

УДК 619:616.98

Тафійчук Р.І., к.вет.н., Юськів І.Д., д.вет.н. ©

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З.Гжицького**КАРІОТИП ТА ЕМБРІОГЕНЕЗ НЕМАТОДИ *Ph. lusiana* (Vismanis 1966)**

У статті наведено дані про вперше проведені дослідження каріотипу та ембріогенезу самки *Ph. lusiana* З'ясовані ембріоцитологічні особливості генезису цієї нематоди.

Ключові слова: нематода *Ph. lusiana* хромосоми, ембріогенез, мейоз,

Вступ. Важливим напрямком, розвиток якого тільки починається, є цитогенетичне дослідження нематод риб. Точні знання життєвого циклу *Ph. lusiana*, без сумніву, необхідні для раціональної боротьби з цим гельмінтом шляхом пошуку нематоцидних антгельмінтиків. Вивчення цитогенетичних структур та ембріологічні методи дослідження мають вирішальне значення. І їх результати необхідні для розшифрування молекулярних основ передачі спадкової інформації у паразитів, розуміння інтимних взаємовідносин у системі "паразит-хазяїн", особливо в системі паразит-риба.[1,2,6] Дослідження з генетики та ембріології паразитів дають імпульс для розвитку нових методів лікування при паразитозах.[3] Аналіз даних літератури, встановив, що каріотип та ембріогенез цього виду нематоди раніше не був досліджений. [5]

Точні знання життєвого циклу *Ph. lusiana*, без сумніву, необхідні для раціональної боротьби з цим гельмінтом шляхом пошуку нематоцидних антгельмінтиків, і тут ембріологічні методи дослідження мають вирішальне значення. Враховуючи це, ми простежили процес ембріогенезу в яйцях, у стані ділення самки філометри з моменту виходу її в місце постійної локалізації – в лусочкові кишеньки шкіри.

Матеріал і методи. Для каріоцитологічних досліджень матеріалом послужили нативні самки *Ph. lusiana* отримані з лусочкових кишенок інвазованих коропів в кількості 110 шт. Препарати хромосом готувались з яєць сухоповітряним методом. У нашій модифікації [4] Хромосоми вивчались при збільшенні 10 ×40; і 10×100 у яйцях в стані ділення на стадіях 16-32 бластомерів. Для мікроскопічних досліджень використовували мікроскоп Jenamed-2 (Karl Zells Jenna). Фотографування за допомогою мікрофотонасадки МФН 11 та цифрової камери

Каріотипування проводили за загальноприйнятою методикою з підбором гомологічних пар за принципом найбільшої подібності, враховуючи абсолютну (L^a) й відносну (L^m) довжину, індекс спіралізації. Результати вимірювань хромосом в 100 метафазних пластинках обробляли статистично.

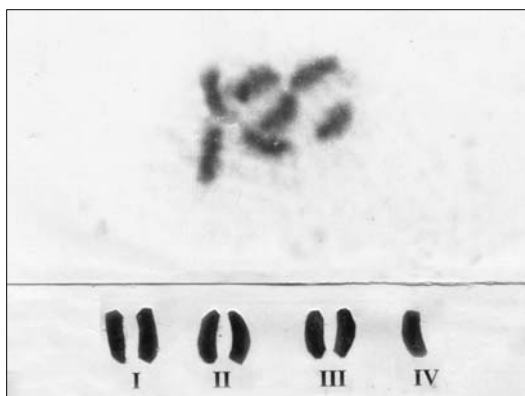
Результати досліджень Так, при дослідженні каріотипу було встановлено, що хромосоми даного виду нематоди голокінетичні, не мають чітко локалізованої центромери. В диплоїдному наборі яєць знайдено 7 і 8 хромосом, між довжиною чотирьох пар яких існує вірогідна різниця. Результати вимірювань хромосом в 100 метафазних пластинках подані в таблиці 1

Таблиця 1

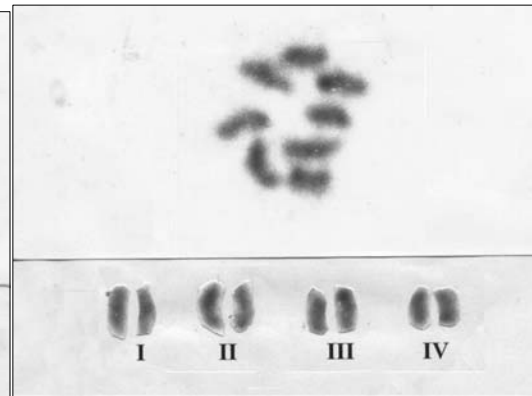
Метричні ознаки хромосом *Ph. lusiana*

Хромосоми	Абс. довжина мкм. (границі)	Стандартне відхилення	Коефіцієнт варіацій	Коефіцієнт Ст'юдента	Відносна довжина (границі, %)	Стандартне відхилення	Коефіцієнт варіацій
I	3,85±0,095 (3,7–4,0)	0,25±0,040	6,49	1,0	63,15±0,62 (60,10–66,20)	1,3±0,30	2,05
II	3,50±0,70 (3,4–3,6)	0,20±0,010	5,71	0,70	45,6±0,35 (43,1–47,8)	1,1±0,25	2,64
III	3,15±0,050 (3,0–3,3)	0,18±0,08	5,71	0,70	43,4±0,43 (42,2–44,5)	0,90±0,20	2,07
IV	2,75±0,030 (2,6–2,9)	0,13±0,05	4,72	0,60	38,5±0,45 (37,4–39,7)	1,05±0,22	2,72

Отже, тип утворення статі *Ph. lusiana* визначається як XX–XO. Самка в даному випадку має – $2n=8$, а самець – $2n=7$ хромосом. Індекс спіралізації становив 71,43%, що говорить про значну варіабельність хромосом (див рис 1, 2)



**Рис. 1. Каріотип самця *Ph. lusiana*.
 $2n=8$, метафаза. 10x100**



**Рис. 2. Каріотип самки *Ph. lusiana*.
 $2n=7$, метафаза. 10x100**

При дослідженні ембріогенезу цієї нематоди, встановлено що її яйця–голобластичного типу з тонкою ліпоїдною оболонкою, що обумовлює швидкий розвиток личинок. Ділення повне рівномірне, видоспецифічне, яке зустрічається у нематод. На рис. 3 ми бачимо яйця на стадії 16-и бластомер. Будова яєць, які знаходяться в проксимальній частині матки відрізняється значним поліморфізмом. Як видно з рис. 4 між яйцями на стадії 32-х бластомер наявні і ті, які мають по 16 бластомер. Водночас є і не запліднені яйця з тонкою оболонкою, під якою видно нитки хроматину (Рис 5). У дистальній частині матки в запліднених яйцях спостерігається різка перебудова цитоплазматичних структур. У них можна побачити фігури мейозу та мітозу. Так на рис 6 показано яйце в стадії лептотени, а на Рис.7 – на стадії пахітени в усіх бластомерах. Це наводить на думку про синхронізацію ділення. При дослідженні каріотипу в попередньому досліді нами було встановлено, що самки мають в диплоїдному наборі 8 хромосом, а самці – 7 хромосом. Це означає, що диференціація статі проходить під час запліднення. Мікроскопічне дослідження препаратів яєць філометри встановило той факт, що зигот жіночої статі було у 4 рази більше, ніж чоловічої. На Рис. 8 видно кінцеве формування личинок на стадії гаструли. Яйця стають видовжені, ніби “підковоподібні”, відбувається занурення в глибину статевого зародку і насування на краї бластопору клітин хвостової ектодерми. На Рис. 9 видно рабдитисові личинки, які є недиференційовані і відрізняються від дорослої нематоди будовою головного кінця.

Висновки

Отже, нами вперше було досліджено каріотип та ембріональні стадії розвитку *Ph. lusiana*.

Одержані дані представляють інтерес для подальших морфологічних та цитогенетичних досліджень при скринінгу антгельмінтних препаратів за філометроїдозної інвазії коропа.



**Рис. 3. Запліднене яйце філометри на стадії 16-ти бластомер.
Тиснений препарат, ацетоорсеїн, 10 x 100, мікрофото.**

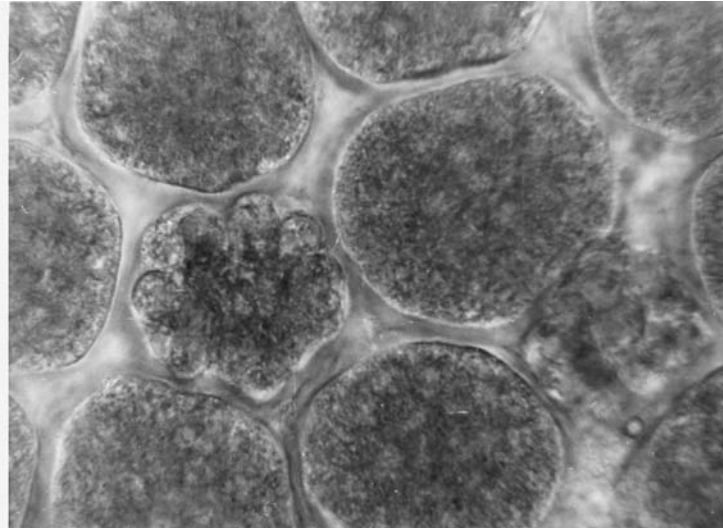


Рис. 4. Запліднені яйця в дистальній частині матки на стадіях 16-ти та 32-х бластомерів. Тиснений препарат, 10 x 100, ацетоорсеїн, мікрофото

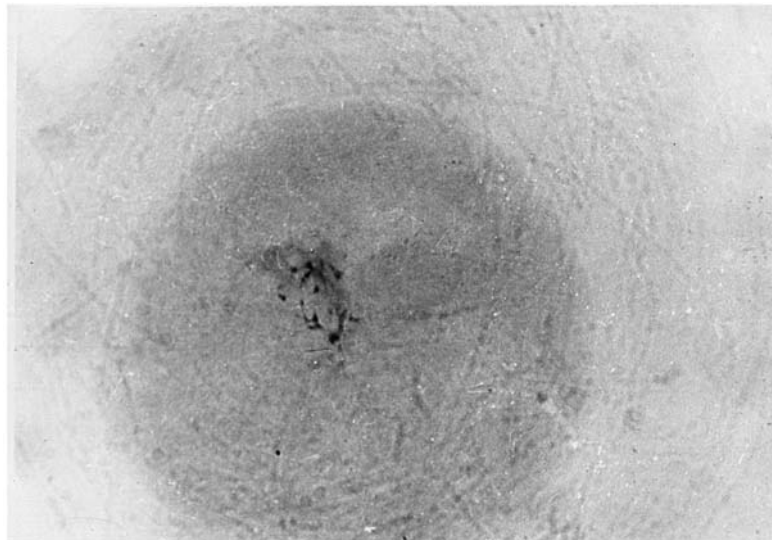


Рис. 5. Незапліднене яйце, сухоповітряний препарат, азур-еозин, 10 x 100, мікрофото.

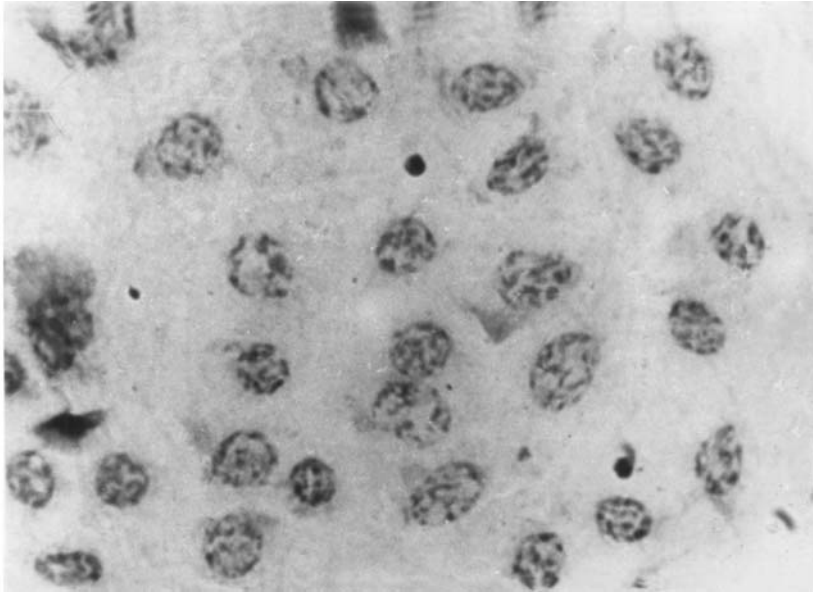


Рис. 6. Яйце в стадії лептотени, сухоповітряний препарат, азур-еозин, 10 x 100, мікрофото.

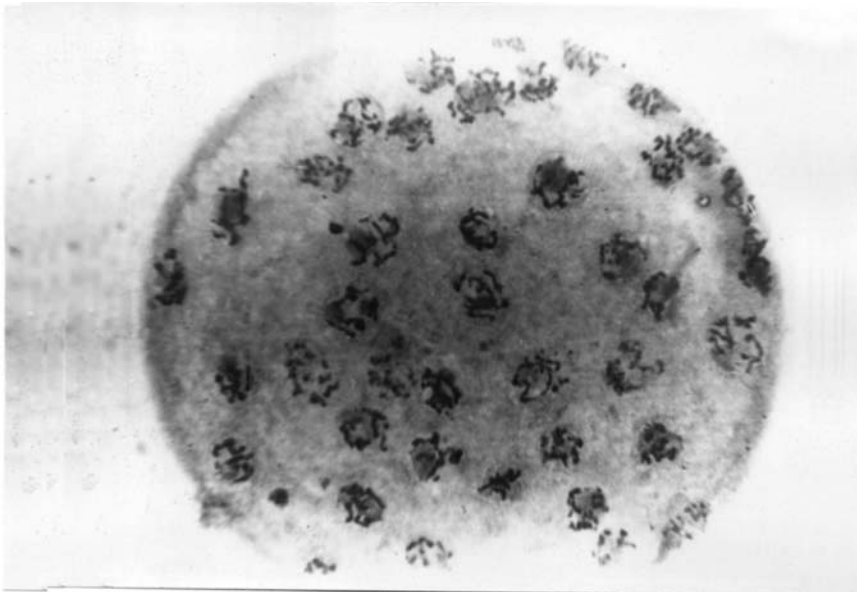


Рис. 7. Яйце в стадії пахітени, сухоповітряний препарат, азур-еозин, 10 x100.

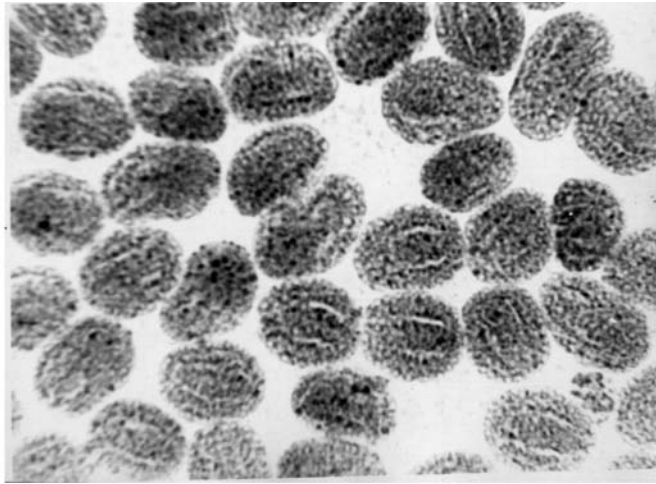


Рис. 8. Формування личинок на стадії гастрюли, тиснений препарат, ацетоорсеїн, 10 x 40, мікрофото.

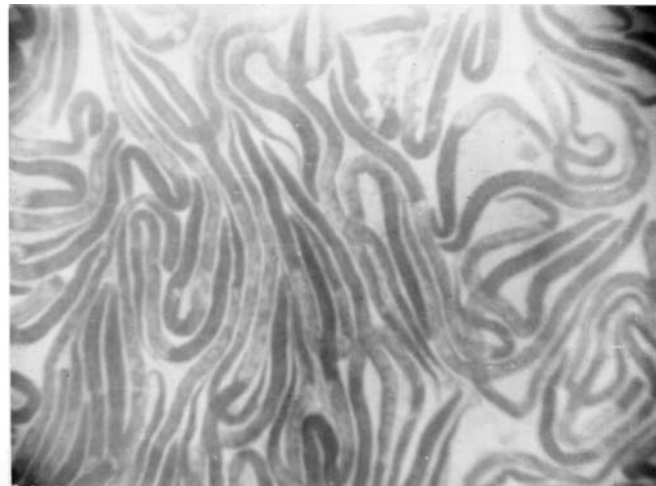


Рис. 9. Рабдитисова личинка *Ph. lusiana*, тиснений препарат, ацетоорсеїн, 10 x 40, мікрофото.

Література

1. Васильков Г.В. Филометроидоз карпов. Автореф. дис. доктора вет. наук М., 1973, – С. 40.
2. Висманис К.О. Цикл розвитку возбудителя филометроидоза и физиологическое состояние карпов – в кн.: Рыбохоз. исслед. в басс. Балт. моря». – Рига. Зинатне, 1981 №16. С. 75-81.
3. Molnær K; Moravec-F Skrjabinellanus cyprini n.sp. (Nematoda: Dracunculoidea) from the scales of common carp *Cyprinus carpio* (Pisces) from Hungary //Systematic-Parasitology. - 1997, Vol.38: №2, P.147-151.

4. Mutafova T. Meiosis and some aspects of cytological mechanisms of chromosomal sex determination in nematode species // International Journal for parasitology–1995. Vol. 25 №4. P. 453-462

Nakao M. Uemura T. Yano

5. Чиненков В.А. О строении хромосомного аппарата *TOXOCARA MYSTAX* (ZEDER, STILES, 1907) и *TOXOCARA CANIS* (WERNER,) STILES, 1905 // материалы 4 съезда медицинских паразитологов М 1979, С-118-120.

6. Ивасик В.М., Сковронский Р.В., Свирепо Б.Г., Ворона К.И. К изучению цикла развития *Philometra lusii* Vismanis. В кн.: проблемы паразитологии. К.: Наукова Думка. 1967. – С. 462.

Summary

The karyotype and embriogenesis Ph.lusiana was investigated by cytogenetic methods. It has been staled that the type for sex forming is determined as XX (2n=8) – XO (2n=7). The investigated karyotype and embriogenesis in comparison with olter fish nematodes shows definite peculiavities.

Стаття надійшла до редакції 14.09.2010