

УДК 591.69-8.279.22(282.247.212)

ТРЕМАТОДА *NEMATOSTRIGEA SERPENS* (NITZSCH 1819) SANDGROUND 1934 – НОВЫЙ ВИД В ПАРАЗИТОФАУНЕ ПТИЦ КАРЕЛИИ

© 2016 г. Д. И. Лебедева, Г. А. Яковлева

Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск 185910, Россия

e-mail: daryal78@mail.ru

Поступила в редакцию 29.09.2014 г.

Приведены данные о находке трематод *Nematostrigea serpens* в кишечнике скопы (*Pandion haliaetus*) на территории Карелии. Даны краткая морфологическая характеристика, рисунки гельминта, дифференциальный диагноз с близкородственными формами. Получены нуклеотидные последовательности участка 28S рРНК, одна из них депонирована в базу ГенБанка (KF434762).

Ключевые слова: *Nematostrigea serpens*, скопа, Карелия

DOI: 10.7868/S0044513416020124

Трематода *Nematostrigea serpens* – представитель семейства Strigeidae, облигатный паразит скопы (*Pandion haliaetus*). Он также иногда встречается в кишечнике и других видов хищных и рыбоядных птиц – черного коршуна (*Milvus migrans* Boddaert 1783), орлана-белохвоста (*Haliaeetus albicilla* L. 1758), ястреба-тетревятника (*Accipiter gentilis* L. 1758), морской (*Larus marinus* L. 1758) и озерной (*Larus ridibundus* L. 1766) чаек (Судариков, 1959, 1984; Быховская-Павловская, 1962; Sitko et al., 2006; Gottschalk, Prange, 2011). В составе рода выделяют 2 вида: *Nematostrigea serpens* (Nitzsch 1819) Sandground 1934 и *N. hepatica* Dubois 1937. В 1950 г. из вида *N. serpens* был выделен подвид *N. serpens annulata*, паразитирующий в кишечнике североамериканской скопы (Судариков, 1959). Однако в настоящее время некоторыми исследователями он не признается валидным (Kinsella et al., 1996).

Трематода *N. serpens* является довольно редким видом, встречающимся спорадически и в единичных количествах. Сведения о жизненном цикле этих паразитов очень скудны. Единичный случай обнаружения метацеркарий этого рода, получивших название *N. vietnamiensis*, отмечен у змееголова (*Channa gachua* Hamilton 1822) во Вьетнаме (Жохов, Мишина, 2011).

На территории России представители *N. serpens* найдены у птиц в Калининградской обл., в районе Рыбинского водохранилища и в Среднем Поволжье (Шигин, 1959; Судариков, 1984; Кириллов и др., 2012). В странах Европы мариты этого вида зарегистрированы в Польше, Германии,

Чехии, Италии, Венгрии, Латвии, Украине (Krone, 2000; Kalisińska et al., 2008; Gibson, 2013).

При изучении гельминтофауны скопы, погибшей в садке на форелевом хозяйстве в северо-западной части Ладожского оз., нами были обнаружены 16 экз. трематод, идентифицированных как вид *Nematostrigea serpens* (Лебедева и др., 2013). Учитывая факт первой находки трематод этого рода в Карелии, а также скудность сведений о паразитах этого рода в целом, мы приводим морфологическое описание найденных гельминтов и данные по исследованию участка большой субъединицы рДНК (28S, домены D1–D3). Этот маркер был успешно использован для дифференциации различных групп организмов, в том числе и трематод (Olson et al., 2003; Sonnenberg et al., 2007).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Паразитологическое обследование проводилось по общепринятой методике (Дубинина, 1971). Трематоды были зафиксированы в 96° этиловом спирте, окрашены уксусно-кислым кармином с последующим обезвоживанием в спиртах возрастающей крепости, просветлением в диметилфталате и заключением в канадский бальзам. Паразиты идентифицированы по ключам Сударикова (1959, 1984) и Невядомской (Niewiadomska, 2010). Исследование морфологии паразитов выполнено на оборудовании ЦКП НО ИБ КарНЦ РАН (микроскоп Olympus CX-4, видеокomплекc Levenhuk C1400 NG, ПО Levenhuk ToupView, V.3.5 Levenhuk, Inc.). Для морфологической характеристики вида было измерено 15 фиксированных окра-

шенных гельминтов, среди которых были как неполовозрелые, так и половозрелые особи. Приведенные размеры трематод даны в миллиметрах.

Выделение ДНК проводилось солевым методом из зафиксированных 96° этиловым спиртом образцов (Miller et al., 1988). Для проведения ПЦР-реакции использованы праймеры DIG12 (5'-AAGCATATCACTAAGCGG-3') и 1500R (5'-GCTATCCTGAGGGAAACTTCG-3'), для секвенирования дополнительно применялись праймеры 300F и ECD2 (Olson et al., 2003). Секвенирование образцов проведено на секвенаторе ABI 3130 (PE Applied Biosystems) ЦКП "Таксон" ЗИН РАН с использованием стандартных наборов (Big Dye Terminator cycle kit). Обработка и выравнивание последовательностей проведены в программах BioEdit v. 7.1.3 и MEGA v. 5.2.0. Для расчетов и визуализации деревьев на основе участков длиной 1120 п.н. использован алгоритм анализа дискретных признаков (максимального правдоподобия, ML), модель – GTR+G. Для оценки устойчивости топологии деревьев был выбран бутстрэп-тест 500 реплик. Для филогенетического анализа привлечены последовательности участка 28S различных представителей семейства Strigeidae из ГенБанка (GenBank). Генетическая дистанция между последовательностями рассчитывалась в программе MEGA v. 5.2.0. Одна из полученных последовательностей аннотирована в ГенБанк (GenBank) под номером KF434762. Постоянные препараты *Nematostrigea serpens* хранятся в коллекции Лаборатории паразитологии животных и растений Института биологии КарНЦ РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаруженные гельминты *N. serpens* (рис. 1) локализовались в передней части тонкого кишечника.

Тело трематод вытянутое, длиной 7.6–20.8 (15.2). Передний конец воронковидной формы, его размеры 0.62–1.49 (1.05) × 0.83–1.42 (1.03). Во впадине переднего сегмента располагается двухлопастной орган Брандеса. Его размеры 0.19–0.38 (0.28) × 0.16–0.37 (0.27). Граница между сегментами четкая, с выраженной "шейной" частью. Задний сегмент гораздо уже переднего, но длиннее последнего в 11–13 раз. Размеры заднего сегмента 0.39–0.84 (0.59) × 0.33–0.77 (0.52).

Ротовая присоска по размерам меньше брюшной. Ее длина 0.07–0.14 (0.1), ширина 0.09–0.18 (0.1). Псевдоприсоски длиной 0.38–0.57 (0.48). Фаринкс достаточно крупный 0.03–0.11 (0.08) × 0.03–0.09 (0.07), примыкает вплотную к ротовой присоске.

Брюшная присоска расположена в средней части переднего сегмента, ее размеры – 0.12–0.22 (0.16) × 0.1–0.26 (0.18).

Яичник и семенники расположены друг за другом в самом конце заднего сегмента. Яичник овальной формы, 0.13–0.4 (0.25) мм длиной и 0.16–0.44 (0.28) мм шириной. Семенники не лопастные, задний крупнее переднего. Их размеры – 0.38–0.75 (0.53) × 0.29–0.62 (0.46) и 0.39–0.84 (0.59) × 0.33–0.77 (0.52) мм, соответственно.

Яйца многочисленные, размером 0.09–0.12 (0.11) × 0.05–0.08 (0.06).

Дифференциальный диагноз: по совокупности морфологических признаков обнаруженные нами трематоды соответствуют роду *Nematostrigea*. От других представителей семейства Strigeidae трематоды этого рода отличаются четко отделенными друг от друга сегментами тела, с выраженной "шейной" частью между ними. Передний сегмент чашевидный, имеет неглубокую вентральную впадину, лопасти органа Брандеса уплощены, не выступают за края чаши переднего сегмента. Соотношение длины заднего и переднего сегментов у нематостригей 8.5–25 (Судариков, 1959). В нашем случае мы наблюдаем превышение длины заднего сегмента над передним в 11–13 раз. У близких родов *Cardiocephaloides* и *Ophiosoma* этот показатель составляет 4–8.5 и 6–17, соответственно. Эти показатели перекрываются с характерными показателями для рода *Nematostrigea*. По другим морфологическим признакам (развитию и размеру присосок, форме органа Брандеса, расположению и форме полового конуса, распределению желточников в сегментах тела) представители трех вышеуказанных родов различаются.

Трематоды рода *Nematostrigea* отмечены как паразиты дневных хищных птиц и чаек. Только вид *Nematostrigea serpens* – облигатный паразит скопы, локализующийся в тонком кишечнике (Судариков, 1959).

При сравнении морфологических характеристик обнаруженных нами гельминтов с уже опубликованными данными по *N. serpens* не было выявлено различий в строении червей. Также при сопоставлении размерных характеристик (таблица) обнаруженные нами гельминты оказались достаточно близки по своим размерам к экземплярам *N. serpens* и *N. serpens anullata* (Dubois, 1938; Dubois, Rausch, 1950 – цит. по: Судариков, 1959). Эти паразиты были описаны из кишечника скопы Европы и США, соответственно. Наши экземпляры были сходны с ними по ширине заднего сегмента, размерам ротовой и брюшной присосок, яичника, переднего семенника и яиц (таблица).

Однако по длине тела паразиты из скопы Карелии достигают почти таких же значений, что и вид *N. hepatica*, найденный в печени у молотоглава (*Scopus umbretta*). Размеры ротовой и брюшной присосок, яичника, семенников и яиц наших эк-

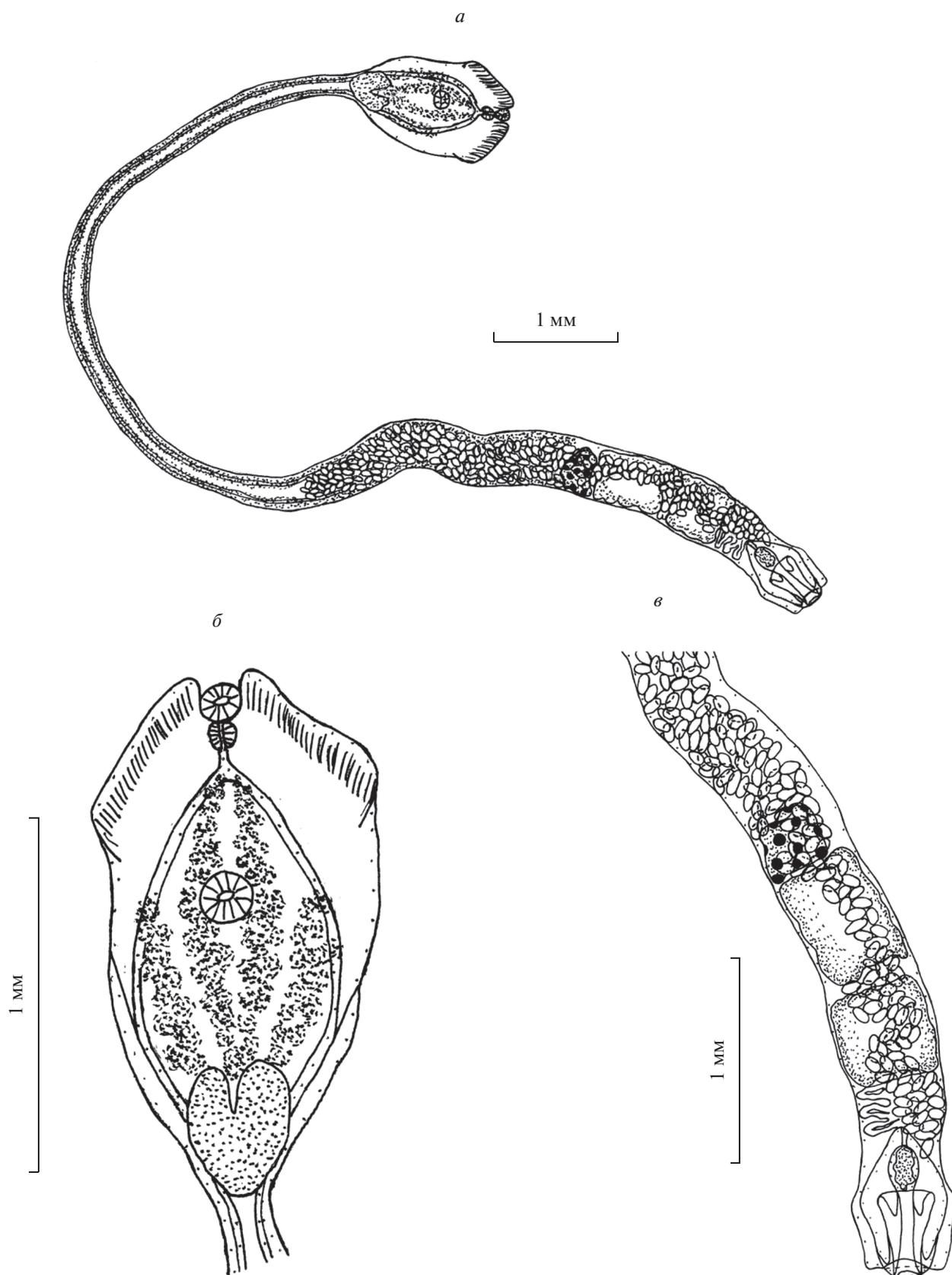


Рис. 1. *Nematostriega serpens*, скопа, Ладожское оз. (ориг.): а — общий вид, б — передний сегмент, в — задний конец тела.

Размеры тела трематод рода *Nematostriega* по разным данным

Признак, мм	<i>N. serpens</i> (Ладожское оз.)	<i>N. serpens</i> (Дюбуа, 1938 по: Судариков, 1959)	<i>N. serpens annulata</i> (Дюбуа, Рауш, 1950 по: Судариков, 1959)	<i>N. hepatica</i> (Дюбуа, 1937 по: Судариков, 1959)	<i>N. vietnamensis</i> mtc (Жохов, Мишина, 2011)
	мин.—макс.	мин.—макс.	мин.—макс.	мин.—макс.	мин.—макс.
Длина тела	7.6–20.8 (15.2)	10.46–13.37	до 13.5	8.25–21.4	17.7–30.5 (24.3)
Передний сегмент					
длина	0.62–1.49 (1.05)	0.87–0.96	0.72–0.99	0.7–1	1.0–1.5 (1.14)
ширина	0.83–1.42 (1.03)	0.6–0.7	0.6–0.75	0.3–0.4	0.6–0.9 (0.78)
Задний сегмент					
длина	6.61–19.3 (13.9)	9.5–12.5	8.7–12.6	7.55–20.9	11.5–29.0 (22.4)
ширина	0.46–0.94 (0.7)	0.67–0.75	0.46–0.69	0.4–0.75	0.9–2.14 (1.26)
Ротовая присоска					
длина	0.07–0.14 (0.1)	0.1	0.75	0.11–0.12	0.14–0.17 (0.16)
ширина	0.09–0.18 (0.1)	0.13	0.1	0.095–0.1	0.16–0.23 (0.19)
Брюшная присоска					
длина	0.12–0.22 (0.16)	0.162	0.14	0.19–0.225	0.11–0.18 (0.14)
ширина	0.1–0.26 (0.18)	0.17	0.17	0.16–0.18	0.18–0.26 (0.22)
Фаринкс					
длина	0.03–0.11 (0.08)	0.08	0.045	0.9	0.13–0.14 (0.13)
ширина	0.03–0.09 (0.07)	0.06–0.072	0.053	–	0.07–0.11 (0.09)
Орган Брандеса					
длина	0.19–0.38 (0.28)	–		–	0.21–0.39 (0.28)
ширина	0.16–0.37 (0.27)				0.29–0.45 (0.37)
Псевдоприсоски					
длина	0.38–0.57 (0.48)	–	0.22–0.24	0.34–0.45	0.14–0.23 (0.19)
Яичник					
длина	0.13–0.4 (0.25)	0.195–0.2	0.25	0.13–0.14	–
ширина	0.16–0.44 (0.28)	0.26–0.37	0.3	0.2	–
Передний семенник					
длина	0.38–0.75 (0.53)	0.52–0.57	0.41–0.57	0.33–0.34	0.11–0.23 (0.15)
ширина	0.29–0.62 (0.46)	0.495–0.72	0.36–0.63	0.3	0.045–0.072 (0.061)
Задний семенник					
длина	0.39–0.84 (0.59)	0.63	0.44–0.64	0.38–0.395	0.072–0.189 (0.15)
ширина	0.33–0.77 (0.52)	0.55–0.72	0.4–0.63	0.28–0.315	0.045–0.01 (0.063)
Яйца					
длина	0.09–0.12 (0.11)	0.09–0.105	0.095–0.11	0.084–0.096	–
ширина	0.05–0.08 (0.06)	0.06–0.072	0.062–0.073	0.052–0.06	–

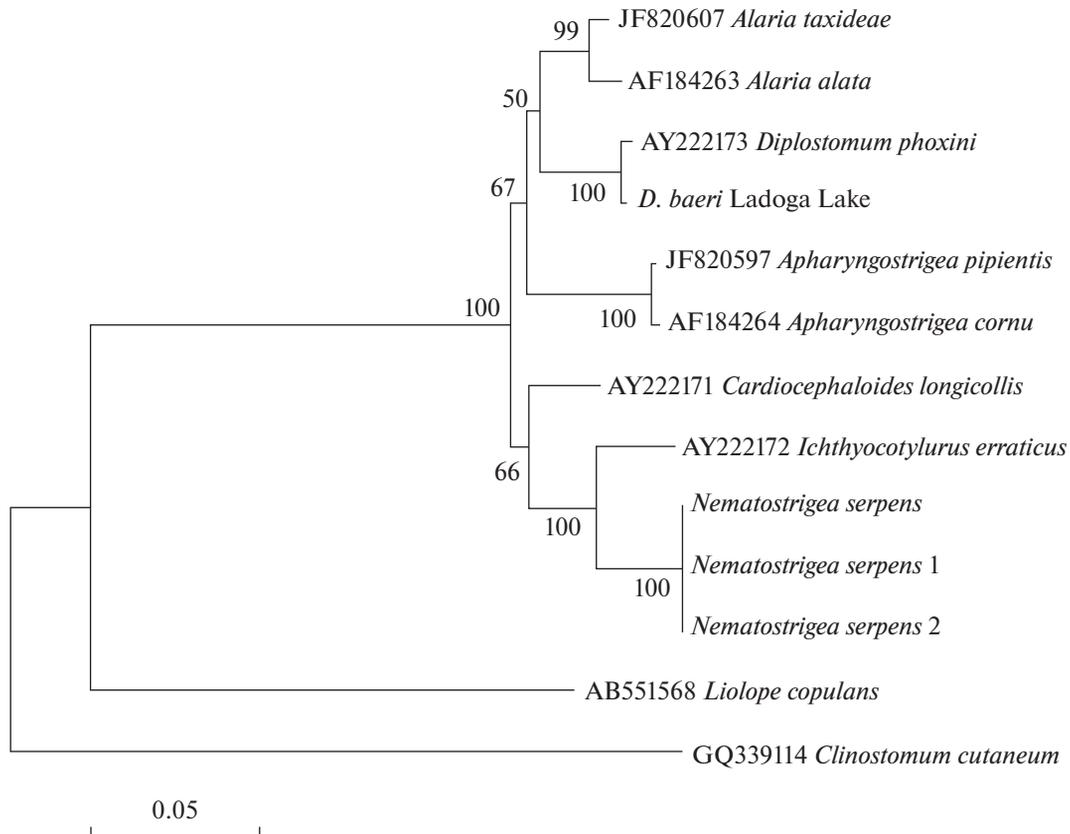


Рис. 2. Кладограмма взаимоотношений вида *Nematostriega serpens* с представителями надсемейства Diplostomoidea по участку 28S рДНК, созданная методом “максимальной вероятности” (ML, GTR+G). Для построения дерева использованы последовательности трематод семейства Strigeidae из базы ГенБанка. Последовательность *Clinostomum cutaneum* выступает в качестве аутгруппы.

земляров и *N. hepatica* также перекрываются (таблица). Отличительными чертами этих видов гельминтов является локализация желточников, которые у трематод *N. hepatica* расположены в заднем сегменте в виде периферических полос и доходят до уровня пологого конуса (Dubois, 1938 — цит. по: Судариков, 1959).

По сравнению с метацеркариями *N. vietnamiensis* (Жохов, Мишина, 2011) паразиты из кишечника скопы в Карелии имеют гораздо меньшие размеры длины и ширины тела, ротовой и брюшной присосок, фаринкса, органа Брандеса (таблица). Тогда как органы репродуктивной системы *N. vietnamiensis* намного мельче, поскольку находятся в зачаточном состоянии.

Учитывая перекрывание показателей размеров тела и органов трематод рода *Nematostriega*, можно предположить, что эти показатели являются надежным видовым признаком только в совокупности с данными о виде хозяина, локализации в кишечнике и расположении желточников в заднем сегменте гельминтов.

В дополнение к идентификации трематод *N. serpens* по морфологическим признакам был

проведен молекулярно-генетический анализ участка 28S рДНК. Он подтвердил выделение найденных нами особей в качестве видовой клады (рис. 2). Между собой полученные последовательности исследованного участка ДНК *N. serpens* оказались идентичными. Трематоды рода *Nematostriega* в настоящее время отнесены к подсемейству Strigeinae Railett 1919, куда входят представители еще 11 родов (Niewiadomska, 2002). К сожалению, в базе ГенБанка имеются последовательности только некоторых из них. Однако, как видно из полученной дендрограммы, наиболее близкими к виду *N. serpens* являются трематоды родов *Ichthyocotylurus* и *Cardiocephaloides*. Молекулярные данные подтверждают включение паразитов *N. serpens* на основании морфологических признаков в подсемейство Strigeinae Railett 1919. Хотя ранее Судариков (1984) выделял представителей этого рода в отдельное подсемейство Cotylurinae Dubois 1936.

Полученные данные о распространении, морфологии и нуклеотидным последовательностям 28S рДНК *N. serpens* могут быть использованы при видовой дифференциации паразитов (в том числе и на личиночной стадии), зоогеографиче-

ского анализа, а также для филогенетических исследований трематод.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы признательны С.К. Семеновой (Институт биологии гена РАН) за консультации при анализе молекулярно-генетических данных.

Финансовое обеспечение исследований выполнено за счет средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (0221-2014-0004) и Гранта Президента РФ (МК-5350.2015.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Быховская-Павловская И.Е., 1962. Трематоды птиц СССР. М.—Л.: Изд. АН СССР. 407 с.
- Дубинина М.Н., 1971. Паразитологическое исследование птиц. Л.: Наука. 139 с.
- Жохов А.Е., Мишина Е.Е., 2011. Новая метацеркария *Nematostrigea vietnamiensis* sp. n. (Trematoda, Strigeidae) из пресноводной рыбы *Channa gachua* (Perciformes, Channidae), Центральный Вьетнам // Зоологический журнал. Т. 90. № 10. С. 1268–1270.
- Кириллов А.А., Кириллова Н.Ю., Чихляев И.В., 2012. Трематоды наземных позвоночных Среднего Поволжья. Тольятти: Кассандра. 329 с.
- Лебедева Д.И., Яковлева Г.А., Артемьев А.В., 2013. К изучению паразитов скопы (*Pandion haliaetus*) Северо-Запада России // Паразитология. Т. 47. № 2. С. 130–135.
- Судариков В.Е., 1959. Отряд Strigeidida (LaRue, 1926) Sudarikov, 1959. Подотряд Strigeata La Rue, 1926 // Скрыбин К. И. Трематоды животных и человека. Т. 16. М.: Наука. С. 296–621.
- Судариков В.Е., 1984. Трематоды фауны СССР. Стригеиды. М.: Наука. 168 с.
- Шугин А.А., 1959. К гельминтофауне рыбоядных птиц отрядов гусеобразных (Anseres) и хищных (Accipitres) Рыбинского водохранилища. Труды Дарвинского заповедника. Т. V. С. 315–331.
- Gibson D. 2013. База данных “Fauna Europea”. Режим доступа: http://www.faunaeur.org/distribution_table.php. Дата обновления: 29.08.2013.
- Gottschalk C., Prange H., 2011. Parasites in birds at Mellum, an island in German coastal waters of the North Sea // Der Zoologische Garten N.F. V. 80. P. 29–86.
- Kinsella J.M., Cole R.A., Forrester D.J., Roderick C.L., 1996. Helminth parasites of the osprey, *Pandion haliaetus*, in North America // Journal of the Helminthological Society of Washington. V. 63. P. 262–265.
- Kalisińska E., Rząd I., Sitko J., Kavetska K.M., Królaczyk K., Budis H., 2008. Digenea of *Haliaeetus albicilla* (Linnaeus 1758) and *Pandion haliaetus* (Linnaeus 1758) from middle and north-western Poland // Wiadomości Parazytologiczne. V. 54. № 4. P. 349–351.
- Krone O., 2000. Endoparasites in free-living birds of prey from Germany // Raptor biomedicine III. Zoological Education Network, Lake Worth, FL. P. 101–116.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // Nucleic Acids Research. V. 16. P. 1215.
- Niewiadomska K., 2002. Family Strigeidae Railliet 1919 // D.I. Gibson, A. Jones and R.A. Bray (eds.). Keys to the Trematoda Wallingford: CABI Publishing and The Natural History Museum. P. 231–241.
- Niewiadomska K., 2010. Rodzaj *Nematostrigea* Sandground 1934. Przywry (Trematoda): część ogólna; część systematyczna – Aspidogastrea, Digenea: Strigeida. Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź. P. 277–278.
- Olson P.D., Cribb T.H., Tkach V.V., Bray R.A., Littlewood D.T.J., 2003. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) // International Journal for Parasitology. V. 33. P. 733–755.
- Sitko J., Faltýnková A., Scholz T., 2006. Checklist of the Trematodes (Digenea) of Birds of the Czech and Slovak Republics. Praha: Academia. 112 p.
- Sonnenberg R., Nolte A.W., Tautz D., 2007. An evaluation of LSU rDNA D1–D2 sequences for their use in species identification // Frontiers in Zoology. V. 4. № 6. P. 1–12.

TREMATODA *NEMATOSTRIGEA SERPENS* (NITZSCH 1819) SANDGROUND 1934, A NEW SPECIES IN THE PARASITE FAUNA OF BIRDS IN KARELIA

D. I. Lebedeva, G. A. Yakovleva

Institute of Biology, Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk 185910, Russia
e-mail: daryal78@mail.ru

The data on trematoda *Nematostrigea serpens* in the Republic of Karelia are presented. This parasite was found in the intestine of osprey (*Pandion haliaetus*) for the first time. A brief morphological characterization, description, and drawings of the parasite and its differential diagnosis with closely related forms are given. A nucleotide sequence of the D1–D3 region of LSU (28S) rRNA was obtained and deposited to the GenBank (KF434762).

Keywords: *Nematostrigea serpens*, osprey, Karelia