

**ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О SCHISTOCEPHALUS NEMACHILI  
(CESTODA: LIGULIDAE) ИЗ СИБИРСКОГО ГОЛЬЦА ПРИБАЙКАЛЯ**

© О. Т. Русинек, К. Д. Кузнецов

Приводятся данные по морфологии плероцеркоидов *Schistocephalus nemachili*, а также его нуклеотидная последовательность рибосомной ДНК (рДНК), кодирующей 5'-концевой домен 18S рРНК. Плероцеркоиды *S. nemachili* выделены из полости тела *Nemachilus barbatulus*, отловленных в оз. Изумрудном (бассейн р. Лены), имеющем термокарстовое происхождение и находящегося на высоте 1200 м над ур. м. Длина тела червей составляла 37—70 (среднее значение — 52.9) мм, ширина 1.6—7.3(3.8) мм; количество члеников в стробиле — 229—348 (290). Определение нуклеотидной последовательности амплифицированного фрагмента выявило 574 нуклеотидные позиции, идентифицированные с помощью известных последовательностей рДНК представителей типа Plathelminthes. Полученная нуклеотидная последовательность рДНК *Schistocephalus nemachili* в дальнейшем может быть использована в филогенетическом анализе паразитических организмов различного систематического ранга.

До настоящего времени *Schistocephalus nemachili* Dubinina, 1959 был отмечен у гольцов рода *Nemachilus* из водоемов Тувы (Гундризер, 1976) и Китая (оз. Алык-Нор) (Определитель..., 1987).

Материал и методы исследований. Материал был собран в июле 1996 г. в оз. Изумрудном и хранится в Лимнологическом институте СО РАН.

Оз. Изумрудное находится в верховьях р. Лены примерно в 7 км от Байкала за перевалом Солнцападь на высоте 1200 м. Длина озера около 500—600 м, ширина около 80 м. Котловина озера термокарстовой природы образовалась в результате

протаивания вечной мерзлоты; максимальная измеренная глубина 1.9 м; температура воды у уреза 28 июля составляла 15.5°; в озеро впадает один горный ручей, с температурой воды 5°. Прибрежная полоса озера занята неокатанными камнями, в центральной части преобладает заиленный песок, местами обильно заросший высшей водной растительностью (Тахтеев и др., 1997).

На зараженность шистоцефалюсами были исследованы 4 экз. сибирского гольца. Все они оказались зараженными. Общее количество паразитов — 11 экз. Гельминтов фиксировали 70-градусным этиловым спиртом и окрашивали кармином по общепринятой методике (Быховская-Павловская, 1985). По препаратам проводили промеры и делали рисунки. Всего было промерено 10 экз. цестод.

Для получения дополнительных данных о *Schistocephalus nemachili* была определена нуклеотидная последовательность фрагмента гена, кодирующего 5'-концевой домен 18S рибосомной РНК (Noller, Woese, 1981), которую использовали в сравнительном анализе с последовательностями других представителей типа Plathelminthes, зарегистрированными в EMBL банке.

Выделение суммарной ДНК осуществлялось методом, использованным в работе де Воса и Дика (Vos, Dick, 1989). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) фрагмента рибосомной ДНК (рДНК) и определение нуклеотидной последовательности 5'-концевого домена 18S рибосомной РНК (рРНК) выполнялось по Кузнецову и др. (Kuznedelov, Timoshkin, 1993; Кузнецов и др., 1996).

Для сравнительного анализа использовали последовательности представителей типа Plathelminthes, зарегистрированные в EMBL банке под номерами (accession number): L06567 — *Echinostoma caproni*, U27015 — *Echinococcus granulosus*, L06668 — *Fasciolopsis buski*, X55357 — *Opisthorchis viverrini*, M62652 — *Schistosoma mansoni*, а также последовательность *Armillia livanovi*, взятую из статьи Кузнецова и др. (1996). Сравнительный анализ проводили путем вычисления эволюционных расстояний (количества различий) между последовательностями по методу Джукса и Кантора (Jukes, Cantor, 1969). Матрицу эволюционных расстояний, вычисленных при попарном сравнении, использовали для построения дендрограммы по методу Сайтоу и Нея (Saitou, Nei, 1987), отражающей степень сходства между сравниваемыми последовательностями.

Результаты исследований. Черви молочно-белого цвета, все экземпляры находились на фазе плероцеркоида. Стробилы варьировали от 37 до 70 мм длины, от 1.6 до 7.3 мм ширины, количество члеников от 229 до 379.

В таблице приведены данные о размерных показателях этих гельминтов. Следует отметить различия в морфологии заднего конца у отдельных экземпляров (рис. 1). Это, вероятно, связано со стадией, на которой в данный момент находится паразит.

Аmplификация рДНК *S. nemachili* с помощью праймеров, идентичных участкам рРНК человека с координатами 1—22 и 610—630 (McCallum, Maden, 1985), ограничивающих 5'-концевой домен 18S рРНК, дала положительный результат.

Определение нуклеотидной последовательности амплифицированного фрагмента выявило 574 нуклеотидные позиции (рис. 2), идентифицированные с помощью известных последовательностей рДНК представителей типа Plathelminthes.

Размерные показатели *Schistocephalus nemachili* из сибирского гольца (в мм)

Measurements of *Schistocephalus nemachili* from groundling (in mm)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	min	max	x ср
L	63	70	46	54	47	40	56	68	48	37	37	70	52.9
d	4	4.2	7.3	3	4	1.6	5.3	3.3	3.1	2.8	1.6	7.3	3.86
N	285	229	267	326	341	259	348	379	243	331	229	348	290.8
n	12	14	14	13	12	14	14	12	14	14	12	14	13.3

Примечание. 1—10 — порядковый номер паразита; min, max, x ср — минимальное, максимальное, среднее значения признака. L — длина стробилы, d — ширина стробилы, N — общее количество члеников в стробиле, n — появление зачатков половых комплексов (номер членика от переднего конца).

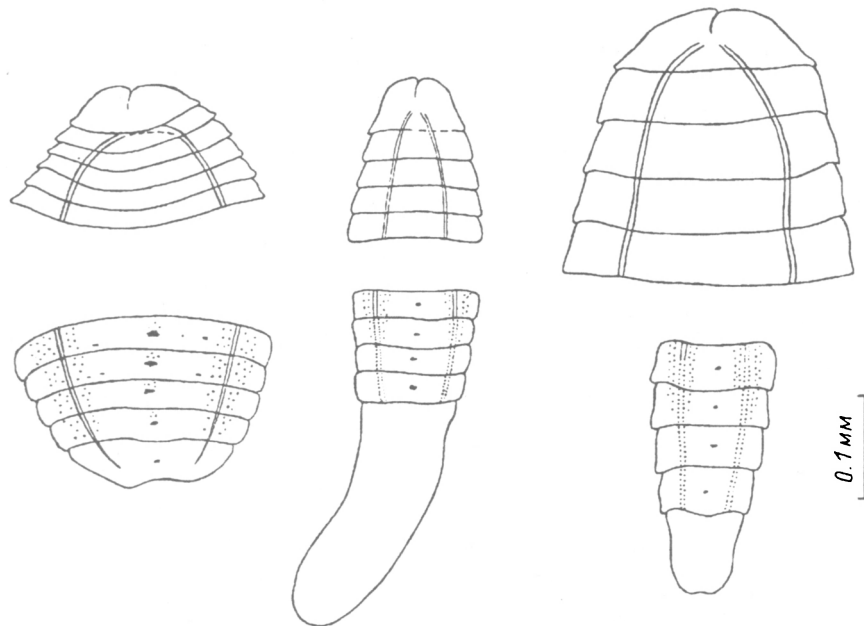


Рис. 1. Плероцеркоиды *Schistocephalus nemachili* из сибирского гольца.  
 Fig. 1. Plerocercoids of *Schistocephalus nemachili* from groundling.

```

ATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGCATGTCTAAGTGCACGCCTTCATACGGTGAAACCGCGAATGG 70
CTCATTAATCAGCTATGGTTTATTGGATCATACCCGTTAAATGGATAACTGTAATAACTCTAGAGCTAA 140
TACATGCCCGAAGCCCTGACCCGCGAGGGAATGGGTGCACTTATTAGATCAGAAGCCAACCAGGTAGTG 210
TCCTCTCGCTTTCGGGTGGGAGCTCCGCTGCCTGTCGTCCTTCTGGTGACTCTGGATAATTGTTACAGAT 280
CGCAGTCGGCCTTGCCTCGGCGACGGGTCTTCAATGTCTGCCCTATCACTTTTCGATGGTAGGTGACC 350
TGCCTACCATGGTGATAACGGGTAACGGGGAATCAGGGTTCGATTCGGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGC 420
TACCACTTCAAAGGGAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCACTCCAGTACGGGGAGGTGGTGACGAAAAA 490
TACCGATCGGGACTCTTATTGAGGCTCCGTAATCGGAATGAGTGAACCTAATCCTTTCACGAGGATC 560
AATTGGAGGGCAAG 574
  
```

Рис. 2. Нуклеотидная последовательность, кодирующая 5'-концевой домен 18S рРНК *Schistocephalus nemachili*.

Fig. 2. Nucleotide sequence coding 5'-end domen 18S rRNA of *Schistocephalus nemachili*.

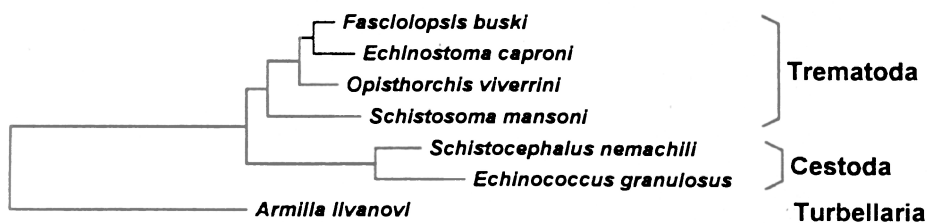


Рис. 3. Дендрограмма, отражающая степень сходства рРНК между отдельными видами Plathelminthes.

Fig. 3. Dendrogram reflecting the degree of rRNA similarity among different species of Plathelminthes.

Результаты сравнительного анализа полученной последовательности с известными последовательностями, взятыми из банка данных (EMBL), представлены на рис. 3, видно, что полученная нуклеотидная последовательность группируется с последовательностью (*Echinococcus granulosus*), относящейся к классу Cestoda.

Полученная нуклеотидная последовательность рДНК *Schistocephalus nemachili* в дальнейшем может быть использована в филогенетическом анализе паразитических организмов различного систематического ранга.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают сердечную благодарность к. б. н. В. В. Тахтееву за материалы, собранные во время Северо-Байкальской экспедиции, организованной Иркутским государственным университетом, и любезно предоставленные нам для изучения.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ—Байкал № 97-04-96153 и «Биологическое разнообразие» № 02.0003.Н.90.

#### Список литературы

- Быховская-Павловская И. Е. Паразиты рыб. Руков-во по изучению. Л.: Наука, 1985. 121 с.
- Гундризер А. Н. О паразитофауне рыб Западно-Монгольской ихтиологической провинции (в пределах Тувинской АССР) // Болезни и паразиты рыб Ледовитоморской провинции. Свердловск, 1976. С. 69—79.
- Кузнецов К. Д., Тимошкин О. А., Кумарев В. П. Молекулярная филогения планарий (Turbellaria, Tricladida, Paludicola) озера Байкал, установленная сравнительным анализом нуклеотидных последовательностей 18S рибосомной РНК // Молекулярная биология. 1996. Т. 30, № 6. С. 1316—1325.
- Тахтеев В. В., Матвеев А. Н., Адов Ф. В., Бондаренко Н. А., Шубенков С. Г., Рожкова Н. А., Провиз В. И., Репсторф П. Характеристика биоты горного озера Изумрудного в верховьях реки Лены // Проблемы сохранения биоразнообразия Южной Сибири (I Межрегионал. научно-практич. конф. 19—22 мая 1997 г.), Кемерово: Кузбассвузиздат, 1997. С. 222—223.
- Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 3. Паразитические многоклеточные (вторая часть). Л.: Наука, 1987. С. 46—49.
- Kuznedelov K. D., Timoshkin O. A. Phylogenetic relationships of Baikalian species of Prorhynchidae turbellarian worms as inferred by partial 18S rRNA gene sequence comparisons // Mol. Marine Biol. and Biotechnol. 1993. Vol. 2. P. 300—307.
- Noller H. F., Woese C. R. Secondary structure of 16S ribosomal RNA // Science. 1981. Vol. 212. P. 403—411.
- Vos T., Dick T. A. Differentiation between *Diphyllobotrium dendriticum* and *D. latum* using isozymes, restriction profiles and ribosomal gene probes // Syst. Parasitol. 1989. Vol. 13. P. 161—166.
- McCallum F. S. & B. E. H. Maden. Human 18S ribosomal RNA sequence inferred from DNA sequence // Biochem. J. Vol. 232. P. 725—733.
- Jukes T. H., Cantor C. R. Evolution of protein molecules // Mammalian Protein Metabolism. N. Y.: Academic Press, 1969. P. 21—132.
- Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol. Biol. Evol. 1987. Vol. 4. P. 406—425.

Лимнологический институт СО РАН,  
Иркутск, 664033

Поступила 10.11.1998

FIRST DATA ON THE SCHISTOCEPHALUS NEMACHILI (CESTODA: LIGULIDAE),  
THE PARASITE OF THE GROUNDLING IN THE BAIKAL REGION

O. T. Rusinek, K. D. Kuznedelov

*Key words:* Ligulidae, *Schistocephalus nemachili*, morphology, nucleotid sequence, 18S rRNA, *Nemachilis barbatulus*, Baikal Region.

SUMMARY

Morphological data on *Schistocephalus nemachili* plerocercoid (a parasite of *Nemachilis babatulus*) and a nucleotid sequence of its 18S rRNA are presented. Samples were collected from the groundling inhabiting the Isumrudnoe lake (karst lake, belonging to the Lena River basin, 1200 m altitude). Length of plerocercoids 37—70 mm (mean 52.9 mm), width 1.6—7.3 (3.8), number of segments in srobile — 229—348 (290). The sequence data on the 5'-terminal major domain of small rRNA of *S. nemachili* were obtained by mean of polymerase chain reaction and direct sequencing, they displayed 574 base positions. The nucleotid sequence was compared with known Plathelminthes sequences from the EMBL data base to compute data matrix under Juke and Cantor's model (1969). Distance matrix was used for obtaining a similarity dendrogram by Saitou and Nei's method (1987). Comparative analysis showed *S. nemachili* nucleotide sequence clustering with the cestode sequence (*E. granulosis*) within the dendrogram containing four trematodes, one cestode and one turbellarian sequences.