

УДК 576.893.195

## УЛЬТРАСТРУКТУРА МІКРОСПОРИДІЇ *MICROSPORIIDIUM KOSEWIENSE* SP. N. (MICROSPORA, THELOHANIIDAE) — ПАРАЗИТА ЛИЧИНОК *PSECTROTANIPUS* SP. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

М. О. Овчаренко<sup>1</sup>, І. Віта<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут зоології НАН України,  
вул. Б. Хмельницького, 15, Київ-30, МСП, 01601 Україна

<sup>2</sup> Інститут паразитології ім. Вітольда Стефаньського ПАН,  
вул. Тварда, 51/55, Варшава, 00818 Польща

Одержано 24 лютого 2003

Ультраструктура микроспоридии *Microsporidium kosewiense* sp. n. (Microspora, Thelohaniidae) — паразита личинок *Psectrotanipus* sp. (Diptera, Chironomidae). Овчаренко Н. А., Віта І. — Исследована ультраструктура новой микроспоридии из клеток жирового тела личинок *Psectrotanipus* sp. Вегетативный плазмодий *Microsporidium kosewiense* sp. n. продуцирует диплокариотические мерозоиты, которые формируют споронты. Гаплофазная генерация начинается непосредственно перед прохождением мейоза. Каждый споронт образует восемь одноядерных споробластов путем розетковидного почкования спорогонального плазмодия. Закладка споронного пузырька начинается во время расхождения ядер диплокариона, и каждый одноядерный споронт получает собственную споронную оболочку. Эписпоронтальное пространство содержит мелкие гранулы, трансформирующиеся в кристаллы и микротрубки по мере созревания октоспор. Живые споры паразита удлиненно-овальные,  $3,2 \pm 0,5(2,9-3,5) \times 2,2 \pm 0,4(1,9-2,7)$  мкм. Экзоспора пятислойная, анизофилярная полярная трубка образует спираль из 3–5 колец. Полярoplast пластинчатый, составлен из тесно и редко расположенных пластин. Задняя вакуоль содержит губчатую постеросому.

Ключевые слова: микроспоридии, новый вид, Diptera, *Psectrotanipus*.

Ultrastructural Study of *Microsporidium kosewiense* sp. n. (Microspora, Thelohaniidae) — a Microsporidian Parasite of *Psectrotanipus* larvae (Diptera, Chironomidae). Ovcharenko M. O., Wita I. — The new microsporidium is described, based primarily on ultrastructural characteristics. The parasite infects the fat body cells of *Psectrotanipus* sp. Plasmodia with diplokaryotic nuclei produce elongated diplokaryotic merozoites, which mature into sporonts. Meiosis occurs before the octosporous sporogony. Sporophorous vesicle appears before meiosis and probably divides after separations of uninucleate sporonts, having an individual envelopes. Episorontal space contains granular inclusions transformed into tubules or crystals during the spore maturation. The live spores are uninucleate, oval shaped,  $3,2 \pm 0,5(2,9-3,5) \times 2,2 \pm 0,4(1,9-2,7)$  mkm in size. The exospore is five-layered, the anisofilar polar filament is coiled into 3–5 turns. The polaroplast is composed of a narrow anterior and wide posterior lamellae. The posterior vacuole contains spongy posterosome.

Key words: microspora, new species, Diptera, *Psectrotanipus*.

### Вступ

Мікроспоридіозис личинок дзвінців, які належать до родів *Tanipus* та *Psectrotanipus*, зареєстровано на теренах Франції (Hesse, 1903) та Чехії (Weiser, 1943). Збудником цього захворювання визначено мікроспоридію *Thelohania pinguis* Hesse, 1903. Паразит формував овальні або грушоподібні октоспори розмірами  $2,0 \times 3,0-3,5$  (Hesse, 1903) або  $1,8-2,0 \times 3,0$  мкм (Weiser, 1943). Згідно сучасного таксономічного аналізу, наявні описи *T. pinguis* дозволяють віднести її лише до родини Thelohaniidae, без визначення родової належності (Вуїп, 1994).

Мікроспоридій з видовжено-овальними октоспорами, що паразитували у жировому тілі личинки *Psectrotanipus* sp., було знайдено нами у серпні 1995 р. в забрудненій органікою водоймі з околиці с. Косево Гурне, що у Вармінсько-Мазурському воєводстві Польщі. Мікроскопічний аналіз підтвердив належність цієї мікроспоридії до родини Thelohaniidae. Подібних мікроспоридій було виявлено у тій же водоймі у жовтні 1999 р. Після проведення досліджень ультраструктури таксономічну належність паразитів було уточнено. Опис деталей ультратонкої будови нової мікроспоридії ліг в основу цього повідомлення.

### Матеріал та методи

Інвазованих личинок *Psectrotanipus* sp. з гіпертрофованим жировим тілом світлого кольору було відібрано з проб бентосу та піддано паразитологічному розтину. Мазки та препарати живих спор готували згідно стандартних процедур (Vbwa, Maddox, 1976; Овчаренко, 2002). Морфометричні показники спор визначали за допомогою окуляр-мікрометра (50 промірів), використовуючи імерсійні системи та максимальне збільшення мікроскопу. Для вивчення ультраструктури відпрепаровані сегменти жирового тіла витримували при кімнатній температурі протягом 1–3 діб у 2,5%-ному розчині глутарового альдегіду в 0,05 М кадилатному буфері (pH 7,4) з додаванням 0,12 М розчину сахарози і 5 мМ розчину  $\text{CaCl}_2$ . Після промивання у какодилатному буфері, зразки фіксували протягом однієї години при температурі 4°C, у 2%-ному розчині  $\text{OsO}_4$ , забуференому какодилатом натрію. Зафіксований за вказаною схемою матеріал зневоднювали та заливали полімеризаційною сумішшю на основі спону (Epon 812). Напівтонкі зрізи фарбували толуїдином. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом та цитратом свинцю за Е. С. Рейнольдсом (Reynolds, 1963). Ультраструктуру вивчали, використовуючи трансмісійні мікроскопи JEM 100B та JEOL-JEM 1200 з прискорюючою напругою 80 кВ.

### Результати

Гіпертрофоване жирове тіло, виповнене спорами та стадіями розвитку паразита, було добре помітно неозброєним оком. Мікроспоридії інвазували цитоплазму. У серпні 1995 р. із 22 досліджених личинок, що належать до роду *Psectrotanipus*, зараженою виявилась одна. У пробі бентосу, відібраному у жовтні 1999 р., було знайдено також лише одну заражену особину.

Наймолодшими стадіями розвитку паразита, які вдалося зареєструвати, були видовжені диплокаріотичні мерозоїти (рис. 1). Їхня цитоплазма містила слабо-розвинену ендоплазматичну сітку та велику кількість рибосом (R). Фіксовані та забарвлені мерозоїти мали видовжено-овальну форму, а їхні розміри склали 2,2 x 4,3 мкм. При розмноженні мерозоїти утворювали мерогональний плазмодій, який розпадався на окремі клітини, що започатковували процес спорогонії (рис. 2). Потовщення клітинних стінок (SM) та закладка тонкої оболонки майбутнього спороносного пухирця (SW) супроводжували перетворення мерозоїтів останньої генерації у ранні споронти (рис. 2). Розходження ядер диплокаріону супроводжувалось концентрацією ядерного хроматину та вакуолізацією цитоплазми споронта (рис. 3). Після трансформації диплокаріонів кожен з одноядерних споронтів виявлявся огорненим власною оболонкою спороносного пухирця (рис. 4). Епіспоронтальний простір навколо молодих споронтів містив значну кількість дрібних гранул, котрі трансформувались у кристали та мікротрубки по мірі проходження процесу спорогонії та формування спор (рис. 6, 8–11, 13, 14). Про початок редукційного поділу одноядерних споронтів свідчила поява у їхній нуклеоплазмі синаптонемальних комплексів (SK) (рис. 5). Кожен споронт формувал вісім одноядерних споробластів, що відокремлювались від спорогонального плазмодію шляхом розетковидного брунькування (рис. 6, 7, 11). Відокремлювані споробласти мали сформований базальний шар майбутньої екзоспори (рис. 6–8). Закладання органодів спори розпочиналось із формування якріного диску (AD) та базальної частини полярної трубки (рис. 9). Нами зареєстровано також декілька видовжено-овальних та грушоподібних двоядерних споробластів з відокремленими ядрами (рис. 10). Епіспоронтальний простір навколо таких споробластів містив незначну кількість гранулярних включень. Зачатки анізофілярної полярної трубки (F) цих споробластів формували спіраль із 6–8 завитків (2 + 4–6). Діаметр округлих октоспорових спороносних пухирців складав біля 7 мкм (рис. 11, 12).

Живі спори були видовжено-овальними, одноядерними, розмірами  $3,2 \pm 0,5$  (2,9–3,5) x  $2,2 \pm 0,4$  (1,9–2,7) мкм. Спори, забарвлені азуреозином, мали розміри  $3,1 \pm 0,2$  (2,6–3,7) x  $1,6 \pm 0,2$  (1,1–2,1) мкм (рис. 12). Споріві стінки містили три основних шари: плазмалему (PM), ендоспору (En), та п'ятишарову екзоспору (Ex), товщина яких відповідно складала біля 5 нм, 70–80 нм та 30–34 нм (рис. 13–15). Екзоспору формували: подвійний основний шар, який закладався на стадії розетковидного брунькування спорогонального плазмодію, вузький шар значної електронної густини та три наступних шари різної густини (рис. 14). Анізофілярна полярна трубка (F1, F2) формувала у задній частині

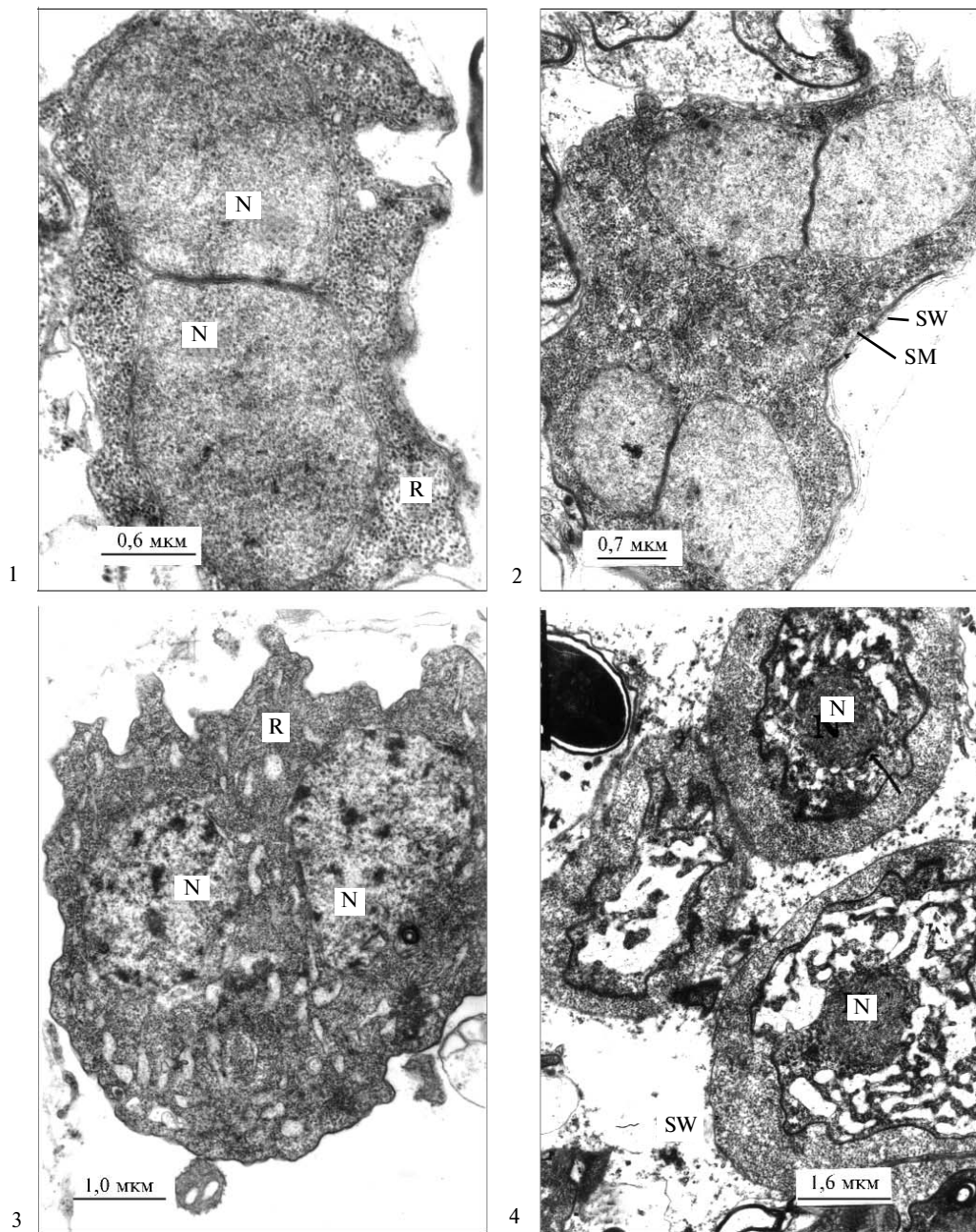


Рис. 1–4. Мерогонія та рання спорогонія *Microsporidium kosewiense*: 1 — двоядерний мерозоїт видовжено-овальної форми; цитоплазма містить велику кількість вільних рибосом (R) та слабо розвинену ендоплазматичну сітку, ядра у вигляді диплокаріону (D); 2 — мерогональний плазмодій з двома диплокаріонами; потовщення мембрани плазмодія (SM) та початок формування оболонки спороносного пухирця (SW) показано стрілками; 3 — молодий споронт після розходження ядер диплокаріону (N); цитоплазма містить вільні рибосоми (R) та численні вакуолі; 4 — ранні одноядерні споронти з вакуолізованою цитоплазмою та округлими ядрами (N); епіспоронтальний простір всередині спороносного пухирця (SW) заповнено дрібними гранулами.

Fig. 1–4. Merogony and early sporogony of *Microsporidium kosewiense*: 1 — elongated diplokaryotic meront contains numerous ribosome (R), weakly developed endoplasmic reticulum, and the nuclei coupled as diplokaron (D); 2 — divided meront with two diplokarya; dense coat formation (SM) and thin wall of sporophorous vesicle (SW) are visible (arrowed); 3 — young sporont with two separate nuclei (N); vacuolated cytoplasm contains numerous free ribosomes (R); 4 — uninucleate early sporonts with strongly vacuolated cytoplasm and round nuclei (N); epispore space of sporophorous vesicle (SW) contains thin granules.

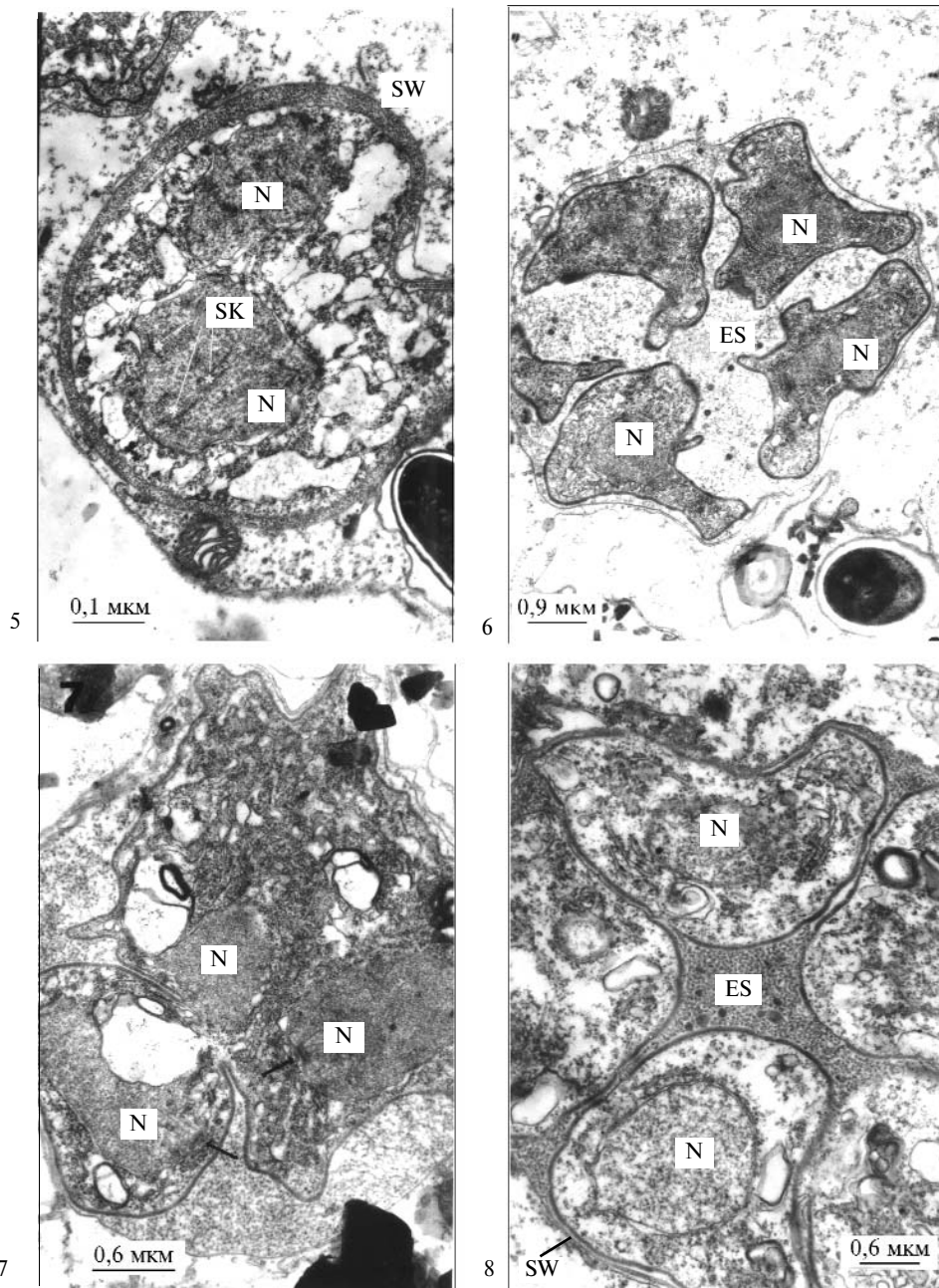


Рис. 5–8. Мейоз та деталі октоспорової спорогонії: 5 — споронт з двома ізольованими ядрами (N), нуклеоплазма яких містить синаптонемальні комплекси (SK); 6 — споробласти з ізольованими ядрами (N), що відокремились від спорогонального плазмодію; епіспоронтальний простір (ES) містить тонкі гранули та кристали; 7 — розетковидне брунькування спорогонального плазмодію та відокремлення одноядерних споробластів; наявність центріолярних пластинок (підкреслено) вказує на початок мітотичного поділу ядер (N), зачатки екзоспори формуються на поверхні споробластів; 8 — частина спорозного пухирця (SW), що містить пізні споробласти з ізольованими ядрами (N); епіспоронтальний простір (ES) заповнено гранулами різного розміру.

Fig. 5–8. Meiotic division and details of octosporous sporogony: 5 — sporont with two separate nuclei (N), containing synaptonemal complex (arrowed); 6 — sporoblasts with isolated nuclei (N) separated from sporogonial plasmodium; episporontal space (ES) contains thin granules and crystals; 7 — rosette-like budded sporoblasts with isolated nuclei (N); centriolar plates (arrowed) indicate the beginning of mitotic division of the nuclei (N), the exospore's primordia are produced on the surface of the uninucleate sporoblasts; 8 — part of sporophorous vesicle (SW) containing late sporoblasts with isolated nuclei (N); the granulate inclusions are visible in the episporontal space.

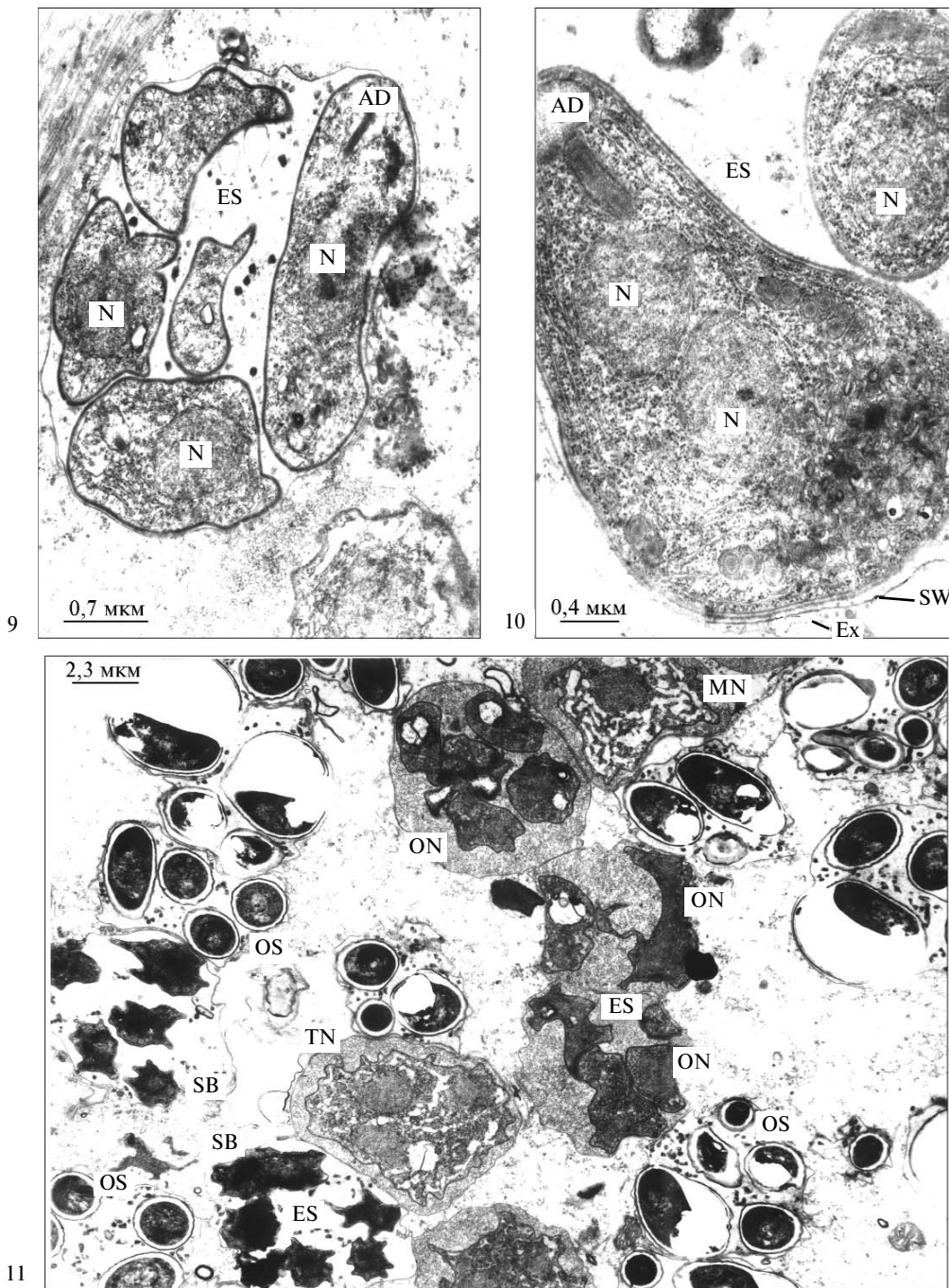


Рис. 9–11. Деталі пізньої спорогонії: 9 — ультратонкий зріз спороносного пухирця з молодими одноядерними спорами, що містять зачатки якірного диску (AD); 10 — поздовжній зріз через двоядерний споробласт з ізованими ядрами (N) якірним диском (AD) та зачатками полярної трубки (F); 11 — частина інвазованої цитоплазми, що містить октоспори (OS) та стадії спорогонії паразита; одно- (MN), чотирьох- (TN), восьмиядерні споронти (ON) та споробласти (SB) формуються всередині спороносних пухирців, що містять гранулярні і трубчасті вклучення.

Fig. 9–11. Details of the late sporogony: 9 — ultrathin section of sporophorous vesicle with immature uniloculate spores, containing anchoring disc primordia (AD); 10 — longitudinal sectioned binucleate sporoblast with isolated nuclei (N), anchoring disc (AD) and polar filament primordia (F); 11 — part of infected host cell cytoplasm containing the octosporous (OS) and sporogonial stages; mono- (MN), tetra- (TN), octonucleate sporonts (ON) and sporoblasts forms inside of sporophorous vesicles, containing of granular and tubular inclusions.

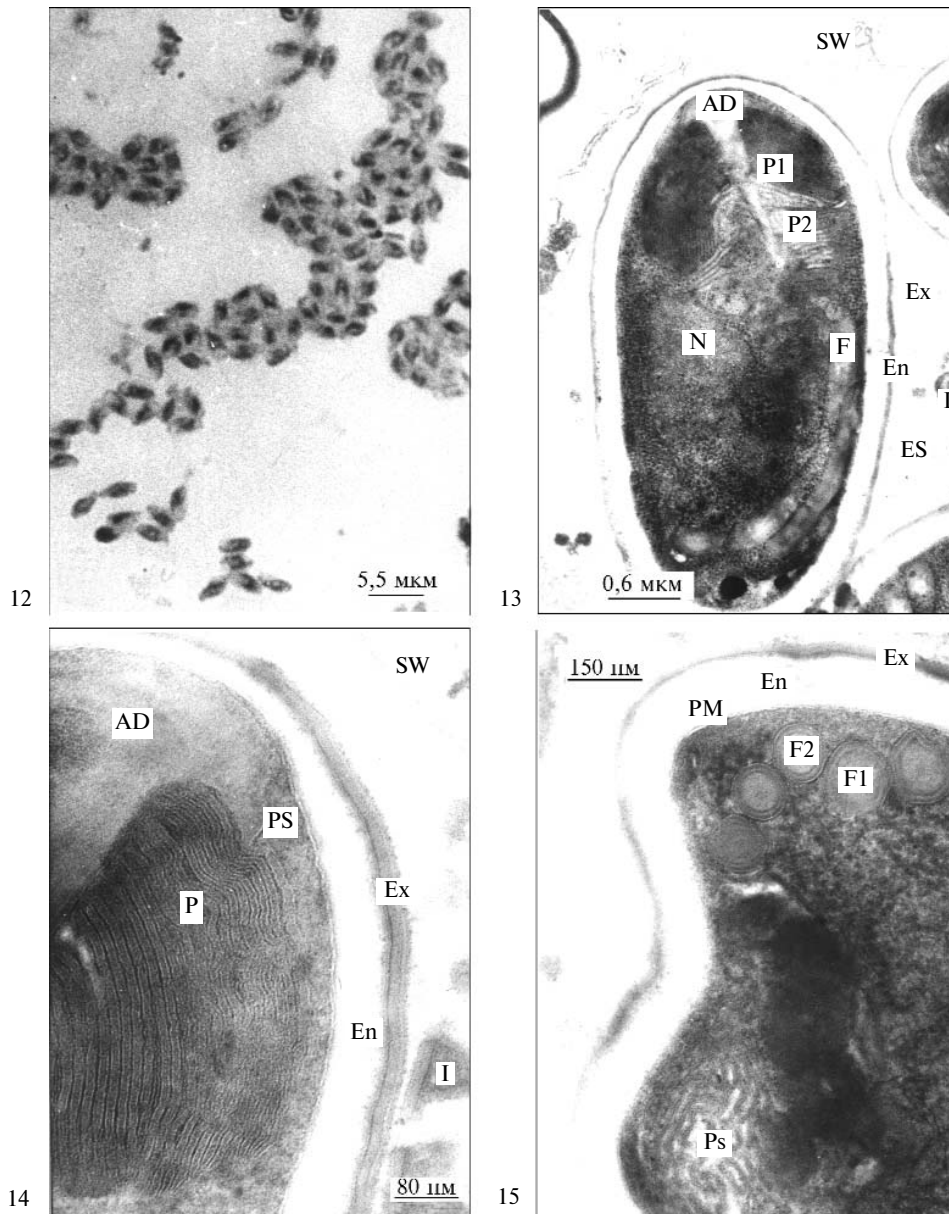


Рис. 12–15. Спори та деталі їх ультраструктури: 12 — спори, забарвлені азуреозином по Гимза; 13 — зріз частини спорофорного пухирця (SW); прикріплена до якірного апарату (AD) полярна трубка (F) проходить через поляропласт, складений з тісно розмішених (P1) та розріджених (P2) пластин; пошарована екзоспора (EX), електроннопрозора ендоспора (EN) і спіральною частиною полярної трубки показані на знімку; епіспоронтальний простір (ES) містить мікротрубки (I); 14 — ультраструктура апікальної частини спори; показано структуру оболонки спороносного пухирця (SW), кристалоподібні включення (I), п'ятишарову екзоспору (EX), ендоспору (EN), якірний диск (AD), полярний сак (PS) та передню зону поляропласту, що складена з тісно розмішених пластин; 15 — ультраструктура задньої частини спори з анізофілярною полярною трубкою (F1, F2) та губчастою постеросомою (Ps); стінка спори складена з плазмалеми (PM), ендоспори (EN), та екзоспори (EN).

Fig. 12–15. Structure of the spores: 12 — light micrograph of Giemsa stained octospores; 13 — part of sectioned sporophorous vesicle (SW); the attached to anchoring disc (AD) polar filament passes through the bipartite polaroplast with compressed (P1) and expanded (P2) lamellae; the layered exospore (EX), the electron-transparent endospore (EN) and the coiled polar filament (F) are visible; the episporontal space (ES) contains tubular inclusions (I); 14 — longitudinal section of anterior part of the mature spore; the wall of sporophorous vesicle (SW), episporontal crystals (I), five layered exospore (EX), endospore (EN), anchoring disc (AD), polar sac (PS), anterior polaroplast with compressed lamellae (P1) are visible; 15 — longitudinal sectioned posterior part of the mature spores; the anisofilar polar filament (F) and posterior vacuole with posterosome (Ps) are shown.

спори спіраль із 3–5 завитків (2 + 1–3) (рис. 15). У місці прикріплення до якірного апарату її діаметр складав 160 нм, у районі останнього завитка — 110 нм. Кут нахилу завитків полярної трубки до повздожньої осі спори дорівнював 35–40°. Передня частина поляропласту (P1) була складена з щільно розмішених пластин (ламел). Відстань між ламелами задньої зони поляропласту (P2) була істотно ширшою (рис. 13). У відмежованій мембраною задній вакуолі розміщувалась губчаста постеросома (рис. 15).

### Обговорення

Гаплогамета, що протікає шляхом редукційного поділу (мейозу), та восьмиспорового спорогонія є характерними ознаками ряду Meiodihaplophasida (Sprague et al., 1992). Віднесення до певної родини знайдених нами мікроспоридій наштовхується на ряд перешкод. Утворення спорозоносних пухирців та один тип октоспорової спорогонії дає підстави вважати досліджених паразитів представниками родини Thelohaniidae (Hazard, Oldacre, 1975), однак присутність незначної кількості двоядерних споробластів є одним із доказів існування кількох паралельних типів спорогонії, подібно до представників родів *Culicospora* чи *Intrapredators*, що входять до родини Amblyosporidae (Becnel et al., 1987; Chen et al., 1998). Серед останніх найбільш подібними до знайдених нами мікроспоридій є *Intrapredators barri* Chen et al., 1998, проте ці мікроспоридії мають інший тип поляропласту та суттєво відрізняються за структурою спорової стінки. Обидві характеристики є ознаками родового рівня (Larsson, 1988).

Серед більш як 60 видів мікроспоридій, описаних із личинок дзвінців (Chironomidae), біля половини вивчено за допомогою методів електронної мікроскопії (табл. 1). Коли відкинути описи, що суттєво відмінні від опису знайдених нами паразитів, найближчими до них залишаються *Napamichum dispersus* (Larsson, 1984), *N. cellatum* (Вуїїн, Larsson, 1994), та *Thelohania pinguis* Hesse, 1903. Вказані мікроспоридії продукують овальні, до грушоподібних, октоспори, розмірами біля 2,0–2,5 × 3,0–5,5 мкм. Два з них — *N. dispersus* та *N. cellatum* — мають анізофілярну полярну трубку та п'ятишарову екзоспору з базальним шаром, який нагадує структуру екзоспори представників роду *Thelohania*. Епіспоронтальний простір цих мікроспоридій містить гранулярні, кристалоподібні та трубчасті включення. Обидва види мікроспоридій продукують спорозоносні пухирці овальної чи веретеноподібної форми (Larsson, 1984, 1990; Вуїїн, Larsson, 1994). На противагу *N. dispersus* та *N. cellatum* вивчені нами мікроспоридії формували округлі спорозоносні пухирці та видовжено-овальні спори, а їхній поляропласт скоріше нагадував ламелярний поляропласт *Chapmanium cirritus* (Hazard, Oldacre, 1975), хоча за іншими ознаками їх можна було віднести до роду *Napamichum*. За формою та розмірами октоспор, гостальною специфічністю та формою спорозоносних пухирців знайдені нами мікроспоридії досить близькі до *Thelohania pinguis*, описаної у *Tanipus varius* з водойм Франції (Hesse, 1903). Пізніше подібних мікроспоридій було зареєстровано у Чехії (Weiser, 1943, 1946). Один з препаратів Я. Вайзера проаналізовано у 1994 р. (Вуїїн, 1994). Авторка аналізу зазначає, що за сукупністю видимих на світлооптичному рівні ознак цих мікроспоридій слід вважати видом *insertae sedis* до отримання нових даних, необхідних для їх ідентифікації. На проаналізованому препараті було зареєстровано два типи спор — тетраспори (3,7–4,2 × 1,7–1,9 мкм), та октоспори (3,0–3,4 × 1,3–1,9 мкм), що виключає їх ідентифікацію із знайденими нами паразитами. Більш подібними до них виявились мікроспоридії, описані Е. Хесом, що формували овальні, до грушовидних, октоспори розмірами 1,8–2,0 × 3,0–3,5 мкм, та округлі, до еліпсоїдних, спорозоносні пухирці діаметром 6,0 × 6,5 до 7,0 × 4,0 мкм (Hesse, 1903).

Відповідно до наведеного вище, ми вважаємо можливими два шляхи означення систематичного положення знайдених нами мікроспоридій: їхню ідентифікацію з *Thelohania pinguis* за описом Е. Хеса (з переносом цього виду до роду *Napamichum*) або опис нового виду та віднесення його до збірного роду *Micro-*

Таблиця 1. Деякі особливості ультраструктури мікроспоридій — паразитів личинок двокрилих з родини Chironomidae

Table 1. Some ultrastructural data of microsporidian parasites of the midge larvae

Вид	M	SI	MD	PF	PP	EX	FC	Автори
<i>Amblyospora debasieuxi</i> Loubis, 1979	?	cr, gr	sr	an	n + w	lt	6-7+5-6	15
<i>A. chironomi</i> (Coste-Mathiez, 1970)	2	cr	?	an	?	lt	5+7	6
<i>A. macrococcus</i> (Voronin, 1979)	?	gr	sr	an	i	lt	3+4-5	22
<i>Amblyospora</i> sp. Voronin, 1991	?	gr	sr	an	i	lt	4+6-7	22
<i>Bacillidium brevicauda</i> (Legår, Hesse, 1916)	2	—	bi?	an	i	u?	2-3	7
<i>Bohuslavia asterias</i> (Weiser, 1963)	2	ab	sr	is	v	u	10-11	13, 27
<i>Coccospora micrococcus</i> (Legår, Hesse, 1921)	2	gr, tu	sr	is	n+s	dl	un	2
<i>Cylindrospora chironomi</i> Issi, Voronin, 1986	2?	?	sr?	is	p+t	u	un	8
<i>Gurleya chironomi</i> Loubis, Maurand, 1975	1	gr, cr	?	is	i	dl	6	16
<i>Helmichia aggregata</i> Larsson, 1982	2	?	?	is	i	?	un	11
<i>H. anomala</i> Ovcharenko, Wita, 2001	2	tu	sr	is	n+p	lt	un	20
<i>H. glandulicola</i> Wylker, Weiser, 1991	2	tu, gr	sr	is	n+w	lt	un	28
<i>H. lacustris</i> Voronin, 1998	2	gr, tu	sr	is	n+p	lt	un	25
<i>H. tetrasticta</i> Kilochitzcky, Cholan, 1993	?	?	?	is	n+p	?	un	17
<i>Issia singulati</i> Ovcharenko, Wita, 1995	2	?	bi	is	n+v	th	15-16	18
<i>Napamichum cellatum</i> Bylån, Larsson, 1994	2	gr, tu, cr	sr	an	n+t	fi	4-5+3	2
<i>Napamichum dispersus</i> (Larsson, 1984)	2	gr, tu	?	an	v	fi	4-5+8-10	12
<i>Neoperezia chironomi</i> Issi, Voronin, 1979	2	gr, tu, fi	bi	is	n+w+t	u	24-28	9, 26
<i>Nosema ortocladii</i> Coste-Mathiez, Manier, 1968	2	—	?	is	n+v	?	6-7	5
<i>Pernivesicula gracilis</i> Bylån, Larsson, 1994	2	gr, tu	sr	is	n+s	lt	un	2
<i>P. fasciculata</i> (Larsson, 1986)	2	tu	?	is	n+v	dl	un	14
<i>Scipionospora tetraspora</i> Bylån, Larsson, 1996	2	tu	sr	is	n+s	lt	un	3
<i>Semenovaia chironomi</i> Voronin, Issi, 1986	?	?	$\frac{bi}{sr}$	is	$\frac{?}{n+w}$	u	$\frac{12-13}{18}$	8
<i>Stempellia halliellae</i> Codreanu-Balcescu, Codreanu, 1980	?	?	sr	is	w+n	fi?	?	4
<i>Striatospora chironomi</i> Issi, Voronin, 1986	2	?	?	is	p	or	un	23
<i>Toxogluea chironomi</i> (Debaisieux, 1931)	2	gr, tu	sr	is	n+w	lt	8-10	1
<i>T. volgae</i> (Voronin, 1993)	2	gr	?	is	n+v	fi	1	24
<i>Microsporidium chironomi</i> Knell, 1981	?	?	sr	is	w+n	tl	6-7	10
<i>M. goeldichironomi</i> Knell, 1981	?	—	sr	an	w+n	l?	3+8	10
<i>Microsporidium</i> sp. Ovcharenko et al., 1998	?	—	bi	?	n+v	dl	3	19
<i>M. kosewiense</i> Ovcharenko et Wita, sp. n.	2	gr, tu	sr	an	n+w	fi	3-5	21

Умовні позначення: M — кількість ядер меронтів (шизонтів); SI — епіспоронтальні вклучення (ab — відсутні, tu — трубки, fi — фібрили, gr — гранули, cr — кришталіки); MD — спосіб поділу спорогонального плазмодію (bi — подвійний поділ, sr — розеткоподібне брунькування); PF — структура полярної трубки (an — анізофілярна, is — ізофілярна); PP — структура полярного пласту (i — пластинчастий, деталі структури невідомі, n — вузькопластинчастий, p — губчастий, s — мішковидно вакуолярний, t — трубчастий, v — вакуолярний, w — широкопластинчастий); EX — екзоспора (dl — двошарова, fi — п'ятишарова, l — два електронногусті шари, розділені проміжним електроннопрозорим шаром, lt — багатошарова, or — орнаментована поздовжніми потовщеннями, th — тонка, суцільна, u — суцільна); FC — кількість завитків полярної трубки (un — пряма тубка). Автори: 1 — Bylån, Larsson, 1991; 2 — Bylån, Larsson, 1994; 3 — Bylån, Larsson, 1996; 4 — Codreanu-Balcescu, Codreanu, 1980; 5 — Coste-Mathiez, Manier, 1968; 6 — Coste-Mathiez, 1970; 7 — Gütz, 1981; 8 — Исси, 1986; 9 — Исси, Воронин, 1985; 10 — Knell, 1981; 11 — Larsson, 1982; 12 — Larsson, 1984; 13 — Larsson, 1985; 14 — Larsson, 1986; 15 — Loubis, 1979; 16 — Loubis, Maurand, 1975; 17 — Килочицкий, Чолан, 1993; 18 — Овчаренко, Віта, 1995; 19 — Ovcharenko et al., 1998; 20 — Ovcharenko, Wita, 2001; 21 — представлено повідомлення; 22 — Воронин, 1991; 23 — Воронин, 1986; 24 — Воронин, 1993; 25 — Воронин, 1998; 26 — Wita et al., 1998; 27 — Weiser, 1963; 28 — Wylker, Weiser, 1991.



*sporidium* Sprague (1977) до отримання нових даних, що пояснюють утворення двоядерних споробластів. Беручи до уваги суттєві відмінності у структурі поляропласту (пластинчасто-трубчастий або вакуолярний у представників роду *Napatichum* і пластинчастий у знайдених нами паразитів) та можливу наявність двох типів спорогонії, ми вважаємо більш доцільним опис нового виду та його віднесення до збірного роду *Microsporidium*. Вказаний рід було створено В. Спрагом (Sprague, 1977) для видів, родову належність яких неможливо визначити, використовуючи існуючі таксономічні схеми. Від часу створення (1977) вказаний збірний рід став місцем тимчасового зберігання для видів, багато з яких у процесі розбудови систематики мікроспоридій було включено до нових родів.

***Microsporidium kosewiense* Ovcharenko et Wita, sp. n.**

Типовий матеріал. Препарати К 011289–К011291 та ТЕМ блоки зберігаються у лабораторії паразитичних найпростіших Інституту паразитології ім. Вітольда Стефаньського Польської академії наук (Варшава).

Хазяїн. *Psectrotanipus* sp. (Diptera, Chironomidae), личинка IV стадії.

Локалізація. Цитоплазма клітин жирового тіла.

Місцезнаходження. Околиці с. Косево Гурне, Вармінсько-Мазурське воєводство, північно-східна Польща.

Розвиток мерогонія. Здійснюється через подвійний поділ диплокаріотичних мерозоїтів. Спорогонія проходить шляхом розходження компонентів диплокаріону, мейотичного та двох мітотичних послідовних поділів одноядерних споронтів. Споробласти відокремлюються шляхом розетковидного брунькування спорогонального плазмодію. Спороносні пухирці формуються перед початком мейозу. Епіспоронтальний простір виповнений дрібними гранулярними включеннями, які, по мірі формування спор, трансформуються у кристали та мікротрубки.

Опис спор. Одноядерні, видовжено-овальні, розмірами  $3,2 \pm 0,5$  (2,9–3,5)  $\times$   $2,2 \pm 0,4$  (1,9–2,7) мкм. Розміри спор, забарвлені азуреозином, складають  $3,1 \pm 0,2$  (2,–3,7)  $\times$   $1,6 \pm 0,2$  (1,1–2,1) мкм. Структура стінок спор включає плазмалемму, ендоспору, товщиною 70–80 нм та п'ятишарову екзоспору, товщиною 30–34 нм. Спіралевидна частина анізофілярної полярної трубки містить 3–5 завитків (2 + 1–3). Кут їх нахилу до повздовжньої осі спори складає 35–40°. Поляропласт містить передню зону вузьких пластин та шар пластин, відстань між якими істотно ширша. Задня вакуоль містить губчасту постеросому.

Етимологія. За назвою місцезнаходження виду — Косево.

Автори глибоко вдячні пані Уршулі Чаплінській (Інститут паразитології ім. Вітольда Стефаньського Польської академії наук) за технічну підготовку матеріалу до аналізу на електронному мікроскопі. Дослідження частково профінансовані Фондом ім. Юзефа Мянвського Польської академії наук (Варшава).

- Воронин В. Н. Микроспоридии ракообразных // Протозоология. — 1986. — **10**. — С. 137–166.
- Воронин В. Н. Ультроструктура двух видов микроспоридий рода *Amblyospora* (Microsporidia: Amblyosporidae) из личинок комаров (Diptera, Chironomidae) // Цитология. — 1991. — **10**. — С. 67–72.
- Воронин В. Н. Микроспоридия *Toxospora volgae* gen. n., sp. n. из личинок хирономид рода *Coruponeura* // Паразитология. — 1993. — **27**. — С. 148–154.
- Воронин В. Н. Микроспоридии рода *Helmichia* (Microsporidia: Striatosporidae) из личинок комаров (Diptera: Chironomidae) водоемов Северо-Востока России // Паразитология. — 1998. — **34**. — С. 327–331.
- Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Протозоология. — 1986. — **10**. — С. 6–136.
- Исси И. В., Воронин В. Н. Ультратонкая структура микроспоридии *Neoperezia chironomi* на стадиях спорогонии // Цитология. — 1985. — **27**. — С. 142–147.
- Килощицкий П. Я., Чолан Д. М. Новый вид микроспоридий, виявлений у личинок хирономід // Вісн. Київ. нац. ун-ту. Сер. Біол. — 1993. — **25**. — С. 68–70.
- Овчаренко Н. А. Новые и модифицированные методы исследования микроспоридий водных животных (обзор) // Гидробиол. журнал. — 2002. — **38**, № 1. — С. 62–72.
- Овчаренко Н. А., Вита И. *Issia singulati* sp. n. (Microsporidia, Telomyxidae) — новый вид микроспоридий личинок *Chironomus singulatus* Meigen Киевского водохранилища // Гидробиол. журнал. — 1995. — **31**, № 5. — С. 78–83.
- Becnel J. J., Hazard E. I., Fukuda T., Sprague V. Life cycle of *Culicospora magna* (Kudo, 1920) (Microsporidia: Culicosporidae) in *Culex restuans* Theobald with special reference to sexuality // J. Protozool. — 1987. — **34**, N 3. — P. 313–322.

- Bylån E. Ultrastructure and taxonomy of the microsporidia (Protozoa: Microspora) with emphasis on microsporidia infecting midges (Diptera: Chironomidae) : Doct. Diss., Univ. Lund., 1994. — 168 p.
- Bylån E. K. C., Larsson J. I. R. On the cytology of *Toxogluea chironomi* (Debasieux, 1931) Jirovec, 1936 (Microspora, Thelohaniidae) // J. Protozool. — 1991. — **38**, N 6. — P. 547–54.
- Bylån E. K. C., Larsson J. I. R. *Napamichum cellatum* n. sp. (Microspora, Thelohaniidae), a new parasite of midge larvae of the genus *Endochironomus* (Diptera, Chironomidae) in Sweden // J. Euk. Microbiol. — 1994. — **41**. — P. 450–457.
- Bylån E. K. C., Larsson J. I. R. Ultrastructural study and description of *Mrazekia tetraspora* Leger & Hesse, 1922 and transfer to a new genus *Scipionospora* n. g. (Microspora, Caudosporidae) // Europ. J. Protistol. — 1996. — **32**. — P. 104–115.
- Chen W., Kuo T., Wu S. Development of a new microsporidian parasite, *Intrapredators barri* n. g., n. sp. (Microsporida: Amblyosporidae) from the predators mosquito *Culex fuscus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) // Parasitol. Int. — 1998. — **47**. — P. 183–193.
- Codreanu-Bălcescu, Codreanu R. Parazitarea masivă a populațiilor crustaceului *Artemia salina* și chironomidului *Haliella noctivaga* dominante în biocenoză lacului Techirghiol // "Pontus Euxinus" Studii și Serietari. — 1980. — **1**. — P. 305–314.
- Coste-Mathiez. Parasites de larves de Chironomides (Diptères, Nématocères) des environs de Montpellier // These University de Montpellier, France. — 1970. — 118 p.
- Coste-Mathiez F., Manier J. F. *Nosema ortocladii* n. sp. (Microsporidie — Nosematidae) parasite des larves d'*Ortocladius lignicola* Kieffer (Diptère, Chironomide) // Bul. Soc. Zool. France. — 1968. — **93**. — P. 127–133.
- Gutz P. Homology of the manubrium of *Mrazekia brevicauda* and the polar filament of other microsporidia // Zeitschr. Parasitenkd. — 1981. — **64**. — P. 321–333.
- Hazard E. I., Oldacre S. W. Revision of microsporidia (Protozoa) close to *Thelohania* with descriptions of new family, eight new genera and thirteen new species // U. S. Dept. Agric. Tech. Bull. — 1975. — 1530. — P. 1–104.
- Hesse E. Sur la présence de Microsporidies du genre *Thelohania* chez les Insectes // C. R. Acad. Sci. Paris. — 1903. — **137**. — P. 418–419.
- Knell J. *Microsporidium goeldichironomi* n. sp. and *Microsporidium chironomi* n. sp. (Microsporida: Apansporoblastina): two new microsporidia from Florida chironomids // J. Invertebr. Pathol. — 1981. — **37**. — P. 129–137.
- Larsson R. Cytology and taxonomy of *Helmichia aggregata* gen. et sp. nov. (Microspora, Thelohaniidae), a parasite of *Endochironomus* larvae (Diptera, Chironomidae) // Protistologica. — 1982. — **18**. — P. 355–370.
- Larsson R. Ultrastructural study and description of *Chapmanium dispersus* n. sp. (Microspora, Thelohaniidae) a microsporidian parasite of *Endochironomus* larvae (Diptera, Chironomidae) // Protistologica. — 1984. — **20**. — P. 547–563.
- Larsson R. On the cytology, development and systematic position of *Thelohania asterias* Weiser, 1963, with creation of the new genus *Bohuslavia* (Microspora, Thelohaniidae) // Protistologica. — 1985. — **21**. — P. 235–248.
- Larsson J. I. R. Ultrastructural investigation of two microsporidia with rod-shaped spores, with descriptions of *Cylindrospora fasciculata* sp. nov. and *Resiomeria odonatae* gen. et sp. nov. (Microspora, Thelohaniidae) // Protistologica. — 1986. — **22**. — P. 379–398.
- Larsson J. I. R. Identification of Microsporidian genera (Protozoa, Microspora) — a Guide with Comments on the Taxonomy // Arch. Protistenkd. — 1988. — **136**. — P. 1–37.
- Larsson J. I. R. Description of a new microsporidium of the water mite *Limnochares aquatica* and establishment of the new genus *Napamichum* // J. Invertebr. Pathol. — 1990. — **55**. — P. 152–161.
- Loubus C. Ultrastructure, sexualité, dimorphisme sporogonique des Microsporidies (Protozoaires). Incidences taxonomiques et biologiques // These Academie de Montpellier. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, France — 1979. — 249 c.
- Loubus C., Maurand J. Étude ultrastructurale de *Gurleya chironomi* n. sp. Microsporidie parasite des larves d'*Orthocladus* (Diptera-Chironomidae) // Protistologica. — 1975. — **11**. — P. 233–244.
- Ovcharenko M., Molloy D., Wita I. Unusual polar filament structure in two microsporidia from water reservoirs with radionuclide and organic pollution // Bul. Polish Acad. Sci. Biol. Sciences. — 1998. — **46**. — P. 47–50.
- Ovcharenko M., Wita I. *Helmichia anomala* sp. nov. (Microspora, Striatosporidae) a new microsporidian parasite of *Microtendipes pedellus* (Diptera, Chironomidae) in Poland // Acta Parasitologica. — 2001. — **46**, N 4. — P. 242–249.
- Sprague V. Classification and phylogeny of the Microsporidia // Comparative Pathobiology / Eds. L. A. Jr. Bulla, T. C. Cheng. — New York ; London : Plenum Press, 1977. — **2**. — P. 1–30.
- Sprague V., Becnel J. J., Hazard, E. I. Taxonomy of phylum Microspora // Critical Rev. Microbiol. — 1992. — **18**. — P. 285–395.
- Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol. — 1963. — **17**. — P. 208–212.
- Вбвра J., Maddox J. V. Methods in Microsporidiology // Comparative Pathobiology / Eds. L. A. Jr. Bulla, T. C. Cheng. — New York ; London : Plenum Press, 1976. — **1**. — P. 281–319.
- Weiser Ja. Zur Kenntniss der Microsporidien aus Chironomiden-larven // Zool. Anz. — 1943. — **141**. — P. 255–264.
- Weiser Ja. Studie o microsporidiích z larev hmyzůnačich wod // Vestn. Cs. Spol. Zool. — 1946. — **10**. — P. 245–272.
- Weiser Ja. Zur Kenntnis der Microsporidien aus Chironomiden-larven III // Zoologischer Anzeiger. — 1963. — **170**. — P. 226–230.
- Wita I., Ovcharenko M., Dzieszuk U. Ultrastructure of *Neoperezia chironomi* (Microspora: Thelohaniidae) from *Chironomus plumosus* // Вестн. зоологии. — 1998. — **32**, № 1–2. — С. 108–115.
- Вьлкер W. F., Weiser J. *Helmichia glandulicola* sp. nov. (Microspora, Thelohaniidae): morphology, development and influence on salivary glands of *Chironomus anthracinus* (Diptera, Chironomidae) // Parasitology Research. — 1991. — **77**. — P. 335–340.