

**АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ ЗООЛОГИИ**

На правах рукописи

БОВТ ВАЛЕНТИНА ДЕМЬЯНОВНА

**ЦИТОКАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
НЕКОТОРЫХ ЦЕСТОД-ЦИКЛОФИЛЛИДЕЙ
В ПРОЦЕССЕ ИМАГОНИИ**

03.00.20—Гельминтология

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Алма-Ата 1978

Работа выполнена на кафедре биологии Кемеровского Государственного медицинского института

Научный руководитель - профессор, доктор биологических наук Е.Д.Логачев

Научный консультант - академик АМН СССР, профессор И.В.Торопцев

Официальные оппоненты- доктор биологических наук
В.Я.Панин
кандидат биологических наук
Э.Б.Всеволодов

Ведущее учреждение - I-й Московский ордена Ленина и ордена Трудового Красного Знамени институт им. И.М.Сеченова

Защита состоится " _____ " ноября 1978 г. в 14 ч.
на заседании Специализированного совета Д-008.17.01 при
Институте зоологии АН Казахской ССР.

Адрес: 480032, г.Алма-Ата, 32, Анадёмгородок,
Институт зоологии АН КазССР

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института зоологии АН Казахской ССР.

Автореферат разослан " _____ " _____ 1978 г.

Ученый секретарь Специализированного
совета, доктор биологических наук

С.М.Пак

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В предыдущее тридцатилетие бурно развивались кариологические исследования как позвоночных, так и беспозвоночных. Большую роль в изучении многих групп животных приобретает карисистематика и кариология. Интенсивные исследования в области цитогенетики почти не коснулись одного из интересных классов беспозвоночных — класса *Cestoda* типа *Plathelminthes*. Если другие классы этого типа более или менее изучены, то о кариологических особенностях цестод наши знания крайне скудны. Работы, отражающие цитокариологические особенности цестод единичны, что связано с большими методическими трудностями, возникающими при постановке исследований. Основные затруднения связаны с непригодностью классических цитологических методов исследований для цитогенетического изучения класса цестод.

Большой интерес представляют исследования этого вопроса в эволюционном плане. Кариологические исследования позволяют выявить филогенетические отношения как внутри класса, так и типа, а также установить степень родственности и происхождение этих классов. До сих пор остается спорным вопрос, произошли ли цестоды от бескишечных или прямокишечных турбеллярий. Цестоды являются крайне специализированными, приспособленными к паразитизму животными. Постоянное пребывание в организме хозяина, крайняя степень адаптации к этим условиям, совершенство механизмов изоляции и генетической устойчивости не могли не найти отражения в ядерных структурах цестод.

Цестоды очень интересны еще и тем, что их ткани различаются в возрастном аспекте, причем самые молодые находятся в области шейки стробилы. Изменение динамики делений в процессе имагогонии представляет несомненный интерес.

Вопрос о существовании соматической полиплоидии у цестод является совершенно неизученным. Особенности протекания

пролиферации, редкость митозов в дифференцированных тканях цестод позволяют предположить о существовании явления соматической полиплоидии;

Цели и задачи исследования

Целью нашей работы явилось изучение цитокариологических особенностей трех видов цестод из отряда Cyclophyllidea: *Dipylidium caninum*, *Hydatigera taeniaeformis*, *Moniezia expansa* в процессе их имагогонии с помощью современных цитологических методов.

Были поставлены следующие задачи:

1) изучить пролиферативную активность в тканях цестод, различающихся в возрастном отношении: в эмбрионах, ткани шейного отдела стробилы, гермафродитных и зрелых проглоттидах стробилы;

2) определить кариотипы трех видов цестод, установить морфологию их хромосом, вариации хромосомных чисел у изучаемых цестод;

3) изучить возможность существования соматической полиплоидии у цестод.

Теоретические положения, защищаемые в работе

В результате проведенных исследований автор подтверждает, выдвигает и защищает следующие теоретические положения:

1. Уровень митотической активности в тканях цестод изменяется в процессе их имагогонии: от высокого уровня пролиферации в тканях эмбрионов до очень низкого в тканях зрелых проглоттид цестод, что связано с дифференциацией тканей.

2. Хромосомные числа цестод невелики, внутри типа плоских червей это одна из низкохромосомных групп. Кариотипы включают в себя как мета-, субметацентрические хромосомы, так и акроцентрические. Полученные данные о хромосомных числах цестод подкрепляют предположение о возможности происхождения цестод от бескишечных турбеллярий.

3. Высокий уровень анеуплоидии в тканях цестод застав-

ляет предположить существование внутривидового полиморфизма по числу хромосом у цестод. В ткани эмбрионов, изученных нами видов, имеет место соматическая конъюгация в процессе которой конъюгируют гомологичные хромосомы.

4. У всех исследованных видов цестод обнаружено явление соматической полиплоидии в гермафродитных и зрелых отделах стробилы цестод. Полиплоидные образования локализованы в местах активного метаболизма и играют, по-видимому, трофическую роль.

Научная новизна и практическая ценность работы

Разработаны цитологические методики, дающие возможность изучать цитокариологические особенности цестод.

Получены новые данные об уровне митотической активности в тканях цестод, различающихся в возрастном аспекте, по уровню дифференциации.

Впервые изучены карiotипы трех видов цестод: *Dipylidium caninum*, *Hudatigera taeniaeformis* и *Moniezia expansa* с применением современных цитологических методик.

Установлен факт существования соматической конъюгации в эмбрионах *D. caninum*, *H. taeniaeformis* и *M. expansa*.

Впервые установлен факт существования соматической полиплоидии у представителей класса цестод, места локализации полиплоидных образований, их возможная функциональная роль в организме плоских червей.

Данные настоящих исследований могут представлять теоретическое обоснование вопроса о происхождении класса цестод.

Апробация работы

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены: на IV научной конференции, посвященной теоретическим и практическим вопросам цитологии, генетики и паразитологии (Кемерово, 1971 г.), на конференции по проблемам основных паразитарных болезней и их предупреждению (Ростов-на-Дону, 1973 г.),

на V научной конференции, посвященной теоретическим и практическим вопросам паразитологии (Кемерово, 1974 г.), на производственном совещании лаборатории морфологии и ультраструктур беспозвоночных Института зоологии АН КазССР (1978 г.).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 152 страницах, состоит из введения, пяти глав, обсуждения и выводов, содержит 20 рисунков, включающих 68 микрофотографий и 4 графика, 9 таблиц. Список использованной литературы состоит из 43 отечественных и 161 иностранных источников.

Объем исследований

Было взято 3 вида цестод, использовано 2 различных фиксатора, применено 2 цитологические и 2 гистологические методики приготовления и окраски препаратов. Всего было приготовлено 10000 препаратов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В главе I КАРИОЛОГИЯ ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ дан обзор литературы, в котором в хронологической последовательности изложены данные по изучению цитологических и цитогенетических особенностей плоских червей вообще и цестод в частности.

Тип Plathelminthes объединяет в себе восемь классов (Шульц, Яковлев, 1970), из которых главнейшими являются турбеллярии, трематоды и цестоды. Турбеллярии - свободноживущие плоские черви. Некоторые из них (бескишечные Acoela) весьма примитивны по своему строению и организации и малодифференцированы. Трематоды и цестоды - паразиты, имеют крайне специализированную организацию.

Турбеллярии и трематоды цитогенетически являются относительно хорошо изученными классами, в то время как цестоды весьма плохо исследованы, что связано с трудностями методического

характера, с которыми сталкиваются все исследователи цестод.

Турбеллярии, по данным многих исследователей, с кариотипической точки зрения представляют полиморфную картину. Хромосомные числа варьируют от 6-8 до 40-60 в диплоидном наборе. (Ruebush , 1937, 1938 ; Penhagarcker , 1954 ; Benazzi , 1948 ;

У бескишечных турбеллярий *Ascoela* по данным Ruebush (1937, 1938) диплоидный набор составляет 40-60 хромосом, что является одним из самых высоких хромосомных чисел в типе *Plathelminthes*.

Большое количество маленьких хромосом свидетельствует о высокой приспособляемости к разным условиям внешней среды, а уменьшение числа хромосом ведет к большей специализации в относительно постоянных условиях внешней среды (Darlington , 1937 ; White , 1954).

В процессе дивергенции внутри этого класса играют роль Робертсоновские перестройки, механизмы полиплоидии (Darlington , 1936 ; Valkanov , 1938 ; Husted и Ruebush , 1940 ; Benazzi-Lentati , 1950).

У турбеллярий можно проследить уменьшение диплоидного набора от большого числа маленьких хромосом до меньшего числа больших по размеру и более гетерогенных по морфологии хромосом (Walton , 1959).

Работы (Jones , 1948 ; Britt , 1947 ; Gresson , 1964, и др.) по изучению числа, размеров и формы хромосом трематод показали, что эти данные могут иметь определенное эволюционное значение.

Первые работы по изучению характера ядерных делений и кариологических особенностей цестод относятся к началу нашего века. Child (1904-1911), Nazman (1913), Young (1910-1935) выявили ряд особенностей цитогенетики цестод: существование амитозов в тканях, низкую пролиферативную активность, маленькие размеры хромосом. Истинное существование амитозов у цестод было показано В.Д. Лагачевым (1956-1969) и В. Wikgren (1964).

Smyth (1956) в своей работе по физиологии цестод отме-

чал на серийных гистологических срезах низкую митотическую активность в соматических тканях цестод, но довольно высокий уровень митозов в тканях половой системы. Smyth (1956) первый применил колхицин для изучения митотической активности цестод *in vitro* как критерия их роста.

Первые современные исследования по цитогенетике цестод проводились Jones (1945), Jones и Wyant (1956), Smyth (1962), Douglas (1962), Novsain и Jones (1963). Эти авторы для приготовления цитологических препаратов применяли методику раздавливания тканей.

Douglas (1962) обнаружил в тканях цестод соматическую конъюгацию хромосом. Подобное явление наблюдали Proffit и Jones (1969) в эмбрионах цестод. Они предположили, что соматическая конъюгация имеет место в анафазе митоза.

В 1966 году Proffit и Jones разработали более современную методику диспергирования тканей, что позволило им получить хорошие результаты.

Однако последним методом до сих пор выполнено крайне мало исследований. Основной причиной этого явились трудности методического характера. Для преодоления такого рода затруднений нами были разработаны модификации методики Proffit и Jones (1966).

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служили цестоды *Dipylidium caninum* (Dilepididae, Cyclophyllidea, Cestoda), *Hudatigera taeniaeformis* (Taeniidae, Cyclophyllidea, Cestoda), *Moniezia expansa* (Anoplocephalidae, Cyclophyllidea, Cestoda).

D. caninum и *H. taeniaeformis* извлекались из кишечника кошек непосредственно после умерщвления последних, *M. expansa* добывались из кишечника крупного рогатого скота после забоя.

После извлечения гельминтов из кишечника проводилась их стерилизация с помощью антибиотиков и питательных сред с низким рН.

Гельминтов после стерилизации помещали каждого в 0,8 мл раствора Хенкса, 0,2 мл бычьей сыворотки с добавлением 40 ЕД пенициллина и 0,4 мг стрептомицина. Во флакон добавляли колхицин, чтобы конечная концентрация была 2×10^{-4} М.

Флаконы помещали в термостат и инкубировали в течение 4-12 часов. В том случае, если инкубация продолжалась дольше 4-х часов, питательная среда заменялась свежей каждые 4 часа. После инкубации гельминтов промывали в двух порциях раствора Хенкса с целью удаления остатков колхицина. После культивирования стробила расчленялась на несколько частей: шейный, самый молодой, активно пролиферирующий отдел, гермафродитный и зрелый отделы стробины.

Небольшие, размером 2 мм, кусочки ткани помещали между двумя предметными стеклами в каплю раствора Хенкса и растирали, диспергированную ткань помещали в центрифужную пробирку. Суспензию диспергированной ткани центрифугировали при 500 об/мин в течение 5 мин., надосадочную жидкость отбрасывали.

К плотной массе диспергированных клеток добавляли 1 мл среды, ресуспензировали осадок и осторожно, по краю центрифужной пробирки добавляли 5 мл дистиллированной воды и инкубировали при 37°C в течение 40 мин. Лучшие результаты получали при гипотонической обработке 0,9% раствором цитрата натрия, приготовленного на 10% буфере Сорренса (24 мл 1/15 М KH_2PO_4 и 76 мл 1/15 М Na_2HPO_4). Хорошее качество разброса хромосом получали при pH раствора 7,3-7,4.

После гипотонической обработки суспензию центрифугировали, надосадочную жидкость осторожно отсасывали с помощью Пастеровской пипетки. Образовавшийся осадок фиксировали по Карнуа или смесью метанол: ледяная уксусная кислота = 3:1 в течение 45 мин. Фиксированный осадок ресуспензировали в малом, 0,5-1 мл, объеме свежего фиксатора. Тщательно обезжиренные предметные стекла подогревали на спиртовке, каплю охлажденной суспензии помещали в центр стекла. Капля моментально высыхала, клетки хорошо фиксировались на поверхности предметного стекла.

Хорошая фиксация клеток и распластывание их достигалось также с помощью выжигания.

Благодаря описанной выше методике (Бовт, 1971, 1973) получала хорошие результаты при исследовании чисел хромосом *D. caninum*. Анализ морфологии хромосом проводить невозможно, так как они у цестод очень мягкие. Что касается *H. taeniiformis* и *M. expansa*, то описанная выше методика для этик двух видов оказалась мало пригодной. Необходимо было добиться более легкого разделения тканевых элементов при диспергировании и уменьшить степень спирализации хромосом, для чего была применена другая методика (Бовт, 1974, 1976).

Культивирование проводилось аналогично описанному выше способу. Затем гельминтов помещали в чашки Петри со средой Хенкса при температуре 37°C и добавляли версен (0,02% раствор этилендиамина тетрауксусной кислоты) из расчета 1 мл версена на 10 мл среды. Диспергирование проводили в кювете раствора с версеном. Гипотоническая обработка, фиксация и приготовление препаратов проводились по описанной выше методике.

Препараты окрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимза и по Фельгену.

Подсчет митотического коэффициента проводили как на эмбрионах, находящихся на различных стадиях развития, так и в различных отделах стробилы гельминтов.

Подсчет чисел хромосом и изучение их морфологии проводились с помощью микроскопа МБИ-6.

Глава 3. ХАРАКТЕР ДЕЛЕНИЙ В ТКАНЯХ ЦЕСТОД *DIPYLIDIUM CANINUM*, *HYDATIGERA TAENIAEFORMIS* И *MONIEZIA EXPANSA*

Ядерные популяции в тканях цестод различаются в возрастном аспекте: самые молодые в эмбрионах, более дифференцированные в шейном отделе стробилы и самые дифференцированные - в зрелых проглоттидах стробилы.

Яйцеклетки *D. caninum* сравнительно небольшие, 10-20 мкм, имеют некрупное, хорошо красящееся по Фельгену ядро.

Перед тем как перейти к первому мейотическому делению,

яйцеклетки значительно разрастаются, объем цитоплазмы сильно увеличивается. После этого наступает первое мейотическое деление, происходит образование I-го редукционного тельца. Второе мейотическое деление не доходит до конца, второе редукционное тельце не образуется и после обычного митоза восстанавливается диплоидный набор хромосом, так как один гаплоидный набор хромосом не выносится за пределы яйцеклетки.

Слияния мужского и женского протонуклеусов и возникновение синкариона нами нигде не наблюдались. Поэтому можно считать, что при оплодотворении у *D. caninum* имеет место тиногенез, когда спермий проникает в яйцеклетку, активирует ее развитие, после чего мужские хромосомы рассасываются в цитоплазме.

Подобные явления известны у плоских гермафродитных свободноживущих червей, гермафродитных олигохет (White, 1953, 1973) и цестоды *M. expansa* (Логачев, 1961, 1968).

После восстановления диплоидного набора хромосом и элиминации мужского протонуклеуса, не происходит дробления яйцеклетки и образования бластомеров не наблюдается. Ядро яйцеклетки митотически делится, в результате чего образуется симпластический эмбрион.

Эмбрионы *D. caninum*, *H. taeniaeformis* и *M. expansa* имеют характер симпластов.

У всех трех изученных нами видов на ранних этапах эмбриогенеза ядра равномерно распределены по поверхности эмбрионов. При дальнейшем развитии более интенсивное деление происходит в центре. По мере дифференциации морфология ядер меняется, они становятся мельче и приобретают неправильные очертания: обобъемные, затем гантелевидные формы, образуются перетяжки, а затем происходит разделение ядер. Мостиков при амитозе не образуется, хотя иногда происходит фрагментация не на два, в одно время на три и более ядра. Особенно много амитозов в гермафродитных и зрелых проглоттидах стробилы. В дифференцированных тканях цестод уровень метаболизма высок, а во время амитоза ядро остается в интерфазном состоянии и продолжает функционировать, что очень важно для гельминтов, поэтому естественна широкая распространенность амитозов в тканях цестод.

Ядра в эмбриональных тканях цестод всех исследованных нами видов довольно крупные. Уровень митотической активности в эмбриональной ткани очень высок. Наблюдается явление синхронного деления ядер в некоторых участках цестод. В молодых преонкосферах *M. exraiva* иногда отмечалось синхронное деление ядер в эмбрионе.

В шейных отделах всех трех видов цестод встречаются участки, в которых все ядра находятся в состоянии деления. Возможно, что это явление, встречающееся у цестод (Child, 1917), характерно для этого класса и связано с тем, что это место постоянной стробилиации и отделения члеников.

Нами установлено, что митоз является основным способом деления цестод на ранних этапах имагогонии. У цестод исследованных нами видов уровень митотической активности был различен в различных отделах стробилы гельминтов.

Митотический коэффициент изучался при достаточно низкой концентрации колхицина - $2 \times 10^{-4} M$, положительные результаты получали после долгого (8-12 часов) культивирования.

У *D. salinus* митотический коэффициент при культивировании в течение 8-10 часов для эмбрионов составлял 24,7%, для шейного отдела стробилы цестод - 3,1, для зрелых проглоттид - 1,97%.

У *H. taeniaeformis* в эмбрионах коэффициент был 29,9%, в шейном отделе стробилы цестод - 7,4, в зрелых проглоттидах - 2,12%.

У *M. exraiva* в эмбрионах коэффициент был 27,3%, в шейном отделе стробилы цестод - 4,8, в зрелых проглоттидах - 1,8%.

В зрелых тканях митотическая активность мала, что, по-видимому, связано с тем, что в дифференцированных тканях становится невозможным процесс митотического деления.

На гистологических срезах исследовалась локализация митозов. В соматических тканях большая часть митозов находится в субкутикулярной паренхиме. В дифференцированных тканях цестод митозы практически не наблюдаются как, например, в тканях выделительной системы цестод.

Глава IV. ХАРАКТЕРИСТИКА КАРИОТИПОВ ЦЕСТОД *DIPYLIDIUM*
CANINUM, *HYDATIGERA TAENIAEFORMIS*, *MONIEZIA EXPANSA*

Нами были исследованы хромосомные числа и морфология хромосом у трех видов цестод.

Для изучения кариотипов использовали следующие критерии: абсолютная длина хромосом, выраженная в микрометрах L^A , относительная длина хромосом L^R , выражающая процентное отношение абсолютной длины хромосомы к длине гаплоидного набора. Учитывался индекс спирализации I^S (Гиндилис, 1966), то есть отношение суммарной длины 2-х самых коротких хромосом к суммарной длине двух самых длинных.

Кроме хромосомных чисел, нами определялось основное число $2n$, которое представляет собой число плеч в диплоидном наборе.

Диплоидный набор хромосом *D. caninum* равен 16. Основное число плеч 24.

Кариотип *D. caninum* можно условно разделить на три размерные группы.

1) Три пары крупных хромосом с медиальным и субмедиальным положением центромеры и ясно выраженной двулучевой структурой.

2) Две пары средних по размеру хромосом. Одна пара с медиально расположенной центромерой, другая пара палочкообразных хромосом с терминальным положением центромеры.

3) Три пары овоидных мелких хромосом.

Индекс спирализации равен 35,7%.

В таблице I помещены параметры хромосом этого вида.

Кариотип *H. taeniaeformis* представлен 14-ю хромосомами. Основное число плеч равно 24.

Кариотип *H. taeniaeformis* также можно разделить на три размерные группы.

1) Две пары крупных хромосом с медиально расположенной центромерой и хорошо выраженной двулучевой структурой.

2) Две пары средних по размеру хромосом. Одна пара с медиально расположенной центромерой, другая с терминально расположенной центромерой.

3) Три пары мелких хромосом. Одна пара с медиально распо-

Таблица 1

Хромосомные параметры *D. caninum*

Наименование хромосомы	L^a (мкм)	L^r (%)
A	2,67 ± 0,10	19,30 ± 1,48
B	2,54 ± 0,31	17,80 ± 2,54
C	2,10 ± 0,13	15,21 ± 1,62
D	1,75 ± 0,37	11,90 ± 2,61
E	1,53 ± 0,16	11,08 ± 1,36
F	1,20 ± 0,12	8,91 ± 1,08
G	1,09 ± 0,07	7,17 ± 0,66
H	1,01 ± 0,09	7,39 ± 0,81

ложенной центромерой. Одна пара- субметацентрик и одна с терминально расположенной центромерой.

Индекс спирализации 26,6%.

Параметры хромосом *H. taeniaeformis* представлены в таблице 2.

Таблица 2

Хромосомные параметры *H. taeniaeformis*

Наименование хромосомы	L^a (мкм)	L^r (%)
A	3,08 ± 0,22	27,90 ± 1,08
B	2,39 ± 0,23	18,42 ± 1,23
C	1,59 ± 0,10	13,86 ± 0,91
D	1,48 ± 0,15	12,97 ± 1,23
E	1,12 ± 0,14	9,82 ± 1,20
F	0,92 ± 0,16	8,07 ± 1,37
G	0,82 ± 0,13	7,28 ± 1,12

Хотя диплоидный набор хромосом у *D. caninum* и *H. taeniaeformis* различен, $2n$ основное число плеч одинаково и равно 24. У *H. taeniaeformis* на одну пару хромосом меньше, в то время как двуплечих хромосом на одну пару больше. Структура двуплечих хромосом также сходная, все они выраженные суб-ме-

тацентрики.

Диплоидный набор *M. expansea* представлен 12 хромосомами, основное число плеч также 12, выявить двуплечие хромосомы не удавалось. Все хромосомы, выглядят в виде палочек с округлыми концами, а самые мелкие хромосомы имеют вид точек.

Индекс спирализации равен 33,4%. Параметры хромосом этого вида представлены в таблице 3.

Таблица 3
Хромосомные параметры *M. expansea*

Наименование хромосом	L^a (мкм)	L^r (%)
A	$2,17 \pm 0,13$	$25,01 \pm 1,71$
B	$2,10 \pm 0,14$	$24,27 \pm 1,82$
C	$1,91 \pm 0,13$	$22,08 \pm 1,39$
D	$1,10 \pm 0,11$	$12,07 \pm 1,18$
E	$0,88 \pm 0,88$	$10,17 \pm 0,99$
F	$0,49 \pm 0,09$	$5,66 \pm 1,01$

Давно отмечалось, что малоспециализированные формы, стоящие близко к основанию филогенетической ветви той или иной группы, имеют большое количество акроцентрических хромосом, а значит, у них велико число групп сцепления генов и широка комбинативная изменчивость (Matthey, 1958, 1962; White, 1954; Matthey и соавторы, 1968). И, наоборот, высокоспециализированные группы характерны малым числом хромосом мета- и субметацентрической структуры.

В процессе эволюции и отбора обычно происходит слияние двух акроцентрических хромосом в одну мета- и субметацентрическую хромосому. Этот процесс называется центрическим слиянием. Во многих семействах и родах число плеч NF постоянно, в то время как число акро- и метацентриков колеблется, что мы и видим на примере *D. caninum* и *H. taeniaeformis*. Число хромосом у низкоспециализированных видов бескишечных турбеллярий (*Ascoela*) высоко, диплоидный набор составляет 40-60 хромосом (Ruebush, 1937, 1938; White, 1954). Во всех остальных се-

мествах турбеллярий числа хромосом достаточно низки, и трудно представить, что происхождение цестод может идти от каких-либо из этих достаточно низкохромосомных групп.

Если эволюция хромосомного аппарата у цестод шла путем центрических слияний, как у большинства видов, то анализ хромосомных чисел позволяет предположить происхождение класса цестод от бескишечных турбеллярий. Такое предположение было выдвинуто Е.Д.Логачевым (1968-1975).

Уменьшение числа хромосом, а значит, и уменьшение групп сцепления генов ведет к уменьшению комбинативной изменчивости и, следовательно, к повышению приспособляемости высокоспециализированных видов к постоянным условиям внешней среды.

Нужно еще отметить, что у долгоживущих организмов числа хромосом гораздо выше, нежели у организмов с короткой продолжительностью жизни (Stebbins, 1966). У организмов с короткой продолжительностью жизни, которые быстро размножаются, генетическая низкохромосомная система, благодаря ее гибкости, обеспечивает в большей степени непосредственную приспособленность. У высокоспециализированных цестод известная гибкость обусловлена самой краткостью жизненного цикла с быстрым "оборотом генов".

Результаты, полученные нами при применении деспирализующих агентов, а также полученные Wikgren (1964) и Smith et al. (1972), свидетельствуют о том, что цестоды в большинстве своем в своих каристипах содержат мета- и субметацентрические хромосомы. Симптоматично, что двуплечие хромосомы исследованных нами видов почти все метацентрические. По-видимому, в процессе эволюции происходили центрические слияния очень мелких и приблизительно одинаковых по размерам хромосом.

Вариации хромосомных чисел у цестод. Нами были проанализированы хромосомные числа в тканях, отличающихся в возрастном аспекте: эмбриональной ткани, ткани шейного и зрелого отделов. Оказалось, что среди клеток с анеупloidным числом хромосом в процентном отношении преобладают клетки с гиподипloidным кариотипом, также как у млекопитающих и человека (Керкис. Раджабли, 1966; Евсиков и Евсиков, 1970).

У *D. caninum* в эмбрионах количество гипомодальных пластинок 27,1%, гипермодальных - 14,4, в шейном отделе стробилы - 20,5 и 13,9%, а в зрелых проглоттидах - 21,8 и 16,5% соответственно.

У *H. taeniaeformis* в эмбрионах количество гипомодальных пластинок - 25,9%, гипермодальных - 13,8, в шейном отделе стробилы - 17,9 и 15,8% соответственно, в зрелых члениках: - 19,7, и 15,4% соответственно.

У *M. exransa* в эмбрионах количество гипомодальных пластинок - 22,9%, гипермодальных - 15,2, в шейном отделе стробилы - 17,9 и 13,3% и в зрелых отделах стробилы - 15,8 и 12,3% соответственно.

Результаты исследований вариаций чисел хромосом свидетельствуют о высоком уровне анеуплоидии у всех исследованных нами видов цестод и во всех различающихся в возрастном аспекте тканях гельминтов. Характер распределения хромосомных чисел у различных видов цестод одинаков.

Проанализировав распределение чисел хромосом у всех трех видов, мы обнаружили, что в эмбриональной ткани увеличение гипомодальных пластинок находится в связи с появлением метафазных пластинок с числом хромосом, равным гаплоидному.

В молодых эмбрионах происходит редукция числа хромосом. В некоторых случаях хромосомы слиты воедино и выглядят гораздо толще, нежели в нормодиплоидных пластинках. Во многих случаях число редуцированных хромосом равно гаплоидному числу. Мы сделали вывод, что в эмбриональных тканях цестод происходит конъюгация хромосом или соматический кроссинговер. По нашим наблюдениям, соматическая конъюгация происходит в анафазе митотического деления. Поздняя анафаза митоза, в которой хромосомы значительно деспирализованы, соответствует профазе соматического кроссинговера. Стадия, когда хромосомы наиболее спирализованы и число их соответствует гаплоидному, относится к метафазе. Фаза, при которой хромосомы начинают деспирализовываться и расходиться, образуя V - и Y - образные фигуры, а иногда и хиазмы, мы идентифицировали как анафазу.

Многие авторы отмечали редукцию числа хромосом у цестод,

анеуплоидию и нестабильность каротинов. Douglas (1962) полагал, что в соматических тканях хромосомы цестод находятся в сконъюгированном состоянии. Proffit и Jones (1969) описывали редукцию числа хромосом в эмбрионах цестод и отмечали факт соматической конъюгации хромосом в анафазе.

Douglas (1962) считал, что у цестод могут конъюгировать и негомологичные хромосомы. Наши наблюдения свидетельствуют об обратном. У всех трех видов конъюгировали только гомологичные хромосомы.

Наиболее часто соматическую конъюгацию наблюдали в тканях молодых эмбрионов. По мере дифференциации картины соматической конъюгации исчезают. В шейном отделе стробилы цестод редукции числа хромосом до гаплоидного практически не наблюдали. Зато часто отмечается тенденция к расположению хромосом парами, более или менее близко друг от друга. В тканях растений и животных подобное явление наблюдается довольно часто (Раджаби, 1965; Darlington, 1937). Подобное расположение хромосом парами авторы ассоциировали с соматической конъюгацией.

Уровень анеуплоидии у цестод очень высок. В настоящее время установлено, что в природе широко распространены организмы, которые имеют значительные вариации хромосомных чисел (Щербатов, 1964; Барабашова, 1974 и др.). Считается, что существует спектр различных генотипов, составляющих генофонд популяции, который рассматривается как адаптивная норма вида (Щербатов, 1964).

Кроме того, можно предположить, что у цестод существует внутривидовой и внутривидовой полиморфизм по числу хромосом.

Глава V. ЯВЛЕНИЕ СОМАТИЧЕСКОЙ ПОЛИПЛОИДИИ У ЦЕСТОД *DIPYLIDIUM CANINUM*, *HYDATIGERA TAENIAEFORMIS*, *MONIEZIA EXPANSA*

Явление соматической полиплоидии обнаружено у всех изученных нами видов. Гигантские ядра, изредка распадающиеся на мельчайшие фрагменты, локализуются в субкутикулярной паренхиме,

выстилают стенки матки и места прикрепления эмбрионов. В эмбрионах цестод полиплоидные ядра никогда не наблюдались. Они выявлялись только в дифференцированных тканях.

Главный способ образования полиплоидных структур - эндомитоз. При изучении хода эндомитоза мы установили следующие стадии: эндоинтерфазу, эндопрофазу, эндометафазу, эндоанафазу и эндотелофазу. Эндоинтерфазу определили как состояние гигантских ядер с максимально деспирализованными хромосомами; эндопрофазу, как ядра с хромосомами начинающими спирализоваться, а эндометафазу - как фазу, в которой хромосомы максимально спирализованы.

С переходом на тетра-, окта- и большую ploидность размеры хромосом значительно уменьшаются. Вместе с уменьшением хромосом наблюдается изменение их формы, которая становится все более округлой и даже шаровидной. На тетраплоидном уровне еще можно отличить крупные хромосомы от мелких, а на более высоком уровне ploидности хромосомы становятся неразличимыми.

Часто наблюдаются полиплоидные образования промежуточной ploидности. Как отмечали исследователи эндомитоза (Прокофьева-Бельтовская, 1960; Соколов, 1967; Кикнадзе и Истомина, 1972 и др.) и как наблюдали мы, в большинстве случаев трудно идентифицировать точную фазу, в которой находятся полиплоидные образования. Фазы эндомитоза легче классифицировать как эндопрометафазу, эндометаанафазу, так как в одном полиплоидном образовании можно видеть хромосомы, находящиеся в различных фазах эндомитоза. С асинхронным поведением хромосом в эндомитозе связано появление полиплоидных образований промежуточной ploидности.

Последовательные стадии эндомитоза можно проследить у *D. caninum*, *H. taeniaeformis* и почти никогда у *M. expansa*.

По достижении определенного уровня ploидности мегаллоидные образования распадаются на несколько меньших, иногда ди- и тетраплоидных.

Хромосомы частично деспирализируются и располагаются по периферии полиплоидного комплекса. Из этой области выделяются ди- и тетраплоидные образования, происходит редукция числа хромосом.

Если деспирализации хромосом не наблюдается, тогда огромные, порой имеющие причудливые формы полиплоидные комплексы распадаются на два или несколько меньших.

Иногда наблюдали образования тетра-, октаплоидных комплексов, в которых хромосомы имели обычную форму и процесс эндомитоза не наблюдался. Этот вид полиплоидий, вероятно, возникает в результате синхронного деления близкорасположенных ядер и отсутствия цитотомии.

Полиплоидные образования локализованы в местах активного метаболизма, а также в местах прикрепления эмбрионов. Они играют, по-видимому, трофическую роль. Аналогичную роль выполняют полиплоидные образования, выстилающие стенки матки круглых червей, стенки семенных канальцев у пауков, трофобласт млекопитающих и трофоциты насекомых.

Развитие множества полиплоидных образований в местах локализации эмбрионов, по-видимому, связано с чрезвычайным развитием полевой системы и необходимостью формирования огромного числа эмбрионов у цестод.

Полиплоидия у цестод играет компенсаторно-прогрессивную роль в связи с малым числом митозов у них.

В В О Д Ы

1. Исследования соматических хромосом у *Dipylidium caninum*, *Hudatigera taeniaeformis* и *Moniezia expansa* наиболее целесообразно проводить на препаратах, приготовленных из шейных и гермафродитных отделов цестод.

2. Лучшие результаты для изучения числа и структуры хромосом получены путем приготовления препаратов с применением деспирализующего агента версена и методики диспергирования.

3. У *D. caninum* имеет место гиногенез. После восстановления диплоидного числа хромосом и элиминации мужского проуклеуса не происходит дробления и образования blastomerov, но происходит ряд последовательных митотических делений и образование симпластической проонкосферы.

4. В эмбрионах исследованных цестод уровень митотической

активности велик и достигает у *D. caninum* 24,7%, у *H. taeniaeformis* - 28,4, у *M. expansa* - 27,3% за 10 часов культивирования в питательной среде.

В шейных отделах стробилы цестод уровень митотической активности значительно меньше: у *D. caninum* - 3,1%, у *H. taeniaeformis* - 7,3, *M. expansa* - 4,8% за 10 часов культивирования.

В гермафродитных и зрелых проглоттидах стробилы цестод уровень митотической активности мал и составляет для *D. caninum* - 1,97%, *H. taeniaeformis* - 1,75, *M. expansa* - 1,8 за 10 часов культивирования.

5. Наряду с падением митотической активности в гермафродитных и зрелых отделах стробилы наблюдается амитоз.

6. На основании кариологического анализа диплоидный набор *D. caninum* равен 16, основное число плеч - 24; диплоидный набор *H. taeniaeformis* составляет 14, основное число плеч - 24; диплоидный набор *M. expansa* - 12, основное число плеч - 12.

7. Хромосомы диплоидных наборов *D. caninum* и *H. taeniaeformis* могут быть по своим размерам разделены на три размерные группы. Морфология хромосом этих видов как мета-, субметacentрическая, так и акроцентрическая. Все хромосомы *M. expansa* акроцентрические.

8. У всех исследованных нами видов цестод очень высок уровень анеуплоидии, и число гиподиплоидных пластинок превышает число гипердиплоидных.

9. У *D. caninum*, *H. taeniaeformis* и *M. expansa* имеет место соматическая конъюгация, которая происходит в анафазе митоза и приводит к редукции числа хромосом. Соматическая конъюгация происходит только в эмбрионах цестод.

10. Соматическая полиплоидия отсутствует в эмбрионах и появляется в тканях гермафродитных и зрелых члеников стробилы по мере дифференциации тканей и старения проглоттид.

11. У цестод существует два типа полиплоидизации: основной механизм - эндомитоз, в результате которого образуются мегаллоидные структуры, другой механизм - образование полиплоидных структур более низкой ploidy в результате нарушения хода митоза и отсутствия цитотомии.

12. Полученные данные хромосомных чисел цестод *D. canium*, *H. taeniaeformis* и *M. ехранае* подкрепляют существующее мнение о возможности происхождения цестод от бескишечных турбеллярий.

По материалу диссертации опубликованы следующие работы

1. К вопросу о строении и развитии раннего эмбриона цестод-цепней (в соавторстве с Е.Д.Логачевым, В.Р.Богдановым, Л.В.Решетниковой). В сб.: "Вопросы биологии", Кемерово, 1970, с. 8-10.

2. К методикам культивирования тканей цестод для кариологических исследований. Тезисы докладов IV научной конференции, посвященной теоретическим и практическим вопросам цитологии, генетики и паразитологии. Кемерово, 1971, с. 12-13.

3. Кариотипические особенности цестоды *Dipylidium canium* (Cestoda, Dipylidiidae). Зоологический журнал, 1973, т.52, № II, с. 1607-1610.

4. Материалы к вопросу о динамике хромосомных структур в ранних эмбрионах цестод (в соавторстве с Е.Д.Логачевым). Тезисы докладов конференции по проблеме "Основные паразитарные болезни, их предупреждение и лечение". Ростов-на-Дону, 1973, с. 7-8.

5. К методике культивирования тканей цестод для кариологических исследований. Тезисы докладов V научной конференции, посвященной теоретическим и практическим вопросам паразитологии. Кемерово, 1974, с.16-17.

6. О выявлении полиплодии и соматической конъюгации у некоторых цестод. Там же, с. 18-19.

7. Эндомитоз у цестоды *Dipylidium canium* (Cestoda, Dipylidiidae) (в соавторстве с Е.Д.Логачевым). Цитология и генетика, 1976, № 4, с. 364-366.

8. Процесс олигомеризации хромосомного аппарата при эволюции цестод (в соавторстве с Е.Д.Логачевым). Тезисы докладов XIV международного генетического конгресса. Секционные заседания, ч. I (Секции I-12). Изд-во "Наука", М., 1978, с. 265.