

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ЖИЗНЕННОГО И ЯДЕРНОГО ЦИКЛОВ МИКСОСПОРИДИЙ (MYXOZOA GRASSE, 1970, MYXOSPOREA BUTSCHLI, 1881)

© А. В. Успенская

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

В статье приведен обзор различных точек зрения на ядерный и жизненный циклы Мухозоа в процессе их изучения с применением разных методов исследования. В связи с изменением понимания жизненных и ядерных циклов и филогении этих животных сравниваются результаты ДАФИ- и Фельген-цитометрии количества ДНК в ядрах спороплазм актиноспор и миксоспор представителей Мухозоа и обсуждаются возможные причины их несоответствия. Обсуждаются перспективы исследования миксоспоридий в России.

Ключевые слова: жизненный и ядерный циклы, миксоспоридии, Мухозоа, Мухоспореа, цитометрия.

Принятые сокращения: ДАФИ — 4',6-диамин-2-финилиндо-дигидрохлорид, PBS — фосфатный буферный раствор.

До середины 1980-х годов тип Мухозоа (Grasse, 1970) относили к простейшим и разделяли на два класса: Миксоспоридии (Muxosporaea) — паразиты рыб, некоторых амфибий и рептилий — и Актиноспоридии (Actinosporaea) — паразиты олигохет (Levine et al., 1980). Их ядерные и жизненные циклы изучались порознь разными исследователями.

Считалось, что цикл у тех и других — однохозяйный, прямой. Паразитические стадии миксоспоридий — трофозоиты, представленные плазмодиями разных размеров и формы, питаются за счет тканей хозяина и размножаются вегетативно (плазмотомия, почкование), а затем приступают к спорогенезу. Споры выводятся в воду и, будучи заглочены новой особью хозяина, заражают его.

С развитием электронной микроскопии было доказано, что плазмодии Мухоспореа не являются одноклеточными. В их цитоплазме содержатся генеративные клетки с генеративными ядрами (Grasse, 1960, 1970) и вегетативные ядра. Спорогенез у них чаще происходит с образованием их генеративной клетки панспоробласта — двухклеточной стадии, построенной по принципу «клетка в клетке». Наружная клетка — соматическая, внутренняя — генеративная. Одни считали возникновение панспоробласта результатом эндогенного образования внутренней клетки — целлюляризации (Шульман, 1966), другие — объединением двух клеток (Grasse, Lavette, 1978). Внутренняя клетка каждого панспоробласта — споробласт, делясь, он дает начало либо одной, либо двум многоклеточным спорам, состоящим из створок и стрекательных капсул, развивающихся в вальвогенных и капсулогенных клетках, и спороплазмы — заразного начала. Споры выводятся во внешнюю среду, и начинается свободноживущий, покоящийся период, представленный многоклеточными спорами, служащими для заражения новой особи

хозяина. Заражение происходит через пищеварительный тракт. Паразитический период — период агломерации, накопления заразного начала, свободноживущий — период дисперсии, расселения паразита (Успенская, 1984).

К тому времени наиболее полное описание Мухоспореа с полным обзором литературы на светооптическом уровне было представлено в монографии Шульмана (1966), а на электронно-микроскопическом — в нашей монографии (Успенская, 1984), тогда как описание Actinosporaea на светооптическом уровне — Яньшевской (Janiszewska, 1955, 1957), а на электронно-микроскопическом — Маркесом (Marquès, 1984).

Относительно ядерного цикла миксоспоридий (Мухоспореа) на протяжении всей истории их изучения под световым микроскопом не существовало единого мнения, несмотря на многочисленные исследования, посвященные этой проблеме. Шульман (1966) дал подробный обзор работ этого периода, касающихся ядерного цикла, и объединил их в группы, выделив четыре гипотезы, принципиально отличающиеся друг от друга. 1. Мейоз происходит в ядрах плазмодия до спорогенеза; ядра макро- и микрогамет сливаются; синкарион дает начало панспоробласту; ядра споробластов и спороплазмы диплоидны. 2. Половой процесс происходит в течение жизненного цикла дважды: а) перед образованием панспоробласта и б) в спороплазме внутри споры. 3. Единственный половой процесс у миксоспоридий растянут, гаплоидные ядра образуются задолго до формирования спор, а сливаются в спороплазме; поэтому ядра споробластов, вальвогенные, капсулогенные и ядра спороплазмы гаплоидны (последние, сливаясь, образуют зиготу). 4. Мейоз совершается перед образованием гаплоидных ядер спороплазмы, которые, сливаясь, образуют зиготу; все остальные ядра в цикле диплоидны.

Свои схемы авторы, придерживавшиеся той или иной гипотезы, строили на основании изучения под световым микроскопом препаратов, окрашенных гистологическими красителями. Они приводили рисунки, на которых можно было видеть изображение и митозов, и мейоза, и редукции хромосом (см., например: Naville, 1928). Но точно определить последовательность стадий было трудно.

В 1960-х годах, когда началось изучение миксоспоридий под электронным микроскопом, большинство исследователей считали, что спороплазма представляет собой гаметическую клетку. Ее ядра гаплоидны. В том случае, если в споре две одноядерные спороплазмы, половой процесс у миксоспоридий совершается по типу педогамии. Либо, если в споре одна двуядерная спороплазма, то сливаются ее гаметические ядра и половой процесс совершается по типу автогамии (Шульман, 1966). Однако место мейоза и полового процесса в цикле к тому времени не было достоверно доказано. В своей монографии (Успенская, 1984) мы привели обзор электронно-микроскопических работ до 1984 г. и итоги наших исследований цитологии миксоспоридий, их биологии и физиологии на клеточном уровне. Тогда мы считали, что у них есть три способа размножения: вегетативное (плазмотомия и почкование), бесполое (спорогенез, для которого характерна цитогония) и половой процесс.

Надо сказать, что до сих пор, несмотря на многочисленные электронно-микроскопические исследования миксоспоридий из рыб, редко на срезах попадаются отчетливые картины не только мейоза, но и митозов, которые в течение цикла совершаются многократно, но не синхронно во всех ядрах генеративных клеток плазмодия миксоспоридий. Позднее удалось установить, что у миксоспоридий митоз закрытый, внутриядерный. Райков (Raikov, 1994) рассматривал митоз *Muxosporaea* как закрытый внутриядерный плевромитоз. В другой работе (Lom, Dykova, 1997) митоз у миксоспоридий обозначен как ацентрический внутриядерный крипомитоз. Однако недавно появилась работа, в которой говорится об обнаружении под электронным микроскопом открытого митоза у одного из видов *Muxosporaea* (Redondo et al., 2003).

Мы надеялись определить более точно место мейоза у миксоспоридий с помощью цитофотометрии. Сначала для измерения количества ДНК в ядрах нами был испробован метод проточной флуориметрии с окраской реагентом типа реактива Фельгена (аурамино- SO_2) после гидролиза в HCl (Кудрявцев, Розанов, 1974), но выяснилось, что оболочка спор, окрашенных этим красителем, довольно сильно флуоресцирует. Так как попытки освободить спороплазму от оболочки споры не увенчались успехом (она оказалась чрезвычайно стойкой к ферментам и химическим веществам, не разрезалась микроманипуляторами (Успенская, 1984), а применение для этой цели ультразвука не позволяло получить достаточное количество неповрежденных спороплазм), мы решили остановиться на Фельген-цитотометрии. Эта методика в то время широко использовалась при исследовании ядерных циклов у простейших и многоклеточных (Ovchinnikova et al., 1965; Kudrjavitsev, 1966; Ovchinnikova, 1970; Агроскин, Папаян, 1977; Четверухин и др., 1983, и др.).

Нами были подобраны время и температура проведения гидролиза, концентрация HCl и способ приготовления реактива Шиффа, при котором наиболее ярко окрашивались ядра спороплазм внутри споры. Лучшим временем гидролиза в 1 н. HCl при 60 °C оказалось 8 мин, а ярче ядра окрашивал реактив, приготовленный холодным

способом (Лили, 1969). Визуально под световым микроскопом яркость окраски ядер спороплазмы внутри споры изучаемых видов миксоспоридий была сравнима с таковой ядер плазмодиев. Казалось, что краска после горячего гидролиза хорошо проникает сквозь оболочку споры. Так как ранее было установлено, что время гидролиза влияет на яркость окраски ядер простейших (Котельников, Литинская, 1979; Магакян и др., 1980; Golikova et al., 1980), сравниваемые стадии подвергались гидролизу и окраске одновременно в одной порции кислоты и красителя (Успенская, 1984, 1998, 1999, 2000). Мазки мы фиксировали в жидкости Карнуа, которая рекомендуется для изучения нуклеиновых кислот и для окраски по Фельгену (Пирс, 1962), с последующей отмывкой в 70%-ном спирте и в дистиллированной воде. При фиксации жидкостью Карнуа споры (8—25 мкм) и плазмодии хорошо пристают к стеклу и не смываются во время гидролиза и окраски.

У миксоспоридий из рыб (теперь это миксоспориенная фаза развития многих видов *Muxozoa*; см. ниже) количество ДНК нам удалось измерить в вегетативных ядрах трофозоитов, паразитирующих в рыбах (изучались только виды с крупными плазмодиями), в их генеративных клетках, в клетках последовательных стадий спорогенеза и в клетках сформированных спор трех стадий зрелости. Теперь эти споры называются миксоспорами (см. ниже).

Наиболее полно нами было изучено содержание ДНК в ядрах последовательных стадий миксоспоридий из рыб, у видов с двухспоровыми панспоробластами (дибластических), с двустворчатыми спорами и с единственной двуядерной спороплазмой внутри них (Успенская, 1984). Кроме того, содержание ДНК было изучено в ядрах некоторых стадий *Kudoa quadratum*, имеющих многостворчатые споры, у которых спороплазма состоит из двух одноядерных клеток, при этом меньшая клетка находится внутри большей по типу матрешки (Успенская, 2000). Итак, измерения проводились в ядрах указанных стадий, принадлежащих, по системе Шульмана (1966), к разным видам, разным родам, семействам, подотрядам и отрядам, а именно: у *Sphaeromyxa elegini*, *S. hellandi*, *Myxidium perniciosum*, *Zschokkella nova* (отряд Bivalvulea, подотряд Bipolaria, семейство Myxididae), *Henneguya zschokkei* (отряд Bivalvulea, подотряд Platysporea, семейство Muxobolidae) и *Kudoa quadratum* (отряд Multivalvulea, семейство Tetracapsulidae) (Успенская, 1984, 2000).

Результаты Фельген-цитотометрии показали, что ядра генеративных клеток плазмодия, паразитирующего в рыбах, содержат в среднем в 2 раза больше ДНК, чем ядра клеток спороплазм, считавшихся тогда гаметическими клетками, а потому генеративные клетки приняли за диплоидные. Оказалось, что крупные плазмодии с диплоидными генеративными клетками имеют полиплоидные вегетативные ядра. Во время спорогенеза, на стадиях деления ядра панспоробласта количество ДНК в ядрах двуядерного, четырехъядерного и восьмиядерного панспоробластов было тоже в 2 раза больше, чем в ядре спороплазмы, и равно таковому в генеративной клетке. Количество ДНК в вегетативных ядрах сформированных спор (капсулогенных и вальвогенных) первой, второй и третьей стадий зрелости оказалось у всех изученных видов в 2 раза меньше, чем в ядрах генеративных клеток плазмодия, и равно количеству ДНК в ядрах спороплазм, поэтому мы приняли их за гаплоидные.

На основании этих данных был сделан вывод о том, что после третьего деления ядер спорогенной клетки панспоробласта совершается мейоз. Мы считали, что более

вероятен двухступенчатый мейоз (Успенская, 1984). Все спорообразующие клетки оказались гаплоидными (спороплазма, вальвогенные и капсулогенные). Поскольку гаплоидные клетки-спорообразовательницы дифференцируются и в них происходит морфогенез, казалось возможным говорить о наличии в цикле выраженной гаплофазы и считать цикл *Myxosporea* гетерофазным (Uspenskaya, 1982; Успенская, 1984). Такая картина изменения ploидности ядер изученных стадий микоспоридий, окрашенных реактивом Фельгена по описанной выше методике, была получена при измерении количества ДНК у разных видов микоспоридий на разных приборах: и фотографическим методом, и методом морфометрии со сканированием ядер (Успенская, 1984), и позднее при прямой регистрации плотности ДНК, окрашенной реактивом Шиффа, методом одноволновой фотометрии (Владимиров, Успенская, 1994; Успенская, Владимир, 1996; Успенская, 1999, 2000). Поэтому считалось, что данные достоверны, а их интерпретация в свете нашего тогдашнего представления о жизненном цикле микоспоридий правильна. Подкреплялось такое представление о ядерном цикле микоспоридий и некоторыми морфологическими картинками. Так, в выращиваемых на искусственной среде вегетативных стадиях микоспоридий из рыб были обнаружены синаптонемальные комплексы (Siau, 1979). Мы же (Uspenskaya, 1982; Успенская, 1984) на продвинутой стадии деления генеративной клетки панспоробласта (на одном срезе видны 5 клеток внутри панспоробласта) у *Myxidium gastrostei* под электронным микроскопом наблюдали картину, очень напоминающую мейоз у актиноспоридий, описанный под световым микроскопом (Janiszewska, 1957), где на конце веретена деления из одной из спорообразующих клеток выносятся редукционные тельце. Поскольку микоспоридии и актиноспоридии тогда считались представителями двух разных классов в пределах типа Мухозоа (Levine et al., 1980), наличие у тех и других одинакового вида мейоза, а также полового процесса не смущало. Считалось, что слияние гаплоидных ядер спороплазмы микоспоридий может происходить в споре уже после выхода ее в воду или после попадания спороплазмы в новую особь хозяина (Успенская, 1984). В то время эта трактовка ядерного цикла не встретила возражений (Lom, 1990; Шульман и др., 1997).

Позднее для *Myxobolus* (syn. *Myxosoma*) *cerebralis* было доказано (Wolf, Markiw, 1984) наличие сложного цикла, который происходит со сменой хозяев (форель, трубочник) и со сменой двух фаз развития: микоспорейной и актиноспорейной, соответствующих развитию представителей бывших двух отдельных классов — Микоспоридий и Актиноспоридий. Каждая из фаз оканчивается формированием спор — микоспор в микоспорейной фазе и актиноспор в актиноспорейной. Споры обоих типов выводятся в воду и служат для заражения соответствующего хозяина. Открытие этих авторов получило подтверждение (El-Matbouli, Hoffmann, 1989; Uspenskaya, 1995, и др.).

Эти данные хотелось проверить цитометрически и понять, как согласуются с новой трактовкой цикла наши данные по Фельген-цитометрии о наличии мейоза в микоспорейной фазе. Казалось, что в двуххозяином цикле более вероятен половой процесс лишь в одной из фаз развития.

С помощью Фельген-цитометрии нами было проведено сравнение количества ДНК в ядрах спороплазм микоспор и в ядрах зародышевых клеток спороплазм актиноспор двух видов Мухозоа с двуххозяиным жизненным

циклом: у *Myxobolus* (syn. *Myxosoma*) *cerebralis* Hofer, 1903 (Владимиров, Успенская, 1994) и у *Zschokkella nova* Кюкачев, 1914 (Успенская, Владимир, 1996). Материал по первому виду был любезно прислан нам д-ром К. Вольфом (K. Wolf) и д-ром М. Маркив (M. Markiw) из США, так как в рыбхозах СССР к тому времени с помощью дезинфекции, профилактики и лечения, проводимых по разработанной нами инструкции (Успенская, 1959, 1984), вертеж, вызываемый этим паразитом, был ликвидирован. Микоспоры *Z. nova* мы получили из желчных пузырей карасей, а актиноспоры — путем заражения олигохет *Tubifex tubifex* микоспорами *Z. nova* при экспериментальной расшифровке ее жизненного цикла (Uspenskaya, 1995).

Измерение количества ДНК в ядрах спороплазм микоспор и актиноспор этих видов осуществлялось через оболочку споры на препаратах, окрашенных по Фельгену, в указанном выше режиме методом одноволновой фотометрии на цитоспектрофотометре МЦФУ-1 (ЛОМО, Санкт-Петербург) с прямой регистрацией плотности ДНК, окрашенной реактивом Шиффа (Владимиров, Успенская, 1994; Успенская, Владимир, 1996).

Эти измерения показали, что количество ДНК в ядрах спороплазм микоспор *Myxobolus* (syn. *Myxosoma*) *cerebralis* в 2, а в ядрах спороплазм *Zschokkella nova* в 4 раза меньше, чем в ядрах зародышевых клеток актиноспор соответствующих видов. Получалось, что микоспоры их гаплоидны, а актиноспоры диплоидны. Разницу количества ДНК в сравниваемых ядрах *Z. nova* в 4 раза, а не в 2 мы объясняли тем, что актиноспоры, в которых производились измерения, у этого вида находились на стадии перед делением 16 зародышевых клеток с образованием 32 клеток в споре. Количество зародышевых клеток в исследуемых спорах было более 16 и менее 32, а значит большинство из них были постсинтетическими (в стадии 4С). Таким образом, согласно данным Фельген-цитометрии, не исключался мейоз в микоспорейной фазе.

Как уже говорилось, в панспорцисте актиноспорейной фазы тоже был описан мейоз (Janiszewska, 1957). К этому времени наличие у актиноспоридий мейоза с выносом на конце веретена редукционных телец было подтверждено исследованием под электронным микроскопом (Marquès, 1984; Lom, Dykova, 1997). Также существование мейоза у актиноспоридий подтверждалось наличием синаптонемальных комплексов и Фельген-положительных редукционных телец в панспорцисте. В определенный момент в панспорцисте насчитывалось 16 ядер гамет и 32 редукционных телец, что говорило о двухступенчатом мейозе. Существование полового процесса у актиноспоридий доказывалось слиянием гамет в панспорцисте перед спорогенезом (количество клеток уменьшалось вдвое) (Marquès, 1984).

Таким образом, согласно данным Фельген-цитометрии и морфологическим данным, в двуххозяином цикле Мухозоа получалось два половых процесса, что в царстве животных встречается достаточно редко (кокцидии, трематоды, дициемиды). Этот вопрос обсуждался нами неоднократно (Успенская, 1993, 1997, 1999, 2000; Успенская, Райкова, 2001).

После открытия наличия двуххозяиного и двухфазного циклов у *Myxosoma cerebralis* (Wolf, Markiw, 1984) многим исследователям удалось экспериментально подтвердить существование такого цикла у других видов микоспоридий. Сейчас таких видов Мухозоа уже около 30. Обзоры литературы по этому вопросу есть во многих работах (Успенская, 1997; Успенская, Райкова, 2001; Kent

et al., 2001; Yokoyama, 2003; Canning, Okamura, 2004). Исследования паразитов беспозвоночных — как пресноводных, так и морских — привели к описанию большого количества новых форм актиноспоридий. Они были обнаружены не только в пресноводных, но и в морских олигохетах, морских и пресноводных полихетах, в сипункулидах и в личинках *Lepidoptera*. Для некоторых из них экспериментально уже установлена связь с определенной миксоспорейной формой, для других ее еще предстоит определить. В результате был ликвидирован класс *Actinosporaea*, а в типе *Мухозоа* оставили единственный класс *Мухоспореа*, сохранив пока (с некоторыми изменениями) прежнюю систему класса, актиноспоридий же стали рассматривать как фазу их развития (Kent et al., 1994), сохраняя для видов, для которых еще не установлена их связь с определенной миксоспорейной фазой, их собственное временное название. После того как удавалось экспериментально показать, что данный вид актиноспор развивается из миксоспор определенного вида микоспоридий, временное название актиноспоры упразднялось и ей присваивалось имя той микоспоридии, из микоспор которой она развивалась.

Позднее, после того как было доказано, что паразиты мшанок тоже имеют отношение к *Мухозоа*, был создан второй класс в типе *Мухозоа* — *Malacosporaea* — и предложена новая его система (Canning et al., 2000; Kent et al., 2001; Canning, Okamura, 2004). Сейчас количество вновь описанных форм актиноспоридий все увеличивается (Kent et al., 2001; Yokoyama, 2003; Lom, Dykova, 2006).

Цикл со сменой двух фаз развития у *Мухозоа* стал рассматриваться как метагенез (Holstain et al., 1995). Снова возник вопрос о филогении *Мухозоа*, и ученые обратились к отвергнутой ранее теории Вейла (Weill, 1938) о родстве микоспоридий с *Cnidaria*. Сравнительно-морфологический анализ паразитической *Cnidaria* — *Polypodium hydriforme* и *Мухозоа* (Успенская, Райкова, 2001) — выявил черты как сходства, так и различия между этими животными, а также черты, отличающие их от остальных *Cnidaria*. Ранее на основании морфологических отличий полиподия от *Cnidaria* Райкова (1988) обосновала целесообразность выделения полиподия в ранг отдельного класса типа *Cnidaria* — *Polypodiozoa* Raikova, 1988.

Для выяснения филогенетических связей *Мухозоа* специалисты стали проводить исследования нуклеотидных последовательностей 18S рРНК и 18S рДНК и сравнение их с нуклеотидными последовательностями других крупных таксонов животных. На основании результатов, полученных с помощью методов молекулярной генетики, при изучении молекулярной характеристики последовательностей 18S рРНК и 18S рДНК у *Мухозоа* все исследователи считают, что подтверждена принадлежность *Мухозоа* к *Metazoa* (Smothers et al., 1994; Schlegel et al., 1996, и др.). Однако пока существуют некоторые разногласия относительно того, состоят ли *Мухозоа* в родстве с *Cnidaria* (Siddal et al., 1995; Zrzavy, 2001) или их надо относить к *Bilateria* (Smothers et al., 1994; Schlegel et al., 1996; Okamura et al., 2002). Результаты изучения Нох-генов у *Мухозоа* (Anderson et al., 1998) свидетельствуют, по мнению авторов, о принадлежности *Мухозоа* к *Bilateria* — к трехслойным организмам, а не к *Cnidaria*.

Райкова (2005) примиряет эти две точки зрения. Проведя сравнение морфологических особенностей строения полиподия с особенностями строения нового класса *Мухозоа* — *Malacosporaea* (Canning, Okamura, 2004), автор приходит к выводу, что *Polypodium*, как ни одна кни-

даря, близок к *Bilateria*—*Triploblastica*. Она согласна с ранее высказанным мнением (Zrzavy, Hupša, 2003) о том, что «эволюционная ветвь (клад) животных, обладающих книдами (*Cnidaria*, *Polypodiozoa* и *Мухозоа*), возможно, представляет собой переходную ступень между билатеральными и более примитивными двухслойными животными».

Исследования в этом направлении продолжаются. Попытки использовать для этих целей изолированный из *Myxosoma cerebralis* кДНК-актин не внесли ясности (Kelly et al., 2004). Результаты этой работы указывают на то, что *Мухозоа* не имеют отношения не только к *Amebozoa* (*Protozoa*), но и находятся вне *Metazoa*, что не согласуется с данными исследований, описанными выше.

Наиболее подробно двуххозяйный цикл *Мухозоа*, исследованный под световым и электронным микроскопами, был прослежен у *Myxobolus* (syn. *Myxosoma*) *cebralis* (El-Matbouli et al., 1995; El-Matbouli, Hoffmann, 1998). Авторы последовательно описали плохо изученные преспорогенные этапы паразитических периодов как в миксоспорейной, так и в актиноспорейной фазах развития. В миксоспорейной фазе после внедрения спороплазмы актиноспоры в кожу или жаберный эпителий форели (не через пищеварительный тракт, как считалось раньше!) зародышевые клетки спороплазмы постоянно размножаются, внедряясь в клетки тех тканей, которые они проходят по пути следования к окончательному месту паразитирования. У *M. cerebralis* это кожные покровы, эпителий, периферическая нервная система и центральная нервная система по пути следования к основному веществу хряща черепа, где начинаются образование плазмодиев, активное питание и переход к спорогенному этапу паразитического периода. Ядро внедрившейся в клетку хозяина зародышевой клетки делится митотически. Эндогенно (путем слияния пузырьков эндоплазматической сети вокруг одного из дочерних ядер с участком цитоплазмы) образуется мембрана, отделяющая внутреннюю вторичную клетку, и стадия «клетка в клетке». Вторичная клетка может дать начало нескольким клеткам, или в ней может образоваться третичная клетка. Затем вторичная или третичная клетка разрушает материнскую клетку и клетку хозяина и внедряется в следующую клетку той же ткани и снова размножается тем же путем либо следует дальше, постоянно размножаясь тем же способом. Так же возникают генеративные клетки молодого плазмодия. Панспоробласт же, по мнению авторов, образуется путем слияния двух генеративных клеток. Пока, правда, последовательно это не прослежено. Преспорогенные стадии ранее описывались и для других видов микоспоридий (Lom, 1990).

В актиноспорейной фазе *M. cerebralis* были обнаружены начальные стадии развития с момента заражения олигохет микоспорой (El-Matbouli, Hoffmann, 1998). Микоспоры в кишечнике олигохеты закрываются с помощью стрекательных нитей в кишечном эпителии, створки споры раскрываются, двуядерная спороплазма внедряется между эпителиальными клетками и, по мнению авторов, размножается путем шизогонии, заражая соседние участки кишечника. Они считают, что одноядерные клетки сливаются попарно (плазмогамия) и двуядерная клетка дает начало панспоробласту с соматическими клетками оболочки и гаметическими клетками внутри. Происходят гаметогония и гаметогамия. Зиготы дают начало диплоидным актиноспорам. Фотографий митоза и мейоза авторы не приводят и их не описывают.

Образование «клетка в клетке» очень характерно для микоспоридий и появляется неоднократно в течение их жизненного цикла (генеративные клетки плазмодия, спороплазма у *Kudoa*, преспорогенные стадии), так же как и особый способ выделения внутренней клетки. Райкова (1985), описавшая такой способ выделения клетки внутри другой у *Polypodium hydriforme*, называет его эндоцитокinesis. Интересно, что у полиподия из гаплоидной внутренней клетки этой стадии развивается паразитический столон и в цикле предполагалась гаплофаза. Наличие гаплофазы в его цикле рассматривалось нами как одна из черт сходства полиподия и Мухозоа (Успенская, Райкова, 2001).

До 1998 г. изучением ядерного цикла Мухозоа методами цитофотометрии занимались только мы (Успенская, 1982; Успенская, 1984, 1999, 2000; Владимиров, Успенская, 1994; Успенская, Владимиров, 1996), для чего использовали Фельген-цитофотометрию. Лишь в 1998 г. Эль-Матбули с соавторами (El-Matbouli et al., 1998) провели, подобно нам, измерение количества ДНК в ядрах микоспор и актиноспор *Muxobolus* (syn. *Muxosoma*) *cerebralis*, но используя в качестве красителя флуорохром ДАФИ. Полученные ими результаты сильно отличаются от тех, которые мы получили для этого вида, применяя для окраски реактив Шиффа.

Как уже говорилось выше, по данным Фельген-цитофотометрии, количество ДНК в одном ядре спороплазмы микоспоры *M. cerebralis* было в 2 раза меньше, чем в ядрах зародышевых клеток актиноспоры этого вида. Из этого мы сделали вывод, что микоспоры *M. cerebralis* гаплоидны, а актиноспоры диплоидны (Владимиров, Успенская, 1994). Этот вывод был подтвержден при измерении плоидности ядер спороплазм микоспор и актиноспор у *Zschokkella nova* (Успенская, Владимиров, 1996). Согласно же данным ДАФИ-цитофотометрии (El-Matbouli et al., 1998), количество ДНК в ядрах спороплазм микоспор и актиноспор *M. cerebralis* оказалось одинаковым. И на этом основании указанные авторы считают эти ядра диплоидными и полагают, что мейоз у Мухозоа имеет место только в актиноспорейной фазе развития.

Конечно, как уже говорилось, ядерный цикл с одним половым процессом кажется более вероятным при двуххозяйном цикле. Тогда исчезает проблема второго полового процесса и наличия гаплофазы и гетерофазного жизненного цикла, свойственных некоторым Protozoa и растениям и обычно не свойственных Metazoa, к которым теперь относят микоспоридий. Все же интересно было бы узнать, что обуславливает такое различие в результатах измерений количества ДНК при применении разных красителей, тем более что на растениях и при сравнении раковых и здоровых клеток человека неоднократно было показано, что результаты Фельген- и ДАФИ-цитофотометрии хорошо согласуются (Kaysner et al., 1996; Johnson et al., 1999; Bel et al., 2003; Nguen et al., 2004, и др.). Для ответа на этот вопрос мы провели сравнение результатов Фельген- и ДАФИ-цитометрии ядер спороплазм *M. cerebralis*, используя для измерения сравниваемых стадий одинаковую методику, один прибор и проводя измерение количества ДНК в их ядрах, окрашенных разными красителями (Шифф и ДАФИ), за один сеанс.

Мазки с микоспорами и актиноспорами *M. cerebralis* помещали на предметное стекло, фиксировали в жидкости Карнуа, отмывали в 70%-ном спирте и дистиллированной воде, высушивали на воздухе и хранили в сухом виде. Окраску по Фельгену обеих стадий одновременно произ-

водили в реактиве, приготовленном по прописи Лили (1969) для приготовления «холодного реактива Шиффа». Перед окраской мазки промывали в дистиллированной воде 5 мин, затем подвергали гидролизу в 1 н. HCl при 60 °C и опускали в реактив Шиффа (основной фуксин фирмы Serva, США), где выдерживали 1 сут в холодильнике при 4 °C. Затем мазки отмывали от краски в трех порциях сернистых вод по 3 мин в каждой, в дистиллированной и проточной воде, после чего обезвоживали и заключали в канадский бальзам.

Окраску мазков микоспор и актиноспор флуорохромом ДАФИ (Serva, США) проводили по описанной схеме (El-Matbouli et al., 1998). Мазки выдерживали в течение 5 мин в PBS и окрашивали ДАФИ (0.5 мкг/мл цитратного буферного раствора Макильвейна, pH 7.0, в течение 12 ч). Затем мазки быстро промывали в PBS, покрывали каплей PBS-глицерина и сохраняли в темноте в холодильнике до следующего дня.

Измерения количества ДНК на препаратах, окрашенных по Фельгену, и на препаратах, окрашенных ДАФИ, проводили на Аксиоскопе (Axioscop Carl Zeiss), объектив $\times 100/1.3$, видеокамера Vario Cam (750 \times 570 пикселей), программа KS-100; блок фильтров для наблюдения люминесценции при окраске ДАФИ — 0.2. Плотность ДНК, окрашенной реактивом Шиффа, в ядре вычисляли по формуле $D = (\log F/O) S_0$, силу флуоресценции ядер при окраске ДАФИ — по формуле $Q = (I_0 - I_f) S_0$.

При измерении количества ДНК в ядрах спороплазм микоспор и в ядрах зародышевых клеток актиноспор *M. cerebralis*, окрашенных по Фельгену указанным выше способом, были получены следующие результаты. Среднее количество ДНК в одном ядре спороплазмы микоспоры составляло 0.975 ± 0.063 усл. ед., а среднее количество ДНК в одном ядре зародышевой клетки актиноспоры этого же вида — 1.761 ± 0.085 усл. ед., т. е. было в 2 раза больше, чем в ядрах спороплазм микоспор. Результат полностью соответствовал нашим прежним данным, полученным при помощи Фельген-цитофотометрии, в отношении этого вида микоспоридий (Владимиров, Успенская, 1994).

В то же время данные измерения количества ДНК в ядрах спороплазм обеих фаз развития *M. cerebralis*, окрашенных флуорохромом ДАФИ, совпадали с данными, полученными Эль-Матбули с соавторами (El-Matbouli et al., 1998). Так, среднее количество ДНК в ядре спороплазмы микоспоры *M. cerebralis*, вычисленное по силе свечения в результате связывания красителя, оказалось равным 0.862 ± 0.079 усл. ед., в то время как среднее количество ДНК в ядре зародышевой клетки актиноспоры — 0.700 ± 0.073 усл. ед. По критерию Стьюдента различие между ними недостоверно.

С чем же связано такое различие в результатах, полученных при использовании разных красителей для целей цитофотометрии при исследовании плоидности ядер спор актиноспорейной и микоспорейной фаз развития одного вида микоспоридий? В методических работах указывается, что окраска по Фельгену специфична для ДНК и пригодна для цитометрии (Пирс, 1962). С помощью Фельген-цитометрии, как уже говорилось, широко исследовали ядерные циклы простейших и проводили работы по установлению плоидности ядер различных клеток многоклеточных организмов и продолжают их проводить (Biesterfeld et al., 2005; Naggarth et al., 2005; Hanson et al., 2005, и др.). Считалось (да и до сих пор считается), что это надежный количественный метод, используемый при диа-

гностике раковых заболеваний (Elzohheid et al., 2004; Bies-terfeld et al., 2005; Haggarth et al., 2005; Osterheld et al., 2005).

Интенсивность окраски по Фельгену зависит от химических свойств кислоты, используемой при гидролизе, и от pH реактива Шиффа. Наиболее существенно на интенсивность реакции Фельгена влияют длительность гидролиза, температура гидролиза и концентрация кислоты. На реакцию влияют также состояние хроматина и степень связывания ДНК с белком. До проведения количественных исследований мы экспериментально подобрали режим, при котором яркость окраски ядер спор микроспоридий была максимальной. В качестве фиксатора для мазков мы всегда использовали жидкость Карнуа (рекомендуемую для фиксации нуклеиновых кислот и для фотометрии) с последующими отмыжкой в 70%-ном этаноле, дистиллированной воде и высушиванием мазков на воздухе. Гидролиз и окрашивание сравнимых мазков проводили одновременно в одной порции кислоты и в одной порции краски. Результат сравнительного изучения ядер многих видов при использовании разных измерительных приборов для Фельген-цитометрии неизменно получался одинаковым (количество ДНК в ядрах клеток микроспоры было в 2 раза меньше, чем в ядрах генеративных клеток плазмодия). Поэтому очевидно, что возможная ошибка не связана с качеством красителя и кислоты, с методом окраски и гидролиза и со способом измерения плотности ДНК, окрашенной реактивом Шиффа (сканирование, фотографический метод, прямая регистрация плотности при одноволновой цитометрии и измерение на Аксиоскопе).

ДАФИ — специфичный к АТ-группам ДНК, слабо проникающий в живые клетки (Longobardi, 2001), интеркалирующий, связывающийся с меньшими бороздками ДНК флуорохром, — также использовался и используется для цитометрии (Kapuścinski, Skoczylas, 1978; Leemann, Ruch, 1982; Darzynkewicz et al., 1984; Maciorowski et al., 1997; Johnson et al., 1999; Wen et al., 2001). Было показано, что сила флуоресценции зависит от концентрации красителя в растворе и от pH среды. На ДАФИ/ДНК-флуоресценцию влияют количество имеющихся АТ-оснований и степень конденсации хроматина, она может варьировать в клетках разного типа.

Как уже говорилось, существует немало работ, в которых отмечается совпадение результатов Фельген- и ДАФИ-цитометрии. Только в немногих работах говорится о преимуществе одной краски по сравнению с другой. Например, в одной из работ (Johnson et al., 1999), где сравнивали данные, полученные при окраске флуорохромами, с данными, полученными с помощью Фельген-денситометрии, отмечается, что интенсивность флуоресценции ДАФИ/ДНК у фиксированных глутаральдегидом 2С-клеток растений хорошо коррелирует со средней плотностью ДНК, окрашенной реактивом Шиффа (Фельген-цитометрия). Тем не менее авторы считают, что ДАФИ может быть использован, только если вычисленное количество ДНК подтверждается применением второй краски, которая не имеет предпочтения к АТ- или ГЦ-богатым последовательностям в пределах геномов. Указывается также (Taylor, Milthorpe, 1980), что поскольку интеркалирующие краски могут связываться с двухцепочечной РНК, в тех случаях, когда в исследуемых клетках много РНК, стоит проводить быструю обработку материала РНКазой. Указывается, что выявление средних значений количества ДАФИ/ДНК затруднено в клетках с очень конденсиро-

ванным и слабо конденсированным хроматином (Maciorowski et al., 1997).

Исследователи, занимавшиеся сравнением результатов цитометрии при использовании разных красителей (при стандартизированном режиме окраски и применении одинаковых методов измерения), считают, что ошибка измерения может быть связана либо с разной проницаемостью клетки для разных красителей, либо со свойствами этих красителей, либо со способностью их связываться с ДНК, находящейся в определенном состоянии, т. е. с состоянием хроматина в ядрах данной стадии (Агроскин, Папаян, 1977; Darzynkewicz et al., 1984; Longobardi, 2001).

При анализе данных по плоидности ядер, полученных нами при Фельген- и ДАФИ-цитометрии спор разных фаз развития микроспоридий, и данных, полученных ранее при сравнении плоидности ядер микроспор с таковой спорогенных, генеративных и вегетативных ядер плазмодия (Успенская, 1984, 1999, 2000; Владимиров, Успенская, 1994; Успенская, Владимиров, 1996), создается впечатление, что именно микроспоры обладают какими-то свойствами, которые не дают возможности получить одинаковые результаты при использовании этих красителей для цитометрии ядер одинаковых стадий одного вида микроспоридий, в одинаковых условиях и на одном приборе. Только ядра этой стадии при Фельген-цитометрии оказываются гаплоидными, а при ДАФИ-цитометрии — диплоидными. С ядрами актиноспоры такого не происходит.

Микроспора микроспоридий — это покоящаяся стадия, стадия криптобиоза, длительно переживающая во внешней среде. Если срок жизни актиноспоры в воде исчисляется днями (Xiao, Desser, 2000), то микроспоры могут сохранять жизнеспособность в течение месяцев (Успенская, 1984) и даже, возможно, лет (Plechn, 1924), перенося замораживание и высушивание (Успенская, 1984).

Оболочка микроспоры чрезвычайно плотная, и до сих пор ее не удавалось ни растворить, ни разрезать так, чтобы получить голые неповрежденные спороплазмы. Так же нелегко в естественных условиях вызвать выстреливание стрекальной нити микроспоры (Успенская, 1984; Uspenskaya, Raikova, 2004). Экспериментально на глицериновых моделях нами было показано, что стрекательный аппарат микроспор — кальцийзависимая система. При передаче через тубулиновую шапочку (подобие книдоциля) возбуждения, вызванного в естественных условиях, скорее всего, специфическим химическим раздражителем (пищеварительный сок беспозвоночного хозяина?), происходит деполяризация мембран стенки стрекательной трубки, открываются кальциевые каналы. Кальций выводится из депо (полость свернутой трубки). Запускается расслабление актиновых волокон стенок стрекательной трубки, приводящее к ее выворачиванию и выстреливанию под действием давления, возникшего, как в пружине, в результате скручивания трубки в спираль во время книдогенеза (Успенская, 1988, 1998; Uspenskaya, Raikova, 2004). У выведенных из олигохет актиноспор, напротив, выстреливание стрекательной нити происходит легко. Если поместить в воду с актиноспорами кусочек слизи рыбы-хозяина, то выстреливание стрекальной нити происходит очень быстро. Створки споры после этого раскрываются и спороплазма, содержащая зародышевые клетки, активно передвигается в сторону сгустка слизи (Uspenskaya, 1995; Xiao, Desser, 2000). Створки актиноспор достаточно тонкие и менее упругие, чем у миксо-

спор. Поэтому можно предположить, что именно разница в составе и толщине створок актино- и микоспор может быть причиной различной проницаемости их для реактива Фельгена.

О химическом составе створок актино- и микоспор известно немного. Еще Лом (Lom, 1964), столкнувшись с трудностью вызвать выстреливание стрекательной нити микоспор и с прочностью их оболочек, предположил, что они состоят из какого-то очень прочного белка типа кератина. В недавно опубликованных работах сообщается о том, что створки микоспор *Henneguya oviperda* и *Myxobolus pseudodispar* содержат большое количество кремния (до 91—94 %) (Tutyayev, 2006; Тютяев, 2008). Створки актиноспор тоже содержат кремний, но его меньше, чем в створках микоспор (Marquès, 1984). Таким образом, исходя из этих скудных данных можно высказать предположение о том, что оболочка микоспоры менее проницаема для реактива Фельгена, чем оболочка актиноспоры, из-за большего количества в первой кремния. Конечно, для подтверждения значимости этого предположения необходимы дальнейшие исследования актиноспор и микоспор, принадлежащих одному виду микоспоридий, тем более что по неизвестной нам причине наличие большего количества кремния в створках микоспор, чем в створках актиноспор, не влияет на проникновение сквозь оболочку микоспоры флуорохрома ДАФИ. Кроме того, результат Фельген-цитометрии не зависел от толщины створок спор у изучаемых нами видов. Например, у *Kudoa* стенки створок намного тоньше, чем у *Myxobolus* или *Sphaeromyxa*, тем не менее количество ДНК в ядрах всех клеток микоспор было в 2 раза меньше, чем в генеративной клетке плазмодия у всех видов этих родов, исследованных с помощью Фельген-цитометрии (Успенская, 1984, 2000).

Наконец, возможной причиной неполного окрашивания реактивом Шиффа ДНК в ядрах спороплазмы микоспоры по сравнению с ядрами зародышевых клеток актиноспоры может быть особое состояние части хроматина ядер первой стадии. Можно предположить, что такое его состояние вызвано переходом организма именно на этой стадии микоспорейной фазы цикла к длительному покою (криптобиозу).

Хроматин ядер спороплазмы микоспор обычно располагается по периферии. Ядра содержат крупную кариюсому, в которой выявляются гранулярный и фибриллярный компоненты, цитохимически в ней выявлена РНК (Успенская, 1984). В основном с помощью Фельген-цитометрии, как уже говорилось, мы исследовали виды с одной двуядерной спороплазмой в споре (*M. cerebralis* принадлежит именно к такому виду). Деление материнского ядра спороплазмы на два происходит уже после того, как спороплазменная клетка заняла определенное положение в споре (Grasse, Lavette, 1978; Успенская, 1984). У дочерних ядер хроматин расположен по периферии ядра, но иногда глыбки его видны и в центре. Видимо, сразу после митоза и позже состояние хроматина ядра спороплазмы различно: он то более рыхлый, то более компактный. Предполагалось, что именно этими внутриядерными перестройками объясняется большой разброс в содержании ДНК в этих ядрах, выявленный по Фельгену (Успенская, 1984). Здесь уместно заметить, что при окраске этих ядер флуорохромом ДАФИ разброс среднего количества ДНК в ядрах тоже достаточно велик (El-Matbouli et al., 1998). Приводимые этими авторами гистограммы похожи на полученные нами в результате

Фельген-цитометрии (Успенская, 1984; Владимиров, Успенская, 1994).

Известно, что у некоторых простейших ядра дают очень бледную реакцию Фельгена. В крупных ядрах этого типа концентрация ДНК снижается настолько, что реакция Фельгена вообще становится отрицательной, например у гомонтов некоторых грегаринов и у макрогамет кокцидий (Райков, 1978). Это связано с низкой степенью конденсации хроматина в их ядрах в интерфазе.

Слабоконденсированные хромосомы, которые не могут быть выявлены с применением обычного светового микроскопа, характерны и для ряда других простейших, ядра которых слабо красятся или вообще не красятся по Фельгену (Скарлато, 1997, 2003). В отношении ядер кокцидий отмечается, что обнаружить ДНК в таких ядрах все же можно флуоресцентным методом (Райков, 1978). С помощью флуорохрома ДАФИ в интактных интерфазных ядрах *Entamoeba histolytica*, которые тоже не красятся по Фельгену, удалось наблюдать сильное окрашивание карюсомы и перикариосомного пространства. А на препаратах растянутых безмембранных ядер в материале карюсомы выявлялись бусовидные и лентовидные хроматиновые тела, которые окружали ее середину (Скарлато, 2003).

Мухоzoa теперь относят к низшим Metazoa (либо к двухслойным, либо к трехслойным). В том и другом случае в связи с переходом к паразитизму большинство представителей этого таксона утратили тканевое строение и превратились в примитивно устроенные организмы. Возможно, что и у микоспоридий на стадии перед криптобиозом часть хроматина ядер микоспор имеет какие-то особенности, не позволяющие выявить такой хроматин с помощью реактива Фельгена.

В последние годы опять стали появляться работы, подтверждающие наличие однохозяйных циклов у микоспоридий с прямой передачей заразного начала от рыбы к рыбе (Diamant, 1997; Yasuda et al., 2002; Redondo et al., 2003). Есть работы, авторы которых предполагают возможность существования у одного вида микоспоридий и однохозяйного, и двуххозяйного циклов (Redondo et al., 2003). Существуют предположения о возможности заражения новой особи хозяина вегетативными стадиями микоспоридий (Swearer, Robertson, 1999; Yasuda et al., 2002). Способность изменять жизненный цикл с двуххозяйного на однохозяйный или даже возможность давать потомство и заканчивать развитие в новом хозяине при заражении последнего вегетативными стадиями говорит о лабильности жизненного цикла. Пока неясно, что происходит при утрате беспозвоночного хозяина и актиноспорейной фазы развития с ядерным циклом. Переносится ли половой процесс (мейоз) в микоспорейную фазу или он вообще отсутствует в этом случае? Используются ли микоспоры в однохозяйном цикле? И если да, то, может быть, именно с возможностью спороплазмы микоспоры одного вида развиваться дальше разными путями (либо в позвоночном, либо в беспозвоночном хозяине) и связано особое состояние хроматина ее ядер (или одного из ядер), из-за которого он не целиком красится по Фельгену. В связи с изменением состояния хроматина делаются недоступными места связывания ДНК с этой краской.

Из сказанного видно, что использование цитометрии для решения вопроса о плоидности ядер при исследовании ядерного цикла не всегда дает надежные результаты, а иногда затруднено в связи с особенностями изучаемого организма или одной из его стадий. Наиболее надежным

был бы подсчет хромосом в ядрах разных стадий развития миксоспоридий, для чего прежде всего необходимо научиться выделять достаточное для исследования количество голых неповрежденных спороплазм из прочных миксоспор разных видов; для этого надо было бы изучить и органический состав оболочки миксоспор.

Как уже было сказано выше, до сих пор под электронным микроскопом редко удается получить хорошие картины митоза в миксоспорейной фазе развития паразита (у *M. gasterostei*, где наблюдали мейоз, пока беспозвоночный хозяин неизвестен). Возможно, что для обнаружения митоза, мейоза и подсчета хромосом у миксоспоридий следует использовать конфокальный микроскоп и различные специфичные к ДНК флуорохромы, а также и антитела к тубулину для выявления микротрубочек веретена. Уже существует опыт использования конфокального микроскопа для выявления хромосом с последующим измерением количества ДНК в ядрах (Barrell, Groschi, 2005), окрашенных реактивом типа Фельгена. Есть данные (Longobardi, 2001), что для окраски флуорохромами (и даже для количественных исследований) можно использовать старые парафиновые заливки. Для обнаружения синаптомемальных комплексов в миксоспорейной фазе стоит использовать метод распластывания (Богданов, 1975).

Сначала миксоспоридии были обнаружены в рыбах, но позднее их нашли и в амфибиях, и в рептилиях (Шульман, 1966; Lom, 1990; Upton et al., 1992; McAllister et al., 1995). Затем появились работы, авторы которых предполагают возможность заражения теплокровного позвоночного хозяина миксоспоридиями. Был описан (Friedrich et al., 2000) похожий на миксоспоридию организм в головном мозге у крота *Talpa europea*. Также есть достоверные указания на нахождение стадий развития и зрелых спор, похожих на споры миксоспоридий, в желчных протоках уток (Lowenstine et al., 2002).

Дальнейшее тщательное изучение ядерных и жизненных циклов миксоспоридий имеет не только теоретический, но и большой практический интерес. Не только потому, что знание их помогает разработке конкретных методов борьбы с ними как с паразитами промысловых и разводимых рыб, но и потому, что все больше появляется указаний на то, что у страдающих иммунодефицитом пациентов с признаками диареи в фекалиях обнаруживаются споры миксоспоридий (Moncada et al., 2001; Hessen, Zamzame, 2004). Предполагается, что миксоспоридиозы переходят в разряд оппортунистических заболеваний человека. Ранее тоже сообщалось о нахождении спор миксоспоридий в фекалиях у пациентов с признаками диареи, но без указаний на состояние их иммунной системы (Lebbad, Willcox, 1998). При таком развитии событий можно ожидать, что со временем миксоспоридии станут угрожать здоровью человека, подобно тому как это имело место в случае микроспоридий.

В связи со сказанным очень важно знать, что происходит с половым процессом в случае, если вид может развиваться и по моноксенной схеме, и по диксенной. Может ли завершаться развитие в случае выпадения полового процесса? И могут ли агамно развившиеся диплоидные миксоспоры (так получается по данным ДАФИ-цитометрии) при попадании в позвоночного хозяина, в том числе человека, дать начало новому поколению паразитов данного вида? Возможно ли заражение человека вегетативными стадиями? А может быть, для заражения человека спороплазма из актиноспор должна проникнуть через кожу, подобно тому как это происходит с церкариями,

вызывающими церкариозы человека при массовом их выходе из моллюска в воду, но в отличие от последних развитие в человеке миксоспоридий может продолжаться и завершиться образованием миксоспор? Пока этот путь кажется маловероятным, но и возможность развития в человеке микроспоридий тоже когда-то казалась абсурдом, а теперь ясно, что они вызывают у человека тяжелые заболевания.

Приведенные сведения дают нам уверенность в чрезвычайной важности дальнейших исследований ядерного и жизненного циклов миксоспоридий, их кариологии и цитологии с применением новейших цитологических, генетических, иммунологических и молекулярно-биологических методов. Важны исследования состояния хроматина на разных фазах и стадиях жизненного цикла, хромосомного состава, кариотипа у миксоспоридий. Надо продолжить изучение типов митоза и места мейоза в одноклеточных и двуххозяиновых циклах. Важно понять, что происходит с половым процессом у видов, способных развиваться и по одноклеточной, и по двуххозяиновой схемам и в случае передачи от хозяина к хозяину вегетативных стадий. Необходимы дальнейшие экспериментальные исследования жизненных циклов этой группы животных. Важно продолжить выявление новых возможных беспозвоночных и позвоночных хозяев. Надо продолжить молекулярно-генетические исследования филогении Мухозоа, не вполне еще ясной, и молекулярно-генетические исследования межвидовых связей в пределах Мухозоа для разработки системы, основанной на знании особенностей жизненных циклов и морфологии обеих фаз развития организма в случае двуххозяиного жизненного цикла. Перед исследователями Мухозоа открывается необъятное поле деятельности.

Если во всем мире именно сейчас изучению миксоспоридий уделяется очень большое внимание и оно проводится с использованием самых современных методов исследования, то у нас в стране внимание к этим опасным паразитам ослаблено. Исследователей, занимающихся изучением жизненных циклов, биологией, цитологией, кариологией и физиологией миксоспоридий, в настоящее время практически нет, тогда как именно сейчас с развитием частного рыбоводства и аквакультур, с появлением частных аквариумов и океанариев и в связи с завозом в них экзотических рыб из разных стран возможно появление новых для России видов миксоспоридий и увеличивается опасность возникновения различных миксоспоридиозов. Развитие миксоспоридиозов грозит большими потерями рыболовным хозяйствам. Не исключено, что зараженность миксоспоридиями рыбы, поступающей в пищу, как теперь предполагается, может принести вред потребителям, страдающим иммунодефицитом. Первостепенной задачей молодых специалистов должно быть изучение беспозвоночных в наших пресных и морских водоемах с целью обнаружения в них актиноспор, т. е. с целью изучения «фауны актиноспориций» в России. Таких исследований в нашей стране совершенно не проводилось. Важно экспериментальными или молекулярно-генетическими методами расшифровывать циклы Мухозоа (главным образом опасных для рыб видов). Количество известных видов Мухозоа все увеличивается — по последним данным, уже известно 2180 видов Мухоспореа и 4 вида Malakosporea, а из беспозвоночных известно всего 180 типов актиноспориций (Lom, Dykova, 2006). Важно изучение возможности развития миксоспоридий в теплокровных животных для разрешения вопроса об их роли как потенциальных

возбудителей оппортунистических заболеваний человека. Наряду с обозначенными выше задачами необходимо продолжать изучение физиологии, биохимии, цитологии и иммунологии паразито-хозяйинных отношений миксоспоридий. Данных по этим направлениям совершенно недостаточно (Kent et al., 2001; Yokoуama, 2003, и др.).

Автор выражает благодарность Г. И. Штейну за консультации и А. Ю. Ибрагимову за помощь при проведении работы на Аксиоскопе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 00-04-49503).

Список литературы

- Агроскин Л. С., Папаян Т. В. 1977. Цитофотометрия. Л.: Наука. 273 с.
- Владимиров М. В., Успенская А. В. 1994. Сравнение количества ДНК в ядрах амебодных зародышей двух видов паразитических простейших типа Мухозоа — *Myxosoma cerebralis* и *Truacintouxon gyrosalmo*. Цитология. 36 (5) : 437—440.
- Котельникова В. М., Лутинская Л. Л. 1979. Факторы, влияющие на ход кислотного гидролиза ДНК при проведении реакции Фельгена. Цитология. 21 (5) : 491—507.
- Кудрявцев Б. Н., Розанов Ю. М. 1974. Цитофлуориметрия, основные принципы. В кн.: Методы биологии развития. М.: Наука. 497—500.
- Лили Р. 1969. Патогистологическая техника и практическая гистология. М. 603 с.
- Магакян Ю. А., Карамова Е. М., Хочикян Р. Э., Аватисян А. С. 1980. Влияние температуры гидролиза, концентрации кислоты и продолжительности гидролиза на интенсивность реакции Фельгена. Цитология. 22 (9) : 1054—1066.
- Пирс Э. 1962. Гистохимия. М.: Изд-во иностр. лит-ры. 962 с.
- Райков И. Б. 1967. Кариология простейших. Л.: Наука. 260 с.
- Райков И. Б. 1978. Ядро простейших. Морфология и эволюция. Л.: Наука. 326 с.
- Райкова Е. В. 1965. Цитофотометрическое содержание ДНК в ядрах клеток *Polypodium hydriforme* Ussov (Coelenterata) на разных стадиях его жизненного цикла. Журн. общ. биол. 26 (6) : 546—552.
- Райкова Е. В. 1985. Цитологические парадоксы в цикле развития кишечнополостного *Polypodium hydriforme* — внутриклеточного паразита из ооцитов осетровых рыб. Цитология. 27 (4) : 391—401.
- Райкова Е. В. 1988. О систематическом положении *Polypodium hydriforme* Ussov (Cnidaria). В кн.: Губки и кишечнополостные. Современное состояние и перспективы исследования. Л.: Зоол. ин-т АН СССР. 116—122.
- Райкова Е. В. 2005. Цитоморфологические особенности *Polypodium hydriforme* и проблемы филогении Мухозоа и Cnidaria. Цитология. 47 (10) : 933—939.
- Скарлато С. О. 1997. Структура слабоконденсирующихся хромосом одноклеточных животных. Цитология. 39 (1) : 105—106.
- Скарлато С. О. 2003. Слабоконденсирующиеся хромосомы простейших: Автореф. докт. дис. СПб. 41 с.
- Тютяев П. Ю. 2008. Неорганический состав оболочки микроспор *Henneguya oviperda* (Cohn, 1895) и *Myxobolus pseudodispar* (Gorbunova, 1936) (Мухозоа). Цитология. 50 (1) : 000—000.
- Успенская А. В. 1959. Методические указания по борьбе с вертежем лососевых. Л. 19 с.
- Успенская А. В. 1984. Цитология миксоспоридий. Л.: Наука. 112 с.
- Успенская А. В. 1988. О роли кальция и цитоскелета в механизме действия стрекательного аппарата миксоспоридий. Цитология. 30 (8) : 970—975.
- Успенская А. В. 1993. Новые проблемы в изучении Мухозоа. Паразитология. 27 (5) : 369—374.
- Успенская А. В. 1997. Жизненный цикл миксоспоридий в свете новых данных по их биологии. В кн.: Сб. науч. тр. Гос. н.-и. ин-та озерного и речного рыбного хозяйства «Проблемы паразитологии, болезней рыб и рыбоводства в современных условиях». Вып. 321 : 81—107.
- Успенская А. В. 1998. Локализация кальция в стрекательном аппарате зрелых спор миксоспоридий. Цитология. 31 (9) : 1080—1084.
- Успенская А. В. 1999. Пloidность соматических ядер спор актиноспорейной фазы развития миксоспоридии *Zschokkella nova*. Цитология. 41 (7) : 647—648.
- Успенская А. В. 2000. Пloidность соматических ядер на протяжении жизненного цикла миксоспоридий (Мухозоа, Grasse, 1970). Цитология. 42 (7) : 719—723.
- Успенская А. В., Владимиров М. В. 1996. Сравнение количества ДНК в ядрах спороплазм миксоспорейной и актиноспорейной фаз развития *Zschokkella nova* Klokocheva, 1917 (Мухозоа). Цитология. 38 (6) : 661—664.
- Успенская А. В., Райкова Е. В. 2001. Цитологические аспекты сходства и различия миксоспоридий и кишечнополостных. Цитология. 43 (3) : 284—309.
- Четверухин В. К., Онищенко Л. С., Селиванова Г. В. 1983. Цитофотометрическое исследование содержания ДНК в клетках преоптической области гипоталамуса у зимующих травяных лягушек. Цитология. 25 (12) : 1398—1404.
- Шульман С. С. 1966. Миксоспоридии фауны СССР. М.; Л.: Наука. 506 с.
- Шульман С. С., Донец З. С., Ковалева А. А. 1997. Класс миксоспоридии (Muxosporidia) мировой фауны. 1. Общая часть. СПб.: Наука. 504 с.
- Anderson C. L., Canning E. U., Okamura B. 1998. A triploblast origin for Myxozoa. Nature. 392 : 396.
- Barrell P. J., Groschi K. U. 2005. Confocal microscopy of whole oocytes for analysis of reproductive development: the elongate I mutant affects meiosis II. Plant J. 43 : 309—320.
- Bel M. G., Baak J. P., Diermen B., Janssen E. A., Buhr-Wildhagen S. B., Kjelovold K. U. 2003. Correlation of grade of urothelial cell carcinoma and DNA histogram factors used by flow cytometry and automated image cytometry. Anal. Cell Pathol. 25 : 147—153.
- Biesterfeld S., Borehers H., Jellouschek H., Bone A. V., Altwein J. C., Algahe F., Jakse G. 2005. Differential diagnosis and evaluation of the clinical course of transurethraly resected IGZ urothelial carcinoma of the bladder by DNA image cytometry. Anticancer Res. 25 : 3243—3249.
- Canning E. U., Carry A., Feist S. W., Longshaw M., Okamura B. 2000. A new class and order of myxozoans to accommodate parasites of bryozoans with ultrastructural observation on *Tetracapsula bryosalmonae* (PKX organism). J. Euk. Microbiol. 47 : 456—468.
- Canning E. U., Okamura B. 2004. Biodiversity and evolution of the Myxozoa. Adv. Parasitol. 56 : 43—131.
- Darzynkiewicz Z., Trayanos F., Kapuscinski J., Staino-Coico L., Melamed M. R. 1984. Accessibility of DNA *in situ* to various fluorochromes: relationship to chromatin changes during Erythroid differentiation of Friend leukemia cells. Cytometry. 5 : 355—363.
- Diamant A. 1997. Fish-to-fish transmission of a marine myxosporean. Dis. Aquat. Organisms. 30 : 99—105.
- El-Matbouli M., Hoffmann R. W. 1991. Experimental transmission of two *Myxobolus* spp. developing bisporogony via tubificid worms. Parasitol. Res. 75 : 461—464.
- El-Matbouli M., Hoffmann R. W. 1998. Light and electron microscopic study on the chronological development of *Myxobolus cerebralis* in *Tubifex tubifex* to the actinosporean stage *triacinomyxon*. Int. J. Parasitol. 28 : 195—217.
- El-Matbouli M., Hoffmann R. W., Mandok C. 1995. Light and electron microscopic observation on the route of the *triacinomyxon* sporoplasm of *Myxobolus cerebralis* from epidermis into rainbow trout cartilage. J. Fish Biol. 46 : 919—935.

- El-Matbouli M., Holstein T. W., Hoffmann R. W. 1998. Determination of nuclear DNA concentration in cells of *Myxobolus cerebralis* and *triacinomyxon* spores, the causative agent of whirling disease. *Parasitol. Res.* 84 : 694—699.
- Elzohheid A., Kapio T., Collan Y. 2004. Implementation of DNA cytometric measurements in fine needle aspiration biopsy diagnostics of breast disease. *Cancer.* 102 : 380—388.
- Friedrich A., Ingolic E., Freitag B., Kastberger G., Hohmann V., Scifitsch G., Neumeister U., Kepka O. 2000. A myxozoan-like parasite causing xenoma in the brain of the mole, *Talpa europea* L., 1758 (Vertebrata, Mammalia). *Parasitology.* 121 : 483—492.
- Golikova M. N., Selivanova G. V., Sokolova L. V. 1980. The effect of hydrolysis condition and functional state of the ciliates *Paramecium bursaria* on the intensity of the Feulgen reaction in their nuclei. *Arch. Protistenk.* 123 : 202—214.
- Grassé P. P. 1960. Les myxosporidies sont des organismes pluricellulaires. *Comp. rend. Acad. sci.* 251 : 2638—2640.
- Grassé P. P. 1970. Embranchment des Myxozoaires. In: *Zoologie. Vol. 1. Invertebrates.* Paris. 107—114.
- Grassé P. P., Lavette A. 1978. La myxosporidie *Sphaeromyxa sabrazesi* et le nouvel embranchement des Myxozoaires (Myxozoa). *Recherches sur l'éta pluricellulaire primitive et considération phylogénétiques.* *Ann. Sci. Nature. Zool.* 20 : 193—285.
- Haggarth L., Auer G., Busch C., Norberg M., Hagman M. 2005. The significance of tumor heterogeneity for prediction of DNA ploidy of prostate cancer. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 39 : 387—392.
- Hanson L., Boyd A., Johnson M. A., Bonnett M. D. 2005. First nuclear DNA values for 18 endicot families. *Ann. Bot. (Lond.).* 96 : 1315—1320.
- Hessen E. M., Zamzame M. L. 2004. *Myxidium* sp.: a possible opportunistic parasite in immunocompromised patients in Ismailia. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 34 : 925—930.
- Holstein T. W., El-Matbouli M., Hoffmann R. W. 1995. A cellular and molecular approach to the Metazoan origin of Myxozoa. In: *IV Int. symp. Fish parasitology. Program and book of abstracts.* Munich. 50.
- Janiszewska J. 1955. Actinomoxidia. Morphology, ecology, history of investigations, systematic, development. *Acta parasitol. pol. (Warszawa).* 21 : 406—440.
- Janiszewska J. 1957. Actinomoxidia. New systematic, sexual cycle, description of new genera and species. *Zool. Polon.* 8 : 3—34.
- Johnson J. S., Bonnett M. D., Raiborn A. R., Golbraith D. W., Prica H. I. 1999. Reference standards for determination of DNA content of plant nuclei. *Amer. J. Bot.* 86 : 603—609.
- Kapuciński J., Skoczylas B. 1978. Fluorescent complex of DNA with DAPI or DCI. *Nucl. Acid Res.* 5 : 3775—3799.
- Kayser K., Baumgarten K., Gobius H. J. 1996. Cytometry with DAPI-stained tumour imprints a reliable tool for improved interoperative analysis of lung neoplasie. *Quant. Cytol. Histol.* 18 : 115—120.
- Kelly G. O., Beauchamp K. A., Hedrick R. P. 2004. Phylogenetic comparison of the Myxosporeans based on an actin cDNA isolated from *Myxosoma cerebralis*. *J. Euk. Microbiol.* 51 : 660—666.
- Kent M. L., Andree K. B., Bartholomew J. L., El-Matbouli M., Desser S. S., Devlin R. H., Feist S. W., Hedrick R. P., Hoffmann R. W., Khattri J., Hallett S. L., Lester R. J. G., Longshaw M., Xiao C. 2001. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *J. Euk. Microbiol.* 48 : 395—413.
- Kent M. L., Margulis L., Corliss J. O. 1994. The demise of a class of protists, taxonomic and nomenclatural revision proposed for the protist phylum Myxozoa Grasse, 1970. *Can. J. Zool.* 72 : 1—6.
- Kudrjavitsev B. N. 1966. Changes of the DNA content in macronucleus and micronucleus of *Paramecium putrinum* in the interdivision phase. *Acta protozool.* 4 : 51—57.
- Lebbad M., Willcox M. 1998. Spores of *Henneguya salmincola* in human stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 36 : 1820.
- Leemann U., Ruch F. 1982. Cytofluorometric determination of DNA base content in plant nuclei and chromosomes by the fluorochromes DAPI and chromomycin A3. *Exp. Cell Res.* 140 : 275—282.
- Levine M. D., Corliss J. J., Dereux G., Grain J., Honigberg B. M., Leedale G. F., Loeblich A. K., Lom J., Lynn D., Merinfeld E. G., Page F. C., Poljansky G., Sprague V., Vavra J., Wallace F. G., Weiser J. 1980. A new revised classification of the Protozoa. *J. Protozool.* 27 : 37—58.
- Lom J. 1964. Notes on the extrusion and some other features of myxosporidien spores. *Acta protozool.* 2 : 322—327.
- Lom J. 1990. Phylum Myxozoa. In: *Handbook of Protoctista / Margulis L., Corliss G. O., Melkonian M., Chapman D. J. (Eds).* Boston: Jones and Bartlett. 36—52.
- Lom J., Dykova I. 1997. Ultrastructural features of the actinosporean phase of Myxosporean (phylum Myxozoa): a comparative study. *Acta protozool.* 36 : 83—103.
- Lom J., Dykova I. 2006. Myxozoa genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitol. (Praha).* 53 : 1—36.
- Longobardi A. 2001. In: *Flow Cytometry: First Principles.* 2nd ed. Chapter 5. Cells from Within. DNA in Life and Death. 123—132.
- Lowenstine L. J., Rideout B. A., Gardner M., Bush M., Mace M., Bartholomew J., Gardiner C. H. 2002. Myxozoonosis in waterfowl: a new host record? In: *Proceeding of the American Society of Zoo Veterinarians.* 86—87.
- Maciorowski Z., Veilleux Ch., Gibaut A., Burgeois C. A., Kljanienko J., Boenders J., Vielh P. 1997. Comparison of fixation procedures for fluorescent quantitation of DNA content using image cytometry. *Cytometry.* 28 : 123—129.
- Marquès A. 1984. Contribution à la connaissance des Actinomoxidies ultrastructure, cycle biologique, systematique. Thèse présentée à l'Université des Sciences et Techniques de Languedoc pour obtenir le grade de Docteur d'Etat. Montpellier. 281 p.
- McAllister C. T., Bursey C. H., Upton S. J., Trauth S. E., Conn D. B. 1995. Parasites of *Desognathus brimleyorum* (Caudata: Plethodontidae) from the Ouachita Mountains of Arkansas and Oklahoma. *J. Helminthol. Soc. of Washington.* 62 : 150—156.
- Moncada L. I., Lopez M. C., Murcia M. L., Nicholls S., León F., Guio O. L., Corredor A. 2001. *Myxobolus* sp. Another opportunistic parasite in immunosuppressed patients. *J. Clin. Microbiol.* 39 : 1938—1940.
- Naville A. 1928. La meiose, fécondation et la dihaplophase de *Myxobolus guyénoti* sp. nov. *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie.* Berlin. J. Springer. 7 : 228—255.
- Nguen V. Q., Grote H. J., Pomjanski N., Knops K., Booking A. 2004. Interobserver reproducibility of DNA-image-cytometry in ASCUS or higher cervical cytology. *Cell Oncol.* 26 : 143—150.
- Okamura B., Curry A., Wood T. S., Cunning E. U. 2002. Ultrastructure of *Buddenbrokia* sp. Identifies it as a myxozoan and verifies the bilaterian origin of the Myxozoa. *Parasitology.* 124 : 215—223.
- Osterheld M. C., Liette C., Anca M. 2005. Image cytometry: an aid for cytological diagnosis of pleural effusions. *Diagn. Cytopathol.* 32 : 173—176.
- Ovchinnikova L. P. 1970. Variability of DNA content in micronuclei of *Paramecium bursaria*. *Acta protozool.* 7 : 211—220.
- Ovchinnikova L. P., Selivanova G. V., Cheissin E. M. 1965. Photometric study of the DNA content in the nuclei of *Spirostomum ambiguum* (Ciliata, Heterotricha). *Acta protozool.* 3 : 69—78.
- Plechn M. 1924. *Praktikum der Fischkrankheiten.* Stuttgart. 300 S.
- Raikov I. B. 1994. The diversity of forms of mitosis in Protozoa: comparative review. *Eur. J. Protistol.* 30 : 253—269.
- Redondo M. J., Quiroga M. L., Palenzuela O., Nieto J. M., Alvarez-Pelitero P. 2003. Ultrastructural studies on the development of *Enteromyxum scopthalmi* (Myxozoa), an enteric parasite of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Parasitol. Res.* 90 : 192—202.
- Shlegel M., Lom J., Stechmann A., Bernhard D., Liepe D., Dykova I., Sogin M. L. 1991. Phylogenetic analysis of complete small subunit ribosomal RNA coding region of *Myxidium lieberkuhni*:

evidence that Myxozoa are Metazoa and related to bilateria. Arch. Protistenk. 147 : 1—9.

Siau Y. 1979. Observation en microscopie electronique du complex synaptonematique ches de la myxosporidies. C. r. Acad. sci. D. 288 : 403—404.

Siddal M. E., Martin D. S., Brige D., Desser S. S., Cone D. K. 1995. The demise of phylum of protists: phylogeny of Myxozoa and other parasitic Cnidaria. J. Parasitol. 81 : 961—967.

Smothers J. F., van Dohlen C. D., Smith L. H., Jr., Spall R. D. 1994. Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans. Science. 265 : 1719—1721.

Swearer S. E., Robertson D. R. 1999. Life history, pathology and description of *Kudoa ovivora* n. sp. (Myxozoa, Myxosporidia): an ovarian parasite of Caribbean labroid fishes. J. Parasitol. 85 : 337—357.

Taylor I. W., Milthorpe B. K. 1980. An evaluation of DNA fluorochromes, staining techniques, and analysis for flow cytometry. I. Unperturbed cell populations. J. Histochem. Cytochem. 28 : 1224—1232.

Tutyaev P. Yu. 2006. Research of chemical compound of *Heneguya oviperda* (Cohn, 1895) (Myxozoa) spores. In: Abstract in Book of annual symposium in silicon research. Madrid. 23—25.

Upton S. J., Freed P. S., McAllister C. T., Goldberg S. R. 1992. Testicular myxosporidiasis in the flat-backed toad, *Bufo maculatus* (Amphibia: Bufonidae), from Cameron, Africa. J. Wildlife Dis. 28 : 326—329.

Uspenskaya A. V. 1982. New data on the life cycle and biology of Myxosporidia. Arch. Protistenk. 126 : 309—338.

Uspenskaya A. V. 1995. Alternation of actinosporian and myxosporian phases in the life cycle of *Zschokkella nova* (Myxozoa). J. Euk. Microbiol. 42 : 665.

Uspenskaya A. V., Raikova O. I. 2004. F-actin and β -tubulin localization in the myxospore stinging apparatus of *Myxobolus pseudodispar* Gorbunova, 1936 (Myxozoa, Myxosporidia). Цитология. 46 (8) : 748—754.

Weill R. 1938. L'interpretation des Cnidosporides et la valeur taxonomique de leur cnidom. Leur cycle compare à la phase larvinaire des Narcomeduses Cuninides. Trav. stat. zool. Wimereux. 13 : 727—744.

Wen J., Krishan A., Thomas R. A. 2001. NASA/American Cancer Societe Project-4. Effect of pH and DAPI concentration on dual parametric analysis of DNA/DAPI fluorescence and electronic nuclear volume. Cytometry. 43 : 12—15.

Wolf K., Markiw M. 1984. Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts. Science. 225 : 1449—1452.

Xiao C., Desser S. S. 2000. The longevity of actinosporian spores from oligochaetes of lake Sasajewun, Algonquin Park, Ontario and their reaction to fish mucus. J. Parasitol. 86 : 193—195.

Yasuda H., Ooyama T., Iwata K., Tun T., Yokoyama H., Ogasawa K. 2002. Fish-to-fish transmission of *Myxidium* sp. (Myxozoa) in cultured tiger puffer suffering from emaciation disease. Fish Pathol. 37 : 29—33.

Yokoyama H. 2003. A review: gaps in our knowledge on Myxozoan parasites of fishes. Fish Pathol. 38 : 125—136.

Zrzavý J. 2001. The interrelationships of metazoan parasites: a review of phylum and higher-level hypotheses from recent morphological and molecular phylogenetic analyses. Folia Parasitol. 48 : 81—103.

Zrzavý J., Hypša V. 2003. Myxozoa, *Polypodium*, and the origin of the Bilateria; the phylogenetic position of «Endocnidozoa» in light of the rediscovery of *Buddenbrockia*. Cladistics. 19 : 164—169.

Поступила 21 VI 2007

THE HISTORY OF MYXOSPOREAN (MYXOZOA GRASSE, 1970, MYXOSPOREA BUTSCHLI, 1881) LIFE AND NUCLEAR CYCLES STUDIES

A. V. Uspenskaya

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg

The paper presents a historic review of various hypothesis concerning the myxozoan life and nuclear cycles. The comparison of DAPI- and Feulgen-image-cytometry results of DNA amount in myxozoan actinospora and myxospora nuclei, in connection with the new data on the animal life and nuclear cycle, has been performed. Possible reasons for the data discrepancy are considered. The further perspectives of myxozoan biology, cytology, karyology and taxonomy investigation in Russia are discussed.

Key words: cytometry, life and nuclear cycles, Myxosporidia, Myxozoa.