

Zastosowanie klucza molekularnego w badaniach składu gatunkowego pasożytniczych nicieni (Ascaridoidea) z ryb szelfu wschodnio-afrykańskiego

Molecular key for parasites nematods (Ascaridoidea) species from fish west Africa shelf

Agnieszka Kijewska¹, Jerzy Rokicki² i Joanna Dzido²

¹Instytut Oceanologii PAN, Zakład Genetyki, ul. Św. Wojciecha 5, 81-347 Gdynia

²Katedra Zoologii Bezkręgowców, Uniwersytet Gdański, Al. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

Czternaście gatunków należących do rodziny Ascarididae, Anisakidae i Raphidascarididae zostało oznaczonych za pomocą metody PCR-RFL. Rejon rybosomalnego DNA amplifikowany metodą PCR obejmował dwa odcinki niekodujące oraz gen 5.8S (ITS1-5.8S-ITS2). Do trawienia użyto endonukleaz *Taq I*, *Alu I*, *Bsu RI* i *Rsa I*. Wzory restrykcyjne uzyskane z pomocą poszczególnych endonukleaz były charakterystyczne i niezmiennie dla każdego gatunku. Metoda ta może być z powodzeniem używana do celów identyfikacji gatunku niezależnie od stadium rozwojowego i regionu geograficznego, z którego pochodzą próby. Na tej podstawie skonstruowano klucz molekularny pozwalający na określenie rodzaju oraz gatunku nicienia. W praktyce klucz zastosowano do badań pasożytniczych nicieni pochodzących z ryb poławianych na szelfie wschodnio afrykańskim, takich jak *Merluccius hubbsi* (morszczuk argentyński), *Scomber japonicus* (makreła kołias), *Sardina pilchardus* (sardynka), *Merluccius polli* (morszczuk angolański), *Trachurus trachurus* (ostrobok pospolity) oraz *Hoplostethus cadenati* (gardłosz czarny). Rozpoznano 5 gatunków Anisakidae oraz Raphidascarididae: *Anisakis simplex*, *A. physeteris* i *A. pegreffi*, *Contracaecum osculatum* i *Hysterothylacium aduncum*. Zidentyfikowano także szereg nowych gatunków, które można było na podstawie RFLP przypisać do poszczególnych rodzajów nicieni. Te gatunki identyfikowane są na podstawie sekwencji genu 18S rDNA. Oznaczenia morfologiczne były zgodne z uzyskanymi wynikami w około 75%. Wykryte niezgodności dotyczyły omylnego oznaczenia larw nicieni reprezentujących głównie trzecie stadium larwalne oraz w jednym przypadku próby złożonej z osobników uszkodzonych w stopniu bardzo utrudniającym ich oznaczenie. Zastosowanie RFLP jako techniki pomocnej do oznaczania nicieni daje również korzyści ekonomiczne — zużycie odczynników i łatwość procedury pozwala na stosunkowo łatwe wprowadzenie tej techniki w każdym laboratorium w przeciwieństwie do sekwencjonowania.

This study was supported by the Grant 0420/PO4/2005/28 from the Ministry of Education and Science, Poland.