

На правах рукописи

ВАЙНУТИС
КОНСТАНТИН СЕРГЕЕВИЧ

**Морфология, систематика и филогения палеарктических
Allocreadiidae (Trematoda: Plagiorchiida)**

1.5.12 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2022

доктор биологических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник
лаборатории пресноводной гидробиологии
ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН **Богатов Виктор Всеволодович**

Богатов Виктор Всеволодович

Казаченко Василий Никитич, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет»

Жохов Александр Евгеньевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина» РАН

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологических проблем Севера» Дальневосточного отделения Российской академии наук

Защита диссертации состоится « _____ » _____ 2022 года в ____ час. ____ мин. на заседании диссертационного совета 24.1.109.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33. Тел./факс: +7(495)952-35-84, e-mail: admin@sevin.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук Российской академии наук по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33; на сайте ФГБУН ИПЭЭ РАН по адресу: www.sev-in.ru и на сайте Высшей аттестационной комиссии по адресу vak.minobrnauki.gov.ru

Автореферат разослан « » 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Кацман Елена Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Трематоды (Trematoda Rudolphi, 1809) – класс облигатных паразитов животных и человека, распространённых повсеместно. Они характеризуются сложным жизненным циклом, связанным с чередованием гермафродитного и партеногенетического поколений, использующих промежуточных и окончательных хозяев. Трематоды являются относительно малоизученными в отношении их таксономического разнообразия (Cribb, Bray, 2011), несмотря на то, что колоссальный объём видов (по разным оценкам от 18000 до 24000) класса Trematoda, в том числе и паразитов, принадлежащих ныне к семейству Allocreadiidae (аллокреадииды), был описан в XVIII–XX веках (Muller, 1776, 1784; Zeder, 1800; Rudolphi, 1808; Stafford, 1904; Nicoll, 1909; Ward, 1917; Faust, 1918; Surber, 1928; Travassos et al., 1928; Pande, 1937; Скрыбин и др., 1958; Ахмеров, 1960, 1963; Ройтман, 1963 а, б; Скрыбин, Коваль, 1966; Kakaji, 1969; Yamaguti, 1958, 1971; Madhavi, 1980).

В Палеарктике семейство Allocreadiidae насчитывает около 220 номинальных видов и представляет собой группу кишечных паразитов преимущественно реофильных рыб, в том числе и экономически значимых, из семейств карповых Cyprinidae, окунёвых Percidae, лососёвых Salmonidae и осетровых Acipenseridae (Скрыбин, Коваль, 1966; Yamaguti, 1958, 1971; Caira, 1985 б; Choudhury, 1997; Atopkin et al., 2018; Atopkin et al., 2020; Vainutis, 2020; Faltynkova et al., 2020). Также трематоды этого семейства инфицируют некоторые виды бесхвостых земноводных, змей и даже млекопитающих (летучих мышей) (Braun, 1900 а, б; Travassos et al., 1928; Talbot, Hutton, 1935; Rankin, 1937; Yamaguti, Matsumura, 1942; Кротов, 1959; Schell, 1964; Brooks, 1976; Sokolov, 2010; Shimazu, 2016 а, б; Hernandez-Mena et al., 2019).

Аллокреадииды способны вызывать эпизоотии рыб. Сильная гельминтозная инвазия, при заражении этими гельминтами, может приводить к мору рыбы в естественных условиях. Не исключается вероятность возникновения гельминтозов рыб при искусственном разведении в случае, если в водоём будут занесены промежуточные хозяева паразитов. Известен случай крепидостомоза, спровоцированного *Crepidostomum farionis* (Muller, 1784) Lühe, 1909, у микижи в озере Тебей (Аляска), где заражённость червями была весьма высокая (Neiland, 1962). Два случая массовой гибели микижи и американской палии вследствие заражения аллокреадидами рода *Crepidostomum* были отмечены в озёрах Гумбот и Касл (Калифорния, США) (Wales, 1958).

Неотъемлемой частью идентификации и изучения паразитов остаются методы классической зоологии, которые являются актуальным инструментом решения задач систематики и экологии (Moravec, 1984, 1992, 2002; Choudhury, 1997; Willis, 2002; Caira, Bogéa, 2005; Curran, 2008; Shimazu, 2016 а, б; Shimazu, 2017; Hernandez-Mena et al., 2019). В то же время в современной систематике широко используется молекулярно-генетический метод, позволяющий не только более надёжно установить таксономическое положение паразитов, но и с достаточно высокой точностью реконструировать филогенетические связи между видами (Choudhury et al., 2007; Pérez-Ponce de León et al., 2007, 2015, 2016; Petkevičiūtė et al., 2010, 2018; Curran et al., 2006, 2011, 2012; Tkach et al., 2013; Razo-Mendivil et al., 2014a; Razo-Mendivil et al., 2014 б; Atopkin, Shedko, 2014; Bautista-Hernandez et al.,

2015; Hernandez-Mena et al., 2016, 2019; Soldanova et al., 2017; Atopkin et al., 2018; Dias et al., 2018).

Степень разработанности темы. До появления методов молекулярной генетики взгляды исследователей о родовой и семейственной принадлежности некоторых видов аллокреадиид сильно отличались (Manter, 1962; Yamaguti, 1971; Brooks, 1992; Choudhury et al., 2002). В период с 2005 по 2020 гг. многие авторы, используя накопленные знания и молекулярно-генетические методы, описали множество новых видов в составе новых родов из семейства Allocreadiidae, а также подтвердили валидность ряда известных видов (Choudhury, Lèon-Regagnon, 2005; Curran et al., 2006, 2011, 2012; Choudhury et al., 2007; Pérez-Ponce de León et al., 2007, 2013, 2015, 2016; Petkevičiūtė et al., 2010, 2018; Tkach et al., 2013; Atopkin, Shedko, 2014; Razo-Mendivil et al., 2014 a, b; Bautista-Hernandez et al., 2015; Hernandez-Mena et al., 2016, 2019; Atopkin et al., 2018; Dias et al., 2018; Vainutis, 2020; Faltynkova et al., 2020; Vainutis et al., 2021). Однако ввиду расходящихся взглядов на систематику некоторых видов и родов аллокреадиид многие вопросы относительно их таксономического положения до последнего времени остаются нерешёнными.

Цель исследования. Используя морфологический и молекулярно-генетический методы провести таксономическую ревизию палеарктических Allocreadiidae, уточнить филогенетические связи между видами из родов *Acrolichanus* Ward, 1917, *Crepidostomum* Braun, 1900, *Stephanophiala* Nicoll, 1909, *Bunodera* Railliet, 1896 и *Allocreadium* Looss, 1900.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить видовое разнообразие родов *Acrolichanus*, *Crepidostomum*, *Stephanophiala*, *Bunodera* и *Allocreadium* на основании морфологической дифференциации червей каждого рода и реконструировать их межвидовые филогенетические связи с использованием генов 28S рРНК и *cox1* мтДНК.
2. Провести оценку морфологических отличий между родами семейства Allocreadiidae и реконструировать его филогенетические связи, используя фрагмент гена 28S рРНК.
3. На основании изучения морфологии составить модифицированные дифференциальные диагнозы малоизученных таксонов, относящихся к семейству Allocreadiidae.

Научная новизна. На основании проведенных исследований подтверждена валидность родов *Acrolichanus* и *Stephanophiala*, которые в прошлом рассматривались как синонимы рода *Crepidostomum*. Описано три новых вида: *Bunodera vytautasi* Atopkin, Sokolov, Shedko, Vainutis et Orlovskaya, 2018, *Allocreadium khankaiensis* Vainutis, 2020, *Crepidostomum achmerovi* Vainutis, Voronova, Urabe, 2021, которые были зарегистрированы в Официальном реестре зоологической номенклатуры Zoobank (Global Names Architecture, USA). На основе вида *Crepidostomum chaenogobii* описан новый для науки род *Hokkaidoinsula* gen. nov. Впервые получено, проанализировано и загружено в международную базу данных Genbank (National Center for Biotechnology Information, USA) 226 новых нуклеотидных последовательностей гена рибосомальной РНК (28S) от 15 видов и гена митохондриальной ДНК (*cox1*) от 9 видов.

На основании новых морфологических и молекулярных данных разработаны модифицированные диагнозы палеарктических родов и видов Allocreadiidae,

составлена их определительная таблица, уточнены филогенетические связи в семействе и подтверждено его положение в надсемействе Gorgoderioidea подотряда Xiphidiata отряда Plagiorchiida.

На юге Дальнего Востока России выявлены новые местообитания Allocreadiidae: Артёмовский городской округ – реки Артёмовка и Муравьинка; Надеждинский район – река Нежинка (приток реки Раздольная); Ханкайский район – река Комиссаровка и ключ Поперечный (приток реки Комиссаровка).

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты, полученные в настоящей работе, вносят существенный вклад в изучение видового разнообразия трематод семейства Allocreadiidae Палеарктики, их изменчивости и филогении.

Полученные результаты важны для экологического мониторинга, контролирования эпизоотической ситуации по гельминтозам рыб в Российской Федерации, практического применения в рыбоводных хозяйствах. Использование в совокупности морфологических дифференциальных диагнозов и молекулярных маркёров позволит корректно определить вид паразита, способного привести к мору рыбы на рыбоводных хозяйствах, выявить сезонность заболевания и предложить способы предотвращения гельминтных инвазий.

Материалы диссертации могут также послужить основой для подготовки аналитических сообщений, учебных пособий и специальных курсов лекций для бакалавров и магистров биологических направлений ВУЗов.

Личный вклад автора. В материалах работы представлены результаты, полученные лично автором, который принимал участие в сборах паразитологического материала из рек Приморского края и южного Сахалина, изготовлении тотальных препаратов трематод, в полном объеме осуществил изучение морфологии, молекулярно-генетический анализ и выполнил анализ филогенетических связей Allocreadiidae. Автор принимал непосредственное участие в подготовке публикаций по материалам исследований, представлял результаты работы на конференциях различного уровня.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. По данным сравнительной морфологии и молекулярно-генетического анализа род *Acrolichanus* является валидным и включает два вида.

2. Комплекс видов «*Crepidostomum metoecus*» является самостоятельным родом *Crepidostomum* Braun, 1900 sensu stricto.

3. Виды, ранее определяемые как *Crepidostomum farionis* и *Crepidostomum chaenogobii*, ввиду морфологической и генетической обособленности, не относятся к роду *Crepidostomum*.

4. Роды *Bunodera* и *Allocreadium* – монофилетические, эволюционно связаны с окунёвыми и карпообразными рыбами-хозяевами соответственно.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обеспечена обширными данными морфометрического анализа и сравнительной морфологии, современными молекулярно-генетическими и филогенетическими подходами, включая методы статистической обработки данных и биоинформатики, использованием определённых методов с большим числом алгоритмических решений и методов молекулярно-генетического анализа с помощью специализированного программного обеспечения, а также достаточным объемом выборок. Фактические материалы, представленные в диссертации, соответствуют первичной документации:

протоколам исследований. Положения, выносимые на защиту, и выводы подкреплены данными, приведёнными в таблицах и рисунках.

Апробация результатов работы. Результаты работы были представлены на 4-й международной конференции по паразитологии «The 4th International Conference on Parasitology», г. Прага, Чешская Республика (2017); международном симпозиуме «Modern achievements in population, evolutionary, and ecological genetics: International symposium», г. Владивосток (2017); конференции-конкурсе молодых ученых ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток (2018); Международной научной конференции «Биоразнообразие паразитов», г. Москва (2018); Всероссийской конференции с международным участием «Современная паразитология: основные тренды и вызовы (VI Съезд Паразитологического общества)» г. Санкт-Петербург (2018); 1-й международной конференции по биоразнообразию Восточной Азии, г. Владивосток (2018); 2-й международной конференции по биоразнообразию Восточной Азии, г. Байшань, Китай (2019); IX чтениях памяти профессора Владимира Яковлевича Леванидова, г. Владивосток (2021).

Публикации. По результатам исследования опубликовано 13 научных работ: 6 статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных действующим списком ВАК, и 7 тезисов.

Объём и структура работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы и 7 приложений. Работа изложена на 174 страницах, включая 10 таблиц и 25 рисунков. Список литературы содержит 340 источников, из которых 270 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает особую благодарность научному руководителю академику РАН В.В. Богатову за помощь при проведении анализа полученных материалов, подготовке диссертации к защите и всестороннюю поддержку. Автор признателен заведующему лабораторией паразитологии (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, далее – ФНЦ), д.б.н. В.В. Беспрозванных и к.б.н., в.н.с. той же лаборатории Д.М. Атопкину за помощь в освоении методик морфологического и молекулярно-генетического анализа трематод соответственно. Отдельная благодарность за предоставленный материал профессору Т. Симадзу (префектура Нагано, Япония), профессору М. Урабэ (Университет префектуры Сига, Япония), к.б.н., с.н.с. Д.И. Лебедевой (Карельский научный центр РАН, Петрозаводск), профессору А. Хоудхури (Колледж Святого Норберта, Де Пер, США), Е.Л. Воропаевой и к.б.н., с.н.с. С.Г. Соколову (ИПЭЭ имени А.Н. Северцова РАН, Москва), к.б.н., с.н.с. О.М. Орловской (ИБПС ДВО РАН, Магадан), с.н.с. М.Б. Шедько (ФНЦ). Автор выражает искреннюю благодарность д.б.н., г.н.с. А.П. Крюкову (ФНЦ), член-корр. РАН В.В. Юшину (ННЦМБ им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток), д.б.н., профессору Т.Е. Буториной (Дальрыбвтуз), к.б.н., с.н.с. Е.М. Саенко (ФНЦ) за ознакомление с текстом рукописи и полезные замечания, которые позволили улучшить эту работу. Особую благодарность автор выражает к.б.н. А.Н. Вороновой и инженеру-технологу рыбной промышленности Н.Л. Перебейнос за их поддержку и помощь на всех этапах выполнения работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Особенности жизненных циклов Allocreadiidae

В общих чертах описаны особенности жизненного цикла видов семейства Allocreadiidae. Трематоды данного семейства характеризуются триксенным жизненным циклом. В роли первых промежуточных хозяев выступают двусторчатые моллюски. Роль вторых промежуточных хозяев выполняют ракообразные или личинки насекомых. Окончательными хозяевами аллокреадиид являются проходные и пресноводные костистые лучепёрые рыбы, реже – некоторые земноводные и летучие мыши.

1.2. Состояние изученности Allocreadiidae

Обсуждены спорные вопросы классификации семейства Allocreadiidae (табл. 1), в том числе родов, которые ранее были ошибочно ассоциированы с данным семейством.

1.3. Таксономические проблемы в классификации Allocreadiidae

Приведена информация о географическом распространении, биологических особенностях, патогенности и таксономическом положении семейства Allocreadiidae. Описываются три основных временных периода в разработке систематики семейства Allocreadiidae: (1) систематические ревизии начала XX века, (2) второй половины XX века, (3) филогенетические исследования начала XXI века. Приводится информация по номинальным подсемействам семейства Allocreadiidae, шесть из которых (Crepidostominae, Allocreadiinae, Bunoderinae, Megalogoniinae, Walliniinae и Creptotrematinae) неизменно остались в составе семейства Allocreadiidae.

Таблица 1. Различные взгляды на родовой состав Allocreadiidae в международных электронных базах данных и публикациях зарубежных и отечественных авторов.

WoRMS	Коваль, 1966	Leon et al., 2016	Vainutis et al., 2021
Семейство Allocreadiidae			
<i>Acrolichanus</i> <i>Allocreadium</i> <i>Auriculostoma</i> <i>Bunodera</i> <i>Crepidostomum</i> <i>Creptotrema</i> <i>Creptotrematina</i> <i>Megalogonia</i> <i>Paracrepidostomum</i> <i>Paracreptotrema</i> <i>Paracrepidostomoides</i> <i>Pseudoparacreptotrema</i> <i>Rastridostomum</i> <i>Trematichthys</i> <i>Wallinia</i> <i>Bychowskycreadium</i> <i>Vietosoma</i>	Allocreadiinae <i>Allocreadium</i> <i>Anisorchis</i> <i>Baikalotrema</i> <i>Cainocreadium</i> <i>Leurosoma</i> <i>Peracreadium</i> <i>Polylekithum</i> Malagashitreminae <i>Malagashitrema</i> <i>Laureriella</i> Rhynchocreadiinae <i>Rhynchocreadium</i> <i>Stegodexamene</i>	<i>Allobunodera</i> <i>Allocreadium</i> <i>Auriculostoma</i> <i>Bunodera</i> <i>Bunoderella</i> <i>Crepidostomum</i> <i>Creptotrema</i> <i>Creptotrematina</i> <i>Margotrema</i> <i>Megalogonia</i> <i>Paracreptotrema</i> <i>Paracreptotrematoides</i> <i>Pseudoallocalleadium</i> <i>Pseudoparacreptotrema</i> <i>Trematichthys</i> <i>Wallinia</i>	<i>Acrolichanus</i> <i>Allocreadium</i> <i>Auriculostoma</i> <i>Bunodera</i> <i>Crepidostomum</i> <i>Creptotrema</i> <i>Creptotrematina</i> <i>Megalogonia</i> <i>Paracreptotrema</i> <i>Paracreptotrematoides</i> <i>Pseudoparacreptotrema</i> <i>Stephanophiala</i> <i>Wallinia</i>

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Сбор паразитологического материала. Самостоятельный сбор трематод осуществлялся при вскрытии кишечника рыб, отловленных с помощью различных орудий (сети рыболовные, сачок, ловушки).

Материалом для исследования послужили трематоды (390 особей), представляющие четыре рода семейства Allocreadiidae: *Acrolichanus*, *Crepidostomum*, *Bunodera* и *Allocreadium*. Кроме того, в работе использован коллекционный паразитологический материал ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (103 особи), собранный ранее из рек и озёр Дальнего Востока, Сибири, европейской части России и Северной Америки (штат Висконсин).

2.2. Морфологический анализ

Вскрытие рыб, извлечение, фиксация, окраска паразитов, а также изготовление препаратов проводились по общепризнанным методам (Скрябин, 1928; Быховская-Павловская, 1952, 1985).

Рисунки трематод были сделаны с помощью исследовательского микроскопа Labomed-4 при увеличении 4X, 10X, 20X, 40X и отредактированы в программе Adobe Photoshop. Измерения проводились с помощью окуляр-микрометра, используя увеличения 4X, 10X, 20X, 40X для проведения замеров различных структур тела червей. Измерения приведены в миллиметрах и даны как диапазон, за которым следует среднее значение в скобках. Если за длиной следует ширина, два измерения разделяются знаком «×». Голотипы и паратипы видов, описанных с территории Приморского края, хранятся в паразитологической коллекции Зоологического музея Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия.

СЭМ-фотографии половозрелых червей из рода *Allocreadium* были получены с помощью автоэмиссионного СЭМ MERLIN (CARL ZEISS, Германия) на базе ЦКП "Биотехнология и генетическая инженерия" ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

2.3. Молекулярно-генетический анализ

2.3.1. Выделение тотальной ДНК. Для выделения тотальной ДНК использовали метод HotSHOT (Truett et al., 2006).

2.3.2. Амплификация и секвенирование по методу Сэнгера. Для амплификации частичных последовательностей гена рибосомного кластера *Acrolichanus*, *Crepidostomum*, *Bunodera* и *Allocreadium* (28S), а также гена *cox1* мтДНК были использованы универсальные для большинства трематод праймеры.

Секвенирование фрагментов осуществляли по методу Сэнгера с помощью набора реактивов BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) по методике производителя на секвенаторе ABI PRIZM 3130 (Applied Biosystems Inc., Foster City, USA) на базе ЦКП ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

2.3.3. Филогенетический анализ. Полученные нуклеотидные последовательности собирали и визуально проверяли на наличие ошибок по хроматограммам с помощью FinchTV (Geospiza, Inc., USA). Анализ, редактирование и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли в программе MEGA 7 (Kumar et al., 2016). Для получения филогенетических реконструкций применяли следующие программы: jModeltest ver. 3.7 (Posada, 2008), MEGA 7 (Kumar et al., 2016), MrBayes 3.1.2 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003).

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЛЕАРКТИЧЕСКИХ РОДОВ СЕМЕЙСТВА ALLOCREADIIDAE

Тип Плоские черви – Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

Класс Трематоды – Trematoda Rudolphi, 1808

Подкласс Дигенетические сосальщики – Digenea Carus, 1863

Отряд Plagiorchiida La Rue, 1957

Подотряд Xiphidiata Olson, 2003

Надсемейство Gorgoderoidea Looss, 1901

Семейство Allocreadiidae (Looss, 1902) Stossich, 1903

Синонимы: Bunoderidae Nicoll, 1914; Walliniidae Skrjabin et Koval, 1966;

Crepidostomidae García Magaña et López Jiménez, 2008

Типовой род: *Allocreadium* Looss, 1900

3.1. Род *Acrolichanus* Wedl, 1857

Синоним: *Acrodactyla* Stafford, 1904 (nomen praeoccupatum)

Типовой вид: *Acrolichanus auriculatus* (Wedl, 1857) Ward, 1917

Типовой хозяин: стерлядь *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758

Типовое местонахождение: оз. Байкал, Россия

Состав рода. До настоящего исследования в составе рода насчитывался один валидный вид: *Acrolichanus auriculatus*=*Crepidostomum auriculatum*. В результате исследования материала из коллекции ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, собранного М.Б. Шедько, был выявлен еще 1 вид рода, обозначенный как *Acrolichanus* sp. 1.

Распространение. Многочисленные реки и озёра Европы (Германия, Венгрия, Югославия, Россия), Азии (Россия, Северо-Восток Китая) и Северной Америки (США, Канада).

3.1.1. Морфологические характеристики

Материал. 8 половозрелых особей типового вида *A. auriculatus* (рис. 1) от осетра *Acipenser ruthenus* из нового местообитания (р. Иртыш под Тобольском) и 10 особей *Acrolichanus* sp. 1 от калуги *Huso dauricus* и амурского осетра *Acipenser schrenckii* из Нижнего Амура.

Диагноз рода. Тело удлинённое. Ротовая присоска субтерминальная, снабжена 6 околоротовыми сосочками примерно одинаковой длины, крупные. Пищевод раздваивается на середине расстояния между ротовой и брюшной присосками. Брюшная присоска меньше ротовой, расположена в середине тела. Половая бурса утолщённая, овальная; между развилком кишечника и серединой брюшной присоски, при этом половое отверстие расположено непосредственно позади развилка кишечника. Семенники tandemные, неправильной формы, лежат в задней трети тела. Матка достигает заднего семенника. Желточные фолликулы простираются от уровня глотки или середины пищевода до заднего конца тела, где позади семенников сливаются.

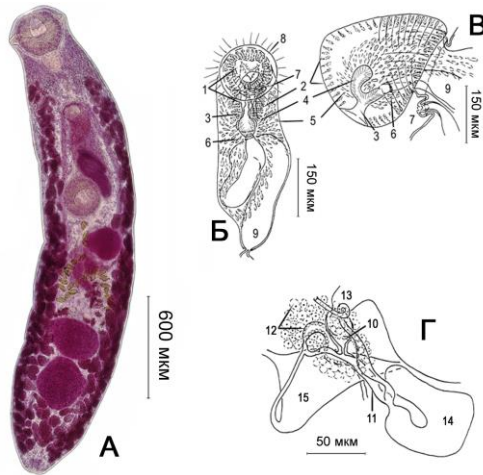


Рисунок 1. *Acrolichanus auriculatus*, половозрелый червь; А – Фотография вентрального вида червя. Б – Половая бурса. В – Вывернутый циррус. Г – Овариальный комплекс. Обозначения на рисунке: инвагинированный циррус (1), железы, окружающие стенку цирруса (2), эякуляторный проток (3), дорсальный карман простатической части (4), простатические клетки (5), сфинктер (6), метратерм (7), общий половой атриум (8), семенной пузырь (9), камера оплодотворения (10), Лауреров канал (11), оотип с железами Мелиса (12), яичник (13), семяприёмник (14), желточный резервуар (15).

3.1.2. Молекулярные данные

Материал. Для *A. auriculatus* из р. Иртыш было получено 5 последовательностей фрагмента гена 28S рРНК общей длиной 1122 п.н. Кроме того, молекулярно-генетический анализ был проведён для двух особей из озера Уиннебэйго (Северная Америка), отнесённых к роду *Acrolichanus* на основе молекулярно-генетических данных. Для *Acrolichanus* sp. 1 из реки Амур получены 10 последовательностей фрагмента гена 28S рРНК длиной 1367 п.н., из Амурского лимана – 4 последовательности гена 28S длиной 1367 п.н. и 5 последовательностей гена *cox1* мтДНК общей длиной 842 п.н. Для построения филогенетического дерева был использован фрагмент гена 28S длиной 1122 п.н. Генетические дистанции (здесь и далее – г. д.) были рассчитаны на основе фрагмента гена 28S рРНК длиной 998 п.н.

Результаты анализа. На основе анализа фрагмента гена 28S рРНК показано, что среди исследованных особей *Acrolichanus* наименьшие значения г. д. наблюдались между образцами *Acrolichanus* sp. из оз. Уиннебэйго и *A. auriculatus* из реки Иртыш – 0.101%. Такие низкие значения г. д. позволяют сделать вывод, что исследованные образцы являются единым видом *A. auriculatus*.

Было отмечено, что трематоды из Нижнего Амура, обозначенные в геномном банке как *Crepidostomum auriculatum*, оказались полностью идентичны трематодам *Acrolichanus* sp. 1 из Нижнего Амура по фрагменту гена 28S рРНК. Следовательно, указанный в геномном банке червь из Нижнего Амура был ошибочно идентифицирован как *Crepidostomum auriculatum* и является видом *Acrolichanus* sp. 1. Виды *A.*

auriculatus и *Acrolichanus* sp. 1 достоверно отличаются на межвидовом уровне по гену 28S (0.814 – 1.022%).

Таким образом, по результатам проведённого исследования установлено, что в число валидных видов рода *Acrolichanus* входят *A. auriculatus* из Европы, Сибири и Северной Америки и *Acrolichanus* sp. 1 из Нижнего Амура и Амурского лимана. Следовательно, род *Acrolichanus* не является монотипическим, как считалось ранее.

3.2. Род *Stephanophiala* Nicoll, 1909

Типовой вид: *Stephanophiala farionis* (Müller, 1784) Faust, 1918

Типовой хозяин: *Salmo trutta* Linnaeus, 1758

Типовое местонахождение: Германия

Состав рода. В составе рода насчитывается 7 номинальных видов: *Stephanophiala farionis*; *S. pseudofarionis* (Faltýnková, Pantoja, Skírnisson, Kudlai, 2020) comb. nov.; *S. laureata* (Zeder, 1800) Nicoll, 1909; *S. transmarina* Nicoll, 1909; *S. vitelloba* Faust, 1918; *S. lata* Pigulevsky, 1931; *S. cornuta* (Osborn, 1903) Pigulevsky, 1931, из которых валидность молекулярно-генетическими методами подтверждена только для *S. farionis* и *S. pseudofarionis*.

Распространение. Ареал рода совпадает с таковым рода *Crepidostomum* s. str. и охватывает многочисленные реки и озёра Северной Америки, Европы (включая Россию) и Северо-Восточной Азии (Япония, Россия – преимущественно Камчатский, Хабаровский и Приморский края, Сахалинская и Магаданская области).

3.2.1. Морфологические характеристики

Материал. 12 образцов *Stephanophiala farionis* от симы *Oncorhynchus masou*, кунджи *Salvelinus leucomaenis* и мальмы *S. malma* из водоёмов Южного Сахалина.

Диагноз рода. Тело удлинённо-овальное. Ротовая присоска субтерминальная, снабжена 6 околоротовыми сосочками, при этом вентролатеральные сосочки больше дорсолатеральных и дорсомедианных. Пищевод относительно средних размеров, раздваивается непосредственно перед брюшной присоской. Брюшная присоска больше ротовой, расположена на границе первой и второй трети тела. Половая бурса латеральна к брюшной присоске, иногда заходит за её задний край, при этом половое отверстие расположено перед развилком кишечника. Семенники тандемные, округлые, лежат в середине задней части тела. Матка претестиккулярная или достигает заднего семенника. Передняя граница желточных полей расположена в передней части тела, задняя граница всегда заполняет посттестиккулярное пространство.

3.2.2. Молекулярные данные

Материал. В ходе работы для *Stephanophiala farionis* из Приморья, Южного Сахалина и Японии были получены 23 новые последовательности фрагмента гена 28S рРНК общей длиной 1383 п.н. и 5 последовательностей фрагмента гена *cox1* мтДНК общей длиной 843 п.н.

Результаты анализа. Оригинальные результаты секвенирования фрагмента гена 28S рРНК подтвердили идентичность *S. farionis* с острова Хоккайдо (окончательный хозяин *Oncorhynchus masou*) с *S. farionis* с острова Сахалин, а также с червями, ранее обнаруженными в реках Приморского края (Россия) и в озере Такват

(графство Тромс, Норвегия) (Atopkin, Shedko, 2014; Soldanova et al., 2017). По фрагменту гена 28S рРНК значения г. д. между видами родов *Stephanophiala* и *Crepidostomum* (4.175–4.888%) примерно в 4 раза превышают межвидовые значения внутри *Crepidostomum* (0.137–1.104%). Более высокого порядка достигают значения г. д. видов *Stephanophiala* по отношению к *Crepidostomum chaenogobii* (5.725–5.832%), а также к североамериканским видам *Crepidostomum* (*C. affine*, *C. illinoiense*, *C. cornutum* и *C. auritum*) в диапазоне 6.253–7.327%. Такие диапазоны отличий соответствуют указанным ранее (до 6 или 9%) межродовым дистанциям для семейства Allocreadiidae в целом (Atopkin, Shedko, 2014; Pérez-Ponce de León et al., 2016), в связи с чем валидность рода *Stephanophiala* Nicoll, 1909 (типовой вид *S. farionis*) по выборкам из Приморья, Южного Сахалина и Японии следует считать восстановленной.

3.3. Род *Bunodera* Railliet, 1896

Синонимы: *Crossodera* Dujardin, 1845 (nomen praeoccupatum); *Crossedera* Monticelli, 1888; *Bunoderina* Miller, 1936; *Allobunodera* Yamaguti, 1971; *Culaeatrema* Lasee, Font et Sutherland, 1988

Типовой вид: *Bunodera luciopercae* (Müller, 1776) Lühe, 1909

Типовой хозяин: судак обыкновенный *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758)

Типовое местонахождение: Германия

Состав рода. В составе рода насчитывается 7 валидных видов: *Bunodera luciopercae* (Müller, 1776) Lühe, 1909, *B. acerinae* Roitman et Sokolov, 1999, *B. sacculata* Van Cleave et Mueller, 1932, *B. eucaliae* (Miller, 1936) Miller, 1940, *B. mediovitellata* Zymbaluk et Roitman, 1966, *B. inconstans* (Lasee, Font et Sutherland, 1988) Brooks, 1992, *B. vytautasi* Atopkin, Sokolov, Shedko, Vainutis et Orlovskaya, 2018, из которых автор диссертации участвовал в описании *B. vytautasi*.

Распространение. В пресноводных водоёмах Западной Европы, Европейской и Азиатской частях России (в т.ч. Охотии, Чукотки, п-ова Камчатка и Командорских островов), Северной Америки (США, Канада).

3.3.1. Морфологические характеристики

Материал. 5 половозрелых особей *Bunodera vytautasi* от девятииглой колюшки *Pungitius pungitius* из р. Чёрная Магаданской области (рис. 2).

Диагноз рода. Тело удлинённое. Ротовая присоска субтерминальная, снабжена 6 околоротовыми сосочками или таковые отсутствуют, а если присутствуют, то вентролатеральные сосочки меньше дорсальных. Пищевод удлинённый, может раздваиваться непосредственно перед брюшной присоской или в задней трети расстояния между присосками. Брюшная присоска больше ротовой или примерно одинакового размера. Положение проксимального конца половой бursы варьирует, причем половое отверстие расположено на уровне развилка кишечника. Семенники диагональные или субсимметричные. Матка достигает заднего конца тела. Положение передней границы желточных полей варьирует у разных видов, задняя граница на середине задней части тела или достигает заднего конца тела.

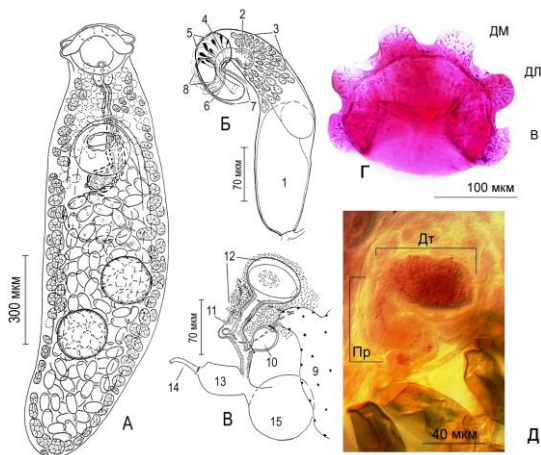


Рисунок 2. Голотип *Bunodera vytautasi*. А – Общий вентральный вид. Б – Мужская половая система, вентральный вид: внутренний семенной пузырьрёк (1), простатическая часть (2), область простатических клеток (3), эякуляторный канал (4), железы, окружающие эякуляторный канал (5), циррус (6), матка (7), половое отверстие (8). В – Женская половая система, дорсальный вид: яичник (9), камера оплодотворения (10), желточный резервуар (11), оотип с Мелисовыми железами (12), проксимальная часть Лаурерова канала (13), дистальная часть Лаурерова канала (14), семяприёмник (15). Г – СМ-фотография ротовой присоски, вид сверху: дорсомедианные (ДМ), дорсолатеральные (ДЛ) и вентральные сосочки (В). Д – СМ-фотография внутреннего семенного пузырька вида *Bunodera luciopercae*: проксимальная (Пр) и дистальная (Дт) части.

3.3.2. Молекулярные данные

Материал. В работе получено 15 последовательностей фрагмента гена 28S рРНК общей длиной 1580 п.н. для видов *B. luciopercae* (1 образец) и *B. acerinae* (8 образцов); 1170 п.н. для видов *B. vytautasi* (4 образца) и *B. mediovitellata* (2 образца); 5 последовательностей фрагмента гена *cox1* мтДНК длиной 847 п.н. для вида *B. acerinae*. Г. д. были рассчитаны для семи видов по фрагменту гена 28S рРНК, длиной 812 п.н., обрезанному по длине самых коротких последовательностей из генного банка.

Результаты анализа. Г. д. между видами рода *Bunodera* находились в диапазоне 0.37–6.21%. Самые низкие значения г.д. (0.37%) наблюдались между выборками вида *B. luciopercae* из разных хозяев. Самые высокие значения г.д. (6.21%) – между видами *B. eucaliae* и *B. sacculata* из генного банка. Вид *B. vytautasi* генетически наиболее близок к североамериканскому виду *B. sacculata* и отличается от него на 2.36% по гену 28S.

Молекулярно-генетический анализ по фрагменту гена 28S рРНК показал, что род *Bunodera* является монофилетическим, в его состав входят семь валидных видов: *B. luciopercae*, *B. acerinae*, *B. sacculata*, *B. eucaliae*, *B. mediovitellata*, *B. inconstans* и *B. vytautasi*. Установлено, что образцы *Bunodera* sp. из США (Curran et al., 2011) и *B. luciopercae* из Канады (Choudhury, Léon-Regagnon, 2005) сформировали группу, самостоятельную по отношению к европейским видам *B. luciopercae* и *B. acerinae*.

Между собой североамериканские образцы отличаются всего одной нуклеотидной заменой, обнаруженной у *B. luciopercae* из Канады, по отношению к *Bunodera* sp. из США, что на данном этапе позволяет объединить их под названием *Bunodera* sp., морфологическое описание которого пока отсутствует.

3.4. Род *Hokkaidoinsula* Vainutis gen. nov.

Типовой вид: *Hokkaidoinsula chaenogobii* (Yamaguti et Matumura, 1942) comb. nov.

Типовой хозяин: *Chaenogobius annularis urotaenia* (Hilgendorf, 1879).

Типовое местонахождение: Саппоро, о-в Хоккайдо, Япония.

Этимология: родовое название дано по названию острова Хоккайдо, где первоначально был обнаружен представитель нового рода.

3.4.1. Морфологические характеристики

Состав рода. Представлен единственным видом *H. chaenogobii* (синоним *Crepidostomum chaenogobii*).

Материал. 4 образца *H. chaenogobii* от сахалинской колюшки *Pungitius tymensis* из притока реки Белая, Южный Сахалин.

Диагноз рода. Тело цилиндрическое. Ротовая присоска субтерминальная, снабжена 6 околоротовыми сосочками, при этом вентролатеральные сосочки небольшие, конические; дорсолатеральные и дорсомедианные сосочки крупные, округлые, одинаковых размеров. Пищевод удлинённый, раздваивается непосредственно перед брюшной присоской. Брюшная присоска меньше ротовой, расположена на границе первой и второй трети тела. Половая бурса утолщённая, булавовидная; проксимальным концом достигает заднего края яичника или переднего семенника, половое отверстие на уровне развилка кишечника. Семенники tandemные, круглые, лежат в середине задней части тела. Матка претестиккулярная. Желточные фолликулы протягиваются от заднего конца тела до уровня развилка кишечника или слегка заходят за этот уровень кпереди, заполняют межтестиккулярное пространство.

3.4.2. Молекулярные данные

Материал. В ходе работы для *H. chaenogobii* были получены 13 новых последовательностей фрагмента гена 28S рРНК общей длиной 1401 п.н. и 3 новых последовательности фрагмента гена *cox1* мтДНК общей длиной 843 п.н.

Результаты анализа. Молекулярные данные для *H. chaenogobii*, полученные на основе последовательностей фрагмента гена 28S рРНК и фрагмента гена *cox1* мтДНК для трематод из сахалинской колюшки и бокоплавов, показывают их заметную обособленность от видов рода *Crepidostomum*. Молекулярные данные для *H. chaenogobii* из типового местообитания (Саппоро, о-в Хоккайдо, Япония) отсутствуют.

Г. д., рассчитанные по фрагменту гена 28S рРНК между *H. chaenogobii* и видами рода *Stephanophiala* (5.73–5.83%), указывают на большой путь дивергенции, который прошли эти виды. При сравнении исследованной группы видов с видами рода *Crepidostomum* установлено, что их уровень генетического расхождения значительно ниже (3.79–4.89%), но также находится на межродовом уровне.

Молекулярно-генетический анализ показал, что *H. chaenogobii* занимает промежуточное положение между родами *Acrolichanus* и *Stephanophiala*. Этот факт хорошо согласуется с приведёнными выше значениями г. д., кроме того, значения г. д.

между *H. chaenogobii* и видами рода *Acrolichanus* находятся в промежуточном диапазоне (4.46–4.69%) по отношению к значениям г. д. *Crepidostomum* и *Stephanophiala*, что также соответствует межродовому уровню отличий.

3.5. Под *Allocreadium* Looss, 1900

Синонимы: *Creadium* Looss, 1899 (nomen praeoccupatum); *Macrolecithus* Ozaki, 1926; *Neoallocreadium* Achmerov, 1960; *Allocreadioides* Yamaguti, 1971; *Pseudoallocreadium* Yamaguti, 1971

Типовой вид: *Allocreadium isoporum* (Looss, 1894) Looss, 1900

Типовой хозяин: язь *Leuciscus idus* (Linnaeus, 1758)

Типовое местонахождение: Германия

Состав рода. Данный род отличается самым высоким видовым разнообразием (около 120 видов) в семействе Allocreadiidae, из которых около 50 видов обитает в Палеарктике. До недавнего времени только для 7 видов *Allocreadium* была подтверждена валидность по молекулярным данным (Petkeviciute et al., 2012; Bray et al., 2012; Shimazu, 2017): *Allocreadium isoporum* (Looss, 1894) Looss, 1900; *Al. crassum* (Wesenberg-Lund, 1934) Petkeviciūtė, Stunžėnas, Stanevičiūtė, 2012; *Al. gotoi* (Hasegawa and Ozaki, 1926) Shimazu, 1988; *Al. lobatum* Wallin, 1909, *Al. neotenicum* Peters, 1957.

На территории юга Дальнего Востока России по морфологическим признакам было выделено 6 видов *Allocreadium* (Спасский, Ройтман, 1960; Ахмеров, 1960, 1963; Ройтман, 1963а; Беспрозванных, 1984): *Al. pseudaspis* (Achmerov, 1960), *Al. elongatum* (Achmerov, 1960), *Al. hypophthalmichthydis* (Achmerov, 1960), *Al. gobii* (Ройтман, 1963а), *Al. erythroculteris* (Achmerov, 1960) и *Al. maculati* Ахмеров, 1963. Кроме того, с Дальнего Востока России на основе морфологических и молекулярно-генетических данных был описан новый вид *Al. khankaiensis* (Vainutis, 2020).

Распространение. Ареал рода является самым обширным среди других родов семейства и включает реки и озёра Центральной (Казахстан), Восточной (Япония, Китай) и Южной (Индия) и Передней (Турция) Азии, Северной (Марокко, Судан, Египет), Центральной и Западной Африки, Европейской и Азиатской частей России, Западной (Германия, Великобритания) и Восточной Европы (Чехия, Польша, Украина), Северной (США, Канада, Мексика) и Южной Америки (Аргентина).

3.5.1. Морфологические характеристики

Замечания. Исследована морфология трёх видов рода *Allocreadium* – *Al. hemibarbi*, *Al. khankaiensis* и *Allocreadium* sp. 2, из которых два последних являются новыми для науки. Приведён обновлённый диагноз морфологических характеристик рода *Allocreadium*, а также *Al. hemibarbi*. Описано 2 новых для науки вида.

Материал. 15 образцов *Allocreadium hemibarbi* от кося-губаря *Hemibarbus labeo* из р. Комиссаровка, 10 образцов *Al. khankaiensis* от китайского гольяна *Rhynchocypris oxyscephalus* из р. Комиссаровка и 7 образцов *Allocreadium* sp. 2 от карася *Carassius auratus* из р. Арсеньевка.

Диагноз рода. Тело удлинённо-овальное. Ротовая присоска субтерминальная. Околоротовые сосочки отсутствуют. Пищевод раздваивается перед или дорсально к брюшной присоске. Брюшная присоска может быть больше, равна или меньше ротовой присоски, расположена на границе первой и второй трети тела.

Половая бурса мешковидной формы, латеральна к брюшной присоске или перед ней, половое отверстие непосредственно перед брюшной присоской. Семенники tandemные, округлой, овальной или неправильной формы. Матка претестиккулярная или достигает заднего семенника. Передняя граница желточных фолликул в передней части тела или не достигает брюшной присоски, задняя граница всегда заполняет посттестиккулярное пространство.

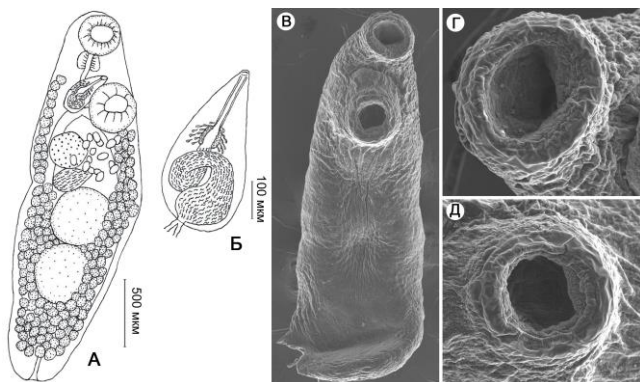


Рисунок 3. Голотип *Allocreadium khankaiensis*, по: Vainutis, 2020. А – Общий вентральный вид. Б – Половая бурса. В–Д – СЭМ-фотографии: В – общий вентральный вид; Г – передний конец тела; Д – брюшная присоска.

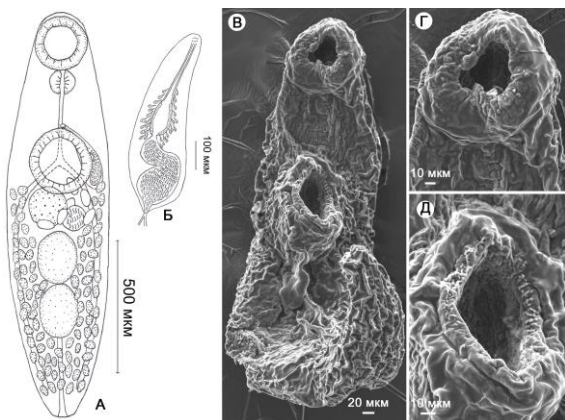


Рисунок 4. Голотип *Allocreadium* sp. 2. А – Общий вентральный вид. Б – Половая бурса. В–Д – СЭМ-фотографии зрелого червя: В – общий вентральный вид; Г – передний конец тела; Д – брюшная присоска.

3.5.2. Молекулярные данные

Материал. В работе получено 23 последовательности фрагмента гена 28S рРНК общей длиной 1384 п.н. для видов *Al. hemibarbi*, *Al. khankaiensis*, *Allocreadium* sp. 2; 2 последовательности фрагмента гена *cox1* мтДНК длиной 847 п. н. для вида *Al. khankaiensis*. Были получены последовательности фрагмента гена 28S рРНК длиной 1384 п.н. для 2 образцов *Allocreadium* sp. 1. Для построения филогенетического дерева были использованы последовательности фрагмента гена 28S рРНК длиной 1024 п.н., обрезанные по длине самой короткой из генного банка. Используемые при построении последовательности 28S рРНК видов *Allocreadium isoporum* (3 последовательности), *Al. crassum* (3 последовательности), *Al. gotoi* (1 последовательность), *Al. neotenicum* (3 последовательности) и *Al. lobatum* (1 последовательность) были взяты из генного банка.

Результаты анализа. Два исследованных вида (*Al. khankaiensis* и *Al. hemibarbi*) хорошо различимы по морфологии и молекулярным данным, их видовой статус подтверждён, внутривидовой генетической изменчивости у этих видов обнаружено не было. Молекулярно-генетический анализ помог выявить трематод *Allocreadium* sp. 1, которые, возможно, являются самостоятельным видом. Также на основе данных молекулярной генетики и сравнительной морфологии был дифференцирован *Allocreadium* sp. 2, который в будущих исследованиях должен быть переописан как новый вид. Согласно последним филогенетическим анализам (Vainutis, 2020; Dos Santos et al., 2021) и результатам данного исследования, род *Allocreadium* на сегодняшний день насчитывает восемь валидных видов: *Al. isoporum*, *Al. lobatum*, *Al. gotoi*, *Al. crassum*, *Al. neotenicum*, *Al. hemibarbi*, *Al. khankaiensis*, *Al. apokryfi*.

3.6. Род *Crepidostomum* Braun, 1900

Типовой вид: *Crepidostomum metoecus* Braun, 1900

Типовой хозяин: вечерницы *Nyctalus lasiopterus* и *N. noctula*

Типовое местонахождение: Вена, Австрия

Состав рода. В составе рода насчитывается 11 валидных видов: *C. metoecus* Braun, 1900, *C. brinkmanni* Faltýnková, Pantoja, Skírnisson, Kudlai, 2020, *C. cornutum* (Osborn, 1903) Stafford, 1904, *C. auritum* (MacCallum, 1919), *C. cooperi* Hopkins, 1932, *C. illinoiense* Faust, 1918, *C. oschmarini* Zhokhov, Pugacheva, 1998, *C. affine* Tkach, Curran, Bell & Overstreet, 2013, *C. isostomum* Hopkins, 1931, новый для науки вид *C. achmerovi* Vainutis, Voronova, Urabe, 2021 и *C. nemachilus* Krotov, 1959, валидность которого в диссертации подтверждена молекулярными данными.

Распространение. Многочисленные реки и озёра Европы (Исландия, Британия, Норвегия, Финляндия, Германия, Польша, Чехия, Югославия, Россия), Южной (Индия), Восточной (Китай, Япония) и Северо-Восточной Азии (Дальний Восток России) и Северной Америки (США, Канада).

По результатам настоящего исследования установлено, что *C. nemachilus* заселяет реки Южного Сахалина, включая р. Сусуя – типовое местонахождение этого вида, что также было отмечено Соколовым с соавт. (2012). В свою очередь, *C. metoecus* обитает в реках Приморья, не имеющих соединения с бассейном р. Амур.

3.6.1. Морфологические характеристики

Замечания. На основе собственных и литературных данных (Thomas, 1958; Кротов, 1959; Caira, 19856; Ayer, Katahira, 2015; Shimazu, 20166; Petkevičiūtė et al., 2018; Vainutis et al., 2021) приведён обновлённый диагноз морфологических характеристик рода *Crepidostomum* s. str. (исправлен из Caira, 19856), а также типового вида *C. metoecus*. Описан новый для науки вид *C. achmerovi* Vainutis, Voronova, Urabe, 2021.

Материал. 4 половозрелых особи типового вида *C. metoecus* от сибирского гольца *Barbatula toni* из р. Артёмовка Приморского края и 9 половозрелых особей *C. achmerovi* от *B. toni* из р. Комиссаровка.

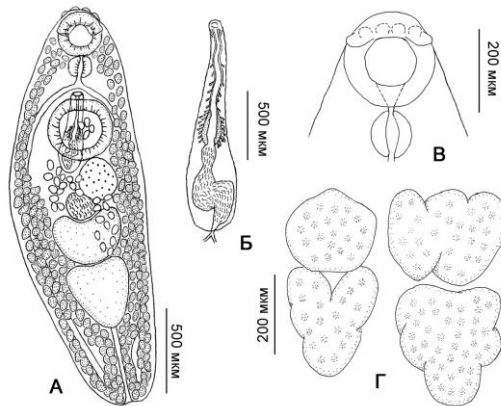


Рисунок 5. Голотип *Crepidostomum achmerovi* Vainutis, Voronova, Urabe, 2021. А – Общий вентральный вид. Б – Половая бурса. В – Схематическое изображение переднего конца тела червя. Г – Вариация формы семенников.

Диагноз рода. Тело удлинённое. Ротовая присоска субтерминальная, снабжена 6 околоротовыми сосочками, причём венролатеральные сосочки ушковидные. Пищевод короткий, раздваивается примерно на середине расстояния между присосками или непосредственно перед брюшной. Брюшная присоска больше ротовой, расположена на границе первой и второй трети тела или в первой трети тела. Половая бурса проксимальным концом достигает переднего края яичника, половое отверстие позади развилка кишечника. Семенники tandemные, овальной или неправильной формы, слегка изрезанные, лежат в середине задней части тела. Матка претестиккулярная или достигает заднего семенника. Передняя граница желточных полей в передней части тела, обычно достигает уровня глотки, задняя граница всегда заполняет посттестиккулярное пространство.

3.6.2. Молекулярные данные

Материал. В ходе работы для видов *C. achmerovi* (5 червей), *C. nemachilus* (7 червей), *C. metoecus* (25 червей) были получены 37 новых последовательностей фрагмента гена 28S рРНК общей длиной 1380 п.н. Г. д. были рассчитаны для 8

евразийских и 4 североамериканских видов рода *Crepidostomum* на основе фрагмента гена длиной 1026 п.н.

Результаты анализа. Ген 28S рРНК. На основе результатов морфологического и филогенетического анализов палеарктические виды *Crepidostomum metoecus*, *C. achmerovi*, *C. nemachilus*, *C. brinkmanni* и *C. oschmarini* несомненно относятся к роду *Crepidostomum* s. str., который и должен считаться самостоятельным родом *Crepidostomum* Braun, 1900.

Филогенетический анализ по фрагменту гена 28S показал, что *C. achmerovi*, *C. nemachilus* и *C. metoecus* практически невозможно разделить по данному гену на межвидовом уровне, однако полученные значения г. д., равные 0.18%, указывают на расхождения между этими видами, соответствующие межвидовому диапазону в семействе Allocreadiidae (Atopkin et al., 2018; Vainutis, 2020).

Ген *cox1* мтДНК. В результате филогенетического анализа по фрагменту гена *cox1* установлено, что близкородственные виды *C. achmerovi* из Приморья и *C. nemachilus* с Южного Сахалина занимают независимое положение по отношению к типовому виду *C. metoecus* из Южного Сахалина, Приморья и Японии. Данное разделение статистически высоко поддержано (1.0), а величины г. д. позволяют с уверенностью утверждать о валидности *C. achmerovi* и *C. nemachilus* по отношению к виду *C. metoecus* – 10.186% и 10.453% соответственно.

3.7. Дополнительные замечания

Кроме изученных в работе 6 родов Allocreadiidae известны ещё 11 номинальных родов исследуемого семейства, обитающих на территории Неарктики и Неотропиков (США, Канада, Мексика, Коста-Рика, Венесуэла, Бразилия, Аргентина, Перу): *Margotrema* Lamothe-Argumedo, 1970, *Creptotrema* Travassos, Artigas, Pereira, 1928, *Megalogonia* Surber, 1928, *Paracreptotrema* Choudhury, Pérez-Ponce de León, Brooks, Daverdin, 2006, *Paracreptotrematoides* Pérez-Ponce de León, Pinacho-Pinacho, Mendoza-Garfias, Choudhury, García-Varela, 2016, *Pseudoparacreptotrema* Pérez-Ponce de León, Pinacho-Pinacho, Mendoza-Garfias, Choudhury, García-Varela, 2016, *Creptotrematina* Yamaguti, 1954, *Wallinia* Pearse 1920, *Auriculostoma* Scholz, Aguirre-Macedo, Choudhury, 2004, *Trematichthys* Vaz, 1932 и *Bunoderella* Schell, 1964. Из них только для девяти родов подтверждена валидность по молекулярно-генетическим данным: *Margotrema*, *Creptotrema*, *Megalogonia*, *Paracreptotrema*, *Paracreptotrematoides*, *Pseudoparacreptotrema*, *Creptotrematina*, *Wallinia* и *Auriculostoma*.

ГЛАВА 4. СИСТЕМАТИКА И ФИЛОГЕНИЯ ALLOCREADIIDAE

В настоящем исследовании на основе анализа морфометрических, молекулярно-генетических и литературных материалов (Yamaguti, 1958, 1971; Коваль, 1966; Скрябин и Коваль, 1966; Pérez-Ponce de León, Pinacho-Pinacho et al., 2016; da Silva et al., 2020; Pérez-Ponce de León, Sereno-Urbe et al., 2020) приведены результаты таксономической ревизии Allocreadiidae, что позволило более рационально сгруппировать все таксоны изученной группы трематод. На основе анализа оригинальных и литературных молекулярно-генетических данных проведена оценка филогенетических связей в исследуемом семействе, подтверждена и расширена

гипотеза Мантера (Manter, 1963) о происхождении и дивергенции Allocreadiidae на территории Юго-Восточной Азии.

4.1. Классификация и состав родов и видов Allocreadiidae

В результате проведенной таксономической ревизии в состав семейства Allocreadiidae вошли 16 родов и 85 видов, из которых на территории Палеарктики отмечено 6 подсемейств, 6 родов и 41 вид. По молекулярно-генетическим данным подтверждена валидность только для 22 видов, в том числе для 14 видов по результатам настоящего исследования.

4.2. Определительная таблица Allocreadiidae

Определительная таблица подсемейств, родов и видов палеарктических Allocreadiidae составлена на основе изучения морфологии взрослых червей, а также литературных данных. В качестве дополнительного привлечённого материала послужили морфологические описания видов из литературы, большая часть которых была заимствована из Коваль (1966) и Скрябина и Коваль (1966). Всего в таблицу включено 38 видов аллокреаид, относящихся к 6 родам и 6 подсемействам. При составлении определительной таблицы были использованы комбинации разных ключевых признаков (например, рис. 6, 7), в том числе: форма и размер ротового отверстия и глотки; наличие или отсутствие окolorотовых сосочков и их форма; длина пищевода и положение развилка кишечника; форма и расположение половой бursy относительно брюшной присоски; положение полового отверстия; tandemное или диагональное положение семенников; протяжённость маточных петель; степень заполнения желточными фолликулами отдельных частей тела.

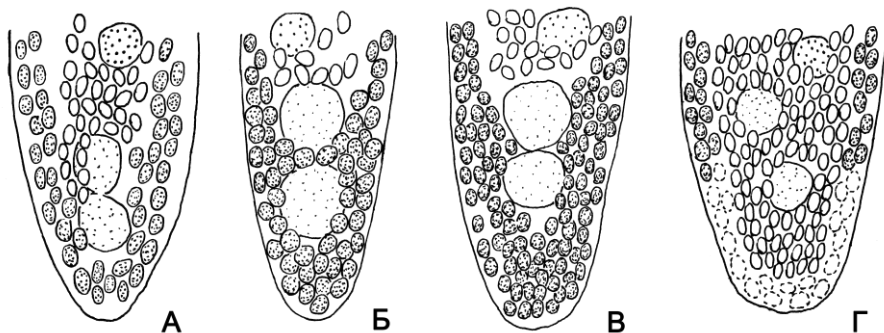


Рисунок 6. Схематическое изображение задней части тела шести родов семейства Allocreadiidae. А – *Acrolichanus*; Б – *Hokkaidoinsula* gen. nov.; В – *Stephanophiala*, *Allocreadium*, *Crepidostomum*; Г – *Bunodera*, пунктиром отмечена протяжённость желточных полей у видов *B. luciopercae*, *B. acerinae*, *B. vytautasi* и *B. dogieli*.

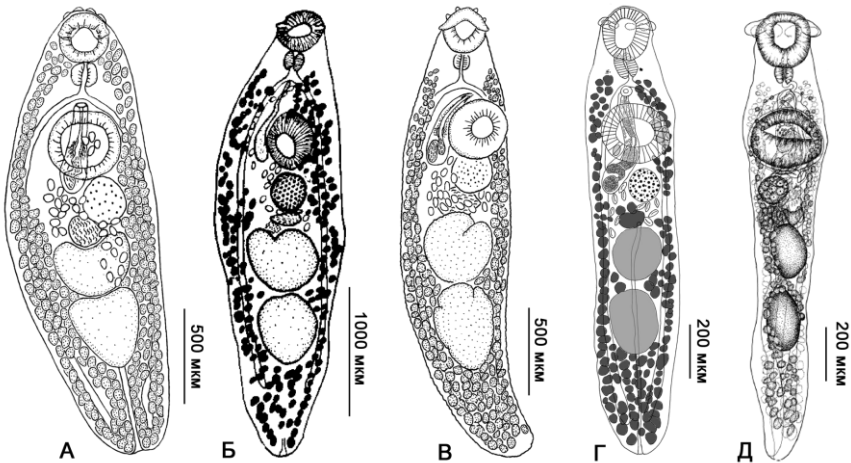


Рисунок 7. Виды рода *Crepidostomum*. А – *C. achmerovi*, оригинальный рисунок; Б – *C. nemachilus*, по: (Кротов, 1959); В – *C. metoecus*, оригинальный рисунок; Г – *C. oschmarini*, по: (Petkevičiūtė et al., 2018); Д – *C. brinkmanni*, по: (Faltýnková et al., 2020).

4.3. Филогенетическое древо Allocreadiidae

Для уточнения филогенетических связей в семействе Allocreadiidae в работе впервые все доступные молекулярные данные для видов исследуемого семейства из Евразийского и Американского континентов были сведены на одном филогенетическом древе (рис. 8), что позволило объединить 45 валидных видов в составе 15 валидных родов. Все виды распределились по семи кладам с высокой статистической поддержкой. Наиболее близкими к основанию древа расположились роды *Acrolichanus*, *Stephanophiala*, *Bunodera*, *Hokkaidoinsula* gen. nov., *Allocreadium* и *Crepidostomum* sensu stricto, которые сформировали шесть монофилетических клад (рис. 8, I–VI), причём ближайшим к общему предку исследуемого семейства оказался род *Acrolichanus*, представленный преимущественно паразитами наиболее древних по происхождению осетровых рыб. Среди отдельных видов *Acrolichanus*, наиболее близкое положение к общему предку аллокреадиид занимает *Acrolichanus* sp. 1 из реки Амур и Амурского лимана – паразит амурского осетра *Acipenser schrenckii* и калуги *Huso dauricus*.

Наиболее удаленная от общего предка клада VII оказалась образована девятью родами, обитающими исключительно на территории Неоарктики и Неотропиков. Причем неотропические роды подсемейства Walliniinae, скорее всего, относятся к эволюционно самым молодым представителям Allocreadiidae.

Установленные филогенетические связи позволяют предположить, что центром происхождения, распространения и дивергенции исследуемого семейства является, по-видимому, территория восточной части Лавразии (современная территория Юго-Восточной Азии), откуда эти трематоды могли проникать через Берингию в Северную Америку и далее через Центральную Америку в Южную, а

также через Якутию и Забайкалье в западную часть Палеарктики (Богатов, Вайнутис, 2022).

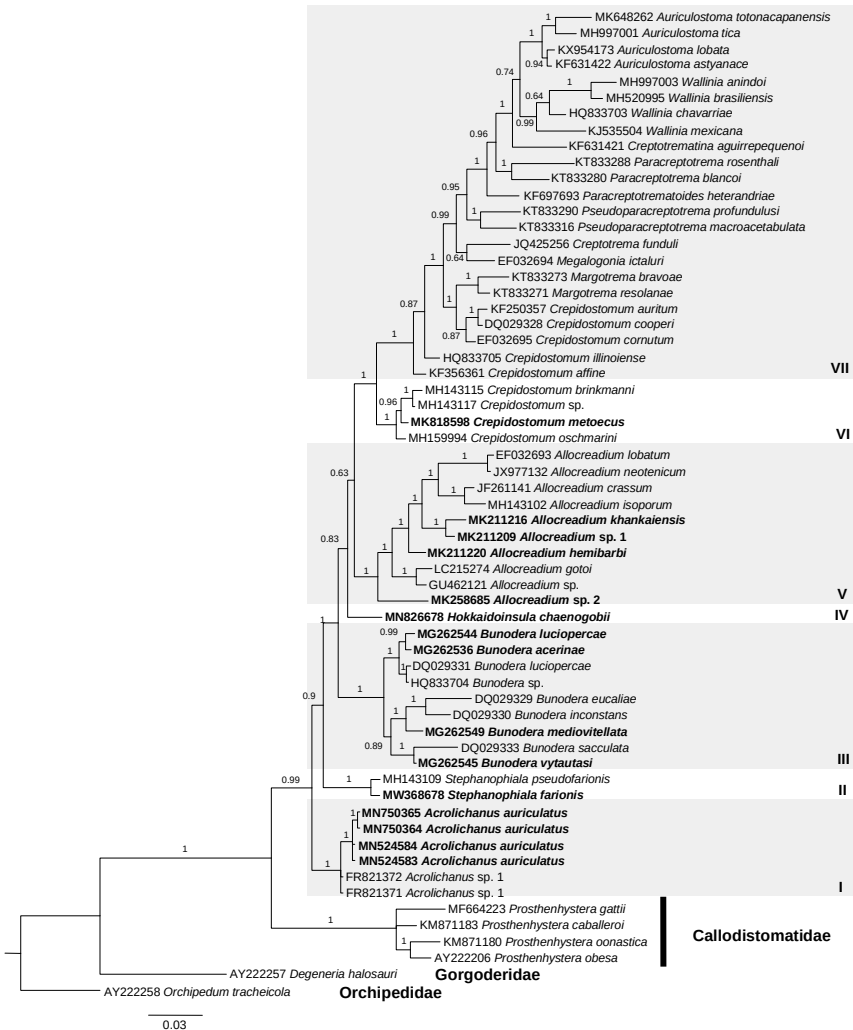


Рисунок 8. Филогенетическое древо семейства Allostegadiidae на основе фрагмента гена 28S рДНК, построенное с помощью метода Байесовского Вывода. Числа на ветвях являются значениями апостериорных вероятностей алгоритма BI. Римскими цифрами на древе отмечены клады.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Морфологическими исследованиями показано, что для межродовой и видовой дифференциации палеарктических Allocreadiidae необходимо учитывать комбинацию следующих ключевых признаков: форму и размер ротового отверстия и глотки; наличие или отсутствие околоротовых сосочков и их форму; длину пищевода и положение развилка кишечника; форму и расположение половой бursы относительно брюшной присоски; положение полового отверстия; тандемное или диагональное положение семенников; протяжённость маточных петель; степень заполнения желточными фолликулами отдельных частей тела.

2. Морфологический и молекулярно-генетический анализы подтвердили валидность родов *Acrolichanus* и *Stephanophiala*, которые в прошлом рассматривались как синонимы рода *Crepidostomum*, при этом род *Acrolichanus* оказался политипическим, а не монотипическим, как считалось ранее, и в настоящий момент включает как минимум два вида-близнеца: *A. auriculatus* из рек Сибири, европейской части России и оз. Уиннебейго (США) и близкий к нему по молекулярным данным *Acrolichanus* sp. 1 из р. Амур (Россия).

3. Установлено, что комплекс видов «*Crepidostomum metoecus*» представляет собой самостоятельный род *Crepidostomum* Braun, 1900 s. str. в составе 5 видов: *C. metoecus* (типовой вид), *C. nemachilus*, *C. oschmarini*, *C. achmerovi* и *C. brinkmanni*. Генетические дистанции по фрагментам генов 28S рРНК (0%) и *cox1* мтДНК (1.65–3.67%) между отдельными выборками *C. metoecus* соответствовали внутривидовому уровню, что подтвердило его статус в качестве вида-космополита. Синонимизация *C. nemachilus* с видами *C. metoecus* и *Stephanophiala farionis* оказалась несостоятельной. Новый вид *C. achmerovi* из реки Комиссаровка по морфологическим критериям оказался близкородственным видом *C. nemachilus*.

4. На основе анализа фрагмента гена 28S рРНК из выборок из Приморья, Южного Сахалина и Японии восстановлен род *Stephanophiala* Nicoll, 1909, в состав которого вошли три вида: *S. farionis* (типовой вид), *S. pseudofarionis* (Faltýnková, Pantoja, Skirnisson, Kudlai, 2020) comb. nov. и *S. wikgreni* (Gibson, Valtonen, 1988) comb. nov. Результаты анализа филогенетических связей родов *Bunodera* (типовой вид *B. luciopercae*) и *Allocreadium* (типовой вид *A. isoporum*) подтвердили их монофилетичность, при этом установлено, что изученные роды насчитывают по 7 и 20 валидных видов соответственно.

5. Показано, что семейство Allocreadiidae в Палеарктике насчитывает 76 номинальных видов, относящихся к 6 родам: *Acrolichanus*, *Stephanophiala*, *Bunodera*, *Hokkaidoinsula* gen. nov., *Allocreadium* и *Crepidostomum*. По молекулярно-генетическим данным подтверждена валидность только для 21 вида, в том числе для 14 видов по результатам настоящего исследования. Три вида (*Bunodera vytautasi* Atopkin, Sokolov, Shedko, Vainutis et Orlovskaya, 2018; *Allocreadium khankaiensis* Vainutis, 2020, *Crepidostomum achmerovi* Vainutis, Voronova, Urabe, 2021) и один род (*Hokkaidoinsula* gen. nov.) описаны как новые для науки.

6. На основе анализа филогенетических связей в семействе Allocreadiidae сделано предположение, что наиболее вероятным центром происхождения, распространения и дивергенции исследуемого семейства является восток Лавразии (территория современной Юго-Восточной Азии), откуда эти трематоды проникали через Берингию в Северную Америку и далее через Центральную Америку в Южную, а также через Якутию и Забайкалье в западную часть Палеарктики.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах из списка, рекомендованного ВАК:

1. Atopkin D.M., Sokolov S.G., Shedko M.B., **Vainutis K.S.**, Orlovskaya O.M. Diversity of the genus *Bunodera* Railliet, 1896 (Trematoda: Allocreadiidae) in the northern part of Eastern Europe and North-eastern Asia, estimated from 28S rDNA sequences, with a description of *Bunodera vytautasi* sp. nov. // Parasitology Research. 2018. Vol. 117, Is. 6. P. 1765–1772. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5858-y>
2. Atopkin D.M., Sokolov S.G., **Vainutis K.S.**, Voropaeva E.L., Shedko M.B., Choudhury A. Amended diagnosis, validity and relationships of the genus *Acrolichanus* Ward, 1917 (Digenea: Allocreadiidae) based on the 28S rRNA gene, and observations on its lineage diversity // Systematic Parasitology. 2020. Vol. 97. P. 143–156. <https://doi.org/10.1007/s11230-020-09901-z>
3. **Vainutis K.S.** *Allocreadium khankaiensis* sp.nov. and *Allocreadium hemibarbi* Roitman, 1963 (Trematoda: Allocreadiidae) from the Russian Far East: Morphological, molecular, and phylogenetic studies // Parasitology International. 2020. Vol. 76. P. 102102. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102102>
4. **Vainutis K.S.**, Voronova A.N., Urabe M. Systematics of *Crepidostomum* species from the Russian Far East and northern Japan, with description of a new species and validation of the genus *Stephanophiala* // Parasitology International. 2021. Vol. 84. P. 102412. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102412>
5. **Вайнутис К.С.**, Воронова А.Н. Исследование гельминтофауны реки Болотная и пойменного озера близ поселка Соловей-Ключ (Надеждинский район, Приморский край) // Вестн. ДВО РАН. 2021. № 1. С. 94–101. https://doi.org/10.37102/0869-7698_2021_215_01_09
6. Богатов В.В., **Вайнутис К.С.** О происхождении семейства Allocreadiidae (Trematoda: Plagiorchiida) // Доклады Российской Академии наук. Науки о жизни. 2022. Т. 502, № 1. С. 104–108. <https://doi.org/10.31857/S268673892201005X>

Работы в материалах конференций:

1. **Vainutis K.S.** Comparative molecular-genetic analysis of some species of genus *Crepidostomum* (Digenea: Allocreadiidae) by means of rDNA sequence data // 4th International Conference on Parasitology. Prague, Czech Republic. J. Bacteriol Parasitol. 2017. DOI: 10.4172/2155-9597-C1-035
2. **Vainutis K.S.**, Atopkin D.M., Shedko M.B. Comparative molecular-genetic analysis of some species of parasitic flat worms from the genus *Crepidostomum* based on sequencing data of 28S gene region of rDNA // International Symposium “Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics (MAPEG-2017)”. 2017.
3. **Vainutis K.S.** The Phylogenetic Relationships of the Family Allocreadiidae Looss, 1902 with Other Representatives of Superfamily Allocreadioidea Nicoll, 1934// The 1-st International Conference "North East Asia Biodiversity". Vladivostok, Russia. 2018.
4. **Вайнутис К.С.**, Атопкин Д.М., Соколов С.Г., Шедько М.Б., Орловская О.М. Разнообразие рода *Bunodera* Railliet, 1896 (Trematoda: Allocreadiidae) в северной части

Восточной Европы и Северо-восточной Азии, оценённое по последовательностям 28S рДНК, с описанием *Bunodera vytautasi* sp. nov. // Международная Конференция «Современная Паразитология — Основные Тренды и Вызовы (VI Съезд Паразитологического Общества)». Санкт-Петербург, 15–19 октября 2018 г.

5. **Вайнутис К.С.**, Атопкин Д.М., Шедько М.Б. Восстановление родового статуса рода *Acrolichanus* Ward, 1917 по его морфологическому описанию и построению филогенетических связей между представителями семейства Allocreadiidae Looss, 1902 // В издании «Труды Центра паразитологии. Биоразнообразие паразитов». Том L. 2018. С. 56–57.

6. **Vainutis K.S.** Study of the Species Diversity of the Genus *Allocreadium* Looss, 1900 (Trematoda: Allocreadiidae) on the South of Russian Far East // The 2nd International conference on Northeast Asia biodiversity, China. 2019.

7. **Вайнутис К.С.**, Воронова А.Н., Урабэ М. Отличительные особенности трематод *Crepidostomum metoecus* Braun, 1900 и *C. nemachilus* Krotov, 1959 (Gorgoderoidea: Allocreadiidae: Crepidostomatinae) с Дальнего Востока России в соответствии с молекулярно-генетическими и морфологическими данными // IX Всероссийская конференция. Чтения памяти проф. В.Я. Леванидова, Владивосток, 22–24 марта 2021 г.

ВАЙНУТИС КОНСТАНТИН СЕРГЕЕВИЧ

**Морфология, систематика и филогения палеарктических *Allocreadiidae*
(Trematoda: Plagiorchiida)**

1.5.12 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Заказ № 00000. Формат 60×84. Усл. печ. л. Тираж 100 экз.
Подписано в печать 20.04.2022 г.

Отпечатано в типографии...