

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СИМБИОНТОВ АРАРАТСКОЙ КОШЕНИЛИ

С. Р. МАКАРЯН

Установлено, что ооциты араратской кошенили заражаются симбионтами, проникающими по одному через фолликулярные клетки, расположенные у основания ооцита, к концу стадии вителлогенеза. Симбиотические организмы характеризуются глобулярной формой, способностью интенсивно окрашиваться и в ооплазме располагаться колониями.

Ключевые слова: кошениль, симбионты.

На протяжении последних лет в лаборатории цитологии и эмбриологии Института экспериментальной биологии АН АрмССР исследуется оогенез араратской кошенили, являющейся продуцентом пигмента кармина, с целью его периодизации, изучения морфологических функций ядер ооцита и вспомогательных (питающих) ядер [1—3].

Установлено, что яйца насекомых, в том числе и кокцид, заражаются симбиотическими микроорганизмами [4]. Передача симбионтов потомству у кокцид происходит трансовариально [9, 12]. У различных подвидов этих насекомых симбионты проникают в ооплазму в разные периоды созревания яйца: у одних (*Pseudococcinae*, *Phaenococcinae* и др.)—одновременно с созреванием ядра, у других (*Asterolecaniinae*)—сразу после второго дробления [8].

Симбионты кокцид существуют в двух формах: вегетативной и инфицирующей [5—7]. Вегетативные представлены образованиями глобулярной формы размером 4—5 мк, инфицирующие же—яйцевидной формы, длиной 5—6 мк, обладают способностью весьма интенсивно окрашиваться ядерными красителями. Известно также, что они проникают в ооцит со стороны базальной зоны.

В данной работе приводятся результаты изучения вопроса, заражаются ли яйца кошенили симбионтами и взаимосвязано ли это явление с процессом карминообразования.

Материал и методика. Яичники, извлеченные из тела половозрелой самки кошенили, фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, растворах Буэна, Карнуа или абсолютном спирте. Парафиновые срезы (6 мк) окрашивали азаном и железным гематоксилином по Гейденгайну, гематоксилином по Ганзену, с эозиновой подкраской, фуксином по Фельгену, ШИК-реакцией на гликоген и амидочерным 10/5 на белок. Для выявления пигментообразования в ооплазме наблюдали нефиксированные препараты в фазово-контрастном микроскопе, так как в процессе гистологической обработ-

ки кармин экстрагируется из пигментобразующих структур и закрашивает морфоструктуры ооцита. Описание и фотографирование препаратов производили с помощью микроскопа № 2Е.

Результаты и обсуждение. Изучение морфологических, цитологических и цитохимических преобразований в ооците араратской кошенили позволило разделить процесс его развития на два периода: дофолликулярный и фолликулярный. Последний, по нашим данным, имеет пять стадий [2, 3]. Не останавливаясь на характеристиках этих стадий, подробно описанных ранее, отметим, что в начале пятой стадии развития в гемолимфе, у базальной зоны («ножки») ооцита, выявляются структуры шаровидной, изредка палочковидной формы (рис. 1 и 2).

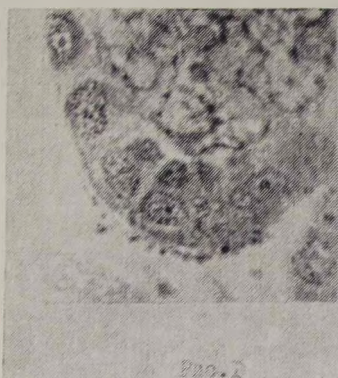


Рис. 1



Рис. 2

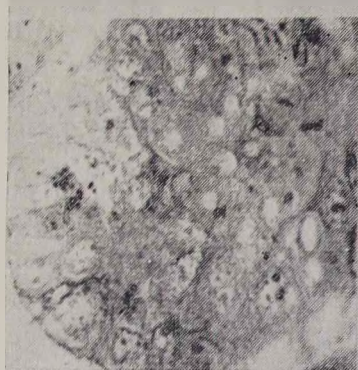


Рис. 3

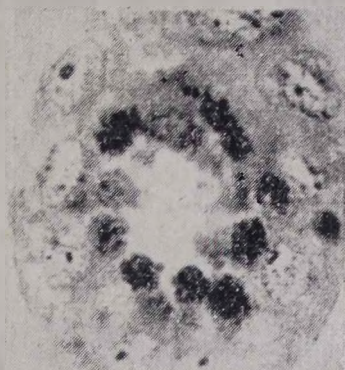


Рис. 4

Рис. 1. Первое появление симбионтов шаровидной формы в гемолимфе у базального основания ооцита. Гематоксин-эозин. Увел. об. 100 $\times$, ок. 8 $\times$. 2. Первое появление симбионтов палочковидной формы в гемолимфе у базального основания ооцита. Железный гематоксин. Увел. об. 100 $\times$, ок. 8 $\times$. 3. Поперечный срез «ножки» ооцита. Прохождение симбионтов через или между фолликулярными клетками «ножки» ооцита. Железный гематоксин. Увел. об. 100 $\times$, ок. 8 $\times$. 4. Поперечный срез «ножки» ооцита. Симбионты сгруппированы в колонии в апикальной зоне фолликулярных клеток. Железный гематоксин. Увел. об. 100 $\times$, ок. 8 $\times$.

На основании данных о форме и локализации этих образований [5, 6, 8, 11] мы идентифицировали их как симбионтов и проследили за судьбой их в процессе развития ооцита.

В начале пятой стадии развития ооцита единичные симбионты обнаруживаются между фолликулярными клетками «ножки» ооцита или в самой цитоплазме (рис. 3). Со временем эти структуры выявляются в виде небольших групп или «гроздевидных» колоний, объединяющих 8—12 симбионтов в апикальной части клеток базальной зоны ооцита. Симбиотические организмы легко обнаруживаются благодаря их глобулярной форме, способности четко окрашиваться и характерной морфологии (рис. 4).

В середине стадии вителлогенеза морфоструктура ооцита изменяется: у базальной зоны ооплазмы появляется участок, характеризующийся гомогенной структурой, куда и перемещаются симбионты (рис. 5).

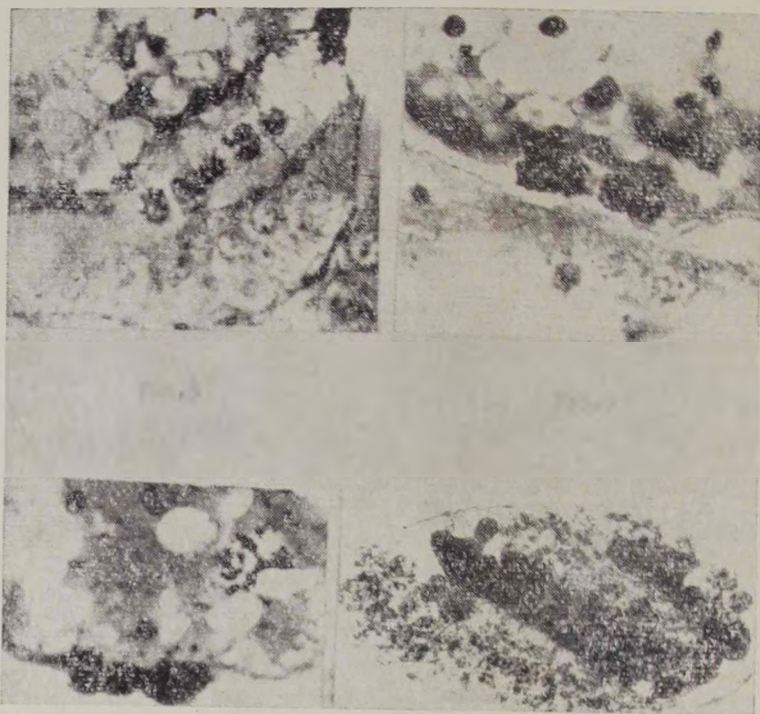


Рис. 7.

Рис. 8.

Рис. 5. Колонии симбионтов в базальной зоне ооцита, характеризующейся гомогенной структурой. Железный гематоксилин. Увел. об. 100 $\times$, ок. 8 $\times$. Симбионты расположены в узком пространстве между слоем фолликулярных клеток и ооплазмой. Железный гематоксилин. Увел. об. 100 $\times$, ок. 10 $\times$. 7. Симбионты в ооплазме. Железный гематоксилин. Увел. об. 100 $\times$, ок. 10 $\times$. 8. Тотальный препарат двадцатипецевого эмбриона кошерилы. Симбионты расположены на границе между туловищем и хвостовой частью организма. Увел. об. 20 $\times$, ок. 8 $\times$.

К концу пятой стадии развития, когда размеры ооцита значительно увеличиваются, гомогенная зона исчезает, расстояние между ооплазмой и фолликулярными клетками, окружающими ооцит, сокращается и наружная часть ооплазмы уплотняется, симбионты проникают в нее еще до образования хориона (рис. 6). Процесс ранних эмбриональных преобразований (дробление), начинающийся еще до откладки яйца, практически не отражается на локализации симбионтов (рис. 7). Перемещение колоний этих организмов к переднему полюсу яйца происходит одновременно с инвагинацией зародышевой полоски (рис. 8).

Морфологическое изучение симбионтов методами световой микроскопии на серийных срезах показало, что симбионт представляет собой шаровидное образование. На окрашенных срезах четко обнаруживаются периферическая и центральная зоны его, различающиеся по окраске и связывающие соответственно цитоплазматические и ядерные красители. В то же время колонии симбионтов дают положительные цитохимические реакции на ДНК, РНК, гликоген и белок, однако морфология их в этом случае выявляется не столь четко, как на обзорных препаратах. Размеры симбионтов в овариолах араратской кошенили составляют 10—15 мк, что почти втрое больше, чем у других кокцид [5—7]. Они проникают в ооплазму только в начале пятой стадии развития ооцита, до образования хориона. Карминообразование же в нем начинается раньше, уже на III стадии оогенеза. Пигмент выявляется исключительно в ооплазме, но не в цитоплазме мегатрофоцитов и фолликулярных клеток. Описанная последовательность событий, а именно появление кармина до проникновения симбионтов, позволяет утверждать, что карминообразование в яйцеклетке араратской кошенили не является следствием метаболической деятельности симбионтов.

Известно два пути проникновения симбионтов в яйца кокцид: через или между клетками питающей камеры или через базальную зону яйца [8, 10]. Как следует из наших результатов, у араратской кошенили заражение симбионтами происходит по второму пути, в связи с чем их можно отнести к инфизирующим симбионтам, что подтверждается также их морфологией и сродством к базальным красителям.

Приношу искреннюю благодарность Э. З. Коваль, старшему научному сотруднику Института вирусологии и микробиологии АН УССР, за ценные советы при обсуждении материала.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 14.XII 1979 г.

ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ ՈՐԴԱՆ ԿԱՐՄՐԻ ՍԻՄԲԻՈՆՏՆԵՐԻ ՄՈՐՖՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳՐՈՒՄԸ

Ս. Ռ. ՄԱԿԱՐՅԱՆ

Հաշտնաբերվել է, որ Արարատյան որդան կարմրի ձվաբջիջները վարակվում են սիմբիոնտներով: Վերջիններս ձվաբջիջ են թափանցում վիտելոգենիկի վերջում, նրա հիմքում գտնվող ֆուրկուլյար բջիջների միջով:

Սիմբիոտիկ օրգանիզմները բնորոշվում են գնդաձևությամբ, ինտենսիվ ներկվելու ունակությամբ և ձվաբջջում դասավորվում են գաղութներով:

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC OF THE SYMBIONTS OF ARARAT COCHINEAL

S. R. MAKARIAN

It was established that the oocytes of Ararat cochineal are infected with symbionts. The latter enter through the follicular cells situated at the base of oocytes at the end of vitellogenesis. Symbiotic organisms are characterized by globular forms, by ability of intensive staining and distribution in the ooplasm in colonies.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макарян С. Р., Петросян А. В., Акопян Л. А., Хачатрян М. Г., Мкртчян Л. П., Магакян Ю. А. Мат-лы Закавказск конф. морфологов. Тбилиси, 1975.
2. Магакян Ю. А., Макарян С. Р., Петросян А. В., Мкртчян Л. П., Аброян Л. О., Акопян Л. А. Цитология, 8, 932—936, 1976.
3. Хачатрян М. Г., Акопян Л. А., Петросян А. В., Каралова Е. М., Макарян С. Р., Магакян Ю. А. Цитология, 4, 382—390, 1979.
4. Buchner P. Wiss. Ztschr. Ernst—Moritz—Arndt—Univ., 10, 83—102, 1961.
5. Echaubard M. C. R. Acad. Sci. Paris, 5, 701—704, 1972.
6. Louts C. M. C. R. Acad. Sc. Paris, 250, 1755—1757, 1965.
7. Louis C. M. C. R. Acad. Sc. Paris, 268, 445—448, 1969.
8. Johannsen O. A., Butt F. H. Embryology of insects and myriapods, New-York and London, 1941.
9. Miller D. R. Ann. Rev. Entomol., 24, 1—27, 1979.
10. Nelson-Rees W. Jour. Exptl. Zool., 1, 85—91, 1961.
11. Shinji G. Jour. Morph., 33, 73—167, 1919.
12. Walczuch A. Ztschr. Morph. Ökol. der Tiere, 25, 623—729, 1932.