

Сравнительный анализ кариотипов *Opisthorchis felineus* из Западной Сибири

А. В. ПОЛЯКОВ¹, А. В. КАТОХИН¹, Т. А. БОЧАРОВА², К. В. РОМАНОВ¹, М. Н. ЛЬВОВА¹,
О. М. БОНИНА³, Н. И. ЮРЛОВА⁴, В. А. МОРДВИНОВ¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 10
E-mail: katokhin@bionet.nsc.ru

² Томский государственный университет
634050, Томск, просп. Ленина, 36

³ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН
630501, Новосибирская обл., пос. Краснообск

⁴ Институт систематики и экологии животных СО РАН
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11

АННОТАЦИЯ

Изучен кариотип трематоды *Opisthorchis felineus* из двух популяций, населяющих бассейны рек Обь и Томь на Юго-Востоке Западно-Сибирской равнины. Сравнительный анализ относительной длины и центромерных индексов семи пар хромосом показал, что они не отличаются от известных из литературы хромосомных наборов трематод этого вида, обнаруженных в нижнем и верхнем течении р. Иртыш. Качество препаратов позволило уточнить имевшиеся ранее данные о структуре кариотипа этого вида, в частности 6-й и 7-й хромосом.

Ключевые слова: кариотип, трематода *Opisthorchis felineus*, популяции, Томь, Обь, Западная Сибирь.

Opisthorchis felineus (Rivolta, 1884) – один из видов трематод семейства Opisthorchiidae (Braun, 1901), паразитирующих на фазе половой зрелости (мариты) во внутри- и внепеченочных желчных протоках и в желчном пузыре у многих видов рыбоядных млекопитающих и птиц, а также у человека. Этот вид широко распространен от Западной Сибири до Восточной Европы и имеет большое эпидемиологическое значение. Жизненный цикл

O. felineus включает шесть фаз и реализуется с участием трех хозяев.

Первые промежуточные хозяева, моллюски сем. Bithyniidae, заглатывают яйца *O. felineus*, попавшие в водоем от окончательных хозяев. Выйдя из яиц, мирацидии развиваются в моллюсках в спороцисты и затем в редии. Далее развившиеся в редиях церкарии – свободноживущие трансмиссивные личинки – выходят из моллюсков и внедряются в подкожную мускулатуру вторых промежуточных хозяев – рыб сем. Cyprinidae, где превращаются в метацеркарии. В организм окончательных хозяев, теплокровных позвоночных, метацеркарии попадают вместе с используемой в пищу сырой и полусырой рыбой. Здесь метацеркарии экцистируются, достигают печени и развиваются в половозрелых марит [1].

Поляков Андрей Викторович
Катохин Алексей Вадимович
Бочарова Таисия Анатольевна
Романов Константин Владимирович
Львова Мария Николаевна
Бонина Ольга Михайловна
Юрлова Наталья Ильинична
Мордвинов Вячеслав Алексеевич

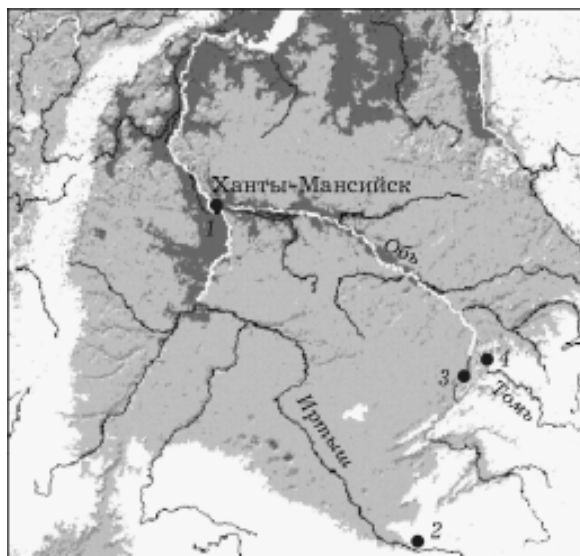


Рис. 1. География изученности кариотипа *O. felineus*. 1 – Л. Н. Романенко (1973); 2 – Я. Баршене (1993); 3 – Е. Н. Ильинских и др. (2002); 4 – выборка из Новосибирской обл. (данные этой работы)

Первые данные о кариотипе *O. felineus* опубликованы Л. Н. Романенко в 1973 г. [2]. В этой работе описаны хромосомы половозрелых гельминтов (марит) от кошек из окрестностей г. Ханты-Мансийска (рис. 1). В 1993 г. Я. Баршене представила данные кариотипирования особей *O. felineus* из другой популяции – из Северо-Восточного Казахстана (р. Шидерма, Павлодарская обл.) (см. рис. 1) [3]. Эти особи, обнаруженные в тканях *Bithynia leachi* (Sheppard, 1823), находились на стадиях редий или спорцист.

Кариотипы гельминтов из этих двух существенно удаленных популяций очень схожи и состоят из семи пар двуплечих хромосом ($2n = 14$), причем две первые пары в обоих случаях выделяются по своим размерам и составляют более 60 % совокупной длины кариотипа [3].

В настоящей работе представлены результаты анализа кариотипов *O. felineus* из двух популяций из рек Обь и Томь на юго-востоке Западно-Сибирской равнины.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовались мариты *O. felineus*, выделенные в 2007 г. из печени кошек, спонтанно заразившихся от рыбы из р. Обь (с. Верх-Тула, Болотнинский р-н Новосибир-

ской обл.), а также из золотистых хомячков, экспериментально зараженных в 2008 г. метацеркариями, выделенными из ельцов, отловленных в р. Томь (с. Кафтанчиково, Томский р-н Томской обл.). В общей сложности в работе проанализированы кариотипы 40 марит вида *O. felineus* – 20 из “новосибирской” и 20 из “томской” популяций. Хромосомные препараты изготавливали из генеративных тканей марит по методу Н. Т. Imai с соавторами [4]. Фотографировали кариотипы в Центре коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН с помощью микроскопа Axioplan 2 (Carl Zeiss, Germany), оборудованного CCD камерой (CV M300, JAI Corporation, Japan). Для измерений хромосом отобрано по 15 метафазных пластинок лучшего качества для каждой популяции. Измерения осуществлялись с помощью пакета компьютерных программ VicroMeasure, доступного на сайте разработчика <http://www.colostate.edu/Depts/Biology/MicroMeasure/>. Хромосомы классифицировались по положению центромеры, согласно Levan et al. [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Кариотипы всех исследованных в данной работе особей не различаются между собой и представлены тремя парами метацентрических и четырьмя парами субметацентрических хромосом ($2n = 14$, FN = 28) (рис. 2, 3). Усредненные значения абсолютной длины хромосом незначительно варьируют между выборками и составляют 10,32 мкм для самой крупной и 1,54 для самой мелкой хромосомы в выборке из “томской” популяции и 9,48 мкм и 1,75 мкм соответственно в выборке из “новосибирской” (см. таблицу). По своим относительным размерам две первые пары хромосом составляют более половины длины всего кариотипа (64,73 и 61,56 % для “томской” и “новосибирской” выборок соответственно).

Структура кариотипа исследованных в настоящей работе особей *O. felineus* полностью соответствует описаниям и фотографиям хромосом, представленным в публикациях Л. Н. Романенко и Я. Баршене [2, 3] (см. рис. 3). Сравнение относительной длины и центромерных индексов хромосом описторхов из “новосибирской” и “томской” популяций, а также их со-

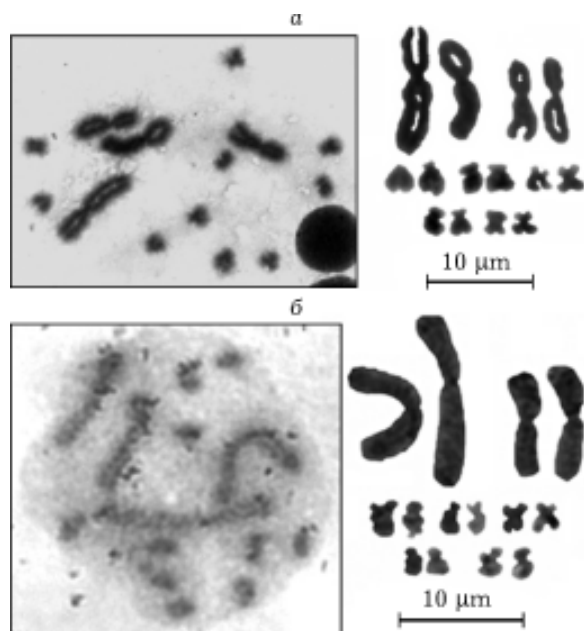


Рис. 2. Кариотипы *O. felineus*: из Новосибирской обл. (а), из Томской обл. (б)

отнесение с данными Я. Баршене и Л. Н. Романенко не выявили достоверных различий ($P > 0,05$). Кроме того, качество использованных в данной работе препаратов позволило заполнить имевшийся до настоящего времени пробел в описании кариотипа *O. felineus* и установить локализацию центромеры его самой короткой седьмой пары хромосом.

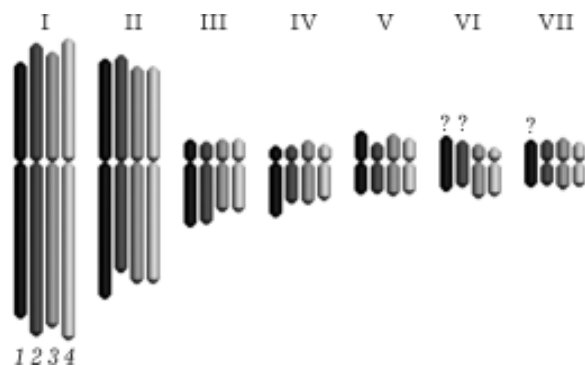


Рис. 3. Относительные размеры и позиции центромер в кариотипах *O. felineus* по данным из опубликованных ранее исследований [2, 3] и настоящей работы (см. таблицу). Вопросительный знак указывает на хромосомы с неразрешенной структурой. 1 – по данным [2], 2 – по данным [3], 3 – выборка из Новосибирской обл., 4 – выборка из Томской обл.

Обнаруженная консервативность кариотипа *O. felineus* в реках Обь-Иртышского бассейна может оказаться полезной при использовании этого признака для повышения надежности видовой идентификации. В Западной Сибири зарегистрированы трематоды трех родов (*Opisthorchis*, *Metorchis* и *Pseudamphistomum*) семейства *Opisthorchiidae* [1, 6]. Среди представителей этих трех родов кроме *O. felineus* кариотип известен еще для одного вида – *Metorchis intermedius* (Heinemann,

Результаты измерений хромосом *O. felineus* из рек Обь и Томь

№ пар хромосом	Абсолютная длина, мкм	Относительная длина, %	Центромерный индекс, %	Классификация*
<i>Популяция из Томской обл., р. Томь</i>				
1	10,32 ± 0,31	37,66 ± 0,53	41,18 ± 0,92	sm
2	7,47 ± 0,18	27,07 ± 0,33	44,26 ± 0,66	m
3	2,52 ± 0,09	9,24 ± 0,31	31,96 ± 1,37	sm
4	1,95 ± 0,05	7,13 ± 0,14	31,74 ± 0,68	sm
5	1,94 ± 0,04	7,09 ± 0,19	43,00 ± 1,07	m
6	1,71 ± 0,06	6,17 ± 0,17	30,10 ± 1,21	sm
7	1,54 ± 0,04	5,64 ± 0,2	44,54 ± 0,75	m
<i>Популяция из Новосибирской обл., р. Обь</i>				
1	9,48 ± 0,60	34,39 ± 0,79	40,35 ± 0,93	sm
2	7,29 ± 0,42	27,17 ± 0,54	43,89 ± 0,59	m
3	2,50 ± 0,10	9,14 ± 0,29	32,34 ± 1,16	sm
4	2,22 ± 0,09	8,08 ± 0,24	33,74 ± 1,02	sm
5	2,11 ± 0,07	7,86 ± 0,28	45,32 ± 0,59	m
6	1,90 ± 0,09	6,87 ± 0,21	31,17 ± 1,14	sm
7	1,75 ± 0,07	6,49 ± 0,23	46,82 ± 0,57	m

*Обозначения: sm – субметацентрическая хромосома, m – метацентрическая хромосома.

1937) [3]. Кариотип этого вида по своей структуре довольно близок к кариотипу *O. felineus* – две первые пары хромосом в нем также являются гигантскими по отношению к остальным пяти. Однако эти кариотипы отчетливо различаются по третьей паре, которая у *M. intermedius* представлена субтелоцентрическими, а у *O. felineus* – субметацентрическими хромосомами.

Вопрос о видовой идентификации трематод на ранних стадиях их развития, протекающих в моллюсках, имеет большое значение для восстановления более детальной картины распространения видов семейства Opisthorchiidae и соотнесения границ ареала и нозоареала возбудителей описторхоза. Кариотипирование личиночных стадий описторхид является одним из самых быстрых и простых способов такой идентификации. Однако применение такого подхода осложняется недостаточной изученностью кариологического разнообразия описторхид и их кариологических отличий от других трематод, способных паразитировать в тех же видах моллюсков. Поэтому выявление и использование неспецифических особенностей кариотипов описторхид внесло бы значительный вклад в развитие эпидемиологических исследований описторхоза и сделало бы их более

направленными и эффективными. Это определяет актуальность дальнейшего изучения кариотипов трематод семейства Opisthorchiidae в Западной Сибири – регионе, наиболее подверженном распространению заболеваний, вызываемых этими гельминтами.

Работа поддержана программой СО РАН “Геномика, протеомика, биоинформатика”, госконтрактом Роснауки № 02.512.11.2332 и грантом РФФИ № 09–04–12209–офи_м. Авторы выражают благодарность Л. И. Гундериной за ценные замечания при работе с рукописью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бэер С. А. Биология возбудителя описторхоза. М., ТНИ КМК, 2005.
2. Романенко Л. Н. Материалы науч. конф. Всесоюз. о-ва гельминтол. М.: Наука, 1973. Т. 25. С. 183–188.
3. Баршене Я. Кариотипы трематод. Вильнюс: Academia, 1993. С. 219–225.
4. Imai H. T., Taylor R. W., Crosland M. W. J., Crozier R. H. Jpn. J. Genet. 1988. N 63. P. 159–185.
5. Levan A., Fredga K., Sandberg A. A. Hereditas. 1964. N 53. P. 201–220.
6. Филимонова Л. В. Актуальные проблемы общей паразитологии / Труды Ин-та паразитологии РАН. М.: Наука, 2000. Т. 42. С. 303–323.

Comparative Analysis of *Opisthorchis felineus* Karyotypes from Geographically Remote Populations of West Siberia

A. V. POLYAKOV¹, A. V. KATOKHIN¹, T. A. BOCHAROVA², K. V. ROMANOV¹,
M. N. L'VOVA¹, O. M. BONINA³, N. I. YURLOVA⁴, V. A. MORDVINOV¹

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS
630090, Novosibirsk, Lavrentiev ave., 10
E-mail: katokhin@bionet.nsc.ru

² Tomsk State University
634050, Tomsk, Lenin ave., 36

³ Institute of Experimental Veterinary of Siberia and Far East SB RAAS
630501, Novosibirsk Region, Krasnoobsk

⁴ Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS
630091, Novosibirsk, Frunze str., 11

Karyotype of the trematodes *Opisthorchis felineus* from two populations of the Ob' and the Tom' river basins in the South-East of the West Siberian plain was investigated. Comparative analysis of relative length and centromere indexes of 7 chromosomes revealed their identity with those of the trematodes from the lower and upper reach of the Irtysh river. The quality of chromosome spreads allowed improving the former knowledge about the structure of the karyotype of this species, in particular the 6th and 7th chromosomes.

Key words: karyotype, trematoda *Opisthorchis felineus*, populations, the Tom', the Ob, West Siberia.