

УДК 576.895.122 : 595.122

© 1991

**НОВЫЕ ДАННЫЕ О КАРИОТИПЕ
DIPLOSTOMUM PSEUDOSPATACEUM
(TREMATODA: DIPLOSTOMATIDAE)**

Я. В. Баршене, Г. Й. Станявичюте, В. К. Киселене

Диплоидное число хромосом *Diplostomum pseudospathaceum* определено в 2010 клетках партенит, обнаруженных у 60 экз. моллюсков *Lymnaea palustris*, *L. corvus* и 49 экз. *L. stagnalis*. Карิโอмеритический анализ осуществлен в 44 карิโอטיפах, составленных из фотографий метафазных пластинок. Карิโอтип данного вида трематод включает 20 элементов. Хромосомный комплекс партенит (от *L. palustris* и *L. corvus*) состоит из 2 пар акроцентрических, 3 — субтелоцентрических, 2 — субметацентрических и 3 пар самых мелких метацентрических хромосом. В карิโอ типе диплостом (от *L. stagnalis*) 3-я пара элементов относится к субтело-акроцентрическому типу, 9-я образована субметацентрическими элементами генома. Микрохромосом и гетероморфизма элементов не обнаружено.

Таксономический анализ рода *Diplostomum* все еще остается предметом дискуссии. Жизненный цикл вида *D. spathaceum* был расшифрован в 1924 г. (Szidat, 1924). Подробное описание всех стадий онтогенеза, список хозяев представлены в работе Дюбуа (Dubois, 1970). Однако Невядомска (Niewiadomska, 1984) показала, что название «*spathaceum*» использовано Дюбуа неправильно, так как раньше Оллсон (Ollson, 1876) описал под этим названием другой вид этого рода. Поэтому Невядомска присвоила этой форме название — *D. pseudospathaceum*. При верификации жизненных циклов *D. spathaceum* (Rudolphi, 1819) и *D. pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 были получены данные, подтверждающие самостоятельность этих видов (Niewiadomska, 1986). Однако в литературе существует и другая точка зрения. Шигин (1986) предложил вид, названный Невядомской *D. pseudospathaceum*, считать *D. chromatophorum* (Brown, 1931). Ввиду продолжающихся дискуссий о видовом составе диплостом мы изучали хромосомные комплексы у различных представителей рода *Diplostomum* — *D. pseudospathaceum*, *D. baeri*, *D. paracaudum*, *D. spathaceum*. В настоящей работе представлены результаты кариологических исследований вида *D. pseudospathaceum*, которые были обнаружены на территории Литвы и Польши.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Моллюски, спонтанно зараженные партенитами диплостом, были собраны летом 1985—1988 гг. Особенности хромосомных комплексов были изучены в эмбриональных клетках партенит, обнаруженных у 55 моллюсков *Lymnaea palustris*, которые были собраны в 4 водоемах Тракайского р-на: в оз. Акмяна и Гальве, которые расположены рядом, в более отдаленном оз. Илгутис и в водоеме — охладителе Литовской ГРЭС. Кроме того, 5 экз. *L. corvus*, зараженных партенитами *D. pseudospathaceum*, отловили в маленьком водоеме Виляны возле г. Варшава (ПНР). Карิโอ типы *D. pseudospathaceum* были также изучены

в клетках партенит, найденных у 49 моллюсков *L. stagnalis*. Моллюски этого вида были собраны в двух озерах Тракайского р-на (Илгутис и Гилужис) и в дельте р. Нямунас (Шилутский р-н), в водоеме Вилян и в прудах Рашина (ПНР).

Видовая принадлежность диплостом была определена по морфологическим особенностям церкарий, а также при изучении жизненных циклов этих трематод.¹

Методика сбора материала, приготовления препаратов и осуществления кариометрического анализа были описаны раньше (Barsiene, Grabda-Kazubska, 1988). Кариометрические характеристики данного вида диплостом определены при измерении хромосом 44 кариотипов. Кариотипы были составлены из фотографий метафазных пластинок (увеличение 2600×). Анализ хромосомных наборов осуществлялся с помощью широкопольного микроскопа Иенамед.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Диплоидное количество хромосом *D. pseudospathaceum* было определено в 2010 клетках «зародышевых шаров». Подавляющее большинство содержало 20 хромосом (рис. 1). У партенит, паразитирующих в *L. palustris* и *L. corvus*, было найдено 7.5 % гипоплоидных клеток. 8.5 % таких ядер найдено у паразитов из *L. stagnalis* (табл. 1). Клеток, содержащих 21 и более хромосом, выявлено меньше. Следует отметить, что полиплоидные клетки (с 30—40 хромосо-

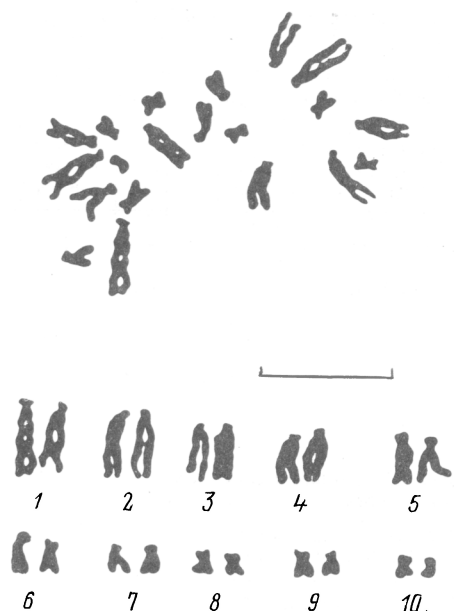


Рис. 1. Метафазная пластинка и кариотип *D. pseudospathaceum* (водоемы ЛитССР). Шкала — 10 мкм.

Fig. 1. Metaphase plate and karyotype of *D. pseudospathaceum* (waterbodies of Lithuania). Scale — 10 mkm.



Рис. 2. Метафазная пластинка и кариотип *D. pseudospathaceum* (водоем Вилян, ПНР). Шкала — 10 мкм.

Fig. 2. Metaphase plate and karyotype of *D. pseudospathaceum* (Wiljan waterbody, Poland). Scale — 10 mkm.

¹ Идентификация вида *D. pseudospathaceum* была осуществлена с участием д-ра К. Невядомской, за что авторы приносят ей благодарность.

мами) были найдены у партенит из моллюсков, обитающих лишь в водоеме-охладителе Литовской ГРЭС. Распределение ядер с разным количеством хромосом было фактически одинаковым у партенит из всех трех видов промежуточных хозяев.

Кариометрический анализ был осуществлен при измерении хромосом 22 кариотипов партенит из *L. palustris* и *L. corvus* и 22 кариотипов паразитов, обнаруженных у *L. stagnalis*. У партенит из *L. palustris* и *L. corvus* абсолютные размеры хромосом варьируют в среднем от 1.82 до 6.29 мкм. Общая длина гаплоидного набора — 35.31 мкм. По длине хромосомы этих диплоидом можно разделить на 2 группы. Первую группу образуют 5 пар элементов, длина которых изменяется от 4.04 до 6.29 мкм, вторую — 5 пар более мелких хромосом (табл. 2). По относительным размерам первая группа элементов генома включает 68.37 % длины всего гаплоидного набора. Наименьшие значения центромерного индекса были выявлены у хромосом 1-й и 2-й пар. Субтелоцентрическое строение имеют 3, 4 и 5-я пара хромосом. Субмедальное расположение центромер было определено у элементов 6-й и 7-й пар. Три пары самых мелких хромосом относятся к метацентрическому типу (табл. 2). Аналогичная структура кариотипов была выявлена и у партенит, обнаруженных в водоеме Вилян в Польше (рис. 2). Общая длина гаплоидного набора *D. pseudospathaceum*, обнаруженных у *L. stagnalis*, составляла 40.91 мкм. Хромосомы этих диплоидом были менее спирализованными. Кроме того, достоверно отличалась относитель-

Т а б л и ц а 1

Диплоидное число хромосом в эмбриональных клетках партенит *D. pseudospathaceum*, паразитирующих у *Lymnaea palustris*, *L. corvus* (n=55) и *L. stagnalis* (n=29)

Diploid number of chromosomes in embryonal cells of parthenites of *D. pseudospathaceum* parasitic in *Lymnaea palustris*, *L. corvus* (n=55) and *L. stagnalis* (n=29)

Вид промежуточного хозяина	Показатели	Диплоидное число хромосом												Всего изучено метафаз	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	28	30	39		40
<i>L. palustris</i>	Число клеток	5	33	71	1251	26	6	2	4	1	1	1	4	1405	
	%	0.4	2.1	5.0	89.0	1.9	0.5	0.2	0.3	0.1	0.1	0.1	0.3		
<i>L. stagnalis</i>	Число клеток	1	18	32	535	12	1					2	2	2	605
	%	0.2	3.0	5.3	88.4	2.0	0.2					0.3	0.3	0.3	

Т а б л и ц а 2

Результаты кариометрического анализа *D. pseudospathaceum*, паразитирующих у моллюсков *Lymnaea palustris* и *L. corvus*

Results of karyometric analysis of *D. pseudospathaceum* parasitic in molluscs of *Lymnaea palustris* and *L. corvus*

№ пар хромосом n=22	Абсолютная длина хромосом в мкм ± m	Относительная длина хромосом в % ± m	Центромерный индекс в % ± m	Классификация хромосом
1	6.29±0.34	17.75±0.31	11.07±0.63	a
2	5.47±0.25	15.10±0.23	11.39±0.57	a
3	4.39±0.24	12.41±0.14	13.80±0.58	st
4	4.16±0.21	11.79±0.13	14.18±0.46	st
5	4.04±0.21	11.32±0.18	21.31±0.51	st
6	2.56±0.11	7.39±0.14	29.70±0.42	sm
7	2.37±0.09	6.81±0.10	27.93±0.57	sm
8	2.20±0.08	6.36±0.14	47.30±0.33	m
9	2.01±0.10	5.82±0.15	39.18±0.27	m
10	1.82±0.08	5.27±0.19	47.52±0.30	m

Т а б л и ц а 3

Результаты кариометрического анализа *D. pseudospathaceum*, паразитирующих у моллюсков *L. stagnalis*

Results of karyometric analysis of *D. pseudospathaceum* parasitic in molluscs of *L. stagnalis*

№ пар хромосом <i>n</i> =22	Абсолютная длина хромосом в мкм + <i>m</i>	Относительная длина хромосом в % + <i>m</i>	Центромерный индекс в % + <i>m</i>	Классификация хромосом
1	7.11±0.25	17.38±0.22	12.01±0.33	a
2	6.31±0.18	15.32±0.20	12.08±0.52	a
3	5.59±0.19	13.66±0.33	13.20±0.93	st—a
4	4.63±0.10	11.32±0.21	14.56±0.59	st
5	4.57±0.24	11.17±0.35	22.71±0.89	st
6	3.03±0.10	7.41±0.22	31.83±0.90	sm
7	2.65±0.08	6.48±0.11	29.97±1.01	sm
8	2.51±0.07	6.14±0.13	45.68±0.96	m
9	2.46±0.07	6.01±0.12	31.87±1.03	sm
10	2.09±0.05	5.11±0.13	46.91±0.57	m

ная длина 3-й пары элементов и центромерный индекс 9-й пары хромосом (табл. 2, 3). Остальные элементы генома имели сходную структуру.

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые хромосомные комплексы трематод сем. *Diplostomatidae* были изучены у *Proalarioides tropidonotis* Vidyarthi, 1937 (Saksena, 1969). В диплоидных наборах было описано 16 хромосом. Позднее были представлены данные о кариотипах 4 видов диплостоматид: *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819), *D. indistinctum* (Guberlet, 1923), *D. mergi* (Dubois, 1932) и *Tylodelphys clavata* (Nordmann, 1832). У всех видов число хромосом в диплоидных наборах оказалось равным 20 (Романенко, Шигин, 1977). Межвидовые различия были выявлены по структуре кариотипов.

Кариотип *D. pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 также включает 20 элементов. По данным Мутафовой и Невядомской (Mutafova, Niewiadomska, 1988), по своим абсолютным и относительным размерам хромосомы *D. pseudospathaceum* оказались наиболее сходными с хромосомами партенит *D. indistinctum*. Согласно устному сообщению Невядомской хромосомные комплексы *D. pseudospathaceum* были изучены в клетках партенит из 1 экз. *L. corvus*, обнаруженного осенью 1986 г. в маленьком водоеме Вилян (вблизи г. Варшава). При этом было определено, что хромосомный комплекс данного вида диплостом состоит из 5 пар телоцентрических, 4 пар субтелоцентрических и 1 пары метацентрических элементов (Mutafova, Niewiadomska, 1988). В сентябре 1986 г. в том же водоеме нами были собран материал от 5 экз. *L. corvus* спонтанно зараженных партенитами *D. pseudospathaceum*. Кариологический анализ выявил совершенно иную структуру кариотипа, чем было описано Мутафовой и Невядомской, причем аналогичная структурная организация генома *D. pseudospathaceum* нами была также обнаружена у партенит из 55 экз. *L. palustris* и *L. corvus*, обитавших в водоемах Тракайского р-на ЛитССР.

Результаты кариологических исследований *D. pseudospathaceum*, полученные Мутафовой и Невядомской, а также нами, оказались практически несравнимыми. Во-первых, нельзя определить кариотип корректно при изучении партенит от 1 экз. моллюсков, поскольку у трематод весьма часто встречаются дополнительные, так называемые В хромосомы. Например, партениты *Notocotylus* sp. из Северо-Западной Чукотки содержали от 20 до 30 хромосом, тогда как модальный кариотип включает 20 элементов (Баршене и др., 1990). Аналогичная картина наблюдается и у *Diplodiscus subclavatus* (Pallas, 1760) (наши неопубликованные данные). В хромосомы были обнаружены у представителей родов

Apatemon, *Echinostoma* и других (Баршене и др., 1990). Кроме того, в кариотипе партенит, берущих начало от одного мирацидия, могут встречаться различные aberrации хромосом. Во-вторых, невозможно идентифицировать хромосомы по микрофотографии метафазной пластинки, представленной в работе Мутафовой и Невядомской (Mutafova, Niewiadomska, 1988). Кроме того, в этой работе кариотип составлен по микрофотографии не той метафазной пластинки, которая изображена под № 1 (Plate 1), а совсем из другой. В точном кариологическом анализе такие манипуляции не допускаются. С-дифференциальная окраска хромосом *D. pseudospathaceum* была осуществлена впервые, однако в работе нет оригинальных снимков. Представленная диаграмма не может служить вполне убедительным аргументом.

Изумление вызывает и то, что у *D. pseudospathaceum* были описаны микрохромосомы. Совсем непонятным является тот факт, что абсолютные размеры микрохромосом и макрохромосом отличаются всего лишь на 0.75 мкм, а их относительная длина — 2.26 % (Mutafova, Niewiadomska, 1988, табл. 1, 5-я и 6-я пары хромосом). Причем следует обратить внимание на то, что 5 пар так называемых «микрохромосом» составляют более чем 1/3 часть от длины всего гаплоидного набора. Совсем неубедительным является утверждение, что у *D. pseudospathaceum* обнаружены такие же микрохромосомы, какие встречаются у других животных: амфибий, рептилий, птиц и у других (с. 86). Сведения об истинных микрохромосомах можно найти в большом количестве работ (Carr, Bickham, 1986; Belterman, De Boer, 1984; De Boer, Sinoo, 1984; Blake, 1986; Christidis, 1986, и др.). Кроме того, ошибочным является заявление, что в своей работе Романенко и Шигин (1977) разделяют хромосомы диплостом на микро- и макрохромосомы. Среди трематод микрохромосомы (дополнительные В хромосомы) были выявлены только у представителей рода *Notocotylus* (Баршене и др., 1990).

Следует отметить, что Мутафова и Невядомска при определении кариотипа у *D. pseudospathaceum* изучили лишь 30 метафаз. Не исключено, что из-за такого малого количества изученных клеток, а также плохого качества метафазных пластинок этими авторами были допущены погрешности в кариометрическом анализе. Сомнения вызывает и описанный ими гетероморфизм 6-й пары хромосом. Нам, несмотря на обширные исследования диплостом, такого феномена выявить не удалось.

Согласно нашим данным кариотип *D. pseudospathaceum* (от *L. palustris* и *L. corvus*) состоит из 2 пар акроцентрических, 3 — субтелоцентрических, 2 — субметацентрических и 3 пар метацентрических хромосом. Эти результаты явно отличаются от тех, которые были получены Мутафовой и Невядомской. Следовательно, первую попытку определения кариотипа *D. pseudospathaceum* нужно считать неудачной. Непосредственным подтверждением этого вывода служат результаты кариологического анализа партенит этого же вида трематод, которые нами были получены из того же самого водоема Вилян.

При изучении кариотипов *D. pseudospathaceum* из *L. stagnalis*, *L. corvus* и *L. palustris* нами были выявлены небольшие различия в структуре хромосомных комплексов. Различия такого рода могут быть результатом межпопуляционного полиморфизма, поскольку партениты из *L. stagnalis* в основном были исследованы в отдаленном регионе республики — в дельте р. Нямунас. Однако нельзя полностью исключить формообразовательные аспекты специфичности кариотипов трематод к промежуточным хозяевам.

С помощью кариометрического анализа было выявлено, что структурная организация хромосомного аппарата *D. pseudospathaceum* имеет большое сходство с кариотипами видов *D. paracaudum* и *D. baeri* (Baršienė e. a., 1990). Эти виды образуют филогенетически очень компактную группу диплостом. К сожалению, пока трудно судить об отношениях *D. pseudospathaceum* с другими видами трематод рода *Diplostomum*, в частности, с теми, кариотипы которых

были изучены в 1977 г. Романенко и Шигиным. Дело в том, что кариометрия *D. spathaceum*, *D. mergi* и *D. indistinctum* была осуществлена по рисункам хромосом, поэтому нельзя провести сравнительно-кариологический анализ. В дальнейших своих работах мы представим результаты кариометрического анализа хромосом *D. spathaceum*, *D. paracaudum*, *D. baeri*, *Tylodelphys clavata*, *T. excavata* и *Alaria alata*. Это позволит выявить филогенетические взаимоотношения, тенденции и механизмы эволюционных преобразований хромосомного аппарата диплостоматид.

Список литературы

- Баршене Я. В., Пятквичюте Р. Б., Станявичюте Г. Й., Орловская О. М. Кариологические исследования трематод семейств Notocotylidae, Echinostomatidae и Strigeidae из Северо-Западной Чукотки // Паразитология. 1990. Т. 24, вып. 1. С. 3—11.
- Романенко Л. Н., Шигин А. А. Хромосомный аппарат трематод родов Diplostomum и Tylodelphys (Strigeidida, Diplostomatidae) и его таксономическая значимость // Паразитология. 1977. Т. 11, вып. 6. С. 530—536.
- Шигин А. А. Трематоды фауны СССР. Род Diplostomum. Метацеркарии. М.: Наука, 1986. 252 с.
- Baršienė J., Grabda-Kazubskā B. A comparative study on chromosomes in plagiorchiid trematodes. I. Karyotypes of *Opisthioglyphe ranae* (Frölich, 1791), *Haplometra cylindracea* (Zeder, 1800) and *Leptophallus nigrovenosus* (Bellingham, 1844) // Acta Parasitol. Polonica. 1988. Vol. 33, N 4. P. 249—257.
- Baršienė J., Stanėvičiūtė G., Niewiadomska K., Kiseliene V. Chromosome sets of *Diplostomum paracaudum* (Iles, 1959) Shigin, 1977 and *D. baeri* (Dubois, 1937) // Acta Parasitol. Polonica. 1990. Vol. 35, N 2. P. 23—29.
- Belterman R. H. R., De Boer L. E. M. A karyological study of 55 species of birds, including karyotypes of 39 species new to cytology // Genetica. 1984. Vol. 65, N 1. P. 39—82.
- Blake J. A. Complex chromosomal variation in natural populations of the Jamaican lizard *Anolis grahami* // Genetica. 1986. Vol. 69. P. 3—17.
- Carr J. L., Bickham J. W. Phylogenetic implications of karyotypic variation in the Batagurinae (Testudines: Emydidae) // Genetica. 1986. Vol. 70, N 1. P. 89—106.
- Christidis L. Chromosomal evolution in finches and their allies (families: Ploceidae, Fringillidae and Emberizidae) // Can. J. Genet. Cytol. 1986. Vol. 28. P. 762—769.
- De Boer L. E. M., Sinoor R. P. A karyological study of Accipitridae (Aves, Falconiformes), with karyotypic description of 16 species new to cytology // Genetica. 1984. Vol. 65, N 1. P. 89—108.
- Dubois G. Synopsis des Strigeidae et des Diplostomatidae (Trematoda) // Memoires de la Societe Mchatoise des Sciences Naturelles. 1970. Vol. 10, fasc. 2. P. 259—727.
- Mutafova T., Niewiadomska K. The morphology of chromosomes of *Diplostomum pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 (Digenea, Diplostomatidae) karyotype // Acta Parasitol. Polonica. 1988. Vol. 33, N 2. P. 83—88.
- Niewiadomska K. Present status of *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819) and differentiation of *Diplostomum pseudospathaceum* nom. nov. (Trematoda: Diplostomatidae) // Syst. Parasitol. 1984. Vol. 6. P. 81—86.
- Niewiadomska K. Verification of the life-cycle *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819) and *D. pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 (Trematoda, Diplostomatidae) // Syst. Parasitol. 1986. Vol. 8. P. 23—31.
- Ollson P. Bidrag till skandinavies helminthfauna // Kgl. sven. vetenskapsakad. handl. 1876. Bd 14. S. 1—35.
- Saksena I. N. Chromosomes studies of fifteen species of Indian digenetic trematodes // Proc. Nat. Acad. Sci. India. 1969. Vol. 39b, N 1—4. P. 81—110.
- Szidat L. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Holostominien. II. Entwicklung der Cercaria // C. Zoologischer Anzeiger. 1924. Bd 61. S. 249—266.

Институт экологии АН ЛитССР,
Вильнюс

Поступила 18.01.1989

NEW DATA ON KARYOTYPE OF DIPLOSTOMUM PSEUDOSPETHACEUM
(TREMATODA: DIPLOSTOMATIDAE)

J. V. Barsiene, G. J. Staneviciute, V. K. Kiseliene

Key words: *Diplostomum pseudospathaceum*, chromosomes, karyotype

S U M M A R Y

Diploid number of chromosomes of *Diplostomum pseudospathaceum* was determined in 2010 cells of parthenites detected in 60 specimens of the molluscs *Lymnaea palustris*, *L. corvus* and 49 specimens of *L. stagnalis*. Karyometric analysis was carried out in 44 karyotypes made up from photographs of metaphase plate. Karyotype of the above species of trematodes includes 20 elements. Chromosome complex of parthenites (from *L. palustris* and *L. corvus*) consists of 2 pairs of acrocentric, 3 pairs of subtelocentric, 2 pairs of submetacentric and 3 pairs of the smallest metacentric chromosomes. In the karyotype of *D. pseudospathaceum* from *L. stagnalis* the third pair of elements belongs to subtelocentric type, the ninth being formed by submetacentric elements of genome. Microchromosomes and the elements of heteromorphism have not been detected.
