WIADOMOŚCI PARAZYTOLOGICZNE
T. 48 (1) 2002: 79–85

WPŁYW DOBORU TASIEMCÓW MACIERZYSTYCH LINII WSOBNEJ *HYMENOLEPIS DIMINUTA* WMS IL1 NA ZMIENNOŚĆ CECH U TASIEMCÓW POTOMNYCH

MAREK STRADOWSKI

Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii, Akademia Medyczna,
ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa

ABSTRACT. Influence of the selection of maternal *Hymenolepis diminuta* WMS il1 on the variability of descended tapeworms. A continuation of a single-individual culture of *Hymenolepis diminuta* WMS il1 from generations 37 to 66 revealed a very high infective ability of cysticercoids which is reflected in the percentage of tapeworms detected in relation to the number of cysticercoids given to rats (94.4%). The tapeworms investigated revealed a significant increase in the abundance of type 0p3a proglottids (those with no testes on the poral side and 3 on the aporal) in tapeworms of successive generation groups. Each group of tapeworms analysed statistically belonged to three successive generations and numbered 31–34 individuals. The mean abundances of 0p3a type proglottids in tapeworms of the first groups studied in experiment, including generations 37–39 and 40–42 were 9.2% and 9.5%, respectively. The last studied groups, including generations 61–63 and 64–66 had higher mean numbers of type 0p3a proglottids, at 11.1% and 11.5%, respectively. The quantitative figures of 1p3a type proglottids amounted to 1.6% and 1.3% in first generation groups and in the last two groups 0.8% and 1.0%, respectively. The probable cause of this significant ($P < 0.01$) relative increase in the numbers of 0p3a type proglottids and decrease ($P < 0.01$) in the numbers of 1p3a type proglottids was the deliberate selection of maternal tapeworms characterized by numbers of 0p3a type proglottids greater and 1p3a type proglottids smaller than the average for their generation.

Key words: continued selfing, *Hymenolepis diminuta*.

WSTĘP

Niewiele jest publikacji na temat hodowli wsobnych tasiemców, które udało się prowadzić przynajmniej przez kilka pokoleń. Należą do nich badania nad *Hymenolepis microstoma* (Jones i wsp. 1971), *Hymenolepis nana* (Rogers i Ulmer 1963, Nakamura i Okamoto 1993) oraz *Hymenolepis diminuta* (Stradowski 1994a). Porównanie budowy proglotydów u wsobnych tasiemców *H. diminuta* i *H. nana* mogłoby dostarczyć interesujących danych, gdyż Rogers i Ulmer (1963) stwierdzili u *H. nana* zmiany położenia zatok płciowych oraz zmienność liczby i położenia jąder, które to cechy były wielokrotnie opisywane u *H. diminuta*, ostatnio przez Stradowskiego (1998a). Okazało się jednak, że cysticerkoidy *H. nana* szybko utraciły aktywność inwazyjną już w 5 pokoleniu co uniemożliwiło dalszą hodowlę (Rogers i Ulmer 1963). Nie można wykluczyć,

że nastąpiło to w wyniku powstania cechy letalnej z powodu samozapłodnienia w obrębie tego samego członu, albo pomiędzy różnymi członami z powstaniem genotypu letalnego uniemożliwiającego wczesną ontogenezę. Nakamura i Okamoto (1993) wyhodowali 27 wsobnych pokoleń *H. nana* lecz określili tylko liczby wykrytych tasiemców w stosunku do liczby podanych cysticerkoidów, ich ciężar i liczby proglotydów macicznych. Nie prowadzili przy tym celowego doboru osobników macierzystych, a taki sposób hodowli, jak to wynika z badań nad *H. diminuta* (Stradowski 1994a), pozwala na prześledzenie kształtowania się cech przekazywanych tasiemcom następnych pokoleń. Z przeglądu literatury wynika, że aktualnie nie prowadzi się innej, poza *H. diminuta* WMS il1 hodowli wsobnej tasiemców, a przecież hodowle takie mogą przyczynić się do wzbogacenia naszej wiedzy na temat sposobów dziedziczenia się cech. Hodowla wsobna utrzymywana przez wiele pokoleń powinna, zgodnie z regułami dziedziczności, doprowadzić do powstania osobników o dużym stopniu homozygotyczności. Uzyskanie homozygoty recesywnej pod względem jednego lub większej liczby genów umożliwiłoby używanie takich osobników jako testujących w krzyżówkach wstecznych testowych. U tasiemców brak jest w zasadzie łatwo dostrzegalnych cech, które występują u klasycznych obiektów badań genetycznych, ale *H. diminuta* należy do tych wyjątkowych tasiemców, które charakteryzują się dogodnymi do obserwacji cechami. Należą do nich zwłaszcza topografia i liczba jąder w proglotydach, widoczna po zabarwieniu odpowiednimi metodami. Poznanie tego typu zmienności, dostępnej do badań w dużej części strobili liczącej setki proglotydów, może przyczynić się do poznania sposobów dziedziczenia się takich cech u tasiemców. Badania nad próbami celowego ukierunkowania zmienności dotyczącej liczebności proglotydów określonego typu wykazały powodzenie takich działań. Okazało się bowiem, że proglotydy typu 0p3a (zawierające wszystkie 3 jądra pomiędzy jajnikiem a stroną aporalną proglotydu), które stanowiły kryterium selekcji pozytywnej u tasiemców macierzystych w ciągu 36 pokoleń wsobnych *H. diminuta*, zwiększyły w istotnym stopniu ($P < 0.05$) swą względną liczebność u tasiemców potomnych (Stradowski 1994a). Wyniki badań wskazują, że zmienność ta nie jest cechą dziedziczącą się w prosty Mendlowski sposób, ale przypomina typ dziedziczenia poligenicznego lub wieloczynnikowego, które są znacznie trudniejsze do interpretacji. Celem pracy było dalsze badanie efektów hodowli wsobnej kontynuowanej przez następnych 30 pokoleń *H. diminuta* WMS il1 przy stałym doborze tasiemców macierzystych odznaczających się stosunkowo dużą liczebnością proglotydów typu 0p3a i małą typu 1p3a. Zwrócono uwagę zwłaszcza na aktywność inwazyjną cysticerkoidów, długość tasiemców oraz kształtowanie się liczebności określonych typów proglotydów.

MATERIAŁ i METODY

Tasiemce należące do kolejnych 37–66 wsobnych pokoleń *Hymenolepis diminuta* uzyskiwano w wyniku zarażenia szczurów, samców rasy WAG alb. w wieku 1 do 1,5 miesiąca pojedynczymi cysticerkoidami. Jako żywiciel pośredni służyły owady *Tribolium castaneum*, z których otrzymywano cysticerkoidy 6 tygodni po kontakcie z onkosferami. Onkosfery użyte do wyhodowania tasiemców kolejnych wsobnych pokoleń pochodziły z pojedynczego proglotydu odizolowanego z odpowiedniego tasiemca macierzystego dla pokolenia następnego. Sekcje szczurów wykonywano 2,5 miesiąca po zarażeniu, co w połączeniu z czasem hodowli larw inwazyjnych określało pełny czas hodowli każdego pokolenia na 4 miesiące. Długość tasiemców mierzono po 28 do 34 godzinach przechowywania ich w roztworze fizjologicznym w cieplarce w temperaturze 24–25°C. Jako tasiemce macierzyste dla kolejnych pokoleń dobierano takie, które charakteryzowały się większą liczebnością proglotydów typu 0p3a niż wynosiła średnia liczebność takich proglotydów w pokoleniu do którego należały. W przypadku gdy dwa lub kilka tasiemców miało podobnie wysokie wartości liczbowe tej cechy wyznaczano jako macierzystego takiego, który miał przy tym stosunkowo mało proglotydów typu 1p3a. Spodziewano się uzyskać w ten sposób w dalszych pokoleniach tasiemce różniące się coraz bardziej liczebnością proglotydów typu 0p3a i 1p3a. Badano proglotydy hermafrodytyczne o typowym trapezowatym kształcie z zatoką płciową umieszczoną na bocznej krawędzi. Do przedstawienia wyników badań i opracowań statystycznych połączono uzyskane tasiemce w grupy utworzone z kolejnych 3 pokoleń w 12-miesięcznych cyklach hodowli. Pozostałe, nie przedstawione tu metody badań, podaje Stradowski (1994a). U 36 szczurów służących jako kontrola warunków antyinwazyjnych nie stwierdzono tasiemców, natomiast u zarażanych występował tylko jeden lub rzadziej – nie wykryto tasiemca.

WYNIKI

Ogólna liczba zbadanych tasiemców wynosi 322, zaś proglotydów 170680. W całym okresie prowadzenia jednoosobnikowych hodowli *H. diminuta* notowano wysoką aktywność inwazyjną cysticerkoidów, na co wskazuje wysoki odsetek liczby wykrytych tasiemców w stosunku do liczby podanych cysticerkoidów wynoszący średnio 94.4%. Okres prepatentny trwał od 14 do 16 dni, średnio 15,1 dni. Długość badanych tasiemców nie wykazywała wyraźnych różnic w pogrupowanych pokoleniach po 3 w jednorocznych cyklach hodowli (Tabela 1).

Każda badana strobila złożona była z proglotydów typowych – 1p2a, czyli zawierających jedno jądro pomiędzy jajnikiem a stroną poralną wyznaczoną położeniem zatoki płciowej i dwa jądra pomiędzy jajnikiem a stroną aporalną proglotydu. U każdego z badanych tasiemców występował jeszcze przynaj-

Tabela 1. Długość tasiemców *Hymenolepis diminuta* WMS il1 w kolejnych grupach pokoleń

Grupa pokoleń	Numery pokoleń	Liczba tasiemców	Długość tasiemców w mm			
			od	do	średnio	SD
1	37–39	33	866	1107	983.4	66.8
2	40–42	32	867	1111	982.9	74.1
3	43–45	34	880	1078	975.9	61.9
4	46–48	31	894	1123	999.5	70.7
5	49–51	32	878	1086	973.3	63.1
6	52–54	33	867	1102	968.7	61.0
7	55–57	31	870	1173	990.5	80.4
8	58–60	31	855	1132	978.5	65.4
9	61–63	32	882	1132	976.9	75.5
10	64–66	32	870	1094	968.7	68.3

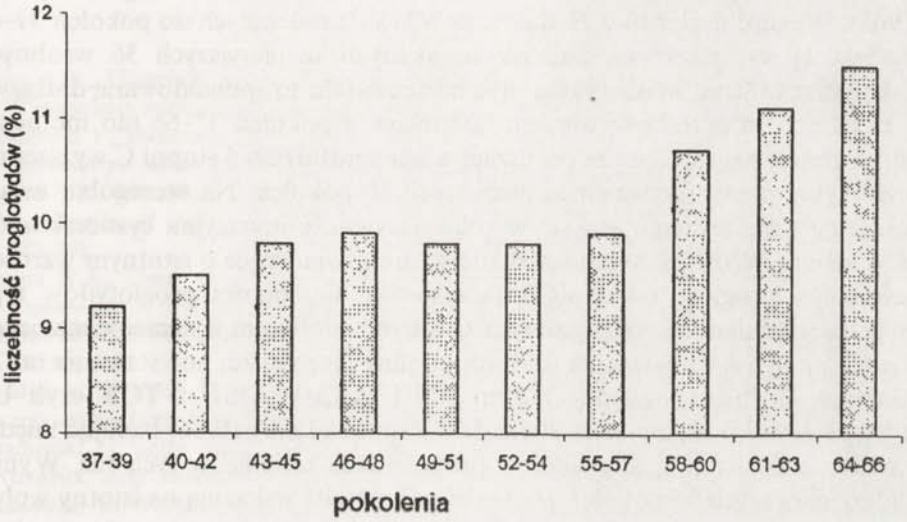
mniej jeden typ a najczęściej kilka innych typów proglotydów. Dla porównania liczebności proglotydów określonych typów posłużyły testy: Studenta, Cochrana-Coxa i Wilcoxona. Liczebność proglotydów typu 1p2a w większości pokoleń nie wykazywała ukierunkowanej zmienności, lecz w ostatniej grupie pokoleń zmniejszyła się (Tabela 2) w istotnym stopniu w stosunku do pierwszych 7 grup ($P = 0.02$ do < 0.01).

Tabela 2. Liczebność proglotydów określonego typu u *Hymenolepis diminuta* WMS il1. Wyniki przedstawiają średnie z odchyleniem standardowym poniżej

Grupa pokoleń	Numery pokoleń	Liczba tasiem.	Liczba proglot.	Liczebność proglotydów określonych typów w %				
				1p2a	0p3a	1p3a	2p1a	pozost.
1	37–39	33	521.2	87.4	9.2	1.6	0.4	1.4
			46.5	2.0	1.6	0.6	0.2	0.5
2	40–42	32	512.3	87.5	9.5	1.3	0.5	1.2
			42.5	1.3	1.3	0.4	0.3	0.4
3	43–45	34	510.5	87.4	9.8	1.3	0.4	1.2
			33.7	1.6	1.4	0.5	0.2	0.4
4	46–48	31	508.4	87.3	9.9	1.3	0.5	1.2
			37.8	1.3	1.1	0.4	0.2	0.4
5	49–51	32	520.1	87.5	9.8	1.1	0.4	1.3
			28.5	1.5	1.2	0.4	0.3	0.5
6	52–54	33	634.7	87.6	9.8	1.0	0.4	1.2
			45.3	1.5	1.3	0.4	0.2	0.4
7	55–57	32	555.3	87.8	9.9	1.0	0.4	1.0
			71.1	1.4	1.6	0.4	0.3	0.4
8	58–60	31	532.0	87.1	10.7	0.9	0.4	0.9
			48.2	1.6	1.7	0.4	0.3	0.3
9	61–63	32	548.1	86.8	11.1	0.8	0.4	0.9
			48.4	1.7	1.7	0.5	0.2	0.4
10	64–66	32	548.8	86.3	11.5	1.0	0.4	0.8
			38.0	1.7	1.7	0.4	0.2	0.3

Objaśnienia: tasiem. – tasiemce, proglot. – proglotydy, pozost. – pozostałe, najrzadziej występujące proglotydy typu 0p1a, 0p2a, 0p4a, 0p5a, 1p0a, 1p1a, 1p4a, 2p0a, 2p2a i 2p3a.

Najliczniejszym odchyleniem od typowego ułożenia jąder były proglotydy typu 0p3a, które stanowiły kryterium doboru tasiemców macierzystych. Liczebność ich zwykle wzrastała w kolejnych grupach pokoleń (Tabela 2, Rys. 1). Największe istotne różnice w liczebności proglotydów tego typu wystąpiły



Rys. 1. Względna liczebność proglotydów typu 0p3a u *Hymenolepis diminuta* WMS il1 w kolejnych grupach pokoleń

przy porównaniu ostatnich dwu grup badanych pokoleń z pierwszymi dwiema grupami ($P < 0.01$). Suma liczb proglotydów typu 0p3a obliczona u wszystkich tasiemców macierzystych dla pokoleń 37–66 była o 28.2% większa od sumy średnich wartości liczbowych tego typu proglotydów w pokoleniach potomnych. Typ proglotydu 1p3a był następnym pod względem liczebności (Tabela 2). Liczebność takich proglotydów najczęściej zmniejszała się w kolejnych grupach pokoleń a najbardziej istotne różnice ($P < 0.01$) wystąpiły przy porównaniu pierwszych czterech grup z ostatnimi pięcioma grupami pokoleń. Suma liczb proglotydów tego typu u wszystkich osobników macierzystych była o 9.0% niższa niż suma średnich wartości liczbowych w pokoleniach potomnych. Przy porównaniu liczebności proglotydów typu 2p1a w poszczególnych grupach pokoleniowych (Tabela 2) nie stwierdzono istotnych różnic.

Osobną grupę stanowiły najrzadziej występujące proglotydy typu 0p1a, 0p2a, 0p4a, 0p5a, 1p0a, 1p1a, 1p4a, 2p0a, 2p2a i 2p3a stanowiące łącznie średnio od 0.8% do 1.4% w poszczególnych grupach pokoleń (Tabela 2). Liczebność tej grupy proglotydów wykazuje istotny spadek w ostatnich trzech grupach w porównaniu z każdą z poprzednich. Niektóre z proglotydów tych typów nie występowały przez kilka kolejnych pokoleń i pojawiały się ponownie w następnych.

DYSKUSJA

Utrzymywanie wsobnej hodowli *H. diminuta* WMS il1 przez wiele pokoleń nie stworzyło dotychczas niebezpieczeństwa jej wyginięcia, jak to nastąpiło w przypadku wsobnej hodowli *H. nana*, którą prowadzili Rogers i Ulmer (1963). Długość tasiemców *H. diminuta* WMS il1 należących do pokoleń 37–66 (Tabela 1) jest nieco większa niż uzyskanych w pierwszych 36 wsobnych pokoleniach (Stradowski 1994a). Być może zostało to spowodowane dłuższym o kilka godzin przechowywaniem tasiemców z pokoleń 37–66 (do momentu gdy przestały się ostatecznie poruszać) w temperaturze o 6 stopni C wyższej niż przetrzymywane były tasiemce pierwszych 36 pokoleń. Na szczególną uwagę zasługuje stale utrzymująca się wysoka aktywność inwazyjna cysticerkoidów *H. diminuta* WMS il1. Jeżeli uzyskane wyniki, świadczące o istotnym wzroście liczebności proglotydów typu 0p3a i spadku liczebności proglotydów typu 1p3a, są wynikiem odziedziczalności zgodnym z doborem tasiemców macierzystych, to mogą wskazywać na prawdopodobny mechanizm powstawania ras *H. diminuta*. Różnice pomiędzy rasami ANU, ARME, OSU i TOR czyli UT występującymi u *H. diminuta* stwierdzili Pappas i Leiby (1986) badając między innymi liczby i topografię jąder w proglotydach tasiemców tych ras. Wyniki badań pierwszych 36 pokoleń *H. diminuta* WMS il1 wskazują na istotny wpływ fenotypu tasiemców macierzystych na liczebność określonych cech u tasiemców potomnych (Stradowski 1994a) i potwierdzają to w całej rozciągłości badania przeprowadzone nad dalszymi wsobnymi pokoleniami nr 37 do 66 (Tabela 2). Wyniki innych badań dowodzą również istotnego wpływu środowiska wewnętrznego na omawiane cechy, gdyż w zagęszczonych infrapopulacjach *H. diminuta* wzrasta w istotnym stopniu liczebność proglotydów czterojądrowych typu 1p3a, natomiast spada liczebność trzyjądrowych proglotydów typu 0p3a pomimo, że na skutek zagęszczenia zarówno tasiemce jak też ich proglotydy są mniejsze (Stradowski 1994b, 1998a). Dokładniej na temat typu dziedziczenia u *H. diminuta* nie można się wypowiadać, gdyż brak jest układu selekcji na określoną cechę w kolejnych pokoleniach. Nie ustalono np. jaką liczbę i topografię jąder miały konkretne proglotydy, z których, gdy stały się macicznymi, pobierano onkosfery do dalszych hodowli tasiemca. Nie wiadomo również z jakiego typu proglotydu pochodziły plemniki, które zapłodniły odpowiednie komórki jajowe. Ten problem metodyczny może okazać się możliwy do pokonania, gdyż jak wynika z badań nad zagęszczonymi infrapopulacjami pochodzącymi od linii wsobnej *H. diminuta* WMS il1 (Stradowski 1998b) w proglotydach macicznych, które zawierają niewiele onkosfer nie przesłaniających wewnętrznych narządów, widoczne są jądra i ich topografia. Są to korzystne warunki do pobrania onkosfer z takich proglotydów i wyhodowania z nich tasiemców, ale stwierdzono je w infrapopulacjach zagęszczonych, które nie zapewniają samozapłodnienia. U tasiemców hodowanych pojedynczo proglotydy maciczne zawierają liczne onkosfery i nie wiadomo dotychczas, czy

zachowane tam zostały również gonady z ich typową topografią. Zbadanie tego zagadnienia mogłoby pozwolić na opracowanie pełniejszej metodyki do dokładniejszego poznania zależności pomiędzy fenotypem tasiemców macierzystych i potomnych.

LITERATURA

Jones A.W., Fitzgerald M.D., Proffitt M.R., Tan B.D., Ward H.D. 1971. Prolonged selfing in *Hymenolepis microstoma* (Cestoda). *Experimental Parasitology* 29: 223–229.

Nakamura F., Okamoto K. 1993. Reconsideration on the effects of selfing on the viability of *Hymenolepis nana*. *International Journal for Parasitology* 23: 931–936.

Pappas P.W., Leiby D.A. 1986. Variation in the sizes of eggs and oncospheres and the numbers and distribution of testes in the tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *Journal of Parasitology* 72: 383–391.

Rogers W.A., Ulmer M.J. 1963. Effects of continued selfing of *Hymenolepis nana* (Cestoda). *Proceedings of the Iowa Academy of Science* 69: 557–571.

Stradowski M. 1994a. Effects of inbreeding in *Hymenolepis diminuta* (Cestoda). *Acta Parasitologica* 39: 146–149.

Stradowski M. 1994b. Evidence of a crowding effect on the morphology of *Hymenolepis diminuta* proceeding from WMS inbred line 1. *Acta Parasitologica* 39: 192–194.

Stradowski M. 1998a. Influence of crowding of *Hymenolepis diminuta* (WMS il1) on structure of strobila. *Acta Parasitologica* 43: 30–35.

Stradowski M. 1998b. Influence of infection intensity of *Hymenolepis diminuta* WMS inbred line 1 on morphology of uterine proglottides. *Helminthologia* 35: 227–229