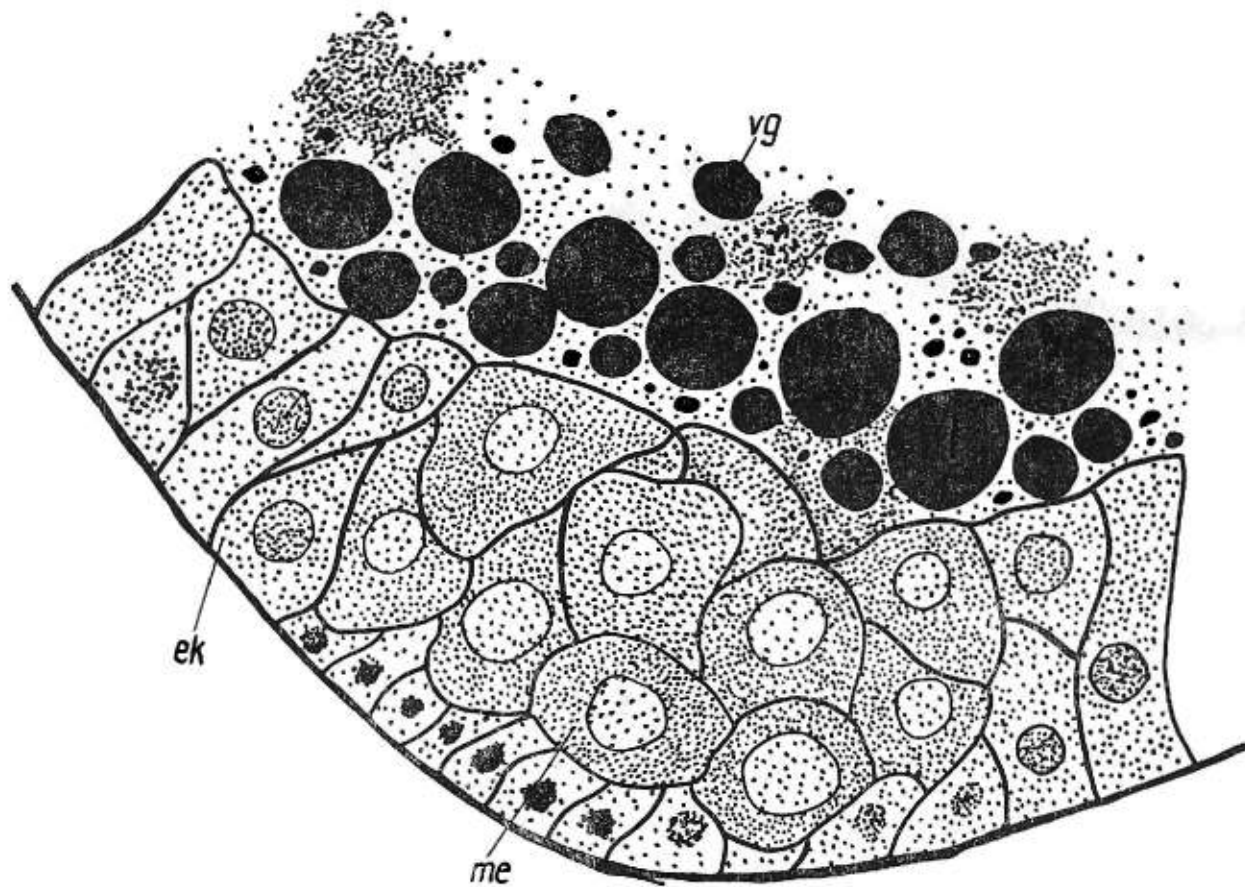


Рис. 1. Образование мезоэнтодермы:

ek — эктодерма; *me* — мезоэнтодерма; *vg* — желточные гранулы.

Органогенез. Эпителизация энтодермы происходит непосредственно после образования зачатков ходильных конечностей. Клетки образуют сплошной слой вокруг массы желтка, между ними практически не остается свободного пространства. Количество желтковых гранул начинает значительно уменьшаться, причем если центральная масса изменяется мало, то желточные гранулы, расположенные ближе к энтодермальному слою средней кишки, уменьшаются в размерах, и постепенно происходит их резорбция. К концу органогенеза в просвете средней кишки встречаются лишь отдельные гранулы. Одновременно с процессами эпителизации средней кишки в задней части эмбриона образуются генеративные зачатки за счет миграции мезодермальных клеток. Зачаток репродуктивной системы располагается на заднем конце эмбриона и представляет собой крупные круглые гонии с ярко выраженной митотической активностью (рис. 2, 11; 3, 2).

На антеровентральной поверхности эмбриона дифференцируются эктодермальные клетки, инвагинирующие в полость эмбриона и образующие зачаток синганглия. Нейропиллярный слой синганглия образуется несколько позже и на первых этапах визуальная дифференциация клеток синганглия от окружающих клеток очень затруднена их значительным сходством. Нейропиль образуется после образования конечностей и гнатосомы. Он первоначально представлен тонким слоем на внутренней поверхности синганглия, общий объем нейропиля по отношению к кортексу остается незначительным вплоть до вылупления протонимфы (рис. 3, 9, 10).

После образования у эмбриона зачатка средней кишки, генеративных элементов, зачатков конечностей, синганглия происходит укорочение зародышевой полоски, смещение головной лопасти и сомитов с конечностями в ростральном направлении. Просомальный отдел заметно укорачивается, а его передний конец изгибается на дорсальную поверхность, соответствующим образом изгибается и синганглий. Помимо четырех пар зачатков ходильных конечностей у эмбриона различимы также хорошо развитые педипальпы, акрон и два небольших парных выроста, один из которых представляет собой зачатки хелицер, в то время как другая пара в дальнейшем входит в состав гнатосомы и, по-види-

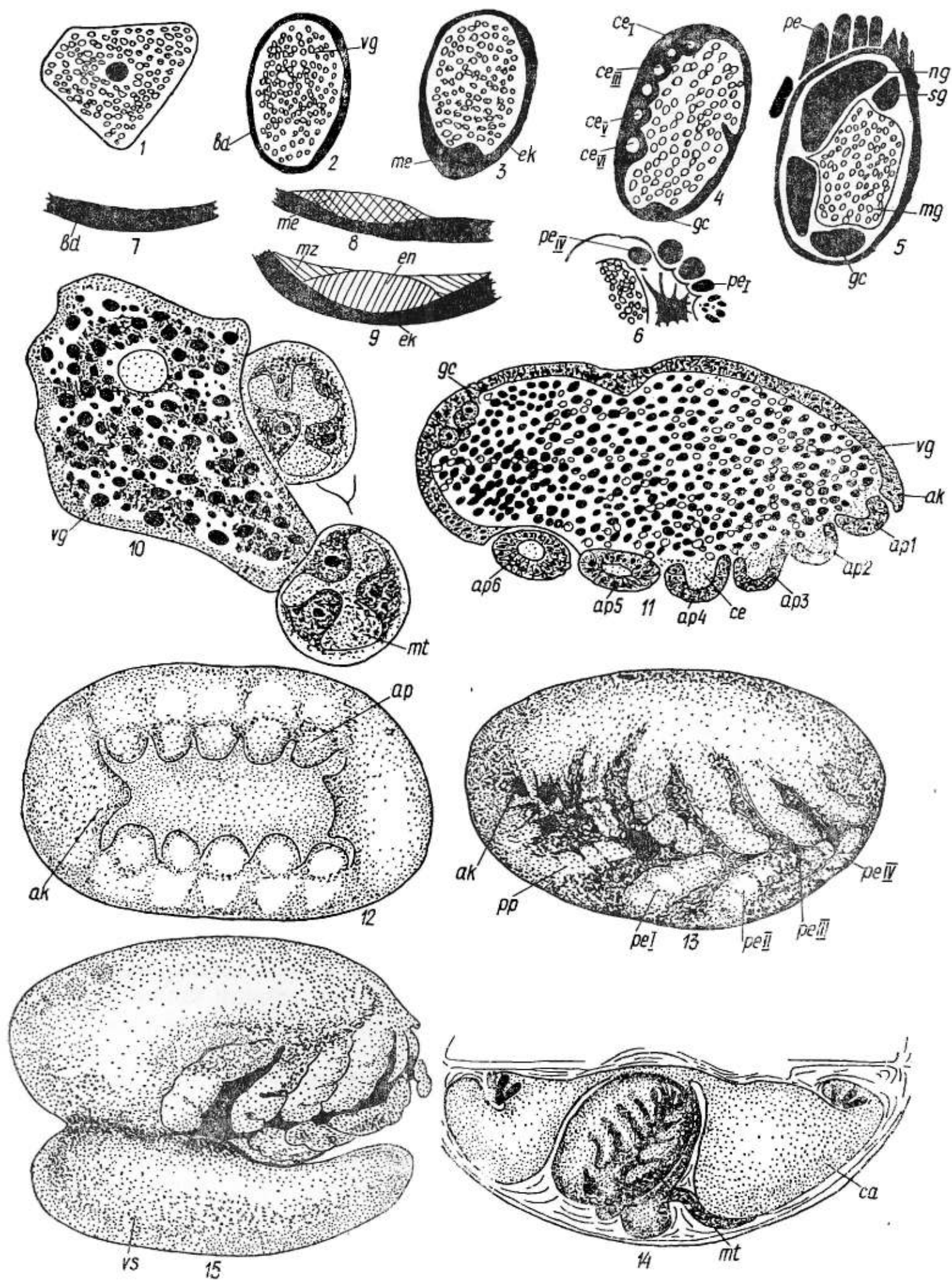


Рис. 2. Этапы эмбрионального развития *V. jacobsoni*:

1—6 — последовательные этапы эмбрионального развития (схематизировано); 7—9 — образование зародышевых слоев (схема); 10 — ооцит на последних этапах вителлогенеза; 11 — первые этапы органогенеза; 12 — эмбрион на стадии дифференциации зачатков конечностей; 13 — эмбрион на стадии предличиночного эмбриогенеза; 14 — эмбрион с аномальным развитием «желточного мешка»; 15 — расположение эмбриона в утробе самки перед откладкой; *ak* — головная лопасть; *ap* — зачатки конечностей; *bd* — бластодерма; *ca* — дивертикулы кишечника; *ce* — полость конечностей; *ek* — эктодерма; *en* — энтодерма; *gc* — гоноциты; *mg* — средняя кишка; *me* — мезоэнтодерма; *mt* — мальпигиевы сосуды; *mz* — мезодерма; *ng* — синганглий; *pe* — ходильные конечности; *sg* — слюнные железы; *vg* — желточные гранулы; *vs* — «желточный мешок».

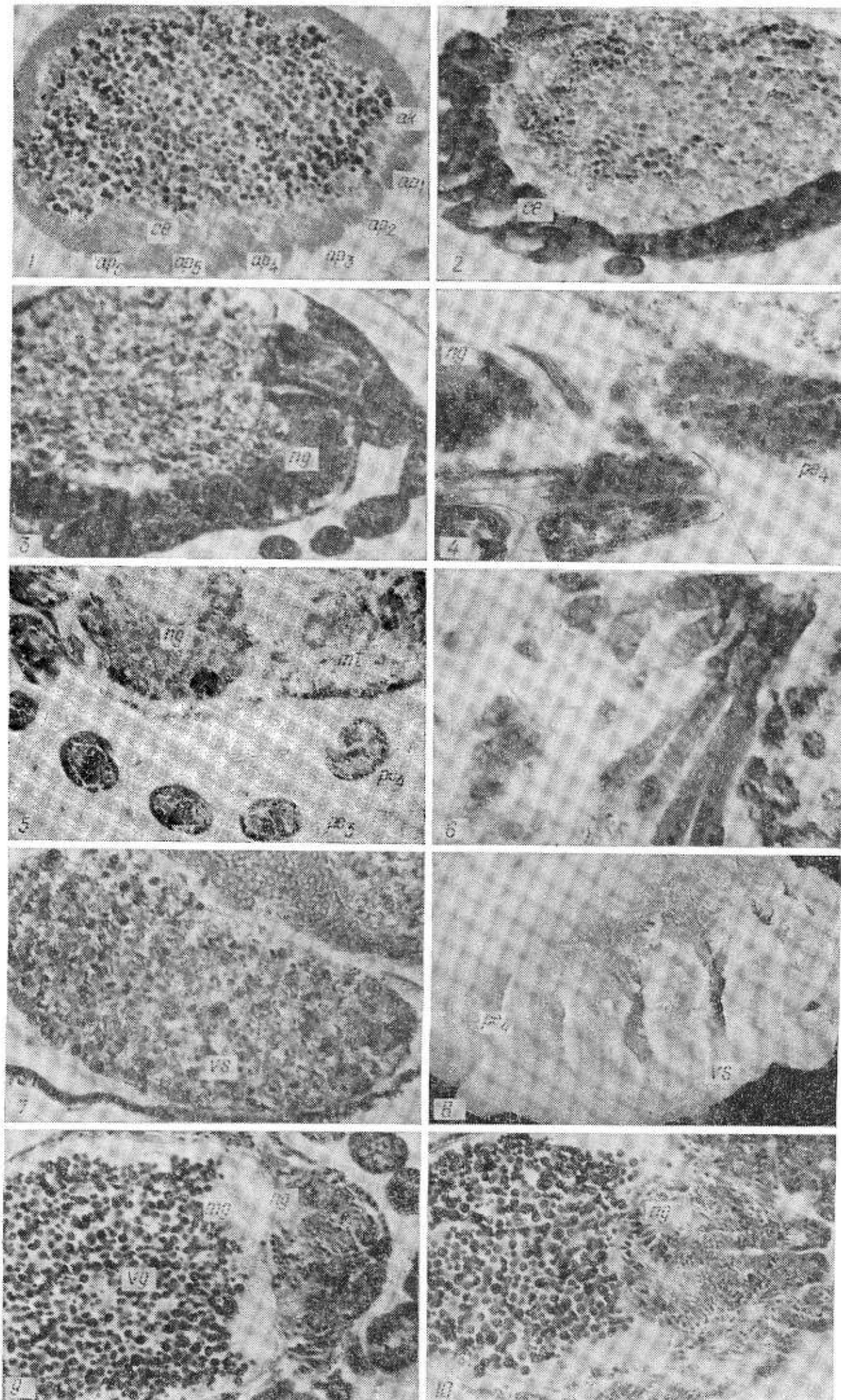


Рис. 3. Детали строения эмбриона:

1 — ранний органогенез (сагиттальный срез, $\times 140$); 2 — предличинный морфогенез (сагиттальный срез, $\times 140$); 3 — образование гнатосомы, личинный морфогенез (сагиттальный срез, $\times 140$); 4 — расположение IV пары ног под личинной кутикулой (фронтальный срез, $\times 280$); 5 — то же на более поздней стадии ($\times 140$); 6 — образование эндостернита ($\times 360$); 7 — «желточный мешок» эмбриона с аномальным развитием ($\times 240$); 8 — то же общий вид (РЭМ, $\times 240$); 9—10 — предличинный морфогенез (фронтальный срез, $\times 240$); обозначения те же, что рис. 2.

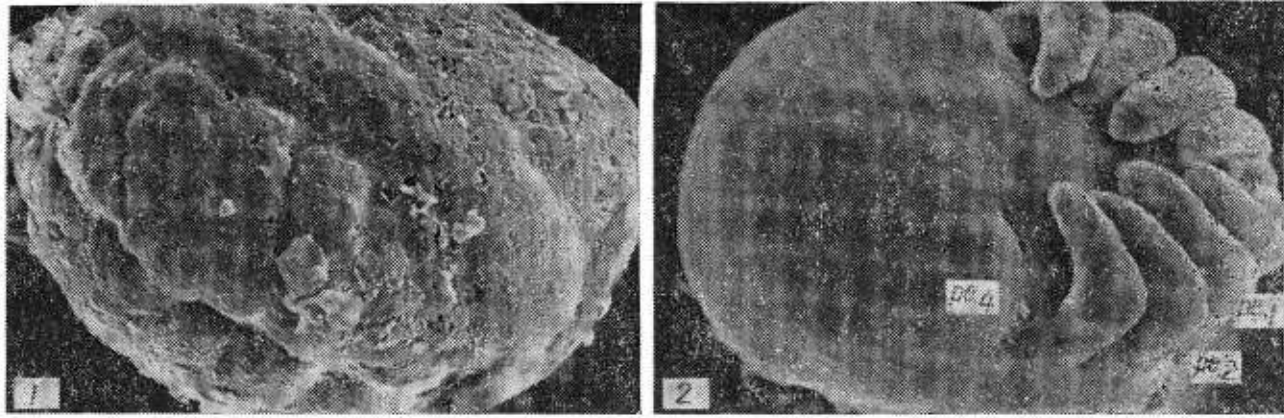


Рис. 4. Общий вид эмбрионов на различных стадиях развития:
1 — предличиночный морфогенез (РЭМ, $\times 320$); 2 — личиночный морфогенез (РЭМ, $\times 260$), поздняя стадия; обозначения те же, что рис. 2.

тому, представляет собой не собственно конечности, а выросты базального отдела палъп, к которым они и приближены (рис. 2, 13; 3, 2; 4, 1). На ходильных конечностях образуются кольцеобразные перетяжки, соответствующие членикам будущих ног. Все эти членики имеют одинаковые размеры. Морфофункциональное разделение ходильных конечностей на отделы происходит лишь после выхода эмбриона из-под оболочки.

Наиболее поздние этапы органогенеза характеризуются образованием зачатков выделительной системы на вентрокаудальной поверхности эмбриона за счет скопления энтодермальных клеток. Инвагинация эктодермы дает начало передней и задней кишке. Одновременно с образованием передней кишки происходит окончательное формирование гнатосомы и соответствующей преротовой полости (рис. 3, 5).

Значительный интерес представляет судьба IV пары ног в процессе органогенеза, которые претерпевают значительные изменения. Первоначально зачатки этой пары практически не отличаются от остальных ходильных конечностей. Во время укорочения зародышевой полоски и смещения конечностей роstralно, происходит изменение ориентации терминальных частей этой пары, они располагаются перпендикулярно к продольной оси тела эмбриона и несколько запаздывают в развитии. С другой стороны, иннервация и образование мышечной ткани в них происходит синхронно с другими парами ног. После образования личиночной кутикулы IV пара ног остается под ней, в то время как первые три лежат свободно на просоме (рис. 2, 6; 3, 4, 5; 4, 2). Значительной редукции элементов IV пары ног в этот период не наблюдается. У изолированной из утеруса личинки, в растровом электронном микроскопе, эта пара ног отчетливо просматривается в виде вздутий (рис. 4, 2). Линька личинки на протонимфу происходит под яйцевой оболочкой, IV пара ног при этом освобождается, но ее ориентация отличается от остальных ходильных конечностей. Одновременно с этим образуется эндостернит, и мышечные веретеновидные клетки приобретают облик поперечно-полосатых волокон (рис. 3, 6).

Незначительная часть яиц, отложенных самкой, в последующем не развиваются и являются не жизнеспособными (Акимов, Пилецкая, 1985). Изучение такого рода нарушений не является задачей настоящей работы и о них следует говорить особо. Отметим только наличие на поздних этапах органогенеза личинок, к которым с вентральной стороны примыкает желточный мешок, имеющий значительные размеры и располагающийся под личиночной кутикулой (рис. 2, 14; 3, 7, 8) таким образом, что развивающиеся конечности охватывают его латерально. Очевидно, такой тип нарушений вызван развитием одновременно двух яиц, одно из которых ингибируется в своем развитии развивающимся эмбрионом и не развивается, хотя и попадает в утерус самки. Жизнеспособность таких эмбрионов вызывает сомнения, хотя заметных нарушений в процессах эмбриогенеза не обнаружено.

Обсуждение результатов. Для *V. jacobsoni* характерны центролецитальные яйца и поверхностный тип дробления. Развитие яиц протекает со значительной скоростью в течение суток. При нормальных условиях самка откладывает одно яйцо, внутри которого располагается сформированная протонимфа. Такое быстрое развитие затрудняет хронометрирование происходящих процессов. Первоначальные этапы развития, процессы бластуляции и образования зародышевых слоев напоминают таковые у иксодовых клещей (Вагнер, 1894, Aeschlimann, 1958, Hafezug, 1984). Гастрюляция проходит по типу деламинации. Хотя среди массы желтка и были обнаружены вителлофаги, но участие их в образовании средней кишки не наблюдалось, а средняя кишка образуется за счет миграции энтодермальных клеток вдоль желточной массы. Дифференциация одновременно шести сомитов просомы соответствует тому, что отмечал Уорен (Warren, 1941) для некоторых клещей семейства Laelapidae, хотя запаздывание в образовании шестого сомита, соответствующего IV паре ног, не наблюдалось. Наибольшие трудности вызывает интерпретация процессов, связанных с образованием гнатосомы. Если судьба первой и второй пары зачатков конечностей не вызывает сомнения, также как и отростков базального членика пальп, то судьба головной лопасти (акрона) достаточно ясно не прослежена.

Ранее было показано (Акимов, Пилецкая, 1985), что для яйцекладки *V. jacobsoni* характерно наличие трех типов яиц, два из которых не жизнеспособны. По-видимому, эти нежизнеспособные яйца соответствуют эмбрионам с аномальным развитием, один из случаев которого был описан нами выше. Причины и характер других аномалий имеют более сложный характер и требуют специального изучения.

Одним из признаков, на который неоднократно обращали внимание исследователи, является «дегенерация» IV пары ног у личинок. У *V. jacobsoni* не наблюдается вторичной редукции этих конечностей. IV пара ног действительно на определенном этапе личиночного развития уходит под личиночную кутикулу, но все структурные элементы, характерные для конечностей других пар, обнаружены и здесь. Различия в размерных характеристиках связаны с выполняемой этими конечностями функцией (Акимов и др., 1988). Кроме того, при эпиволии эктодермы первых опистосомальных сегментов во время перемещения просомы и сокращения зародышевой полоски, последняя пара ходильных конечностей оказывается под эктодермой VII сегмента, подвергающегося в процессе последующего развития редукции. У взрослых особей рудименты этого сегмента, совместно со свободными коксами IV, образуют своеобразный «замковый комплекс», характерный для большинства гамазид. К сожалению, нам не удалось наблюдать наличие процессов бластокинеза, характерных для многих членистоногих, в то же время, как было отмечено Ю. А. Захваткиным (1970): «ортаксонное развитие, характерное для высших насекомых, предполагает редукцию бластокинеза». Возможно, что у *V. jacobsoni* редукция бластокинеза произошла по аналогичным причинам.

Стадии развития яиц *V. jacobsoni*, приведенные в работе коллектива авторов (Mautz, Hirschtman, Kemnitzer, 1986), условны, основаны только на внешней морфологии и не дают представления об истинной периодизации развития. Так, между первой и второй стадиями, описанными этими авторами (недифференцированное яйцо и эмбрион с шестью ногами), проходит весь предличиночный морфогенез, который ими не рассматривается. Кроме того, первая стадия, по-видимому, является нежизнеспособным яйцом. Неточно описание протонимфальной стадии.

Таким образом, для *V. jacobsoni* характерна значительная эмбрионизация ранних этапов онтогенеза, которые проходят под яйцевой оболочкой в организме матери, что, для этого узкоспециализированного паразита, является прогрессивным признаком представляющим прямые адаптивные преимущества.

Анализ процесса органогенеза позволяет его представить в виде нескольких принципиальных этапов от окончания образования зародышевых слоев до стадии протонимфы. Первый этап (ранний морфогенез), характеризуется образованием длинной зародышевой полоски и разделением ее на просомальные сомиты, дифференциацией гоноцитов, образованием вителлофагов и первичной личиночной кутикулы. Второй этап (предличиночный морфогенез) характеризуется эпителизацией средней кишки, развитием зачатков конечностей, образованием гнатосомы, синганглия, интенсивной резорбцией желточных гранул, образованием мышечных клеток. Третий этап (личиночный морфогенез), характеризуется образованием личиночной кутикулы, под которой остается IV пара ног, образованием передней и задней кишки, укорочением зародышевой полоски и искривлением оси тела, образованием нейропиля в синганглии, поперечно-полосатых мышечных волокон, зачатка выделительной системы, интеграцией частей гнатосомы. Последний, четвертый этап (постличиночный морфогенез), характеризуется дифференциацией отделов основных систем органов, освобождением IV пары ног из-под личиночной кутикулы, образованием респираторной системы, полным использованием запасных питательных веществ, началом самостоятельного питания.

Embryonic Development of the Parasitic Mite *Varroa jacobsoni* Akimov I. A., Yastrebtsov A. V.—*Vestn. zool.*, 1988, No. 3.—A detailed description of the oocytes ripening processes, blastulation, gastrulation and organogenesis is presented. Organogenetic process is divided in four essential stages: early tissues differentiation, prelarval morphogenesis, larval morphogenesis, protonymphal morphogenesis. Histogenesis processes are shown for each of these stages: somite formation, gnathemization, differentiation of principal parts of different organic systems, appendages topography (especially IV pair of legs). Oviposition takes place at the final stages of the protonymphal morphogenesis. Eggs deposited earlier are found to be not vital. Centrolecital eggs, superficial division and remarkable organogenesis velocity are characteristic of *V. jacobsoni*. No pronounced blastokinetic processes have been observed.

- Акимов И. А., Пилецкая И. В. Жизнеспособность яиц в яйцекладке клеща *Varroa jacobsoni* // Докл. АН УССР.— 1985.— № 1.— С. 54—56.
- Акимов И. А., Ястребцов А. В. Репродуктивная система клеща *Varroa jacobsoni* — паразита медоносной пчелы. I. Репродуктивная система самки и оогенез // *Вестн. зоологии.*— 1984.— № 6.— С. 61—68.
- Акимов И. А., Старовир И. С., Ястребцов А. В., Горголь В. Т. Клещ варроа — возбудитель варроатоза пчел.— Киев: Наук. думка, 1988.— 118 с.
- Вагнер Ю. История эмбрионального развития *Ixodes calcaratus* // *Тр. СПб о-ва естествоиспытателей.*— 1894.— 24, № 2.— С. 1—213.
- Захваткин Ю. А. Морфологическая теория бластокинезов // *Журн. общ. биол.*— 1970.— 31, № 5.— С. 550—565.
- Иванова-Казас О. М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных. Членистоногие.— М.: Наука, 1979.— 224 с.
- Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника.— М.: Сов. наука, 1957.— 467 с.
- Aeschlimann A. Development embryonnaire d'*Ornithodoros moubata* // *Acta trop.*— 1958.— 15.— P. 15—64.
- Hefezur R. Embryogenesis in *Haylomma rufipes* // *Bangladesh J. Zool.*— 1983.— 11, N 1.— P. 25—38.
- Hughes T. E. Mites of the Acari.— London: Athone press, 1957.— 225 p.
- Mautz D., Hirschmann W., Kemnitzer F. The embryonic development of *Varroa jacobsoni* // *Acarologia.*— 1986.— 27, N 3.— P. 203—210.
- Steiner J., Pompolo S., Takahashi C., Goncalves L. Cytogenetics of the acarid *Varroa jacobsoni* // *Rev. Brasil. Genetic.*— 1982.— 4.— P. 841—844.
- Warren E. On the genital system of *Dermanyssus gallinae* and several other Gamasidae // *Ann. Natal Mus.*— 1940.— 9.— P. 409—459.
- Warren E. On the genital system and other modes of reproduction in certain Gamasid mites // *Ibid.*— 1941.— 10, N 1.— P. 95—126.
- Zukowski K. Investigations into the embryonic development of *Pergamasus brevicornis* Berl. // *Zool. Pol.*— 1965.— 14, N 3/4.— P. 247—268.