

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
Высшего образования  
Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского

На правах рукописи

Федорова Людмила Ивановна  
БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГИРУДОФАУНЫ  
БАССЕЙНА РЕКИ ИРТЫШ (КАЗАХСТАН)  
03.02.08 – Экология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель  
кандидат биологических наук,  
с.н.с. Кайгородова Ирина Александровна

Научный консультант  
доктор биологических наук,  
профессор Саловаров Виктор Олегович

Иркутск - 2018

## Оглавление

Список сокращений и условных обозначений.....	3
Введение.....	4
<b>ГЛАВА 1. Физико-географическая характеристика бассейна реки Иртыш</b>	10
1.1 Географическое положение и рельеф.....	10
1.2. Климатические условия.....	12
1.3. Гидрологические и гидрохимические характеристики.....	16
1.4. Антропогенное влияние на речную экосистему.....	19
<b>ГЛАВА 2. Литературный обзор</b>	26
<b>2.1. Современное состояние знаний о гирудофауне</b> .....	26
2.1.1. Общая характеристика Hirudinea.....	26
2.1.2. Анатомо-морфологические особенности.....	28
2.1.3. Проблемы классификации пиявок.....	33
2.1.4. Зоогеография пиявок.....	35
2.1.5. Эйдэкология пресноводных гирудинид.....	37
2.1.6. Роль пиявок в экосистемах пресных вод.....	42
<b>2.2. Биоразнообразие и методы делимитации таксонов</b>	43
2.2.1. Биоразнообразие.....	43
2.2.2. Филогенетическое разнообразие.....	46
2.2.3. Современные методы делимитации таксонов.....	48
<b>ГЛАВА 3. Материалы и методы исследования</b>	60
3.1. Сбор материала.....	60
3.2. Камеральная обработка и морфологический анализ.....	62
3.3. Гидрохимические показатели.....	62
3.4. Статистический анализ.....	63
3.5. Молекулярный анализ и делимитация видов на основе молекулярных данных ...	64
<b>ГЛАВА 4. Видовой состав пиявок в бассейне р. Иртыш</b>	67
4.1. Морфологическая идентификация видов.....	67
4.2. Филогенетическое разнообразие бесхоботных пиявок.....	85
4.3. Филогенетическое разнообразие хоботных пиявок.....	94
<b>ГЛАВА 5. Пространственное распределение и влияние экологических факторов на жизнедеятельность пиявок</b>	112
5.1. Пространственное распределение различных видов пиявок.....	112
5.2. Влияние факторов окружающей среды на гирудофауну.....	122
Выводы.....	132
Список литературы.....	134
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	155
1. Список образцов, использованных для делимитации видов бесхоботных пиявок Прииртышья	
2. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Erpobdellidae	
3. Список образцов, использованных для делимитации видов хоботных пиявок Прииртышья	
4. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Piscicolidae	
5. Генетические дистанции между филогенетическими группами рода <i>Helobdella</i>	
6. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Glossiphoniidae	

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

вдхр. – водохранилище

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

км - километр

л. – литр

м – метр

мг – миллиграмм

млн. – миллион

мм – миллиметр

мтДНК – митохондриальная ДНК

оз. - озеро

п.н. – пары нуклеотидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

пос. – поселок

р. – река

р-н – район

с. – секунда

см – сантиметр

т. – тонна

тыс. – тысяча

ЦТАБ - цетилтриметиламмоний бромид

ABGD – (Automatic Barcode Gap Discovery) автоматическое обнаружение штрих-кодов

BOLD–(Barcode of Life Database) база данных программы «Штрих-код жизни»

COI – первая субъединица митохондриальной цитохром *c* оксидазы

GMYS – (General Mixed Yule Coalescent)

UPGMA – (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages) метод парного группирования посредством арифметическим

## Введение

**Актуальность исследования.** Пресные воды покрывают лишь около 0.8% поверхности Земли [110]. Учитывая скорость, с которой под воздействием антропогенных факторов деградируют водные экосистемы – неминуема угроза их биологическому разнообразию. Особенно сложной эта ситуация представляется для беспозвоночных и микроорганизмов [94]. Между тем, своевременное и точное определение видов зачастую имеет решающее значение при осуществлении биологического контроля, диагностики, профилактики болезней и выявлению паразитических видов, а также выявление видов – биологических индикаторов загрязнений [69, 74, 133]. В связи с этим становится очевидной необходимость проведения исследований направленных на изучение взаимосвязи между биоразнообразием, функционированием водных экосистем и их экологической стабильностью.

Река Иртыш располагается на границе Западно-Сибирской равнины, Алтайских гор и Казахстанского мелкосопочника и демонстрирует широкий спектр климатических условий, окружающей среды и экологических ниш. В пределах бассейна Иртыша на территории Казахстана расположены промышленные объекты, которые являются как основными водопотребителями, так и прямыми источниками загрязнения [8]. Данное обстоятельство, несомненно, оказывает влияние на видовое богатство флоры и фауны, включающих в себя комплекс как европейских, так и азиатских видов [28]. Исходя из вышеизложенного, остро встает вопрос об организации биологического мониторинга на различных участках бассейна р. Иртыш.

Пиявки в числе донных беспозвоночных организмов, являются важным элементом в трофических связях [33, 66] и перспективной группой для оценки качества и биологического мониторинга водных сред [4, 34, 42, 43, 61, 112, 130, 131, 175]. Однако, в связи со слабой изученностью видового разнообразия гирудинид, недостаточным количеством опубликованных сведений о взаимоотношении пиявок с окружающей средой и влиянием на них различных

загрязняющих веществ, широкое использование гирудинид в этих целях в настоящее время затруднительно.

Между тем, пиявки характеризуются чрезвычайно высокой пластичностью и географическим разнообразием морфологических форм, что приводит к противоречивым оценкам и затрудняет определение таксономического статуса образцов. Данное обстоятельство дает основание предполагать, что использование традиционных морфологических методов для оценки биологического разнообразия кольчатых червей, в частности гирудинид, недостаточно, что обуславливает необходимость применения молекулярно-генетических методов для уточнения определений видовой принадлежности пиявок наряду с классическим анализом морфологических признаков.

**Степень разработанности темы исследования.** Изучение пресноводных гирудинид в качестве индикатора оценки качества пресной воды ставится все более актуальным [4, 34, 42, 43, 59, 112, 130, 131, 175]. Несмотря на уже имеющиеся сведения, существует ряд недостаточно изученных вопросов усложняющих повсеместное использование пиявок в этих целях. Крайне мало опубликованных сведений о взаимоотношении пиявок с окружающей средой, и влиянию на них различных загрязняющих веществ [125]. Кроме того, в качестве биоиндикаторов загрязнения описываются в основном среднеевропейские виды пиявок.

Согласно литературным сведениям до настоящего времени, целенаправленных исследований гирудофаны на территории Казахстана не проводилось. Свидетельства об обнаружении пиявок встречаются только в рамках изучения проб макрозообентоса в водоемах высокого рыбохозяйственного значения. Так, в Бухтарминском и Шульбинском водохранилищах было выявлено обитание четырех видов пиявок: *Erpobdella ocloulata* (L., 1758), *Hemiclepsis marginata* (Müller, 1774), *Caspiobdella fadejewi* (Epstein, 1961), *Piscicola geometra* (L., 1758), Ареал *C. fadejewi* вида весьма ограничен и находится в пределах бассейна рек, впадающих в Азовское и Черное моря. Возможно, в Восточный Казахстан этот вид был случайно завезен с интродуцированной рыбой, либо

видовая принадлежность этой писциколиды определена не верно. В целом, инвентаризация пиявок и изучение их экологических особенностей в бассейне р. Иртыш является своевременной мерой направленной на изучение биологического разнообразия.

**Цель и задачи.** Цель работы заключается в комплексном изучении видового состава, выявлении особенностей распределения пресноводных пиявок в бассейне р. Иртыш и определении возможности их использования в оценке экологического состояния водных экосистем.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить таксономический состав фауны пресноводных пиявок бассейна р. Иртыш.
2. Охарактеризовать особенности распределения пиявок и выделить основные факторы среды на него влияющие.
3. Проанализировать эколого-популяционные характеристики гирудофауны в биотопах с разным уровнем загрязнения.
4. Выявить возможность использования пиявок в качестве биоиндикаторов и оценки качества водной среды.

**Научная новизна.** Впервые получен обширный фактический материал о фаунистической структуре пресноводных гирудинид Казахстана, приобретенный с применением комплексного подхода, включающего в себя морфологический и молекулярно-генетический методы, по результатам которых подтверждено присутствие в фауне бассейна реки Иртыш 12 видов пиявок, семь из них являются потенциально новыми для науки. Полученные сведения позволили расширить географические границы распространения трех палеарктических видов, обнаруженных впервые на изучаемой территории. Применение техники ДНК-штрихкодирования позволило выявить девять комплексов криптических видов глоточных пиявок.

Впервые изучены структурные показатели и проанализированы оригинальные данные по влиянию разных экологических факторов на закономерность распределения видов в гирудотаксоценозах. Результаты

многомерной статистики позволили определить, что в водных средах бассейна р. Иртыш, подверженных сильному антропогенному воздействию, наблюдается снижение общей численности и биомассы пиявок, а также происходит обеднение видового состава за счет выпадения наиболее чувствительных видов.

**Теоретическая значимость работы.** Полученные в работе сведения о видовом составе, обилии и распределении пресноводных пиявок в связи с экологическими особенностями водных объектов бассейна р. Иртыш, вносят вклад в познание фундаментальных научных проблем влияния среды на формирование локальных фаунистических сообществ.

**Практическая значимость работы.** Результаты комбинированного морфологического и молекулярно-филогенетического анализа гирудофауны Восточного Казахстана вносят существенный вклад в международные базы нуклеотидных последовательностей, что создаёт основу для конструирования идентификационных систем с использованием молекулярных данных. Кроме того данные о биологическом разнообразии и распространении видов, приведенные в работе морфологические описания и фотоиллюстрации могут быть использованы для составления определителей, аннотированных видовых списков и региональных кадастров беспозвоночных животных.

Полученные данные о структурных показателях сообществ дают основание полагать, что гирудотаксоценозы могут являться биоиндикационными системами, показывающими степень влияния различных загрязнителей на жизнедеятельность макрозообентоса. Материалы диссертации используются в учебном процессе при подготовке бакалавров и магистров Иркутского ГАУ имени А. А. Ежовского при проведении практических занятий по дисциплинам: зоология беспозвоночных, мониторинг природных экосистем, охрана природы.

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Применение методов молекулярной делимитации видов в комплексе с классическими морфологическими методами позволило достоверно расширить состав фаунистического комплекса гирудинид в Казахстане на 75%.

2. Структурно-видовые показатели гирудоценозов зависят от экологического состояния биотопа и могут быть успешно использованы в качестве косвенного индикатора уровня загрязнения пресных водоемов.

**Личный вклад.** Автором проводились все основные этапы исследования: экспедиционные работы по сбору биологического материала, пробоподготовка, морфологический анализ, молекулярно-генетические работы, а также подготовка и публикация полученных результатов. Выводы сделаны на основании собственных оригинальных данных.

**Апробация результатов исследований.** Материалы диссертационной работы докладывались на международной конференции молодых ученых «Современные вопросы экологического мониторинга водных и наземных экосистем» (Ростов-на-Дону, 2015), международной конференции молодых ученых «Водные ресурсы: изучение и управление» (Лимнологическая школа-практика) (Петрозаводск, 2016), IV международной конференции «Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое и будущее» (Горно-Алтайск, 2016), всероссийской конференции с международным участием «Водные экосистемы Сибири и перспективы их использования» (Томск, 2016), IV всероссийской конференции «Биологические ресурсы: изучение, использование, охрана» (Вологда, 2018), международной научно-практической конференции, студентов, аспирантов и молодых ученых «Социально-экологические проблемы байкальского региона и сопредельных территорий» (Иркутск, 2018).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 5 статей в научных журналах, включенных в список ВАК и приравненных к ним (в зарубежных журналах системы Web of Science – 2; в российских изданиях – 3) и 6 статей в сборниках научных трудов по материалам конференций международного и национального уровня.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, списка литературы и шести приложений. Работа изложена на 170

страницах, включая приложения, содержит 32 рисунка и 20 таблиц. Список цитируемой литературы включает 196 источников, из которых 131 зарубежный.

**Благодарности.** Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю к.б.н. Кайгородовой Ирине Александровне за помощь на всех этапах выполнения диссертационной работы и научному консультанту д.б.н. Саловарову Виктору Олеговичу за объективные замечания при подготовке диссертации. Кроме того, автор признателен за помощь в организации экспедиционных работ и сборе образцов Елизавете Арэфьевне Федоровой, Александру Юрьевичу Сулейманову и к.с-х.н. Орынгали Досперловичу Игликову; коллегам из Лимнологического института СО РАН к.б.н. Букину Юрию Сергеевичу за консультации по применению методов многомерной статистики, Сороковиковой Наталье Вениаминовне за ценные советы по работе с ДНК и Мандзяк Надежде Богдановне за помощь в идентификации плоских пиявок.

# ГЛАВА 1. ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАССЕЙНА РЕКИ ИРТЫШ

## 1.1. Географическое положение и рельеф

Казахстан является самым малообеспеченным водными ресурсами государством среди стран СНГ. Более 60% его территории расположено в аридной зоне, имеющей низкое увлажнение и крайне неравномерное распределение водных ресурсов [44].

Одной из основных водных артерий Республики Казахстан является река Иртыш. В связи с особенностями географического расположения река Иртыш отнесена к водоемам международного значения [28]. Иртыш берет начало на границе Монголии и Китая, протекая по территории Казахстана и впадая в реку Обь на территории России. Общая протяженность реки, включая Черный Иртыш составляет 4248 км, при общей площади бассейна 1643 тыс. км<sup>2</sup>. При этом верховья Иртыша (протяженностью 527 км) находятся в Китае, средняя его часть (1637 км) – пределах Казахстана, низовье (2084 км) – в России. Средний сток реки Иртыш составляет около 300 м<sup>3</sup>/сек, на границе с Россией (с. Черлак) 840 м<sup>3</sup>/сек [47].

Казахстанский участок реки располагается на границе Западно-Сибирской равнины, Алтайских гор и Казахстанского мелкосопочника [39] и охватывает территорию площадью 354,2 тыс. км<sup>2</sup>. Согласно административному делению, бассейн изучаемой реки локализуется на территории Восточно-Казахстанской, Павлодарской, включая часть Акмолинской и Карагандинской областей.

По характеру рельефа бассейн реки Иртыш подразделяется на две части: горную и равнинную. От границы Китая на протяжении 144 км, протекает по песчано-глинистой безводной степи. Высота берегов здесь варьирует от 2 до 4 м. На некоторых участках к берегам подходят глинистые увалы, образующие береговые обрывы высотой 25 м. Далее на протяжении 425 км располагается акватория Бухтарминского водохранилища, верхние 90 км которого приходятся на озеро Зайсан, расположенное в зоне подпора. Ниже по течению - от

Бухтарминского гидроузла до Усть-Каменогорского и далее Шульбинского гидроузла река протекает в наиболее узкой долине, лежащей среди гор, причем значительная часть реки находится в подпоре водохранилищ. При этом русло реки на этом участке каменистое, галечное, местами скалистое [25]. Иртыш сохраняет черты горной реки до г. Семей (бывший г. Семипалатинск). Ниже г. Семей, после впадения реки Западно-Сибирскую равнину и далее на всем протяжении представляет собой равнинную реку, протекающую на северо-запад по полупустынной и сухостепной территории вплоть до границы с Россией не принимает ни одного значительного притока, за исключением р. Чаган, которая является проточной только в многоводные годы [5]. Русло, чаще многорукавное, располагается большей частью среди заболоченных пойм. Ширина русла постепенно увеличивается. Коренной правый берег реки повсеместно более высокий, чем левый. Грунты, слагающие русло, преимущественно песчаные, местами глинистые [11]. В пределах лесного отрезка поймы Иртыша широким распространением пользуются старичные озера, по отлогим берегам которых формируются узкие прерывисто-поясные контуры осоковых и крупнозлаковых гликофитных минеральных болот и прибрежно-водных сообществ [10].

Гидрологический уровень Иртыша на территории Казахстана регулируется каскадом водохранилищ: Бухтарминским, Усть-Каменогорским и Шульбинским [11]. Бухтарминское водохранилище является самым крупным и выполняет роль основного регулятора гидрологического уровня каскада в целом. При текущем наполнении Бухтарминское водохранилище имеет следующие характеристики: площадь  $1500 \text{ км}^2$ , объем  $23.24 \text{ км}^3$ , протяженность по спрямленному форватеру – 240 км, при глубине 70 м. Оно образовано в результате зарегулирования стока р. Иртыш в сужении горной долины в 12 км ниже впадения р. Бухтарма, в зону затопления вошли горно-долинная часть верхнего Иртыша между Нарымским хребтом Южного Алтая и Калбинским нагорьем. В связи с этим Бухтарминское водохранилище относится к горным водохранилищам. При этом по морфометрическим и гидрологическим характеристикам рассматриваемый

водоем условно подразделяется на три части: озерно-речную, горно-долинную, горную [18].

Усть-Каменогорское водохранилище занимает межгорную долину каньонного типа и выполняет роль регулятора стока с недельно-суточным циклом. Протяженность водохранилища составляет 71 км, площадь 37 км<sup>2</sup>, объем 0.65 км<sup>3</sup>. Данный искусственный водоем достаточно глубоководный, при полном наполнении глубина его составляет порядка 17 м [17]. Водоохранилище характеризуется значительным водообменом, холодноводностью и практически полным отсутствием литерали [22].

Шульбинское водохранилище завершает каскад искусственных водоемов, сооруженных в долине Верхнего Иртыша, и выполняет роль сезонной регуляции боковой приточности (реки Ульба и Уба) на участке между Усть-Каменогорской и Шульбинской ГЭС [29]. В настоящее время акватория водохранилища занимает площадь около 255 км<sup>2</sup> при длине 63 км и максимальной ширине 6 км. Берега на значительном протяжении обрывистые с узкой песчано-галечниковой и каменисто-илистой береговой полосой. Водоем сравнительно мелководный, с глубинами от 2 до 8 м в верхней и средней частях и от 15 до 35 м в нижней. Высокий уровень воды отмечается в мае-июне во время весенне-летнего паводка и сильно понижается к концу июля-начала августа из-за подпусков воды [7].

## **1.2. Климатические условия**

Климат на всей площади бассейна характеризуется резкой континентальностью с жарким сухим летом и холодной малоснежной зимой, формирующейся под воздействием преимущественно антициклонарной циркуляции воздуха [10]. Согласно схеме комплексного климатического районирования Западной Сибири [50] территория равнинного и предгорного Прииртышья входит в состав таежной и степной климатических зон.

Погодные условия Восточного Казахстана определяются взаимодействием центров повышенного и пониженного давления. Зимой вся территория области попадает под западный отрог мощного Азиатского (Сибирского) антициклона. К

северу от оси преобладают ветры западных и южных румбов, к югу – северных и восточных. Летом вся территории находится в области низкого давления. Через южные районы Средней Азии в Восточный Казахстан проникает континентальный тропических воздух, что обычно повышает летние температуры воздуха до +38...+43°C.

Среднемноголетняя температура воздуха в Восточном Казахстане составляет 1.9°C (Таблица 1). Самым теплым месяцем в году является июль, среднемесячная температура которого составляет +21.2°C. Наиболее холодный месяц январь, со средней температурой воздуха -17.9°C. Абсолютный минимум в отдельные годы достигал -47°C, абсолютный максимум наблюдался в 1940 г. при температуре +42°C. Безморозный период продолжается в среднем 130 суток [9].

Среднегодовая температура воздуха составляет порядка +1.6°C при абсолютном максимуме +42°C и абсолютном минимуме -44°C (по данным метеостанции в г. Павлодар). Преобладают ветры восточного и юго-восточного направлений. Среднегодовая скорость ветра находится на уровне 3.8 м/с. В таблице 1 приведены среднемесячная и годовая температура воздуха по основным станциям бассейна реки Иртыш:

Таблица 1.

Среднемесячная и годовая температура воздуха, °C [9]

Станция/месяц	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Год
Зайсан	-17.3	-15.1	-6.6	6.7	15.2	20.6	22.9	21.1	15.2	6.3	-5.9	-14.9	4
Усть-Каменогорск	-17	-16	-7.7	4.7	13.4	18.8	20.8	18.3	12.4	5	-6.2	-14.1	2.7
Семей	-16.4	-15.8	-8.6	4.6	14.1	19.8	21.9	19.3	13	4.4	-6	-13.6	3.1
Павлодар	-18.1	-17.6	-9.6	4.2	13.2	19.4	21.3	18.3	12.2	3.6	-6.9	-14.9	2.1

Территория бассейна по влажности относится к сухой зоне (3 зона), комплексный показатель менее 5. Сухость климата обуславливается как в

небольшом количестве осадков, так и низкой влажности воздуха. Представленные климатические параметры характеризуют аридность северной части бассейна реки Иртыш в границах Республики Казахстан, т.е. слой испарения водной поверхности превышает слой атмосферных осадков. В высокогорных районах южной части бассейна за счет летних осадков поддерживаются условия для формирования круглогодичного стока [9].

В распределении осадков наблюдается следующая общая закономерность: максимум осадков приходится на таежное Прииртышье, которые постепенно уменьшаются в южном направлении и минимума достигают в Павлодарском Прииртышье, а далее на юг в предгорьях Северо-Западного Алтая наблюдается заметное увеличение атмосферной влаги, особенно в г. Усть-Каменогорск [10].

Среднегодовое количество осадков составляет около 432 мм. Наиболее богаты осадками районы Южного Алтая (800-1600 мм в год) и центральные части Зайсанской котловины от 22 до 119 мм. Недостаток влаги наблюдается на предгорных и замкнутых внутри горных котловинах. Распределение снежного покрова отличается своеобразием и неравномерностью залегания. Устойчивый снежный покров обычно появляется в начале ноября и сходит в начале-середине апреля [8]. Иртыш замерзает в начале-середине ноября (в низовье – чуть раньше, в верховье – позже). В среднем ледостав продолжается 5-6 месяцев [38].

Почвенный покров речных пойм характеризуется значительной сложностью и пестротой в связи с тем, что пойменные почвы формируются под влиянием не только более или менее стабильных зональных, прежде всего климатических, но чрезвычайно изменчивых интразональных экологических режимов (пойменности, аллювиальности, сложного пойменного рельефа, неглубокого залегания грунтовых вод и т. д.).

Вода Иртыша характеризуется невысокой мутностью, которая максимума достигает в половодье и составляет на разных отрезках реки 370-930 г/м<sup>3</sup> в среднем. В меженный период мутность воды резко сокращается и в течение 9-10 месяцев в году не превышает 50-200 г/м<sup>3</sup>. С мутностью и расходом воды связан сток взвешенных наносов, оказывающих существенное влияние на формирование

пойменных почв. Поэтому в соответствии с увеличением расходов и мутности воды вниз по течению Иртыша возрастает годовой сток наносов [10].

Гранулометрический состав взвешенных и донных наносов, определяющий механический состав пойменных почв, закономерно изменяется с изменением скоростей течения по фазам водности и по течению реки.

В период половодья, особенно в фазу его подъема, по всей длине реки наблюдается увеличение доли более крупных частиц аллювия, а к летне-осенней и далее к зимней межени процент их участия постепенно падает. Вниз по течению состав взвешенных наносов и донных отложений неуклонно утяжеляется во все фазы водности. Так, на предгорном участке Верхнего Иртыша большая доля принадлежит во взвешенных наносах песку, а в донных отложениях – гравию и песку, в то же время в среднем и, особенно, в нижнем течении реки основная доля взвешенных наносов приходится на пыль и ил, а в донных отложениях преобладает песок с примесью пыли [10].

Значительные расхождения в значениях температуры поверхности почвы не наблюдается (Таблица 2). По региону в летние месяцы почва прогревается от 23-25°C в северной части, до 22-26°C в южной части. В зимние месяцы температура почвы изменяется в пределах от -16 до -20°C в северной части и от -7 до -18°C в южной части. Переход через 0°C происходит в весенний период в апреле, в осенний – в ноябре. Годовая температура почвы по бассейну находится в пределах 3-5°C.

Таблица 2.

Среднемесячная и годовая температура поверхности почвы (°C) в бассейне реки Иртыш [9]

Станция/месяц	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Год
Усть-Каменогорск	-18	-17	-9	5	17	24	26	22	14	4	-7	-15	4
Почва – горный чернозем													
Семей	-17	-17	-8	7	17	24	26	23	14	4	-7	-15	4
Почва – супесчаная													
Павлодар	-18	-18	-9	6	18	25	27	22	14	3	-7	-14	4
Почва – темно-каштановая супесчаная													

Все это отражается на особенностях морфологических, химических и физических свойств пойменных почв. В разных частях поймы (прирусловой, центральной, притеррасной) и на разных высотных уровнях (низком, среднем, высоком) формируются различные почвы. Кроме того, в любой пойме основные интразональные факторы почвообразования находятся в зависимости от зонально-климатических и геолого-геоморфологических условий бассейна реки, которые определяют ее гидрологический и эрозионно-аккумулятивный режимы, режимы температур и атмосферных осадков. Поэтому в поймах крупных транзитных рек, к которым относится Иртыш, пересекающий несколько климатических зон и крупных геолого-морфологических структур, условия почвообразования сильно изменяются также и по продольному профилю поймы, прежде всего позональным ее отрезкам.

Почвы и растительность центральной и притеррасной частей поймы достаточно сильно различаются в сухостепной и засушливой степной подзонах, в основном относящихся к аллювиальному типу.

### **1.3. Гидрологические и гидрохимические характеристики**

По характеру питания реки бассейна Иртыша относится к рекам смешанного типа с участием снежного, дождевого, грунтового и ледникового питания. В горной части река Иртыш принимает значительное количество притоков, где формируется ее основной сток. После впадения справа реки Шульбинки (2990 км от устья) и слева реки Чаган (2801 км), Иртыш вплоть до устья Оми (1871 км) значительных притоков не принимает и водность его не увеличивается [27]. Преобладающая часть объема годового стока осуществляется обычно во время весеннего половодья и длится около 3.5-4 месяца [10]. В зимний период водность Иртыша сокращается втрое - вчетверо по сравнению со средне годовым значением [38].

Особенностью внутригодового распределения стока реки Иртыш является сравнительная равномерность его в течение года, что обусловлено влиянием многоводных горных притоков р. Иртыш. На разных отрезках Иртыша

соотношение типов питания меняется, но при этом везде преобладает доля снегового питания. На втором месте в формировании годового стока стоит дождевое питание, не превышающее 15-20%. При этом, меньшей боковой приточностью дождевых вод характеризуется степной участок Иртыша, тогда как на горном и таежном участках она заметно увеличивается. Грунтовый тип, являющийся основным источником питания в межень, составляет незначительную часть годового стока на горном и степном отрезках Иртыша, однако доля его заметно увеличивается на таежном отрезке. Расходы воды в Иртыше закономерно возрастают от верхнего течения к нижнему, что связано с увеличением общей водоносности реки в этом направлении [5,10].

Половодье начинается в первых числах апреля и заканчивалось в конце июля-начале августа. В начале участка (г. Усть-Каменогорск - с. Шульба) половодье начинается в конце марта, ниже по течению реки - в апреле. Сток половодья, в пределах рассматриваемого участка составляет 59-64% годового стока, сток летне-осенней межени 19-12%, и только 29-17% остается на зимние месяцы. Внутригодовое распределение стока находится в зависимости от водности года, а также от пойменного и руслового регулирования. При относительной устойчивости грунтового питания на протяжении ряда лет в маловодные годы обычно наблюдается уменьшение весеннего стока по отношению к годовому и относительное увеличение удельного стока летне-осенней межени [10].

Гидрохимический режим р. Иртыш формируется за счет вымывания и растворения горных пород, влияния климатического стока, поверхностного стока с территории водосборной площади и загрязняющих веществ, поступающих со стоком реки с территории Китая, большей частью – с предгорья Алтая.

Различие в химическом составе вод данных периодов в основном обуславливается влиянием водности периодов. Выделяются несколько характерных периодов, в которые процессы формирования химического состава вод имеют определенные различия: весеннее и весенне-летнее половодье, окончание спада весеннего и весенне-летнего половодья и период межени.

В целом, воды Иртыша принадлежат к гидрокарбонатному классу, с преобладанием среди анионов  $\text{HCO}_3$ , а среди катионов  $\text{Ca}^{2+}$  [10]. Эти воды протяжении всей реки и во все сезоны относятся к мягким [38]. Они обладают слабой минерализацией: в паводковый период в них содержится 100-130 мг растворенных веществ на литр, а в межень – 200-250 мг. В среднем по данным Государственного водного кадастра, в верхнем течении реки вода имеет минерализацию равную 190 мг/л. Показатель рН находится в пределах от 6.6 до 7.6 [10].

Гидрохимический режим водохранилищ Иртышского каскада формируется под влиянием процессов происходящих на водосборной площади, в прибрежной зоне и самом водоеме [18].

Озерность Восточного Казахстана очень малая, при этом, как правило, большинство озер в летний период мелеют, сильно сокращают свою площадь, осолоняются, а то и вовсе пересыхают. Только озера размером более 1 км<sup>2</sup> менее подвержены пересыханию, часть их располагает пресноводной водой. Эти озера в основном расположены в бассейне Иртыша и его притоков (Чаган, Шар и Курчум), в Алакольской и Маркакольской тектонических впадинах, а также у Берельских ледников. Следует отметить, что расположение озер отдалено от основного русла реки Иртыш. Минерализация воды в озерах находится в широких пределах от 0.06 до 312.1 г/л; жесткость от 1.35 до 1730 мг экв/л; рН – близкая к нейтральной и щелочная (7.1-8.7). Содержание микроэлементов (мкг/л) в озерных водах находится в следующих пределах: йода от 1 до 160, марганца от 2.5 до 60, фтора от 300 до 23 00, молибдена от 2.5 до 280, бора от 100 до 30000, кобальта от 2.5 до 20, меди от 2 до 2.5, никеля от 2.5 до 5, цинка от 2.5 до 10, железа до 100. Приведенные данные говорят о следующем: в озерных водах Восточного Казахстана содержимое микроэлементов очень низкое, за исключением фтора и бора. С увеличением солености озер концентрация йода, фтора и бора, как правило, увеличивается. Низкое содержание микроэлементов в озерной воде объясняется засушливостью климата, малой площадью водосбора озер, слабым питанием грунтовыми и подземными водами, а также

незначительным запасом их в почвах. Например, согласно литературным источникам содержание микроэлементов пресном оз. Большое (пос. Канонерка) следующее: минерализации воды 0.26 г/л, рН 7.3, йод 6, фтор 600, бор <100, >2.5, цинк 5, марганец 20, молибден >2.5, кобальт 5, никель < 2.5, железо < 100 [53].

#### **1.4. Антропогенное влияние на речную экосистему**

По мере того как увеличивается потребность в водных ресурсах в странах с трансграничными водотоками, все чаще возникает ситуация, когда перераспределение водных ресурсов в пользу одной страны приводит к пропорциональному уменьшению поступления воды в другую.

В настоящее время такая проблема четко обозначилась в бассейне реки Иртыш. Общий характер антропогенного влияния, прежде всего, выражается в уменьшении расходных показателей стока и перераспределением стока по сезонам [40, 36]. Гидрологический режим реки формируется, в основном, за счет поверхностного стока с водосбора на территории КНР. Правительство Китая в свою очередь, заинтересовано в хозяйственном освоении новых территорий Северного Китая (Синьцзян-Уйгурский автономный районе), что требует расширения отвода воды из Чёрного Иртыша для промышленного и хозяйственного водоснабжения. Текущие планы Китая по использованию части стока реки Иртыш подразумевают забор до 1 км<sup>3</sup> воды в год, т. е. до 12 % ежегодного среднего стока в створе китайско-казахстанской границы [40]. Данное обстоятельство приведет к изменению гидрологического режима реки, перераспределению ее стока [28], и вероятному загрязнению воды в результате сельскохозяйственной деятельности [28, 52].

В тоже время, водные ресурсы р. Иртыш достаточно широко используются в экономике Республики Казахстан в различных отраслях: гидроэнергетике, промышленном и сельскохозяйственном водоснабжении, ирригации, рыбном хозяйстве, рекреации.

Одним из крупнейших гидроэнергетических сооружений в Республике является Иртышский каскад водохранилищ, в котором последовательно

осуществляется многолетнее, сезонное и недельное регулирование стока реки [5; 11]. Между тем, введение в эксплуатацию водохранилищ оказывает значительное влияние на водный режим рек и природную среду прилегающих территорий. Это обстоятельство приводит к изменению естественных природных явлений, вызывая такие процессы как переформирование берегов и дна, повышение уровня грунтовых вод, изменение климата и характера растительности [3]. Впоследствии эксплуатации земли вблизи водохранилищ, как правило, переходят в категорию заболоченных в связи с интенсивным развитием водорослей [13]. Направленность, масштаб и глубина изменений природной среды в первую очередь определяется морфометрическими характеристиками водохранилища и особенностями природных условий региона, которые могут, как ослаблять, так и наоборот усиливать влияние водохранилища [46]. В основном воздействие гидроэнергетики на окружающую среду связано с отведением значительных площадей плодородных (пойменных) земель под водохранилище. Кроме того, в водохранилищах резко усиливается прогревание воды, вызывающее потерю кислорода и возникновение других процессов, обуславливаемых тепловым загрязнением.

Регулирование стока Иртыша Бухтраминским, Усть-Каменогорским и Шульбинским водохранилищами в основном русле реки и зарегулированность поверхностного стока на водосборном бассейне, а также водоотбор в верховьях реки на территории КНР привели к изменению общей водности и гидрологического режима реки. Кроме того, для водообеспечения промышленных районов и сельского хозяйства Центрального Казахстана часть стока реки перебрасывается в Карагандинскую и Акмолинскую области при помощи искусственного канала им. Сатпаева. За счет чего, в среднем течении Иртыша в результате отбора воды происходит снижение годового естественного стока на 1.2-1.3 км<sup>3</sup> [54], то есть за последние десятилетия сток Иртыша уменьшился в 3 раза [28,49].

Трансформация водного режима Иртыша, вызванная изменением стока на всех участках речной системы, низкие и непродолжительные паводки, колебания

уровня воды привели к изменению физико-химических показателей воды. Также наблюдается изменение температурного режима и биогенного стока, что в значительной мере влияет как на продуктивность водоемов, так и на развитие и жизнедеятельность многих видов гидробионтов и рыб. Кроме того, уменьшение объема воды привело к уменьшению самоочищающей способности реки при возрастании сброса в реку загрязняющих веществ, в частности отходов предприятий [52].

Немаловажной проблемой, оказывающей влияние на экосистему р. Иртыш и ее притоков является загрязнение промышленными стоками. На территории Восточно-Казахстанской и Павлодарской области сформирован территориально-производственный комплекс со своеобразными чертами специализации промышленности. Сочетание рудных ресурсов с гидроэнергетических возможностей привело к развитию ряда отраслей, таких как цветная металлургия, машиностроение, химическая, лёгкая, пищевая промышленности. Поэтому горные разработки, обнажённые поверхности горных выработок, их отвалы, хвосто- и продуктохранилища обогатительных фабрик, промышленные стоки, а также промышленные выбросы в атмосферу, которые впоследствии осаждаются на донную поверхность, являются основными источниками загрязняющих веществ и токсичных компонентов в водных системах. Промышленные предприятия сосредоточены главным образом в городах: Усть-Каменогорск, Лениногорск, Зыряновск, Серебрянск, Шемонаиха. В крупных населенных пунктах, помимо этого наблюдается загрязнение коммунально-бытовыми стоками, что связано с недостаточной мощностью очистных сооружений [8].

Согласно многочисленным литературным источникам [2, 8, 10, 12, 17, 28, 48, 51] по степени загрязнения поверхностных вод казахстанская часть бассейна Иртыша территориально подразделяется на 5 эколого-гидрохимических районов (Рис. 1).

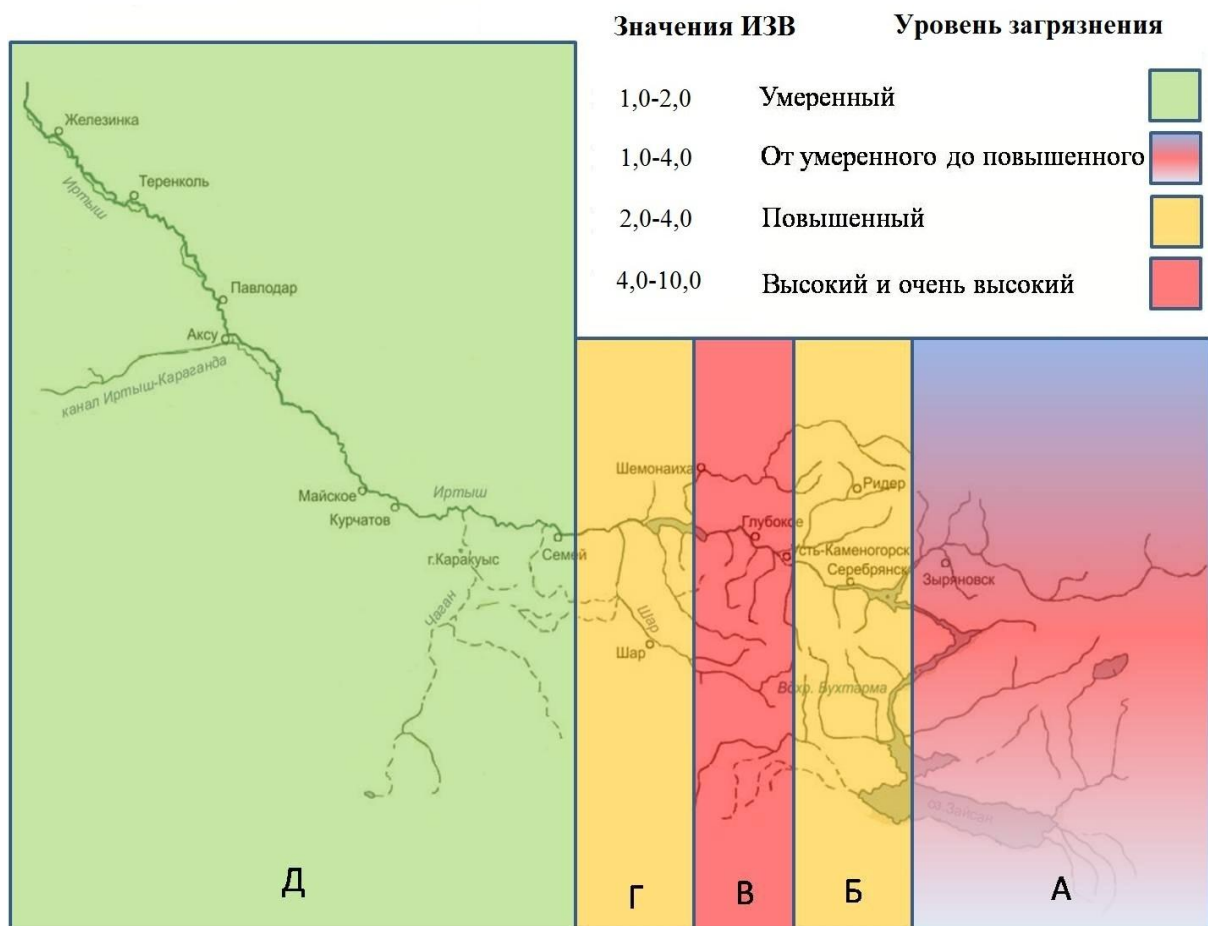


Рис.1. Эколого-гидрохимические районы бассейна р. Иртыш по степени загрязнения поверхностных вод на основании гидрохимического индекса загрязнения воды (ИЗВ)

**Район А**

В верхней части бассейна от границы с КНР до устья р. Бухтармы, происхождение загрязнений трансграничное (от предприятий КНР) и природное (из оз. Маркаколь по р. Кальжир). Степень загрязнения на данном участке речного бассейна во многом обуславливается сбросами сточных вод в р. Черный Иртыш на территории Китая. Так, например, с его территории наблюдалось увеличение суммарного объема стока меди и цинка поступающих в Иртыш в 2006 г. [28]. Уровень загрязнения – от умеренного до повышенного.

**Район Б**

От устья р. Бухтарма до устья р. Ульбы. Техногенное загрязнение рек Бухтарма и Иртыш, загрязнителями являются в основном предприятия горнодобывающего комплекса: АО «Казцинк», ОАО «Титано-Магниевый

Комбинат» (ТМК), ОАО «Ульбинский Metallургический Завод», а также Усть-Каменогорская и Согринская ТЭЦ [17]. Так, например, превышение по среднему содержанию тяжелых металлов в р. Иртыш от ее верхнего течения до с. Бобровска составляет: марганца, меди, цинка, молибдена - в 3.2 – 3.4 раз, кадмия - в 6.0- 6.1 раз, свинца - в 7.6 раз и хрома - в 14.2 раз [8]. Уровень загрязнения – повышенный.

#### Район В

От г. Усть-Каменогорска до устья р. Уба. Техногенное загрязнение рек Ульба, Красноярка, Глубочанка и Иртыша, при котором основными загрязнителями являются группа предприятий Зыряновского, Лениногорского и Усть-Каменогорского промышленных комплексов. По масштабам сброса Усть-Каменогорско-Глубоковский участок рассматривается как главный источник интенсивного техногенного загрязнения р. Иртыш тяжёлыми металлами. До сегодняшнего дня вне поля зрения остаются чрезвычайно и высоко опасные компоненты, которые по имеющимся данным были и остаются неотъемлемыми составными частями минерализации поверхностных вод бассейна. Аномально высокие уровни накопления установлены для таллия, ртути, бериллия (1 группа, чрезвычайно опасные), кадмия, лития, бора, бария, мышьяка, селена, а также для специфических полихлорбифенолов и дихлорэтанов [51]. Здесь сток загрязняющих веществ 1-2 классов сравнительно небольшой (около 250 т/год), зато сток загрязняющих веществ 3-4 классов - очень высокий (около 6100 т/год) [8]. Уровень загрязнения - высокий и очень высокий.

В районе г. Усть-Каменогорска и ниже по течению реки под влиянием сброса сточных вод предприятий Восточно-Казахстанского промышленного комплекса в р. Иртыш и ее притоки, уровни загрязненности р. Иртыш по отдельным показателям возрастают. Поверхностные воды наиболее загрязнены медью, цинком, нитратами, ксантогенами, нефтепродуктами. Наибольшая масса загрязняющих веществ 1-2 классов опасности мигрирует в Усть-Каменогорское водохранилище.

Большое количество загрязняющих веществ поступает на участке Шульбинского водохранилища ниже устья р. Кызылсу. Источником загрязнения являются предприятия месторождений Бакырчик, Балажал, Боко, расположенные в бассейне р. Кызылсу. Загрязнение данного участка водохранилища происходит непосредственно через речной сток и из загрязненных донных осадков, аккумулярованных в устьевой части р. Кызылсу. Основными загрязняющими веществами 1-2 классов являются здесь свинец и селен, а из загрязняющих веществ 3-4 классов опасности - нефтепродукты, медь и цинк. Однако площадь загрязнения водохранилища сравнительно небольшая, что объясняется ассимилирующей ролью донных осадков и вод Иртыша [8].

#### Район Г

От устья р. Уба до пос. Приречный. Остаточное техногенное загрязнение рек Убы и Иртыша, при котором загрязнителями являются все промышленные предприятия ВКО, расположенные в верхней части бассейна. Уровень загрязнения – повышенный.

#### Район Д

В нижней части р. Иртыш – пос. Приречный до границы с Российской Федерацией. Происхождение загрязнений остаточное техногенное и коммунально-бытовое. Уровень загрязнения – умеренный, без превышения санитарно-токсикологических ПДК, но с превышением рыбохозяйственных норм. Так, например, содержание свинца в р. Иртыш на территории г. Семей изменяется от 16.45 до 54.93 мкг/дм<sup>3</sup>, что в 9 раз выше предельно допустимых значений для незагрязненных пресных вод. На территории Павлодарской области также присутствуют источники загрязнения реки. На правом берегу р. Иртыш севернее г. Павлодар расположено озеро Балкылдак, которое является отстойником-испарителем сточных вод Павлодарского химического завода для которого характерно ртутное загрязнение [12]. К числу основных веществ, по которым фиксируются превышение предельно допустимых концентраций, в поверхностных водах Иртыша в пределах Павлодарской области, относятся: медь, железо общее, азот нитритный, аммоний солевой [48].

В результате техногенного воздействия промышленных предприятий на поверхностные и подземные воды – все основные притоки Иртыша, формирующие его гидрологический сток находятся в различной степени загрязнения. Особенно сильно загрязнены такие притоки р. Иртыш, как Ульба, Красноярка, Тихая, Глубочанка и др. Из-за загрязнения сточными водами и другими отходами горнорудной и металлургической промышленности, в водах этих рек высока концентрация ряда токсичных металлов как медь, цинк, марганец [8, 51], кадмий, свинец, мышьяк и др. [2]. В воды притоков Иртыша попадают неочищенные шахтные воды и воды самопроизвольного разлива бесхозных рудников. Самый высокий уровень загрязнения поверхностных вод наблюдается в районах добычи и обогащения руд. Основными загрязняющими веществами, содержание которых в водных объектах превышает действующие санитарно-токсикологические нормы, являются: СПАВ, нефтепродукты, медь, цинк, кадмий, барий, таллий, марганец, ртуть, селен, свинец, бериллий [8, 54]. Основными загрязнителями являются ливневые стоки с территории населенных пунктов, а также органические удобрения, смываемые талыми, дождевыми, водами с водосборных площадей и поступление недостаточно очищенных сточных вод предприятий Рудного Алтая [8].

Таким образом, в бассейне р. Иртыш в настоящее время, наблюдается напряженная водохозяйственная и экологическая обстановка, возникшая в следствие нерационального использования в неудовлетворительной охраны водных ресурсов [28, 49].

## ГЛАВА 2. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 2.1. Современное состояние знаний о гирудофауне

#### 2.1.1. Общая характеристика *Hirudinea*

*Hirudinea* – это группа кольчатых червей (*Annelida*). Как и другие представители этого типа, пиявки имеют удлиненное червеобразное цилиндрическое, двусторонне симметричное в поперечном сечении сегментированное тело. Отличительной особенностью поясковых червей (*Clitellata*), к которым относятся и пиявки, является наличие пояска – специального органа, в котором образуется репродуктивный кокон [95].

Положение *Clitellata* в системе к *Annelida* в течение длительного времени оставалось нерешенной проблемой систематики. Считалось, что *Polychaeta* является ближайшей группой к *Clitellata* [99, 109, 122, 158, 162, 164, 180, 196]. При этом не было единой точки зрения о том, как они должны рассматриваться: как две отдельные клады или же поясковые черви являются сестринской группой многощетинковых червей [163, 190].

Использование молекулярных методов для решения противоречий в систематике класса *Clitellata* не могло в полной мере прояснить ситуацию. Так как, между морфологическими и молекулярными данными было обнаружено очевидное противоречие. Первые молекулярные исследования показали, что клителлаты являются производным таксоном по отношению к полихетам, однако достоверности данных выводов препятствовала достаточно ограниченная на то время выборка групп полихет [127, 143] в результате чего наблюдалась низкая узловая поддержка ветвей построенных филогенетических деревьев [113, 162, 181]. Дальнейший, более детальный молекулярный анализ показал, что *Clitellata* все же является монофилитической группой [143].

В настоящее время к классу *Clitellata* отнесено около 8000 видов беспозвоночных организмов, относящихся к четырем подклассам: *Branchiobdellidae*, *Oligochaeta*, *Acanthobdellea* и *Hirudinea* [143, 150]. Тем не менее, филогенетические отношения внутри класса до сих пор вызывают разногласия

среди ученых. Регулярно подвергается сомнению монофилия олигохет, при этом многие авторы предлагают варианты, в которых Hirudinea включена в таксон Oligochaeta [78, 103, 121, 172]. Положение Acanthobdellea и Branchiobdellea внутри класса также является спорным в связи с тем, что организмы, отнесенные к этим таксонам, совмещают в себе загадочное сочетание признаков как олигохет, так и пиявок [143].

Несмотря на длительную историю изучения пиявок и множества попыток прояснить филогенетические отношения гирудиниид, многие таксономические проблемы по-прежнему остаются нерешенными [76, 150]. Существовало предположение, согласно которому представители этого подкласса произошли от примитивных олигохет [37, 183]. Однако результаты молекулярной филогенетики позволили определить, что пиявки представляют собой монофилитическую группу (Рис. 2) [174].

- ТИП **ANNELIDA** Lamarck, 1809
- Класс **Clitelata** Michaelsen, 1919
- Подкласс **Hirudinea** Lamarck, 1818
- Надотряд **Euhirudinea** Lukin, 1956
- Отряд **Arhynchobdellida** Blanchard, 1894
  - Подотряд **Erpobdelliformes** Sawyer, 1986
    - Семейство **Erpobdellidae** Blanchard, 1894
    - Семейство **Salifidae** Johansson, 1910
    - Семейство **Orobdellidae** Nakano, 2012
  - Подотряд **Hirudiniformes** Caballero, 1952
    - Семейство **Hirudinidae** Whitman, 1886
    - Семейство **Haemopidae** Richardson, 1969
    - Семейство **Haemodipsidae** Blanchard, 1893
    - Семейство **Cylicobdellidae** Ringuelet, 1972
    - Семейство **Praobdellidae** Blanchard, 1894
    - Семейство **Americobdellidae** Caballero, 1952
- Отряд **Rhynchobdellida** Blanchard, 1894
  - Семейство **Glossiphoniidae** Vaillant, 1890
  - Семейство **Piscicolidae** Johnston, 1865
  - Семейство **Ozobranchidae** Pinto, 1921

*Рис. 2.* Современный систематический состав пиявок

Подкласс Hirudinea (sin.Hirudinida) был традиционно разделен два отряда [33]: Хоботные (Rhynchobdellida) и Бесхоботные (Arhynchobdellida) пиявки. Отряд

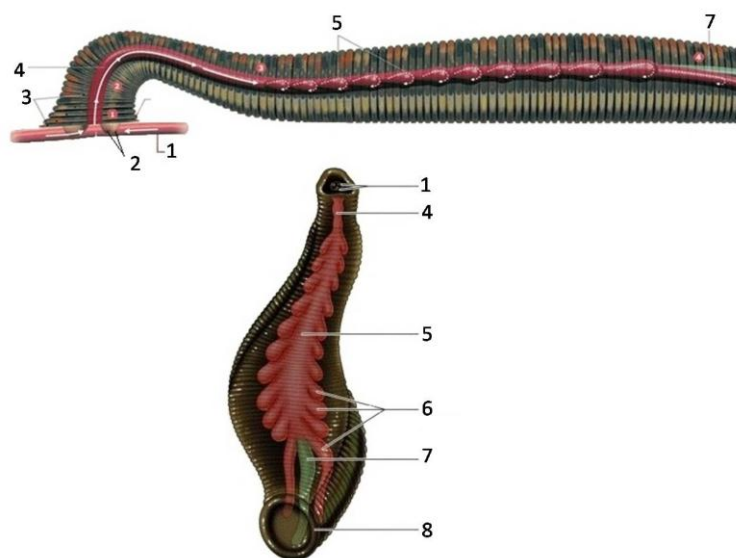
Arhynchobdellida состоит из двух подотрядов: Hirudiniformes и Erpobdelliformes, включающих в себя девять семейств (Рис. 2). Пиявки, отнесенные к данному отряду, характеризуются разнообразной стратегией выживания и специфической морфологией [77]. В свою очередь, отряд Rhynchobdellida состоит из трёх семейств (Рис. 3): Ozobranchidae, Glossiphoniidae и Piscicolidae [148, 150]. При этом хоботные пиявки представляют собой наименее исследованную группу Hirudinea, что обуславливается специфическими особенностями изучения паразитических организмов.

### *2.1.2. Анатомо-морфологические особенности*

Пиявки образуют довольно резко очерченную в морфологическом отношении группу беспозвоночных, отличающихся от других аннелид наличием присосок (Рис. 3). Наиболее древние ископаемые останки пиявок относят к ордовикскому периоду палеозойской эры ( $485.4 \pm 1.9$  до  $443.8 \pm 1.5$  миллионов лет назад) и юрскому периоду мезозойской эры ( $201.3 \pm 0.2$  до  $145.0$  миллионов лет назад). Однако, как и все черви, пиявки являются мягкотелыми животными, не оставляющими палеонтологической летописи, поэтому в ископаемом состоянии сохранилось немного, в большинстве случаев – это разнообразные следы жизнедеятельности лишь косвенно указывающие на присутствие данных организмов [37].

Тело гирудиниид условно поделено на сегменты – сомиты, которые, в свою очередь, перетяжками наружных слоев тела разделяются на кольца, число которых у представителей различных групп пиявок различно и характерно для каждой из них. Сомиты объединены в гетерономные области тела, свойственные всем гирудинидам (Рис. 3): область передней присоски (область головы); предпоясковая (прилителлярная) область, (клителлярная область), область желудка, область кишки, область задней присоски [64]. Верхняя присоска состоит из I-VI сомитов и имеет парные глаза. Середина тела пиявки формируется VII-XXVII сомитами. В большинстве случаев задняя или хвостовая присоска, (XXVIII-XXXIV сомиты) резко отделяется от задней части тела [33, 150].

Внутренняя сегментация тела пиявок осложняется вторичной кольчатостью: сомиты неглубокими бороздами, делятся на ряд колец, число которых в средней части тела варьирует от 2 до 14 и отличается у представителей различных анатомических групп. Поэтому число колец в сомите нередко используется в качестве важного систематического признака. Для подсчета числа колец обычно используют сегментально повторяющиеся особенности организации – боковые пузыри и отличающиеся по размерам сосочки [64].



*Рис. 3.* Основные анатомические признаки представителей подкласса Hirudinea: 1 – передняя присоска, 2 – челюсти, 3 – глаза, 4 – глотка, 5 – желудок, 6 – желудочные отростки, 7 – толстая кишка, 8 – задняя присоска [http://cyclowiki.org/].

Стенки тела образованы тонкой кутикулой, однослойным эпидермисом, между клетками которого расположены многочисленные железистые клетки, слоем мезенхимы и слоями мышц: кольцевыми, диагональными, продольными, а также дорсовентральными мышцами [64, 150].

Форма тела различных видов пиявок обуславливается соотношением его длины и ширины, и довольно разнообразна. Длина всего тела у различных видов варьирует в пределах 4-350 мм, при этом хоботные пиявки, как правило, мельче безхоботных. Тело большинства пиявок, как правило, явственно уплощено, однако рыбы пиявки имеют несколько цилиндрическое тело (Рис. 3). В целом, у большинства пиявок червеобразная форма тела, исключение оставляют плоские

пиявки, имеющие листообразную форму тела. Необходимо отметить, что живые пиявки, как правило, изменяют форму тела в процессе передвижения. Определенное влияние на форму тела оказывает наполнение кишечника пищей, особенно у паразитических форм. Кпереди тела всех пиявок, как правило, суживается. Однако у некоторых видов передний конец наоборот расширен (например, у представителей рода *Hemiclepsis*). У пиявок, паразитирующих на рыбах передний конец тела, благодаря анатомическому отделению дискообразной присоски от остальной части тела, приобретает своеобразную форму. Задняя присоска у большинства представителей подкласса хорошо развита и имеет характерную форму [33].

Дорсальная поверхность тела гирудиниид в зависимости от видовой принадлежности либо гладкая, либо имеет на своей поверхности различные по величине сосочки. Вентральная поверхность в свою очередь, как правило, гладкая. Края тела у разных пиявок различны, так у большинства глоссифониид края тела зазубрины, при этом у других видов, края тела, как правило, ровные [33].

Пресноводные пиявки, за редким исключением, имеют различную прижизненную окраску тела, варьирующую от зеленоватого, желтоватого до коричневого, черного и других цветов. Помимо пигментов, придающих окраску тела, наружные покровы многих видов имеют, преимущественно на дорсальной поверхности, характерный для каждого рисунок, состоящий из пятен, линий и других элементов. Вентральная поверхность тела у большинства видов окрашена светлее, наряду с этим, на ней также может находиться характерный для вида рисунок [33, 150]. Окраска и рисунок тела являются одними из основных таксономических признаков пресноводных пиявок. Однако, следует помнить, что данные признаки подвержены возрастным изменениям. Ювенильные особи практически всех видов пиявок слабо пигментированы или же совсем не имеют окраски. По мере роста и одновременно накопления пигмента, происходит уменьшение прозрачности тела. Так, у некоторых глоссифониид наблюдается определенная закономерность в смене окраски: молодые особи зеленоватые, в

последующем они приобретают коричневатые оттенки. Несомненно, окраска тела различных видов находится в зависимости с природно-климатическими условиями обитания, при этом отличия могут быть довольно значительными. Следовательно, изменения окраски могут привести к тому, что особи одного вида становятся похожими на другие виды [33].

Глаза у пиявок сосредоточены на переднем конце тела имеют различную форму (Рис. 3): округлую, угловатую, палочковидную и т.д. Число, расположение и форма глаз являются характерными признаками для систематических групп различных рангов. Поэтому изучение глаз облегчает таксономическое определение пиявок.

Все функциональные системы, в том числе дыхание у гирудинид имеют свои характерные особенности. Большинство видов используют для дыхания растворенный кислород и простую для проникновения поверхность тела. По этой причине эпителиальные клетки представителей многих таксонов снабжены хорошо развитой капиллярной сетью [150].

Пищеварительная система подразделяется на три части: переднюю, среднюю и заднюю кишку (Рис. 3), анатомические особенности которых находятся в зависимости от пищевой стратегии питания представителей *Rhynchobdellida* и *Arhynchobdellida* [150].

Как и все пресноводные животные, пиявки сталкиваются с проблемой проникновения воды в тонкую кожу и входа в гиперосмотическую жидкость организма. Выведение гипоосмотической мочи, растворение метаболитических отходов и поглощение солей осуществляется с помощью метанефридий [150].

Кровеносная система гирудинид замкнута и состоит из спинного и брюшного сосудов, соединяющихся поперечными сосудами, в тоже время, у некоторых пиявок она сильно редуцирована [33, 37].

Также у пиявок присутствует два вида сенсорных систем: первая тегументальная (включает в себя эпителий, и периферические нервные клетки), вторая состоящая из механорецепторов (представляет собой специализированные нейроны, образующие центральный нервный узел). Тегументальные органы

чувств состоят из фоторецепторных клеток и биополярных клеток с апикальными ресничками. К данной сенсорной системе относятся глаза пиявок, состоящие из пигментных и фоторецептивных клеток, посредством которых осуществляется распознавание окружающих объектов. Кожа пиявок покрыта многочисленными нейронными окончаниями, которые позволяют передать импульс и осуществить защитную реакцию на различные механические раздражители [150].

Нервная система у организмов, принадлежащих подклассу Hirudinea, состоит из 34 ганглиев. Шесть передних ганглиев образуют мозг пиявки, еще семь – иннервируют хвостовую присоску. Остальные (21 ганглия) образуют сегментированный нервный узел. В каждой ганглии содержится несколько сотен нейронов. Их число может варьировать в зависимости от видовой принадлежности [64, 150].

Пиявки размножаются исключительно половым путем, партеногенез у данной группы организмов отсутствует в отличие от других групп кольчатых червей. Все гирудиниды являются гермафродитами и имеют сложную половую систему, обеспечивающую внутреннее оплодотворение и откладку оплодотворенных яиц в коконах [33, 150].

В целом, для видового определения пиявок в классической таксономии используются комплекс морфологических и анатомических признаков, таких как: строение и форма тела, кольчатость, величина присосок, цвет и рисунок дорсальной и вентральной поверхностей, расположение и количество глаз, расстояние между половыми отверстиями, количество желудочных отростков, форма атриев и др. [33, 174]. Об анатомических признаках ряда форм гирудинид имеются либо очень скудные сведения, либо они вовсе отсутствуют. Вследствие чего, систематика этой группы организмов находится не в удовлетворительном состоянии. Нередко одна и та же форма фигурирует в литературе под разными видовыми названиями, или же наоборот, одно и то же видовое название присваивается абсолютно разным видам. Следовательно, основная проблема состоит в том, что отсутствуют ясные единые критерии для правильного видового разграничения гирудинид.

### *2.1.3. Проблемы классификации пиявок*

Точная идентификация видов зачастую имеет решающее значение при осуществлении биологического контроля, диагностики, профилактики болезней и выявлению паразитических видов, а также видов – биологических индикаторов загрязнений [69, 74, 133]. Кроме того, своевременное определение видов является необходимым условием для достоверной оценки биологического разнообразия, в связи с тем, что увеличение воздействий на природные экосистемы ускоряет исчезновение видов [74]. Отсутствие у научного сообщества должного внимания в отношении таксономии пиявок делают любые попытки использования этой группы в мониторинге окружающей среды невозможным [62].

Изучению биологического разнообразия пиявок препятствует большой комплекс факторов. Одним из основных можно назвать небольшое количество специалистов-морфологов специализирующихся на изучении данной группы организмов. Для видового определения палеарктических видов пиявок в качестве определителей в основном используются две научных работы: монография Е.И. Лукина [33], в которой обобщены сведения о биологии, экологии пиявок пресноводных экосистем СССР и систематические ключи для европейских видов гирудинид, составленные Неземанном и Ньюбертом [150]. Неарктическая фауна также систематизирована на основании внешней морфологии в научной работе Клемма [128]. Вместе с тем, попытка обобщить знания о видовом разнообразии мировой фауны пиявок была предпринята Соьером [169]. Несомненно, таксономическая структура пиявок со времени издания данных монографий претерпела значительные изменения в результате обновления имеющихся сведений и более детальной обработке вопросов описания видов. При этом по-прежнему, нет единых способов стандартизации описания видов пресноводных пиявок для облегчения их идентификации. Кроме того, не всегда приводятся синонимия для видов, что зачастую приводит к дополнительной путанице. Крайне мало научных статей, в которых можно найти полное описание какого-либо вида с хорошим иллюстративным материалом, позволяющих всем исследователям в полной мере изучить морфологические особенности вида.

Литературное описание таксонов зачастую основано на изучении музейных образцов. При длительном хранении музейные коллекции зачастую теряют свое качество, так как со временем исчезают морфологические признаки крайне необходимые при идентификации. Помимо этого, особую важность для дальнейшего морфологического определения пиявок имеет способ фиксации проб. В идеале для коллекции должны отбираться неповрежденные взрослые экземпляры. При этом до начала фиксации рекомендуется прижизненное описание характерных признаков. Так как в случае фиксации возможно искажение таких характерных отличительных признаков как число и расположение глаз, становится менее различимым расположение женских и мужских половых отверстий, кроме того в процессе хранения ослабевают характерные для видов признаки пигментации [150]. К примеру, такой важный признак как кольчатость хорошо различим исключительно у тщательно сохранившихся экземпляров [123].

Вместе с тем, необходимо учитывать, что некоторые виды пиявок в процессе видообразования не приобретают морфологические изменения необходимые для их идентификации, такие виды называются криптическими. Зачастую выявление криптических видов происходит случайно, при исследовании других биологических аспектов организма [74]. Вместе с тем, существует высокая доля вероятности, что эти виды являются псевдокриптическими, из-за недостаточной проработанности в морфологическом описании видов.

В целом, слабая изученность фауны, размытые описания многих видов, вместе с тем скудность внешних отличительных признаков и одновременно очень большая внутривидовая изменчивость вызывают противоречия и затрудняют таксономическое определение пиявок. Данное обстоятельство дает основание предполагать, что использование традиционных морфологических методов для таксономических исследований в некоторых случаях недостаточно.

Молекулярные филогенетические исследования сильно повлияли на внутреннюю классификацию Hirudinea, в частности, позволили открыть для науки множество новых видов, а также разграничить политипические и криптические

виды. Несомненно, очевиден дальнейший прогресс исследований в данном направлении, дающий возможность внести ясность в таксономию пиявок [144].

#### *2.1.4. Зоогеография пиявок*

Пиявки широко распространены как в водных, так и наземных средах [33, 130, 171]. При этом порядка 70% из них являются пресноводными, остальные 30% относятся к морским и наземным обитателям. Наиболее многочисленны гирудиниды в прибрежных зонах пресных вод, где они являются структурным элементом бентосных сообществ [66]. Отмечено, что почвенные пиявки значительно крупнее водных и потребляют значительно больше кислорода [59], что очевидно связано с адаптацией к жизни на суше и способностью охотиться на наземные организмы [152].

Особенности фауны пиявок различных типов водных объектов изучены не достаточно тщательно. У гидробиологов сложилось мнение, что пиявки в силу своего широкого распространения являются эврибионтными организмами. Однако, данное утверждение нельзя назвать обоснованным. Лишь небольшое количество гирудинид являются эврибионтами (транспалеаркты и другие сравнительно широко распространенные виды), остальные же виды пиявок следует относить к стенобионтам, которые, как правило, обитают в водоемах определенных типов. Кроме того, пиявки-эврибионты встречаются в различных водоемах с неодинаковой частотой, что говорит о том, что на их обилие также оказывает влияние ряд пока невыясненных факторов [33].

На данный момент мировая фауна насчитывает 728 вида пиявок [73, 75, 87, 111, 120, 139, 148, 166, 168, 174, 186, 187], которые встречаются на территории всех пяти зоогеографических областей: Голарктической, Палеотропической, Австралийской, Неотропической и Антарктической [174] (Рис. 4).

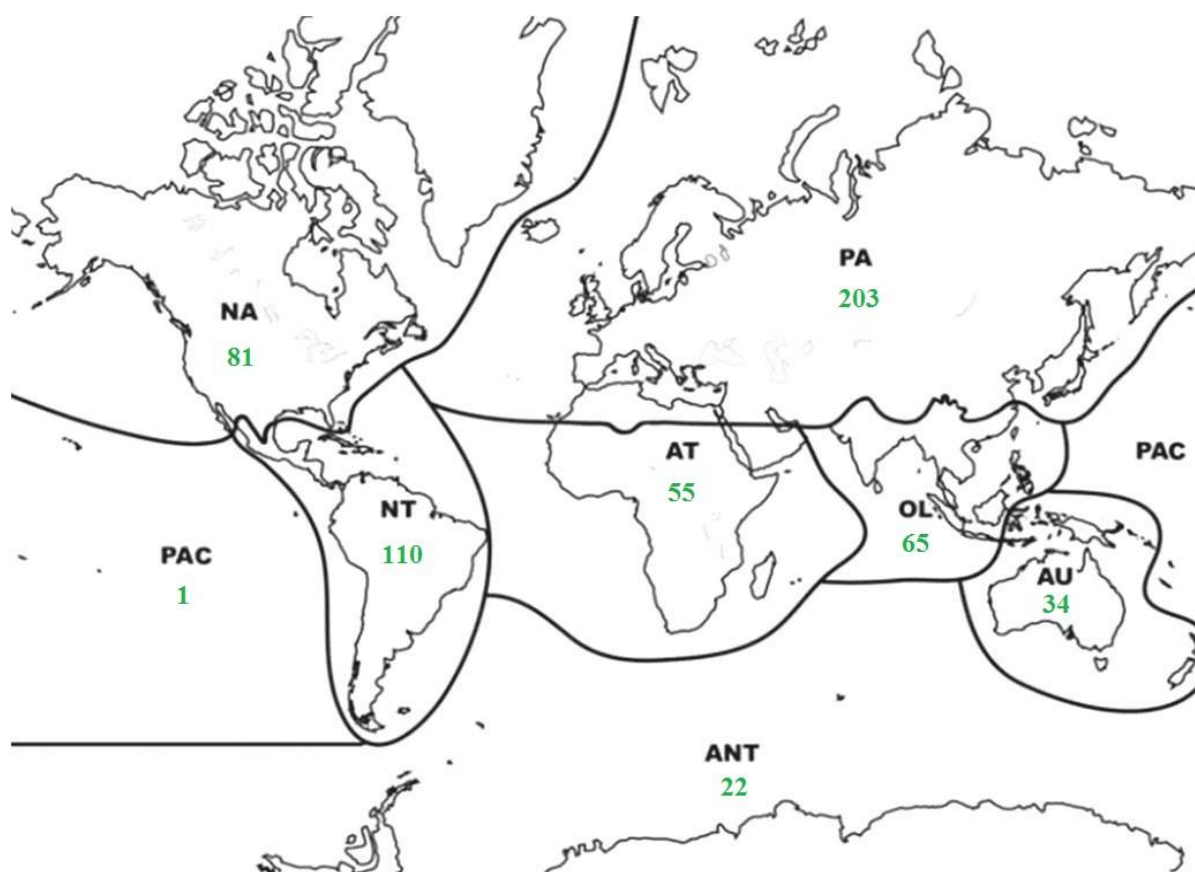


Рис. 4. Видовое обилие пиявок в различных зоогеографических областях [по данным 174] с учётом более поздних данных [73, 87, 111, 120, 148, 161, 166, 186, 187].

Структура сообществ пиявок весьма разнообразна и во многом обуславливается природно-географическим расположением: в Северной Америке описан 81 вид, в Южной Америке – 110, на африканском континенте число описанных видов достигло 55, а в Австралии 34. До недавнего времени считалось, что пиявки не обитают в Антарктиде, однако в ходе экспедиций в прибрежных водах материка также были обнаружены представители данной группы организмов. Следует отметить, что океаническая фауна пиявок представлена в основном рыбными паразитами. Наибольшего разнообразия пиявки достигают в Палеарктической биогеографической области, где обитает половина всех континентальных видов [174]. Данное обстоятельство объясняется природным разнообразием и изученностью этого района, особенно европейской фауны, так как именно отсюда берет начало классическая зоологическая школа. Остальной ареал, в большей степени Азия, по-прежнему, остается для ученых крайне мало изученным районом.

Существуют определенные трудности при анализе географического распространения пиявок. Основными из них являются слабая разработка вопросов филогении гирудинид, отсутствие палеонтологических данных о его представителях, ошибочная идентификация видов. Нередко представление о распространении того или иного вида искажаются, вследствие того, что некоторые авторы придают большое значение случайным находкам какого-нибудь вида. Географические закономерности в распространении пиявок довольно часто недостоверно интерпретируются в результате описания новых видов, которые впоследствии оказываются идентичными с ранее известными видами.

### *2.1.5. Эйдэкология пресноводных гирудинид*

#### *2.1.5.1. Трофические особенности*

Взаимоотношения пиявок и других организмов весьма разнообразны и проявляются главным образом в пищевых связях. Пиявки являются важным элементом в трофических сетях водных сред и служат важным элементом питания для многих хищных млекопитающих, околотовных птиц, рыб и земноводных [33].

По типу питания пиявок, можно разделить на две основные группы: пиявок-паразитов, что составляет 75% от мировой фауны и свободно живущих (макрофаговых) пиявок, доля которых значительно меньше и составляет порядка 25% от мировой фауны. Большинство пиявок паразитируют на беспозвоночных или же позвоночных организмах, другие же являются хищниками. Во многом характеристика питания пиявок обуславливается их анатомическими и физиологическими особенностями. К паразитическим формам относятся все хоботковые пиявки. Большая часть их пищевода представляет собой, так называемых хоботок, который при помощи специальных мышц вытягивается и втягивается внутрь. По средствам него данные формы пиявок разрушают кожные покровы организмов-хозяев и высасывают их содержимое: кровь и жидкости организма [33, 35]. При этом пиявки относятся к так называемым

факультативным эктопаразитам, которые лишь периодически прикрепляются к организму хозяина, а в остальное время способны жить в свободном состоянии [171]. Спектр их пищевых предпочтений достаточно широк, различные их представители паразитируют на моллюсках [156, 195], членистоногих [57, 185], рыбах [16, 126, 188], лягушках [185], саламандрах [140], черепахах [30, 100], аллигаторах [161], водоплавающих птицах [89], а также млекопитающих [33, 35, 82], включая людей [149]. Некоторые виды паразитических пиявок являются пищевыми конкурентами, примером тому могут служить широко распространенные в Палеарктике паразиты рыб *H. marginata* и *P. geometra* [33], и улитковые пиявки *H. stagnalis* и *G. complanata* [195]. При паразитировании на животных, ведущих амфибиотический образ жизни, у многих пиявок выработалась способность переносить существование в увлажненной почве [37].

У хищных пиявок, к которым относятся челюстные и глоточные, имеются другие анатомические особенности пищеварительной системы. В ротовой полости челюстных располагаются три челюсти в виде прочных пластинок усаженных зубчиками. У глоточных гирудинид захвату добычи способствует достаточно активная двигательная способность глотки. Они захватывают добычу целиком, либо частично [35]. Добычей таких видов являются кольчатые черви [156], мелкие ракообразные, личинки насекомых, головастики, мальки. Кроме того, в случае недостатка кормов пиявки этой группы могут питаться падалью. Существуют исследования результаты, которых показали, что размер безхоботных европейских пиявок во многом обуславливается их трофическим предпочтением. Так, например, небольшие аннелиды рода *Erpobdella* длиной 1.5-5.0 см значительно меньше *H. sanguisuga* (7-12 см) – хищника амфибий [152].

В целом, трофическая структура сообщества гирудинид формируется в зависимости от характера пищевых взаимоотношений между особями. В тоже время, видовой состав и соотношение паразитических и макрофаговых пиявок в каждом отдельном водоеме в значительной степени обуславливается составом населения водоема, сезоном и погодными явлениями и возрастом самих пиявок [35].

Так, например, интенсивность питания челюстных пиявок более выражена с апреля по сентябрь (в период быстрого роста животных), при этом в осенне-зимний период они практически не питаются. Сложность поиска пищевых объектов пиявок усложняется в определенные сезоны, что обуславливает способность этих беспозвоночных длительно голодать. Некоторые виды, такие как родственная медицинской – *Hiruda verbena* (Carena, 1820), могут голодать в течение полугода и даже более длительного времени. Имеются литературные сведения о том, что возрастные особенности в питании пиявок выражены четче, чем межвидовые. Например, пиявки, паразитирующие на водоплавающих птицах, питаются всего три раза в жизни, при этом каждая фаза питания определяет стадию развития особи [33, 35].

Несмотря на специфику трофических связей, все пиявки питаются исключительно пищей животного происхождения. При этом вне зависимости от способа питания качественный аминокислотный состав остается на постоянном уровне и включает 22 аминокислоты. На количественном же составе аминокислот отражается видовая специфика питания и воздействие факторов среды [59].

#### *2.1.5.2. Факторы среды обитания и их влияние на гирудофауну*

Видовое разнообразие пиявок во многом обуславливается природно-климатическими условиями, характеристикой ландшафта, спецификой гидрологического режима водоема, а также физико-химическими свойствами воды. Наличие пищевых организмов, субстрат, глубина воды, скорость течения, размер и характеристика водоема, твердость, рН и температура воды, минимальная концентрация растворенного кислорода, заиливание, мутность и соленость воды являются наиболее важными факторами, влияющими на распределение пиявок [68, 142].

Одним из наиболее изученных факторов является особенности распределения пиявок по типу водоема. Распределение пиявок в различных водоемах и водотоках имеет свои характерные особенности. Наиболее разнообразна несмотря на малые количественные показатели фауна пиявок

равнинных рек. Наибольшего количественного уровня фауна гирудинид достигает в небольших стоячих водоемах эвтрофного типа, однако по видовому разнообразию значительно уступает фауне рек, а также фауне олиготрофных озер. В малых пресных водоемах уклоняющихся типов – обитают, как правило, только безхоботные виды пиявок, которые сохраняют способность вести амфибиотический образ жизни после пересыхания водоема [33]. Изучение гирудофауны стоячих водоемов Западных Карпат показало, что наименьшее видовое богатство было в озерах карбонатного типа и увеличивалось по направлению к сфагновым болотам [68]. Существует комплекс факторов оказывающих влияние на распространение пресноводных пиявок. Ковальчук и Черная [26] изучали Средний Урал и определили, что размер и географическое расположение водоема влияет на экологическое разнообразие пиявок. В тоже время, Коперски [130] изучил как географическое расположение, наличие рыбного хищничества, сезон и время отбора проб, уровень эвтрофикации и деградации водных экосистем влияют на распределение пиявок в Польше, и, пришел к выводу, что географические регионы, размер среды обитания и сезон отбора проб не оказывают влияние на распространенность и соотношение пиявок. Что говорит о характерных отличиях в природно-климатических условиях исследуемых районов. Тем не менее, тип пресных водоемов с присущими ему характерными особенностями обуславливают фаунистический состав пресноводных пиявок.

Следует отметить, что характеристики водных объектов, особенно испытывающих на себе антропогенный пресс, вероятно, подвергаются сезонному или даже суточному изменению, что может существенно влиять на видовой комплекс гидробионтов, в том числе и пиявок [83]. Сужение видového разнообразия водных экосистем сопровождается снижением численности, изменением видовых доминант и эколого-популяционных характеристик обитателей водных биоценозов [62].

Наличие стабильного субстрата, поддерживающего действие присоски и обеспечивающего эффективное передвижение пиявок, является одним из

факторов определяющих их распространение [66, 141]. Поэтому пиявки встречаются на твердых субстратах, как природного, так и антропогенного происхождения, причем предпочтение отдается последним, особенно когда природные субстраты непригодны для обитания [88]. В связи с чем, искусственные субстраты могут оказывать значительное влияние на процессы колонизации водоемов гирунидами. При этом видовой состав и распределение пиявок может зависеть от их склонности к агрегации и особенностей социального поведения [66].

Пиявки, также как и другие обитатели пресноводных экосистем, такие как мизиды, бокоплавцы, нимфы, поденки, веснянки и моллюски чувствительны к воздействию тяжелых металлов. Кроме того, гирудинида чрезвычайно чувствительны к закислению воды. Например, *Helobdella stagnalis* и *Glossiphonia complanata* обнаруживались в водоемах с рН воды  $>5.6$  и  $> 6.2$ , соответственно. Способствует распространению этой группы (как и моллюсков или ручейников) прогревание воды на мелководных участках озера. Увеличение биомассы и численности зообентоса по мере роста уровня трофности водоемов, у пиявок в эвтрофной зоне достигается максимальная доля в биомассе. Причем, пиявки и моллюски, предпочитают озера с меньшей степенью гумификации [65].

Физико-химические свойства воды являются одними из основных факторов обитания пресноводных пиявок [72, 83]. Однако одним из определяющих состав и численность пиявок экологических факторов, является минерализация воды [4, 6, 20, 21]. Пиявки, живущие в речных водах, проявляют низкую соленостную толерантность [21]. Верхним пределом солености в высокоминерализованных природных водах является показатель 4 г/л, при котором были обнаружены единичные особи из сем. Glossiphoniidae [165]. Наиболее благоприятными условиями для жизнедеятельности пиявок считается минерализация в пределах от 100 до 500 мг/л [6]. Не менее важным фактором, влияющим на распространение, численность и физиологическое состояние пиявок, является температура окружающей среды [58, 83]. Кроме того, на видовой состав и обилие фауны

пиявок влияют такие органолептические показатели воды, как запах, цветность и мутность [34].

#### *2.1.6. Роль пиявок в экосистемах пресных вод*

Несомненно, пресноводные пиявки являются важным компонентом водных экосистем. Паразитические виды участвуют в регулировании численности видов-хозяев, оказывая влияние на организм хозяина, поскольку в местах их прикрепления возникают условия (язвы, кровотечения, воспаления) для развития бактериальных инфекций. Кроме того, кровососущие пиявки могут быть переносчиками вирусных инфекций и паразитарных жгутиконосцев [55, 56, 67, 85, 96, 146, 171, 188], которые считаются патогенными организмами водных животных. Макрофаговые (непаразитические) виды пиявок, также могут оказывать косвенное влияние на других обитателей водной экосистемы. Так, например, некоторые виды макрофаговых пиявок являются промежуточными хозяевами различных паразитарных организмов: нематод, цестод и трематод [15, 41]. В свою очередь, пиявки представляют научный интерес как важное звено в трофической цепи водных экосистем [66]. Кроме того, пиявки являются перспективным объектом для биологического мониторинга водных экосистем [43, 62], их изучение в качестве биоиндикаторов загрязнения водоёмов становится все более актуальным [4, 34, 42, 43, 61, 112, 130, 131, 175]. Определена способность некоторых видов пиявок аккумулировать тяжелые металлы в условиях загрязнения водной среды токсичными микроэлементами [43]. При этом характерно, что хищные пиявки по сравнению с кровососущими видами накапливают в большей степени медь. А пиявки – гематофаги отличаются высокой аккумуляционной активностью к марганцу, железу и свинцу [60].

Однако, использование гирудинид в качестве индикатора оценки качества пресной воды все еще затруднительно в связи с недостаточностью опубликованных сведений о взаимоотношении пиявок с окружающей средой, и влиянию на них различных загрязняющих веществ [125]. Имеющиеся сведения описывают в качестве биоиндикаторов в основном среднеевропейские виды

пиявок [112, 130, 175]. Кроме того, экологические факторы изучаются не на комплексе, а на одном виде, что усложняет интерпретацию сведений и не дает возможность соотнести полученные результаты о влиянии факторов окружающей среды на жизнедеятельность всех обитающих в водоеме видов пиявок.

## **2.2. Биоразнообразие и методы делимитации таксонов**

### *2.2.1. Биоразнообразие*

Особенностью нашей планеты является существование жизни, и самая удивительная особенность жизни – это ее разнообразие. К биологическому разнообразию относится суммарная вариация всех живых организмов (животных, растений, грибов и микробов) на Земле, включая их генетическое, видовое и экосистемное разнообразие, которые они помогают создавать и регулировать [84]. В 1997 Эдвард Уилсон дал этому термину несколько другое определение: «Биоразнообразие – это общая вариация биологических систем, от генетического материала до экосистем» [193].

Биоразнообразие вносит вклад в благосостояние людей бесчисленными способами и представляет для современной цивилизации огромные выгоды, так как не менее 40% мировой экономики осуществляется в результате использования биологических ресурсов. Гомеостаз биологического разнообразия обеспечивает человечество ресурсами, позволяя сохранять продовольственную безопасность, возможность для медицинских достижений, в том числе в области фармацевтики. В целом, биоразнообразие обогащает жизнь людей материальными и практическими благами, а также вносит в жизнь эмоциональное удовлетворение и вдохновение [160].

Разнообразие живых организмов на Земле является важнейшим показателем здоровья планеты. Поскольку биоразнообразие является достаточно хрупкой системой, оно подвержено всевозможным угрозам. Потери видов и другие преобразования в естественных местах обитания являются результатом пяти основных причин: уничтожения естественных мест обитания, интродукции

инвазионных (чужеземных) видов, загрязнения, нерационального использования природных ресурсов и глобального изменения климата [173].

Потеря среды обитания в результате антропогенного влияния является главной разрушительной угрозой для биологического разнообразия [153]. Помимо этого, существуют природные причины разрушения среды, такие как: засуха, землетрясение, сильный шторм и т.д.

Организмы, которые по ошибке или преднамеренно введены из одной экосистемы в другую – основной корень для глобального исчезновения видов. Инвазионные виды вытесняют многие местные, поскольку они занимают местообитания или конкурируют за еду, т.е. вытесняя виды-аборигены из присущей им экологической ниши.

Экологическое загрязнение является глобальной проблемой, и это обстоятельство напрямую связано с антропогенным воздействием. Со времени промышленной революции, выпуск органических и неорганических загрязнителей в окружающую среду стал расти с угрожающей скоростью. Загрязняющие вещества выделяются в окружающую среду, при этом их нежелательное присутствие угрожает биологическому разнообразию и наносит вред отдельным видам или же приводит к деградации всей экосистемы.

Чрезмерная эксплуатация природных ресурсов – еще одна серьезная угроза биоразнообразию. Люди используют природные организмы для удовлетворения своих потребностей в продовольствии, энергии и других ресурсах. Однако зачастую использование того или иного ресурса превышает уровень их естественного восстановления. Ярким примером тому может служить чрезмерная охота и рыбная ловля, а также неконтролируемые лесозаготовки.

Глобальное изменение климата является результатом выбросов парниковых газов, таких как углекислый газ, метан и т. д. в атмосферу Земли, также рассматривается как растущая угроза биоразнообразию. Изменение климатических условий оказывает влияние на факторы окружающей среды и экосистемы, в которых виды эволюционировали и выживали на протяжении долгого времени. По оценкам экспертов за последние 140 лет средняя глобальная

температура поверхности увеличилась на  $0.6 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ . Этот темп повышения температуры является достаточным для изменения климата, что приводит к более интенсивному нагреву и похолоданию в некоторых регионах и более экстремальной погоде: таким явлениям как: наводнения, засухи и другие флуктуации погоды [173]. При этом, виды обитающие в природных средах неспособны адаптироваться или мигрировать достаточно быстро, чтобы справиться с этими климатическими явлениями.

Необходимо отметить, что пресноводные экосистемы наиболее подвержены опасности. Основной причиной является непропорциональное богатство внутренних вод как мест обитания биологических ресурсов [94]. Поверхностные пресноводные среды составляют лишь около 0.8% поверхности Земли [110]. При этом, учитывая скорость, с которой под воздействием антропогенных факторов деградируют пресные воды, то становится очевидным неминуемая угроза их биологическому разнообразию. К сожалению, знания общего разнообразия пресных вод все еще остаются незавершёнными. Даже среди позвоночных, например, рыб, существуют еще не изученные для науки виды [179]. Особенно сложной эта ситуация представляется, среди беспозвоночных и микроорганизмов [94].

Скорость вымирания видов в будущем очень трудно предсказать. Однако в наших силах предпринять стратегические меры если не по устранению, то по смягчению последствий человеческой деятельности на природу.

Международная историческая конвенция о биологическом разнообразии «Саммит Земли», утвержденная в Рио-де-Жанейро в 1992 году, призвала все страны принять надлежащие меры для сохранения биоразнообразия и устойчивой эксплуатации его бенефициаров. В ходе последующего Всемирного саммита по устойчивому развитию, состоявшемуся в 2002 году в Йоханнесбурге, 190 стран взяли обязательство по значительному снижению к 2010 году нынешних темпов утраты биоразнообразия на глобальном, региональном и местном уровнях. На сегодняшний день всесторонним исследованием состояния биоразнообразия занимается международная организация – МСОП (Международный союз охраны

природы и природных ресурсов). При этом, мероприятия направленные на сохранение разнообразия включают в себя: сохранение, поддержание рационального природопользования и улучшения компонентов биологического разнообразия. Исследования в данной области способствовали тонкому пониманию взаимосвязи между биоразнообразием, функционированием экосистем и экологической стабильности [90]. Однако, в связи с возрастающим давлением на элементы биоразнообразия необходимо определение приоритетных задач сохранения.

Биологическое разнообразие следует рассматривать многомерно, где бесспорно среди множества показателей в экологических исследованиях наиболее распространено видовое богатство [192]. При этом таксономическое разнообразие охватывает лишь небольшую часть необходимого объема интегрированных знаний. Более детальные исследования, должны включать в себя следующий минимальный набор показателей: сведения о таксономических, функциональных и структурных компонентах биоразнообразия [138]. Существует необходимость включения в мониторинг природных сред комплексной оценки функциональных и филогенетических измерений биологического разнообразия.

Поскольку наличие филогенетических данных относительно разных биологических групп стремительно растет, включение функциональных и филогенетических компонентов в программы оценки и мониторинга стало более осуществимо [147]. Вместе с тем, возможность изучения филогенетического разнообразия в целях охраны природы крайне необходима, поскольку оно может быть связано с такими процессами как вымирание [159], биологическая инвазия и функционирование экосистем [178].

### *2.2.2. Филогенетическое разнообразие*

Существует иерархическая структура, включающая в себя генетическое, видовое и популяционное разнообразие [86]. При этом, генетическое разнообразие является фундаментальным уровнем, на котором основываются все другие уровни [160]. Оно относится к разнообразию генетической информации,

присутствующей во всех отдельных микроорганизмах, животных и растениях, встречающихся в популяции видов. Другими словами, это степень вариации генов в пределах одного вида или популяции. Между тем, чем больше генетических вариаций имеет вид, тем больше у него вероятность адаптироваться к изменениям условий окружающей среды. Это явление представляет собой основной источник эволюционных изменений, адаптации к изменению окружающей среды и выживанию видов, а также процессов видообразования.

Новая генетическая вариация возникает у индивидуумов в результате генетических и хромосомных мутаций, которые могут распространять в популяции путем рекомбинации. Генетические изменения делают возможным как естественное эволюционное изменение, так и искусственное избирательное размножение. Глобальное генетическое разнообразие чрезвычайно велико и может быть оценено разными способами, например, путем изучения кариотипа или же анализа структуры ДНК [173].

Более общий метод количественной оценки разнообразия среди видов – оценка эволюции вида или филогения. Филогенетическое разнообразие – это биологическое разнообразие, основанное на изучении эволюционной истории видов [97]. Оно необходимо в определении приоритетных таксонов, охрану которых необходимо осуществлять в первую очередь [191, 194]. Данный тип разнообразия позволяет предоставить информацию о ценности сохранения, которая не учитывается обычными подходами на уровне видов [98]. Кроме того, филогенетическое разнообразие отражает эволюционный потенциал той или иной экосистемы. Считается, что любые филогенетические изменения, происходящие в пределах таксонов, являются ответом на различные экологические изменения [134, 136, 145]. Кроме того, существуют теоретические исследования показывающие, что увеличение филогенетического разнообразия сообщества увеличивает эволюционный потенциал для адаптации к изменениям окружающей среды [90]. Между тем, экологические эксперименты указывают на то, что сообщества с большим количеством филогенетического разнообразия более

стабильные, обладают более высокой производительностью и опираются на оптимальное количество видов на трофических уровнях [81, 91].

Различия между видами могут быть охарактеризованы путем измерения любого количества признаков, таких как особенности строения тела, размер и форма, пищевые предпочтения, физиологическая толерантность к различным стрессорам и т.д. Однако степень сходства или различия между видами будет зависеть строго от выбора измеряемых качеств, при этом многие признаки применимы только к определенным группам [189]. Аналогично, для изучения филогенетического разнообразия достаточно используемых для этой цели молекулярных данных, очень часто основанных на наборах последовательностей коротких генов. Преимуществом молекулярных данных для филогенетического вывода является обеспечение стандартизованного набора символов, по средствам которых отражаются основные закономерности взаимоотношений видов в группе организмов [194].

### *2.2.3. Современные методы делимитации таксонов*

Наиболее распространенным методом позволяющим воссоздать структуру эволюционных отношений между видами посредством кладистического анализа молекулярных и морфологических данных является филогенетический анализ. Использование некоторых молекулярных маркеров в совокупности с филогенетическими методами, предполагают как минимум два новых класса информации, являющимися перспективными в отношении делимитации видов: иерархическая взаимосвязь и относительная скорость эволюции. Эти данные дают возможность разграничить эволюционно значимые единицы разнообразия в широких таксономических масштабах.

С накоплением филогенетических данных по разным группам организмов стало возможным выявление общих эволюционных закономерностей, что привело к появлению прогрессивных методов молекулярной идентификации, одним из которых является техника ДНК-штрихкодирования [115]. Дальнейшее развитие биоинформационного аппарата даёт возможность автоматизировать поиск

пороговых значений и штрихкодных разрывов, что исключает субъективность при разграничении видов.

### *2.2.3.1. Филогенетический анализ*

Филогения развивалась постепенно, опираясь на традиционную систематику, основанную на морфологических свойствах, эмбриологии и стратиграфии. Морфология лежала в основе систематики еще задолго до введения эволюционной теории и филогенетического разграничения. Безусловно, у нее есть ряд преимуществ: многие признаки организма сразу видны и легко соотносятся. Филогения на основе морфологии позволяет определить характер общих предков различных групп для проверки функциональных эволюционных изменений. Слабым местом филогенетического анализа базирующегося на морфологических сведениях является конвергенция не гомологичных структур, в результате чего происходит ошибочная кластеризация организмов.

Для осуществления более точного филогенетического анализа уже становятся традиционным использование различных молекулярных методов позволяющих выявить факторы внутривидовой изменчивости, дать объективную оценку популяционного разнообразия. Широкое распространение молекулярных методов связано с одной стороны со стремительным развитием ДНК-технологий с другой стороны с четкой исследовательской программой, легкостью формализации полученных данных и разработанными механизмами их анализа. Еще одним преимуществом применения молекулярных данных является свойства сравнимости и воспроизводимости [1].

Между тем, выбор участка ДНК в качестве филогенетического маркера и сравнение нуклеотидных последовательностей лежит в основе филогенетического анализа. При этом, в роли маркера может выступать любой фрагмент ДНК находящийся в тесной генетической связи с анализируемым геном. Как правило, выбор молекулярного маркера, основывается на данных о приблизительной скорости его эволюции в других группах организмов, на удобстве работы, на доступности материала для сравнения в международных генетических базах

данных. Для давно дивергировавших таксонов маркер должен быть достаточно консервативен, чтобы существовала возможность проведения выравнивания последовательностей и уменьшения вероятности повторных замен по сайту. Для представителей одного рода или даже вида такой участок, напротив, должен эволюционировать очень быстро, чтобы показать различия, достаточные для проведения достоверной математической обработки.

Полиморфизм митохондриальной ДНК (мтДНК) широко используется в филогенетических исследованиях и при изучении биологического разнообразия. Митохондриальный геном многоклеточных организмов имеет размер 15000-17000 пар нуклеотидов, что составляет примерно 1/10000 от наименьшего ядерного генома животных [137]. По этой причине применение митохондриального генома имеет значительное преимущество над ядерным геномом. Митохондриальные гены достаточно уникальны, редко перекрываются и не содержат интронов. Наследование мтДНК осуществляется по материнской линии, эволюционные изменения происходят в основном за счет точечных мутаций.

Исследования эволюции митохондриальных геномов выявило скорость накопления замен порядка  $5.7 \times 10^{-8}$  замен на нуклеотидный сайт в год [80], что почти в 10 раз больше скорости синонимичных замен в ядерных белок-кодирующих генах. Кроме того кластеры на внутривидовых деревьях, построенных по сходству нуклеотидных последовательностей отдельных митохондриальных генов зачастую демонстрируют четкую географическую ориентацию.

Самым эволюционно консервативным во всем митохондриальном геноме считается фрагмент митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы (COI). Эта особенность делает удобным изучение филогении очень далеких таксонов и в тоже время, наблюдаемое количество синонимичных замен достаточно для проведения исследований на видовом уровне. В целом, этот маркер можно рассматривать как более перспективный для филогенетических исследований, поскольку потенциальных возможностей для сравнительного анализа его эволюции в разных группах организмов.

Эволюционные отношения между различными организмами в филогенетических исследованиях представляют в виде филогенетических деревьев, посредством которых отображаются эволюционные взаимоотношения между видами или более крупными таксонами [194]. При этом, филогенетическое расстояние между двумя видами обуславливает оценку количества времени, которое отделяет их от общего предка обоих видов, или другими словами, время, затраченное на эволюцию видов независимо друг от друга [189].

Деревья на основе расстояния включают топологическую информацию, а также длину ветви. Внутренний узел представляет собой гипотетического общего предка для всех видов, берущих начало из этого узла. Конечные узлы (листья или верхние концы) отображают изучаемые виды или организмы. Общий предок всех узлов в дереве называется корнем. Для определения положения корня древа можно также использовать внешнюю группу – одну или несколько последовательностей, дивергировавших заведомо раньше от анализируемых последовательностей. Клада определяется как группа видов с одним общим предком (т.е. эта группа монофилитическая). При этом, длина ветви, соединяющей два узла, может быть пропорциональным эволюционной дивергенции между узлами [194].

С тех пор как концепция эволюционных деревьев была впервые описана, произошел всплеск в области филогенетики, как в количестве методов, используемых для построения филогенетических деревьев, так и в комплексе проблем, для изучения которых они могут быть применены.

Традиционные филогенетические методы строят дерево из одного набора данных. Однако два филогенетических дерева, содержащих один и тот же набор таксонов, но построенных с разными наборами данных, не всегда будут иметь одинаковую топологию, что связано с различиями в алгоритмах их построения.

Наиболее простым алгоритмом для построения деревьев, основанным на гипотезе строгих молекулярных часов является метод невзвешенного попарного группирования по средним арифметическим (UPGMA) [176]. Он базируется на использовании последовательного группирования по матрице попарных

расстояний, при котором древо строится в несколько этапов, на каждом из которых группируются наименее удалённые друг от друга последовательности. Алгоритм повторяется до включения в древо всех последовательностей. На сегодняшний день этот метод практически не применяется, поскольку в расчётах он не учитывает различные модели эволюции.

Широкое применение при изучении делимитации видов получил метод объединения ближайших соседей (Neighbor Joining) [167]. В данном методе исключена ошибка, связанная с различными скоростями эволюции в соседних группах. Работа алгоритма начинается с построения дерева звездообразной топологии без внутренних ветвей с числом лучей равным числу последовательностей. При отделении двух последовательностей от древа возникает два узла, один из которых отражает связь между этими двумя последовательностями, а второй – их общую связь с остальными. Такой алгоритм повторяется для каждой пары последовательностей, и из результатов выбирается пара, дающая наименьшую сумму длин ветвей. Далее эта пара рассматривается как единая последовательность, и процедура повторяется с расчётом новой матрицы дистанций. Таким образом, строится древо без корня, для укоренения которого требуется внешняя группа. Принципиальное отличие этого метода от UPGMA в том, что в последнем в кластер объединяются две последовательности, имеющие наименьшую дистанцию между собой, независимо от остальных дистанций. Здесь же кластеризуются последовательности, дающие наименьшую сумму длин ветвей. При этом длины ветвей, исходящих от одного узла могут быть не равны.

В отличие от методов, базирующихся на анализе дистанций, методы анализа дискретных признаков рассматривают различия последовательностей в конкретных позициях. Их целью является реконструкция сценария, наиболее вероятно объясняющего порядок конкретных нуклеотидных замен в эволюционной истории.

Метод максимальной экономии (Maximum Parsimony) [104] направлен на поиск филогенетического древа, требующего наименьшего числа нуклеотидных

и аминокислотных замен для объяснения наблюдаемых различий. В основе этого метода лежит анализ нуклеотидов или аминокислот в филогенетически информативных позициях, позволяющих отдать предпочтение конкретному сценарию эволюции. Посредством этого алгоритма генерируется максимальное число филогенетических деревьев, объясняющих замены во всех различных позициях генома, однако в дальнейшем замены, делающие различные сценарии эволюции равновероятными, не учитываются. Соответственно, с увеличением числа и длины анализируемых последовательностей сложность этого анализа возрастает, но вместе с этим возрастает его разрешение и достоверность.

Метод наибольшего правдоподобия (Maximum Likelihood) устанавливает количественную характеристику для вероятности мутационных событий, вместо того чтобы просто их подсчитать [101, 102]. Аналогично методу максимальной экономии, метод наибольшего правдоподобия восстанавливает предков в каждом узле дерева, основываясь на вероятностях мутационных событий. Для каждой топологии дерева варьирует скорость эволюции и оптимизируются параметры с тем, чтобы максимизировать правдоподобие положения наблюдаемых последовательностей. При этом методе строится максимальное количество деревьев для всех сценариев эволюции, объясняющих имеющиеся замены в последовательности. Предпочтение отдаётся тому дереву, которое максимально соответствует функции накопления замен во времени согласно какой-либо модели.

Байесовский метод (Bayesian) позволяет получить наиболее правдоподобное филогенетическое дерево при заданных исходных последовательностях ДНК и эволюционной модели замен. Главными преимуществами байесовского подхода является способность работать со сложными эволюционными моделями и вычислительная эффективность, благодаря которой, он позволяет выбрать несколько вариантов филогенетического дерева с наибольшим значением апостериорной вероятности [118]. Байесовский метод, хоть и считается на сегодняшний день самым совершенным и достоверным, однако, также не лишён недостатков.

В целом, принципиальным отличием кладистического подхода является базирование таксономической системы не на сходствах форм жизни, а на их общем эволюционном происхождении. При этом базовым положением является выделение в таксоны монофилетических групп (чистых клад) [32]. Однако сам по себе филогенетический анализ не даёт однозначных данных о границах клад. При анализе группировки последовательностей на филогенетическом дереве их принадлежность к определённой кладе должна подкрепляться морфологическими данными. Таким образом, молекулярная филогения является не заменой морфологической систематики, а равноправным инструментом для систематиков.

Филогенетический анализ, является вспомогательным элементом делимитации видов, тем не менее, до недавнего времени он не был стандартизирован. До конца XX века в молекулярно-биологических исследованиях сравнивались различные маркерные участки ДНК, что, несомненно, приводило к сложностям при проведении анализа и сопоставлении данных.

#### *2.2.3.2. ДНК-штрихкодирование*

Многостороннее развитие молекулярных исследований в качестве основного инструмента в изучении биологического разнообразия стало толчком для появления программы ДНК-штрихкодирование (DNA barcoding). Две главные цели ДНК-штрихкодирования – найти место неизвестных образцов в существующей систематике и ускорить открытие новых видов, развив при этом методы идентификации, особенно в случаях трудноразличимой морфологии [116]. Данная программа позволяет осуществлять видовую идентификацию эукариот с помощью сравнения нуклеотидной последовательности маркерного фрагмента ДНК исследуемого организма с гомологичными последовательностями известных видов, имеющихся в генетической базе данных, например, GenBank.

Метод ДНК-штрихкодирования по сравнению с традиционной таксономической идентификацией, основанной на морфологических ключах, привносит в изучение биологического разнообразия несомненные преимущества.

В основе анализа может быть организм или же его фрагмент на любой стадии жизненного цикла. Данный метод не требует профессиональных знаний в отношении морфологии изучаемых организмов и дает возможность выявить политипические, или же криптические виды [71, 129]. Кроме того, высокая эффективность и скорость проведения ДНК-штрихкодирования позволяет автоматизировать идентификацию видов, что особенно важно при выявлении патогенных и паразитических организмов. Поскольку в количественных гидробиологических пробах бывает достаточно большое количество трудно идентифицируемых организмов, то применение метода ДНК-штрихкодирования позволяет существенно усилить экологические исследования, повысить эффективность мониторинга, познания и использования биоразнообразия.

Тем не менее, это направление молекулярных исследований не лишено недостатков. Одним из основных несовершенств метода ДНК-штрихкодирования является неспособность экстрагировать ДНК из музейных коллекций, зафиксированных в формалине. Однако, исследователи стоят на пути совершенствования методики и, вероятнее всего, эта проблема будет решена в ближайшем будущем.

Другой немаловажной проблемой возникающей при анализе полученных последовательностей, является недостаток выборки в базах данных у некоторых таксонов [106]. Тем не менее, база данных программы “Barcode of Life” (BOLD) пополняется с большой скоростью. В 2008 году в ней было размещено всего 363 584 последовательностей, из которых 37.5% удовлетворяли критериям ДНК-штрихкодирования. К середине 2016 года было проанализировано уже порядка 5 млн. маркерных фрагментов [117], а в 2017 году база данных включала 5.8 млн. последовательностей, из которых лишь 4.6% соответствовали критериям ДНК-штрихкодирования (Рис. 5).

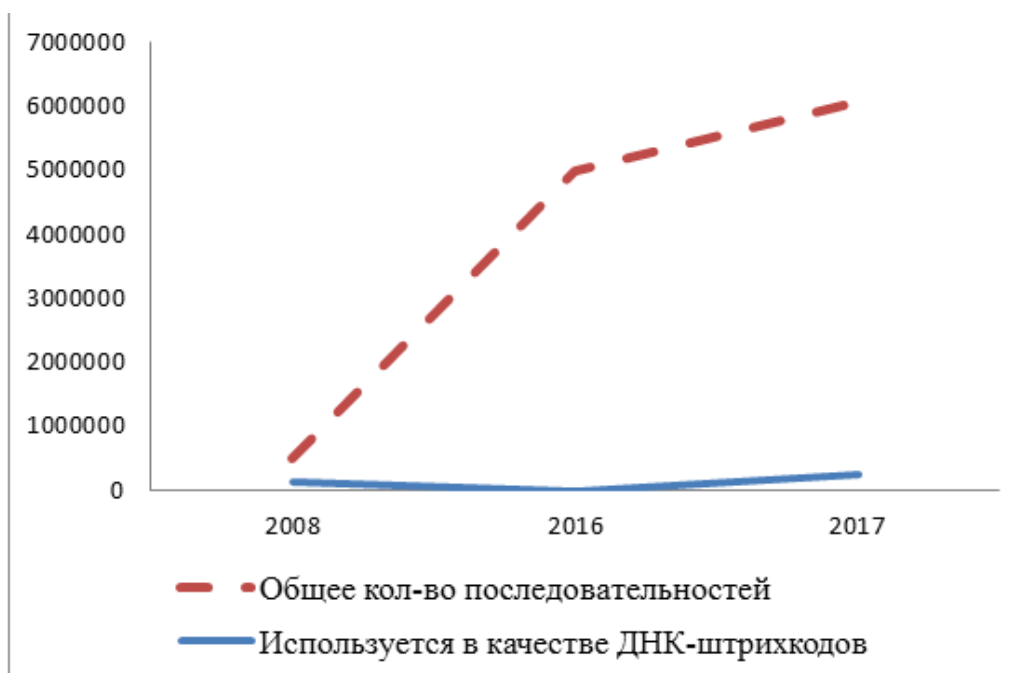


Рис. 5 – Количество последовательностей в базе данных BOLD

Данное обстоятельство показывает стремительный рост исследований направленных на поиск ДНК-штрихкодов. В то же время, процент пригодных для данных целей последовательностей чрезвычайно низок, что связано в основном с использованием коротких фрагментов ДНК или же с выбором маркера без учета скорости эволюции и темпов внутривидовой дивергенции [106]. В связи с чем, возникает вопрос о предварительном уточнении границ вида, который можно решить лишь с применением дополнительных биоинформационных методов.

В целом, метод ДНК-штрихкодирования оказался чрезвычайно полезным при исследовании таксономически сложных групп: бактерий, простейших, диатомовых водорослей, нематод, брюхоногих моллюсков, насекомых, паукообразных, ракообразных, рыб и птиц и др. [106]. Среди которых особое место занимают представители подкласса Hirudinea, видовая идентификация которых затрудняется из-за существования скрытых видов или фенотипической пластичности. ДНК-штрихкодирование было успешно апробировано и признано пригодным инструментом для изучения меж- и внутривидовых отношений данной группы организмов [23, 24, 124] и является перспективным направлением в качестве изучения биологического разнообразия.

### *2.2.3.3. Биоинформационные методы для делимитации таксонов*

Для разграничения видов с одним локусом существует несколько способов. Самый простой подход заключается в определении видов на основе правила ограниченного процента, например, 3% используется для разграничения бактериальных видов от 16S последовательностей рДНК [170] или COI для видов насекомых [79].

Этот метод имеет существенное слабое место: зависимость эволюционной модели от изменения типичных уровней внутривидовых и межвидовых различия между кладами, и от изменения замещения среди линий [70]. Хотя использование порога попарного расстояния может хорошо работать на практике [182], для его подтверждения необходимо использовать другие эволюционные методы. Кроме того, необходима базовая эволюционная модель, которая устранил неопределенность в результате разграничения и сравнения альтернативных эволюционных гипотез статистически, например, диверсифицировалась ли клада видов или нет [107].

Существуют методики автоматического поиска пороговых значений и штрихкодных разрывов (если таковые имеются). На сегодняшний день самыми совершенными методами являются Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYS) [154] и Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) [157].

Метод GMYS – один из методов, позволяющих разделить независимо эволюционирующие виды. Метод основывается на статистической обработке ультраметрических филогенетических деревьев с молекулярными часами. Он обнаруживает статистически наиболее вероятный порог между внутри- и межвидовыми процессами, выражающийся как скачок в частоте событий ветвления на филогенетическом древе. Поскольку он не опирается на дополнительные доказательства для формулировки гипотез предполагаемых видов, этот метод может быть применён в случаях нехватки дополнительных данных, которыми определяются границы вероятных видов. Достоинство GMYS состоит в том, что критерии подобия позволяют проверять гипотезы на всём

наборе образцов. Модель GMYC была предложена для разделения видов по одному локусу генетических данных. Она требует филогенетической реконструкции всех последовательностей в наборе данных, что является очень длительным процессом для очень больших массивов данных, и бывает трудно провести вычисления так, чтобы модель была не противоречивой [154].

Внутривидовые и межвидовые разрывы, часто могут перекрываться, и визуально определять пороги становится сложно. Метод ABGD автоматически находит дистанцию, в которой находится штрихкодный разрыв. Этот метод подразумевает стандартное определение штрихкодного разрыва и может быть использован даже когда два распределения перекрываются, чтобы разделить два набора данных в потенциальные виды.

Данные разделяются на максимальный набор групп (т.е. предполагаемых видов) таким образом, чтобы расстояние между двумя последовательностями, взятыми за конкретные группы, было всегда больше, чем заданное пороговое расстояние. Бездумное применение этого метода требует, во-первых, знания порогового значения, во-вторых, предположения, что различия последовательностей близкородственных видов больше, чем внутривидовые различия. Таким образом, цель метода ABGD – статистически обнаружить штрихкодный разрыв в имеющихся данных и рекурсивно применить эту процедуру к полученным группам последовательностей, позволяя работать наборами данных с множеством порогов [157].

Метод обнаруживает первый штрихкодный разрыв, который больше заданного порогового значения, после которого различия, статистически вероятнее всего, межвидовые. Это значение – простая функция от скорости мутации в популяции. Затем обнаруженный разрыв используется как порог и рекурсивно применяется к группам, полученным в первом шаге, и таким образом подсчитывается так называемое первичное разделение, в котором группы – первые кандидаты на виды. Чтобы подсчитать вариабельность скорости мутации и перекрытие внутри- и межвидовых различий, первые два шага рекурсивно применяются к группам, полученным во втором шаге.

Таким образом, метод ДНК-штрихкодирования должен быть интегрирован с количественным анализом данных для разграничения предполагаемых видов, в соответствие с которыми информация по сиквинсам обеспечит рамки видовой вариации. Разграничение видов должно опираться на два основных подхода: установление процедуры основанной на диагностических характеристиках и оригинальная процедура выявления сдвига в скорости ветвления линий [154]. В свою очередь, анализ длины ветвей основан на филогении и генеалогии внутри видов.

## ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 3.1. Сбор материала

Биологический материал был собран в 24 точках (в трех повторностях) в августе-сентябре 2014-2015 гг. в прибрежной части водоемов и водотоков (Рис. 6), входящих в бассейн реки Иртыш на территории Казахстана (Табл. 3).



Рис.6. Карта-схема мест отбора проб

Отлов пиявок проводился вручную или с помощью гидробиологических сачков в диапазоне глубин 0-1.5 м. Для количественного учёта особей применялась гидробиологическая рамка с площадью захвата 1 м<sup>2</sup>.

Обычное гидробиологическое оборудование (сачок, драга, скребок, дночерпатель и др.) зачастую малоэффективно при отлове пиявок. В связи с этим, для отлова хищных и паразитических пиявок был проведен дополнительный осмотр различных субстратов, на которых предполагалось обнаружение

гирудинид: прибрежной растительности, макрозообентоса, камней и неестественных субстратов, обнаруженные в воде.

Таблица 3

Места отбора проб в бассейне реки Иртыш

№	Название водоема	Географическое расположение	Географические координаты
1	р. Иртыш	р-н г. Семей	N50°46'98'' E80°13'64''
2		р-н г. Усть-Каменогорск	N49°56'19'' E82°37'29''
3		р-н г. Павлодар	N52°18'33'' E76°53'00''
4		р-н г. Павлодар	N52°19'17'' E76°56'06''
5		р-н г. Павлодар	N52°16'52'' E76°56'06''
6		р-н г. Семей	N50°36'41'' E80°36'09''
7		р-н г. Семей	N50°43'39'' E80°20'26''
8	Семипалатинская протока	р-н г. Семей	N50°24'6'' E80°14'36''
9	р. Ульба	р-н г. Усть-Каменогорск	N49°57'36'' E82°37'38''
10	р. Уланка	Уланский р-н	N49°58'13'' E82°26'10''
11	р. Дресвянка	Уланский р-н	N50°02'28'' E82°20'23''
12	р. Песчанка	Уланский р-н	N50°10'08'' E82°03'07''
13	р. Кызылсу	Уланский р-н	N50°06'14'' E81°32'56''
14	р. Карасу	Уланский р-н	N50°01'48'' E81°19'35''
15	р. Шар	Жарминский р-н	N50°21'40'' E80°53'07''
16	Шульбинское вдхр.	Семипалатинский р-н	N50°22'53'' E81°6'13''
17		Семипалатинский р-н	N50°23'36'' E81°5'36''
18	Бухтарминское вдхр.	Зыряновский р-н	N49°36'58'' E83°31'33''
19		Зыряновский р-н	N49°37'01'' E83°34'18''
20		Зыряновский р-н	N49°37'39'' E83°27'21''
21	оз. Малое	Бескарагайский р-н	N50°72'78'' E79°64'46''
22	оз. Большое	Бескарагайский р-н	N50°43'16'' E79°40'49''
23	оз. Безымянное	Бескарагайский р-н	N50°88'85'' E79°49'12''
24	оз. Колхозное	Семипалатинский р-н	N50°23'37'' E80°28'24''

После отлова проводилась фотодокументация живых пиявок для регистрации прижизненной окраски при помощи фотоаппарата Sony DSC-W670.

Собранный материал фиксировался 80%-ным этанолом с предварительной анестезией животных низкопроцентным раствором спирта.

### **3.2. Камеральная обработка и морфологический анализ**

Камеральная обработка, включающая в себя изучение биомассы и соотношения биотопических и трофических групп проводилась по общепринятым методикам [45]. Кроме того, в каждой пробе были изучены особенности морфологических показателей гирудинид, обитающих в различных экосистемах: размеры тела и его окраска, наличие ослабленных и больных особей.

Биометрические показатели определялись при помощи штангенциркуля. Определение биомассы проводилось на электронных весах OHAUSYA 102 с точностью до 0.01 г, после предварительного просушивания организмов на фильтровальной бумаге. Взвешиванию подвергались все собранные в пробе организмы, в том числе и ювенальные особи, после чего находили среднюю массу одной особи. Суммарная биомасса особей каждого вида в пробе соответствует общей биомассе пиявок, обитавших на обследованном участке водоема. Для изучения популяционных характеристик гирудофауны рассчитывались следующие индексы: индекс встречаемости, индекс плотности Дедю, индекс доминирования Паляя-Ковнацки [63] и коэффициент общности Серенсена [177].

Анализ морфологических признаков гирудинид проводился в лабораторных условиях с использованием бинокулярного микроскопа МСП-2 (ЛОМО). Внешний вид фиксированных образцов документировался посредством фотографирования через бинокуляр, с применением тринакулярной насадки Lomo и фотокамеры «Nikon D700».

Морфологической идентификации подверглись 618 пиявок. Все биологические образцы были промаркированы и определены на хранение в коллекцию лаборатории аналитической и биоорганической химии Лимнологического института СО РАН, Иркутск, Россия.

Видовая принадлежность пиявок определялась в соответствии с существующими систематическими ключами и современной классификацией [33, 150].

### **3.3. Гидрохимические показатели**

На распределение и обилие пиявок оказывает влияние весь комплекс факторов окружающей среды. Наиболее значимыми экологическими факторами, определяющими состав и численность пиявок, являются минерализация воды, температура окружающей среды и другие физико-химические показатели воды [4, 20, 21, 58]. Степень загрязнения поверхностных вод в изучаемых водных объектах указана на основании гидрохимического индекса загрязнения воды (ИЗВ) [10]. Кроме того, в полевых условиях одновременно со сбором биологических проб с помощью многопараметрического тестера PCSTestr 35 Series (Oakton, Eutechinstruments) были определены следующие показатели воды: общий уровень минерализации, pH, температура, содержание солей, электропроводность.

На месте сбора, производилась фотосъемка биотопов, описывались его основные характеристики, в том числе особенность грунтов, водной и прибрежной растительности, состав бентоса, степень засоренности воды твердыми бытовыми отходами и другие факторы, непосредственно влияющие на биоту водоемов различного типа.

### **3.4. Статистический анализ**

В целях поиска взаимосвязи между таксономическим составом фауны пиявок и физико-химическими показателями среды обитания был проведен анализ методами многомерной статистики. Построение корреляционной матрицы проводилось на основе коэффициента ранговой корреляции Спирмена [119]. Для статистических расчётов и визуализации результатов использовались возможности языка программирования R [184] с применением пакета дополнительных функций «gplots» [115]. Для определения влияния факторов влияющих на биологическое разнообразие гирудинид были использована Евклидова метрика и программный пакет «Vegan» [151, 170].

Перед проведением статистического анализа массив данных и количественные абиотические параметры среды были нормализованы с ранжированием диапазона значений от 0 до 1 для каждого фактора.

Количественные данные видового обилия были проанализированы методом многомерной ординации (неметрическое многомерное масштабирование – далее MDS) с использованием меры различия «gower». Степень влияния числовых абиотических переменных на формирование видового разнообразия и численность пиявок была оценена при помощи коэффициента детерминации и перестановочных тестов [86]. Коэффициент детерминации был рассчитан для линейной регрессии, описывающей взаимосвязь между независимыми переменными: координатами точек сбора в двумерном пространстве MDS и зависимой переменной – показателем степени загрязнения. Для определения взаимосвязи между показателями видового разнообразия сообществ с качественными абиотическими факторами  $R^2$  был рассчитан посредством одностороннего дисперсионного анализа.

### **3.5. Молекулярный анализ и делимитация видов на основе молекулярных данных**

#### *3.5.1. Определение нуклеотидных последовательностей*

Для изучения генетического разнообразия гирудинид в бассейне р. Иртыш был применен метод ДНК-штрихкодирования, при этом в качестве молекулярного маркера использовали стандартный фрагмент митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы *c* (COI). На анализ брали мышечную ткань задней присоски пиявок с целью предотвращения возможной контаминации чужеродной ДНК. Пробу ткани брали микроскопических размеров (0.1–0.2 куб. мм), учитывая возможную коллекционную значимость образца, а также его максимальную сохранность и пригодность для дальнейшего морфологического изучения и описания. Тотальную клеточную ДНК выделяли с использованием буферной смеси на основе цетавлона, катионного детергента цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ), по слегка модифицированному стандартному методу [92]. Состав буфера для экстракции был изменен в сторону увеличения концентрации 2-меркаптоэтанола до 0.5% для лучшей денатурации белков.

Синтез и амплификацию фрагмента гена COI проводили с применением универсальных праймеров, разработанных для беспозвоночных животных [105].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) осуществлялась при использовании термоциклера БИС М111-02-96. Необходимо отметить, что температура отжига подбиралась экспериментально для каждой систематической группы пиявок. Наиболее подходящей для амплификации маркерного фрагмента ДНК большинства образцов оказалась программа ПЦР: начальная денатурация при 94°C – 1 мин; 5 циклов: 95°C – 15 с, 43°C – 5 с, 72°C – 15 с, 25 циклов: 95°C – 15 с, 45°C – 5 с, 72°C – 15 с; окончательная достройка фрагментов – 7 мин при 72°C. Все серии ПЦР включали в себя отрицательный контроль, который содержал все компоненты реакции за исключением образца ДНК.

Детекцию ПЦР-продуктов проводили с помощью электрофореза в 1.5 %-м агарозном геле с добавлением бромистого этидия в качестве интеркалирующего красителя ДНК. После чего результат визуализировали на трансиллюминаторе УФ ViberLourmat.

Определение первичной структуры ДНК проведено в НПК «Синтол» (Москва) и ЦКП «Геномика» (Новосибирск). Редактирование автоматически прочитанных нуклеотидных последовательностей осуществлялось вручную в программе BioEdit [114].

### *3.5.2. Биоинформационный анализ*

Для подбора группы сравнения был использован поиск базового локального сходства (BLAST), используемый для сравнения нуклеотидных последовательностей с последовательностями, имеющимися в базах данных свободного доступа, и вычисления статистической значимости совпадений. В результате для каждой таксономической группы были отобраны наборы генетически наиболее близких последовательностей, сходство которых с исследуемыми образцами составляло не менее 85%. Таким образом, в качестве группы сравнения были использованы гомологичные последовательности близкородственных видов из международного банка генетических данных

(GenBank) и последовательности пиявок Восточной Палеарктики, любезно предоставленные сотрудниками Лимнологического института Сорокиковой Н.В. и Мандзяк Н.Б. (Приложения 1 и 3).

Для проведения биоинформационных исследований построена единая матрица нуклеотидных последовательностей, выровненных относительно друг друга с помощью специализированной программы ClustalW [135]. Однако из-за большого массива данных, затрудняющего расчеты и восприятие результатов, а также с целью более детального исследования для каждой таксономической группы филогенетический анализ проводился отдельно.

Параметры всех молекулярно-филогенетических реконструкций основывались на статистическом методе максимального правдоподобия. Оптимальная модель эволюции для каждого набора данных определялась с помощью программы jModelTest v. 0.1 (Табл. 4) [155]. Выбор модели производился на основе значения байесовского информационного критерия (BIC).

Таблица 4

Оптимальные модели эволюции для построения филогенетических деревьев пиявок различных систематических групп

Систематическая группа	Оптимальная модель
Общий массив данных	GTR+G
<i>Alboglossiphonia</i>	GTR+G+I
Erpobdellidae	
Glossiphoniidae	
Haemopidae	
<i>Hellobdella</i>	
Piscicolidae	TN93+G+I
<i>Hemiclipsis</i>	GTR+G
<i>Theromyzon</i>	

Реконструкция филогенетических деревьев, а также оценки внутри- и межгрупповых генетических расстояний проводились с использованием компьютерных программ, входящих в состав пакета MEGA 7.0.21 [132].

## ГЛАВА 4. ВИДОВОЙ СОСТАВ ПИЯВОК В БАССЕЙНЕ РЕКИ ИРТЫШ

До настоящего времени целенаправленных исследований гирудофауны бассейна р. Иртыш не проводилось. Отрывочные сведения о встречаемости отдельных видов пиявок имеются только по Бухтарминскому водохранилищу, в рамках изучения макрозообентоса [14], или паразитофауны рыб [22], при этом приводились данные без описания подробной морфологии, биологии и экологии видов. Так, в составе паразитофауны рыб этого водохранилища указаны два вида пиявок: *Piscicola geometra* (Linnaeus, 1758) и *Caspiobdella fadejewi* (Epstein, 1961) [22]. Следует отметить, что европейская пресноводная пиявка *C. fadejewi* имеет ограниченный ареал в бассейне рек, впадающих в Азовское и Черное моря [64, 150], а также в бассейне Волги [31]. Возможно, в Восточный Казахстан этот вид был случайно завезен с интродуцированной рыбой. Либо видовая принадлежность этой писциколиды определена не верно, что подтверждается тем, что в более поздней работе [14] в списках макрозообентоса *C. fadejewi* не значится, зато указаны три вида пиявок: *P. geometra*, *H. marginata*, *E. octoculata*. Отсюда следует, что инвентаризация пиявок в бассейне р. Иртыш является своевременной мерой направленной на изучение биологического разнообразия.

### 4.1. Морфологическая идентификация видов

Морфологической идентификации пиявок все собранные в бассейне реки Иртыш особи. Ниже приводится подробное описание каждого вида в соответствии с систематическими ключами пиявок Палеарктики.

Тип: ANNELIDA Lamarck, 1809

Класс: CLITELLATA Michaelsen, 1919

Подкласс: HIRUDINEA Lamarck, 1818 (synonym Hirudinida)

НАДОТРЯД: EUHIRUDINEA Lukin, 1956

ОТРЯД: ARHYNCHOBDELLIDA Blanchard, 1894

Подотряд: ERPOBDELLIFORMES Sawyer, 1986

СЕМЕЙСТВО: ERPOBDELLIDAE Blanchard, 1894

Род: *Erpobdella* de Blainville, 1818

Вид: *Erpobdella octoculata* (Linnaeus, 1758)

Синонимия: *Hirudo octoculata*: Linnaeus, 1758; *Hirudo vulgaris*: Müller, 1774; *Nephelis octoculata*: Moquin-Tandon, 1826; *Nephelis sexoculata*: Sceneder, 1883; *Nephelis scripturata*: Sceneder, 1885; *Nephelis atomaria*: Blanchard, 1893; *Nephelis crassipunctata*: Blanchard, 1893; *Nephelis scripturata*: Blanchard, 1893; *Nephelis sexoculata*, Blanchard, 1893; *Herpobdella octoculata*: Johannson, 1910; *Herpobdella octomaculata*, Pawlowski, 1935.

Географическое распространение: Голарктика. Обитает во всех типах водных сред бассейна р. Иртыш (Рис.7).

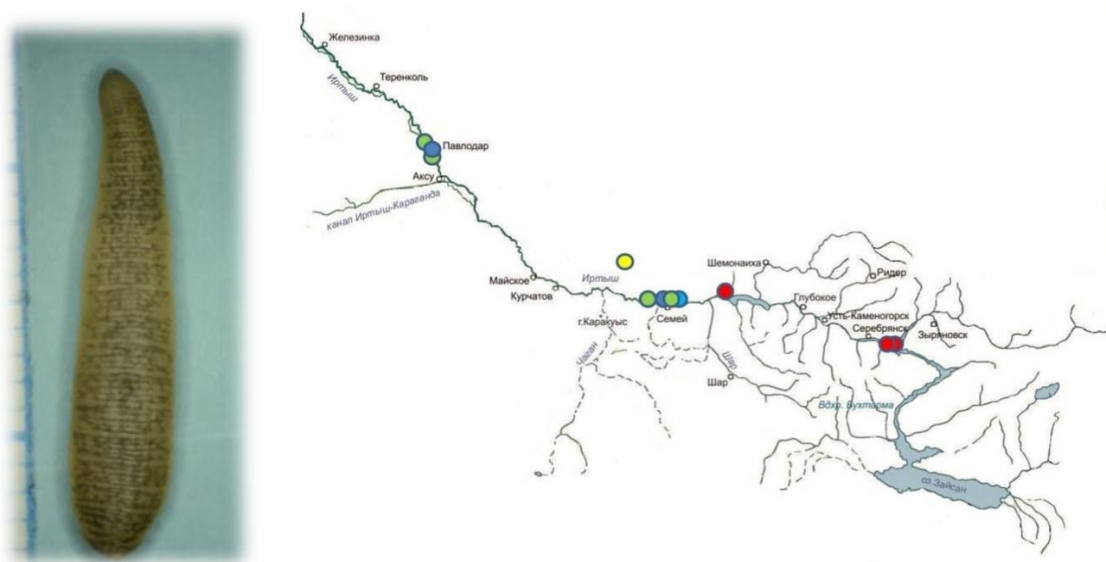


Рис.7 – Морфология и географическое распространение *E. octoculata*

Морфологическое описание: водная пиявка среднего размера (Рис. 7), длина тела 5-27 мм, при ширине 1-4 мм. Хоботок отсутствует. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 7:1. На переднем конце тела расположено четыре пары глаз. Передний край тела удлинённый, слегка сужающийся вперед. Хвостовая присоска без радиальных складок и продольных борозд. Расстояние между гонопорами составляет 2.5 кольца. Все кольца среднего сомита одинаковой ширины. На дорсальной поверхности имеется характерный сетчатый рисунок.

Вид: *Erpobdella monostriata* (Lindenfeld, Pietruszynski, 1890)

Синонимия: *Nephelis octoculata* var. *monostriata*: Lindenfeld, Pietruszynski, 1890); *Herpobdella octoculata* var. *monostriata*: Gedroyć, 1916.

Географическое распространение: Палеарктика. На территории Казахстана обнаружен впервые (Рис. 8).

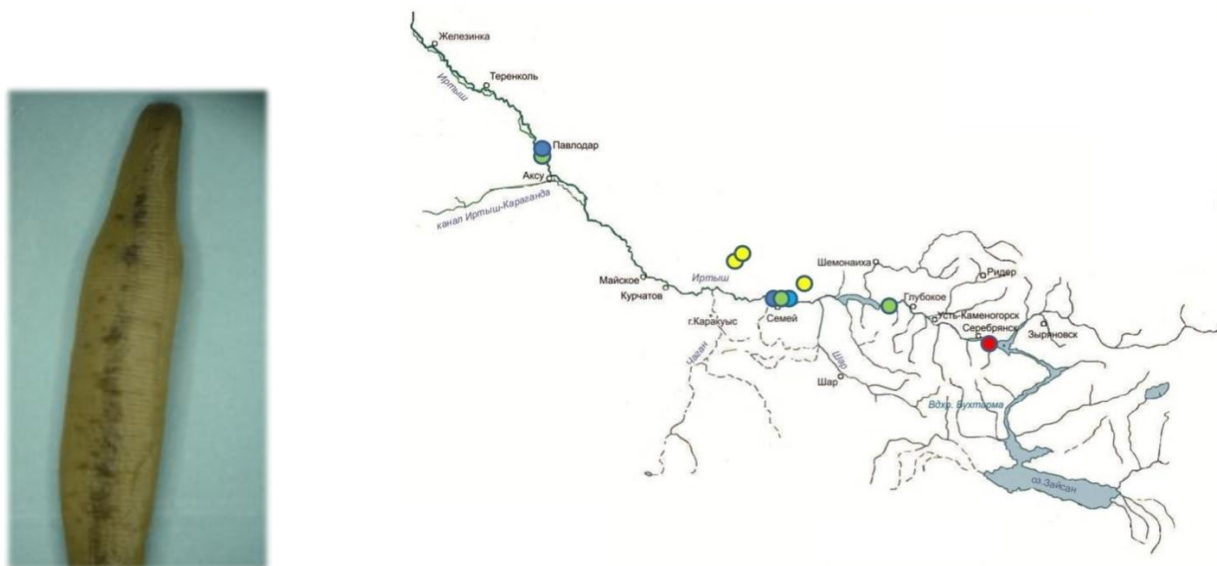


Рис. 8 – Морфология и географическое распространение *E. monostriata*

Морфологическое описание: водная пиявка среднего размера (Рис. 8), длина тела 5-24 мм, при ширине 1-4 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 5:1. Хоботок отсутствует. На переднем конце тела расположено четыре пары глаз. Передний край тела удлинённый, слегка сужающийся вперед. Хвостовая присоска без радиальных складок и продольных борозд. Расстояние между гонопорами составляет 3 полных кольца. На дорсальной стороне имеется темная медиальная полоса.

Вид: *Erpobdella vilnensis* (Liskiewicz, 1925)

Синонимия: *Herpobdella atomaria* var. *monostriata*: Gedrouc, 1916; *Herpobdella octoculata* sub sp. *vilnensis*: Liskiewicz, 1925; *Herpobdella octoculata* f. *monostriata*: Gedroyc, Pawlowski, 1936; *Herpobdella vilnensis*: Liskiewicz, 1934;

*Erpobdella octoculata* f. *monostriata*: Gedroyc, Pawlowski, 1937; *Erpobdella monostriata*: Gedroyc, Pawlowski, 1948.

Географическое распространение: Палеарктика. На территории Казахстана описан впервые (Рис. 9).

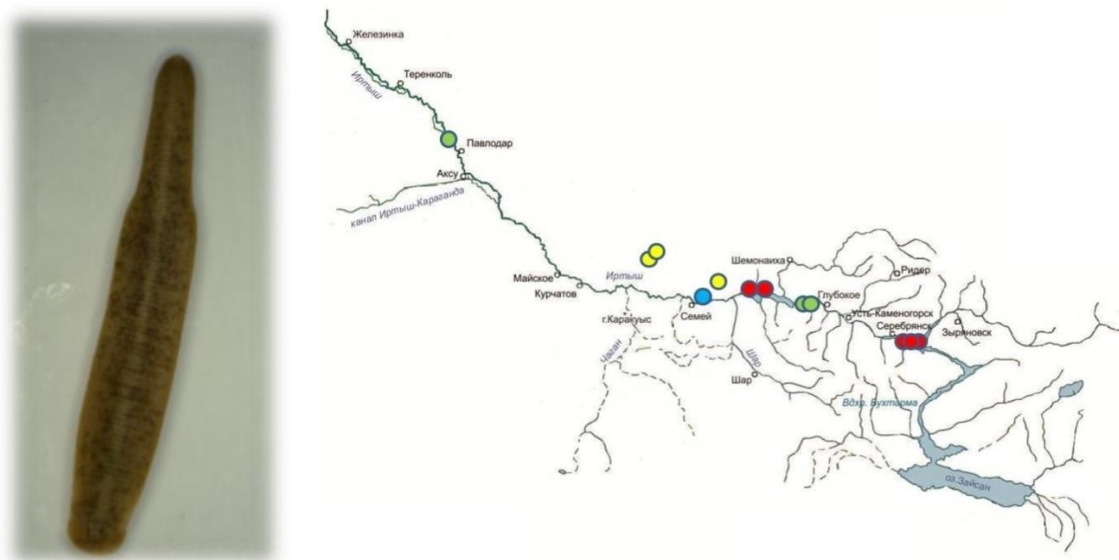


Рис.9 – Морфология и географическое распространение *E. vilnensis*

Морфологическое описание: водная пиявка среднего размера (Рис. 9), длина тела 6-22 мм, при ширине 1-4 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 5:1. Хоботок отсутствует. На переднем конце тела расположено четыре пары глаз. Передний край тела удлинённый, слегка сужающийся вперед. Хвостовая присоска без радиальных складок и продольных борозд. Расстояние между гонопорами составляет 3 кольца. На дорсальной поверхности имеется две темных парамедиальных полосы.

До недавнего времени этот вид считался морфотипом *E. monostriata*. Однако, после более детального морфологического анализа, в определителе европейской фауны пиявок *E. vilnensis* получил таксономическую независимость.

Вид: *Erpobdella* sp.

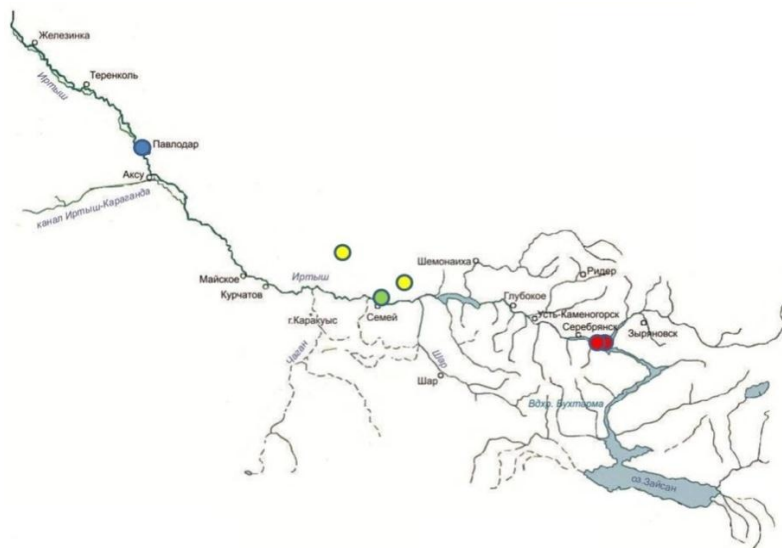


Рис. 10 – Морфология и географическое распространение *Erpobdella* sp.

Морфологические признаки: водная пиявка червеобразной формы, длина тела от 5 до 16 мм, при ширине от 1-2.5 мм. Соотношение длинны к ширине тела в среднем составляет 4.5:1. Хоботок отсутствует. На переднем конце тела расположено четыре пары глаз. Передний край тела удлинённый, слегка сужающийся вперед. Дорсальная поверхность тела дипегментированная. Хвостовая присоска без радиальных складок и продольных борозд.

Отсутствие характерной для эрпобделид пигментации на дорсальной поверхности и невозможность определения расстояния между гонопорами не дает возможность провести более точную видовую идентификацию.

ПОДОТРЯД: HIRUDINIFORMES Caballero, 1952

СЕМЕЙСТВО: HAEMOPIDAE Richardson, 1969

Род: *Haemopis* Savigny, 1822

Вид: *Haemopis sanguisuga* L., 1758

Синонимия: *Hirudo sanguisuga*: L., 1758; *Hirudo gulo*: Braun, 1805; *Hirudo vorax*: Johnson, 1816; *Hirudo sanguisorba*: De Blainville, 1818; *Hirudo carnivora*: Brossat, 1822; *Hirudo lacertina*: Savigny, 1822; *Hirudo luctuosa*: Savigny, 1822; *Hippobdella nigra*: Savigny, 1822; *Aulastoma nigrescens*: Moquin-Tandon, 1826; *Pseudobdella nigra*: De Blainville, 1827; *Hippobdella sanguisorba*: De Blainville, 1827;

*Typhlobdella kovatsi*: Diesing, 1850; *Aulastoma nigra*: Johnston, 1865; *Aulastoma schmidli*: Örley, 1886; *Aulastoma wedli*: Örley, 1886; *Haemopsis sanguisuga* var. *Jakubskii*: Gedroyc, 1916; *Haemopsis sanguisuga* var. *Puslowskii*: Gedroyc, 1916; *Haemopsis sanguisuga* var. *Konopackii*: Gedroyc, 1916; *Haemopsis sanguisuga* m. *striata*: Liskiewicz, 1925.

Географическое распространение: Палеарктика. На территории Казахстана обнаружен впервые (Рис. 11). В бассейне р. Иртыш встречается исключительно в озерах старичного типа (Рис.11).

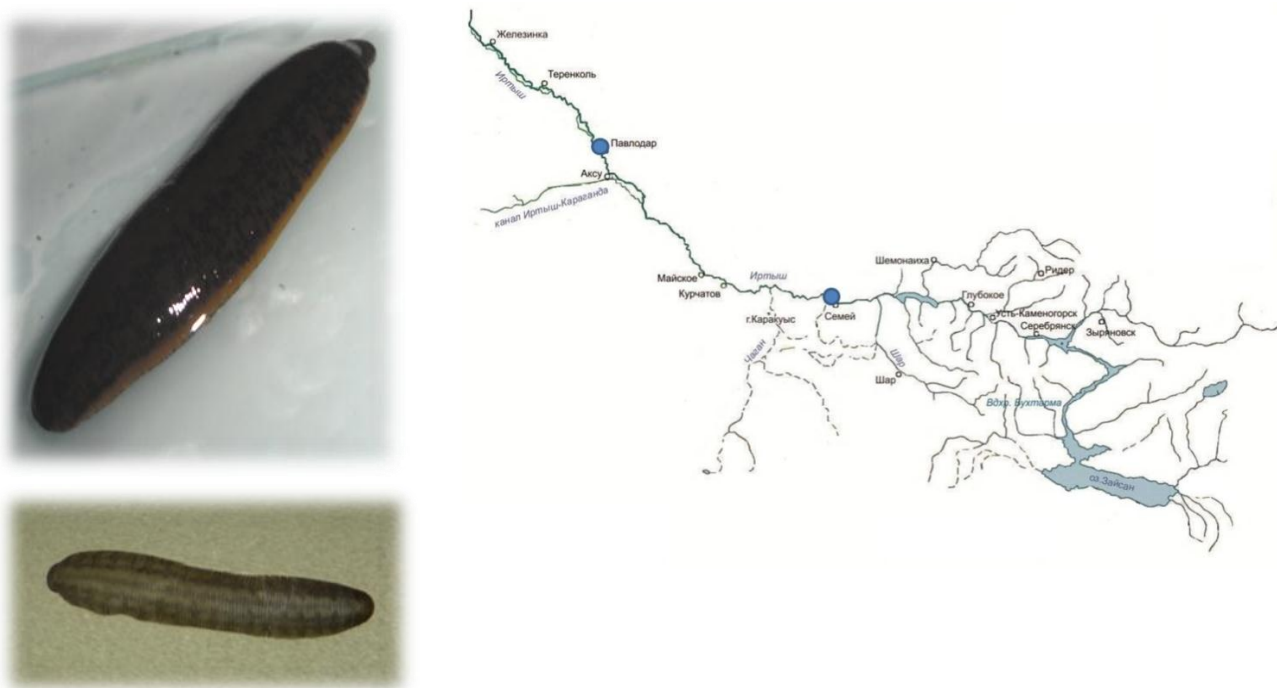


Рис.11 – Морфология и географическое распространение *H. sanguisuga*

Морфологическое описание: крупная околотовидная пиявка червеообразной формы, длина тела от 12 до 37 мм, при ширине от 3-8 мм, соотношение длинны к ширине тела в среднем составляет 6:1. Хобота нет, в ротовой полости имеются челюсти. Глаза у всех рассматриваемых экземпляров повержены редукции. Поверхность тела плотная и гладкая, сосочки отсутствуют. Задняя присоска имеет радиальную складку и достаточно хорошо развита. Анальное отверстие большое, зубчики на челюстях расположены в два ряда. Прижизненная окраска темно-бурая, с желтыми полосами по краям тела. На дорсальной поверхности располагается медиальная и парамедиальные полосы, а также поперечные

пигментные полосы, образующие характерный для этого вида рисунок. Вентральная область светлее дорсальной. Расстояние между гонопорами 4 кольца.

СЕМЕЙСТВО: PRAOBDELLIDAE Blanchard, 1894

РОД: *Limnatis* Moquin-Tandon, 1826

Вид: *Limnatis* sp.

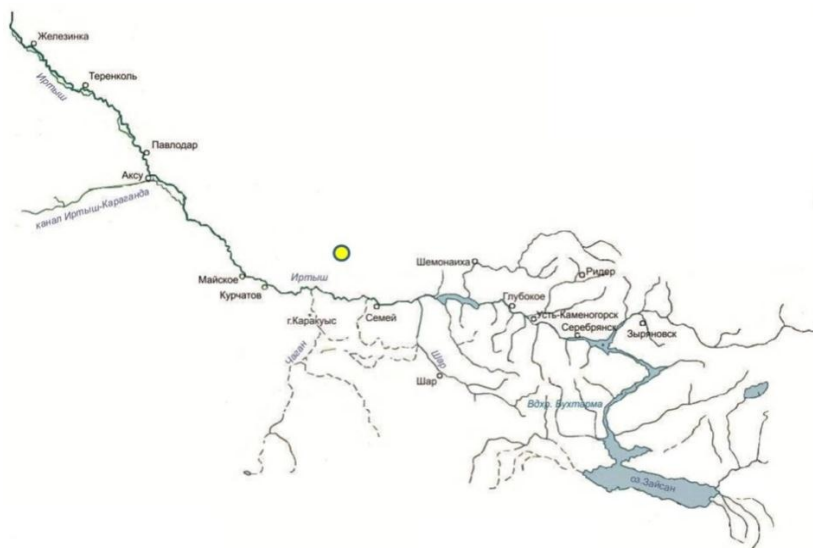


Рис. 12 – Морфология и географическое распространение *Limnatis* sp.

Морфологическое описание: пиявка среднего размера, длина тела от 16 мм, при ширине от 3 мм, соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 5.3:1. Глаз пять пар, расположены в передней части тела в виде дуги. Дорсальная поверхность одноцветная. Достаточно мягкая консистенция тела, что говорит о том, что это водная пиявка. Задняя присоска небольшая, продольной борозды и радиальных складок не имеет. Половые отверстия не обозначены, возможно, пиявка находится в ювенольной стадии.

ОТРЯД: RHYNCHOBDELLIDA Blanchard, 1894

СЕМЕЙСТВО: GLOSSIPHONIIDAE Vaillant, 1890

РОД: *Theromyzon* Philippi, 1867

Вид: *Theromyzon tessulatum* (Müller, 1774)

Синонимия: *Hirudo tessulata* Müller, 1774; *Nepheles tessulatum* Savigny, 1822; *Erpodella vulgaris* var. *tessulatum*, Blainville, 1828; *Clepsine tessulata*, Müller, 1844; *Glossiphonia tessulatum*, Moquin-Tandon, 1846; *Glossiphonia vitrina* Johnston, 1865; *Theromyzon tessulatum*, Philippi, 1867; *Hemicleopsis tessulatum*, Vejdovsky; 1884; *Protocleopsis tessulatum*, Livanow, 1902.

Географическое распространение: Палеарктика. На территории Казахстана обнаружен впервые (Рис. 13).

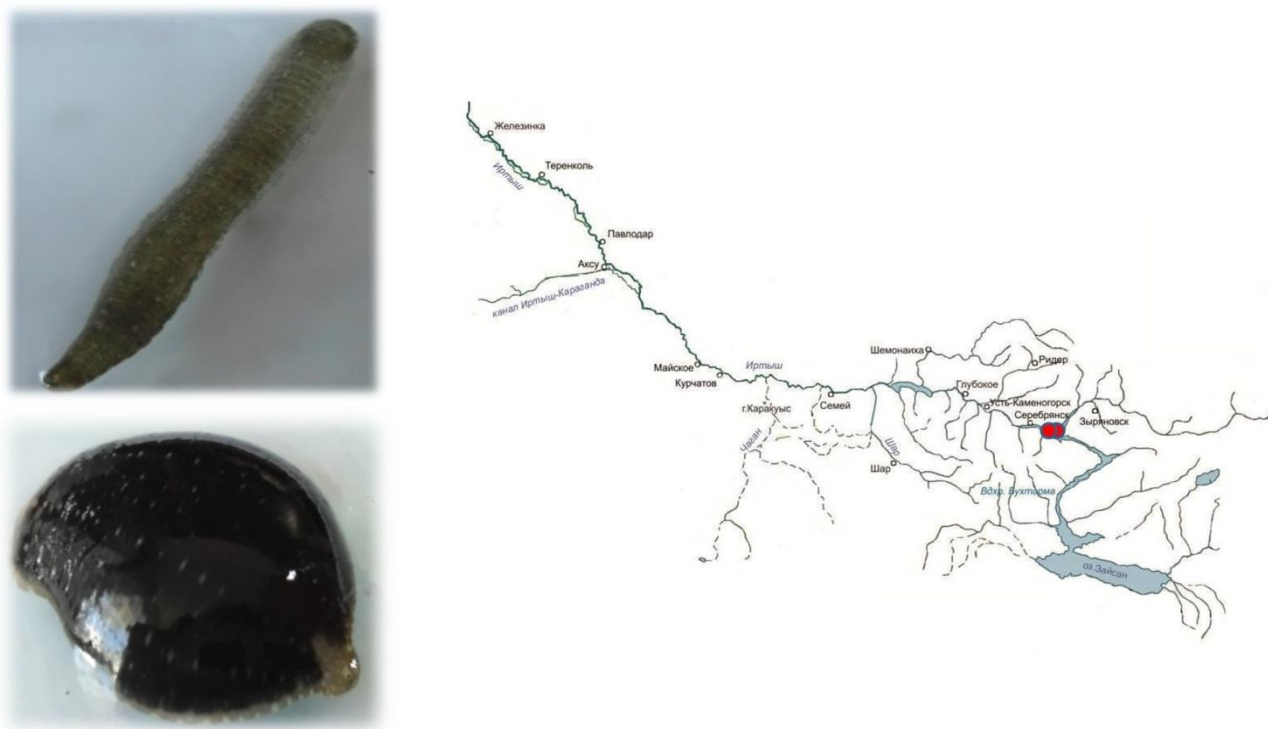


Рис.13 – Морфология и географическое распространение *Theromyzon tessulatum*

Морфологическое описание: пиявка среднего размера (Рис. 13), длина тела 3-15 мм, при ширине 1-7 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 2.5:1. Полный сомит состоит трех равных колец. Прижизненная окраска тела различных экземпляров от серо-зеленого до темно-бурого цвета. Следует отметить, что форма и окраска тела обуславливаются степенью сытости пиявки. На дорсальной поверхности имеются поперечно расположенные мелкие светлые пятна. Тело очень мягкое, дорсальная поверхность практически гладкая со слабо выраженными сосочками. На переднем конце тела расположены четыре

пары глаз. Задняя присоска хорошо развита и довольно крупная. Желудок имеет семь пар отростков. Половые отверстия разделены четырьмя кольцами.

Род: *Glossiphonia* Johnson, 1816

Следует отметить, что таксономическое описание представителей данного рода чрезвычайно запутано. Согласно сведениям Е.И. Лукина [33], на территории СССР было выявлено обитание только двух видов подрода *Glossiphonia* (выделенного в настоящее время в отдельный род) – *G. complanata*, *G. concolor*. При этом, под описание только одного типового вида *G. complanata* подходят большинство форм пиявок.

Вид: *Glossiphonia* sp. 1

На территории Казахстана обнаружен впервые (Рис. 14).

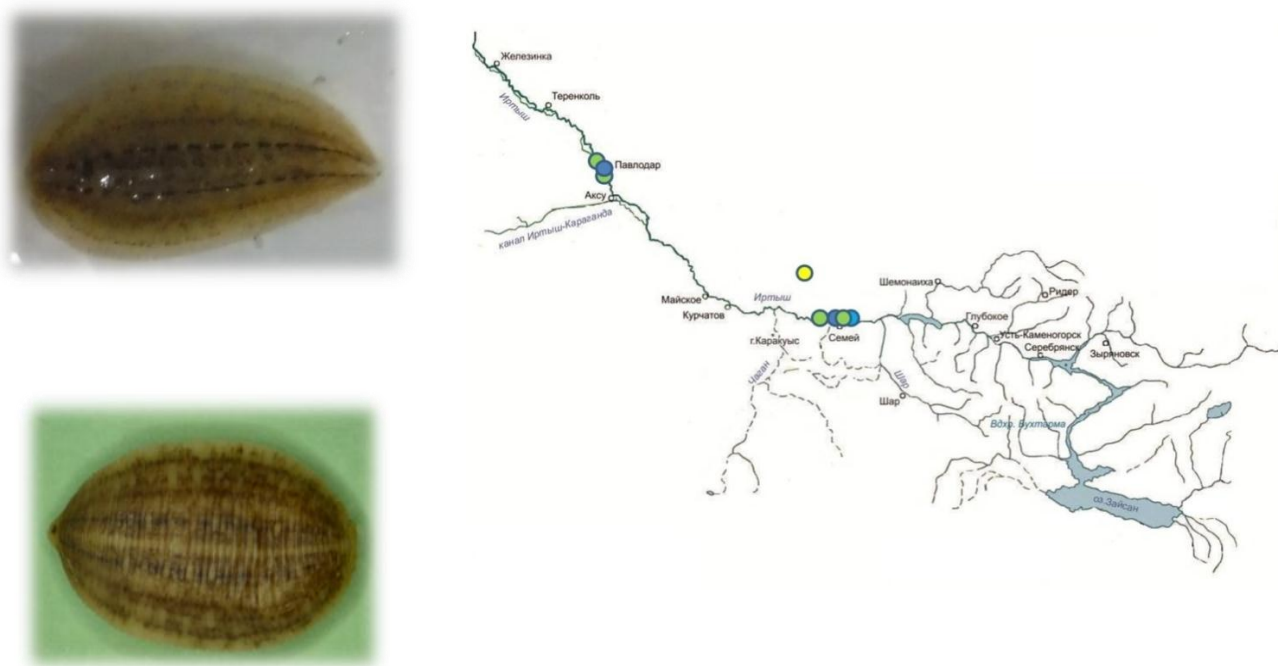


Рис. 14 – Морфология и географическое распространение *Glossiphonia* sp. 1

Морфологическое описание: плоская пиявка среднего размера (Рис. 14), длина тела различных особей составляет 2-10 мм, при ширине 1-5 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 2.3:1. Имеется хобот.

На переднем конце тела располагается три пары глаз, при этом расстояние между фронтальной и каудальным парами одинаковое. Края тела ровные. Поверхность тела гладкая, видимых сосочков нет. Дорсальная поверхность имеет темный узор, с характерными медиальными пунктирными линиями.

Вид: *Glossiphonia* sp. 2

На территории Казахстана обнаружен впервые (Рис. 15).

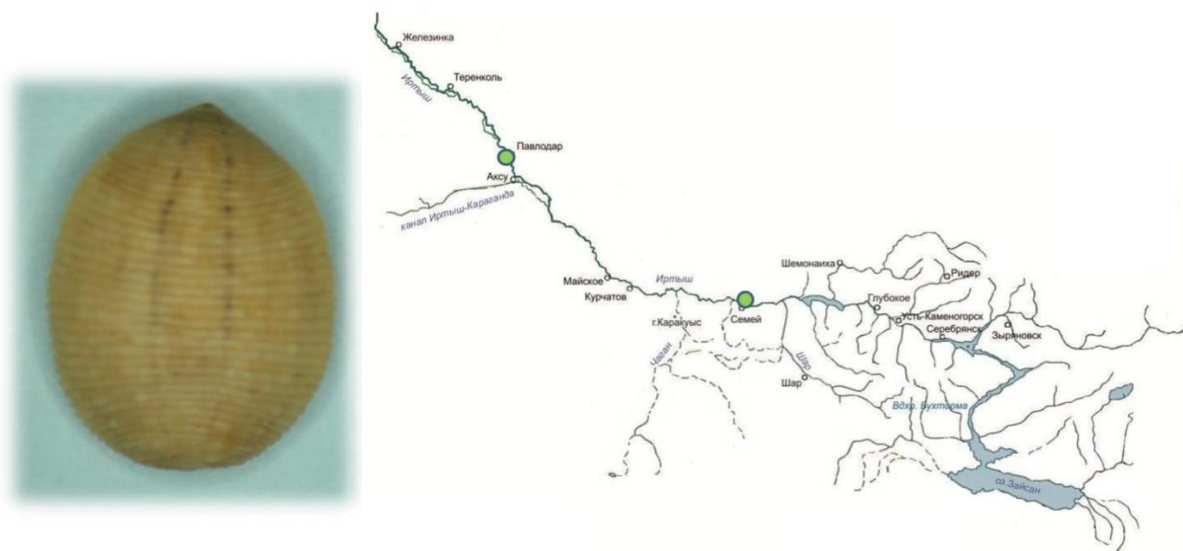


Рис.15 – Морфология и географическое распространение *Glossiphonia* sp. 2

Морфологическое описание: плоская пиявка среднего размера (Рис. 15), длина тела в среднем составляет 7 мм, при ширине 4 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 1.7:1. Имеется хобот. На переднем конце тела располагается три пары глаз, при этом расстояние между фронтальной, второй и третьей парами одинаковое. На дорсальной поверхности имеется несколько рядов парамедиальных сосочков. Края тела зазубрены.

Вид: *Glossiphonia* sp. 3

На территории Казахстана обнаружен впервые (Рис. 16).

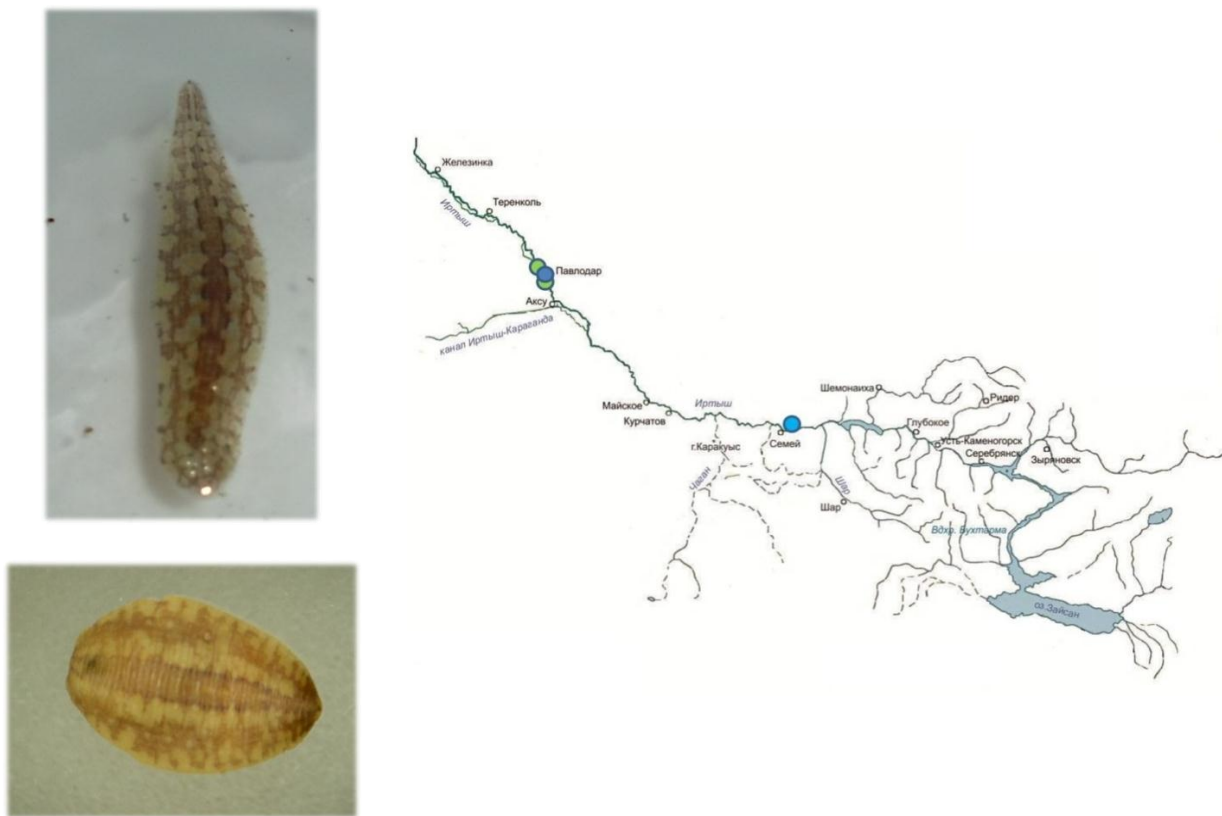


Рис. 16 – Морфология и географическое распространение *Glossiphonia* sp. 3

Морфологическое описание: плоская пиявка среднего размера (Рис. 16), длина тела различных особей составляет 6-10 мм, при ширине 3-4 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 2.2:1. Имеется хобот. На переднем конце тела располагается три пары глаз, причем расстояние между фронтальной, второй и третьей парами одинаковое. На дорсальной поверхности имеется несколько рядов парамедиальных сосочков. Рисунок на дорсальной поверхности имеет широкую темную медиальную полосу, а также две несимметричных полосы по краям спинной поверхности. Вентральная поверхность светлее дорсальной. Края тела ровные.

Род: *Helobdella* Blanchard, 1876

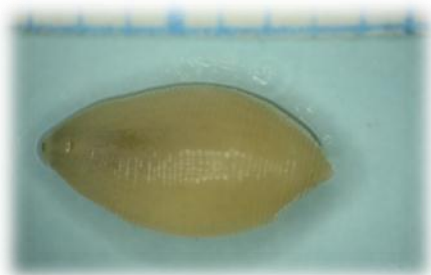
Вид: *Helobdella stagnalis* (Linnaeus, 1758)

Синонимия: *Hirudo stagnalis*: Linnaeus, 1758; *Hirudo pulligera*: Daudin, 1800; *Glossiphonia perata*: Johnson, 1816; *Erpobdella bioculata*: Lamarck, 1818; *Clepsine bioculata*: Savigny, 1822; *Glossobdella pulligera*: Blainville, 1827; *Clepsine stagnalis*:

Fillipi, 1837; *Glossiphonia bioculata*: Maquin-Tandon, 1846; *Glossiphonia circulans*: Maquin-Tandon, 1846; *Clepsine modesta*: Verrill, 1972; *Glossiphonia modesta*: Vaillant, 1890; *Glossiphonia stagnalis*: Blanchard, 1894; *Glossiphonia (Helobdella) stagnalis*: Moore, 1922; *Bakedebdella gibbosa*: Sciacchitano, 1939.

Географическое распространение: космополит. На территории Казахстана обнаружен впервые (Рис. 17).

А



Б

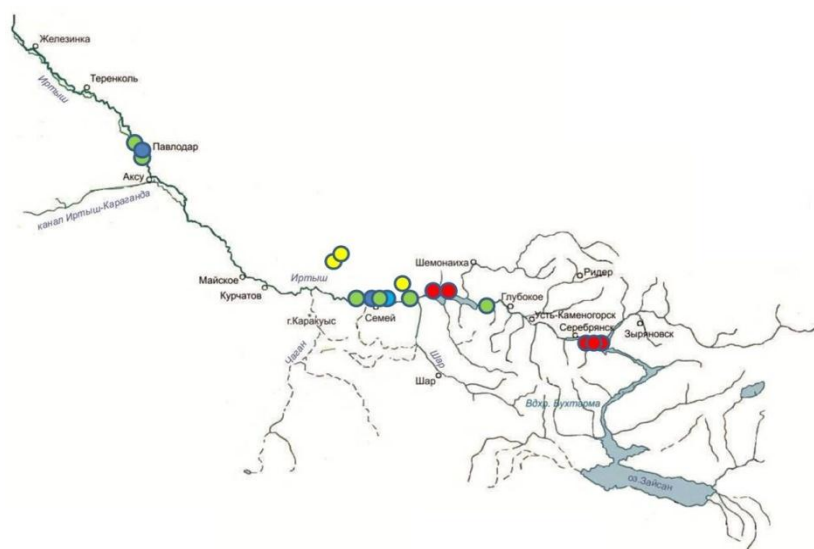
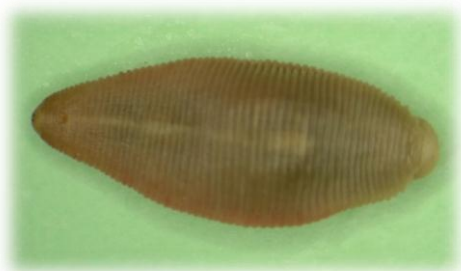


Рис. 17 – Морфология и географическое распространение представителей рода *Helobdella*

Морфологическое описание: некрупная пиявка листообразной формы (Рис. 17), длина тела различных особей составляет 2-11 мм, при ширине 1-4 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 2.5:1. Полный сомит состоит из трех равных колец. Тело, более-менее, плотное, его поверхность гладкая, без сосочков. Цвет пиявок варьирует от беловатого до светло-коричневого. Передний конец тела не отделен от остальной части тела, на нем расположена одна пара глаз. На переднем конце дорсальной поверхности имеется роговая пластинка. В целом, в рассматриваемом районе встречаются два типа описываемых пиявок.

Морфотип А: имеет более мелкие размеры, прижизненный цвет пиявок от светло-зеленого до беловатого. Обнаруживался во всех типах водоемов и водотоков на территории рассматриваемого бассейна. Поверхность тела плотная, без сосочков. Края тела не имеют ярко выраженных зазубрин.

Морфотип Б: пиявки этого типа, обитают исключительно в стоячих водоемах: озерах и водохранилищах. Имеют более крупные размеры и хорошо развитую заднюю присоску. Цвет тела светло-коричневый. Консистенция тела плотная, с ярко выраженными зазубринами по краям тела.

В монографии Лукина такие формы отнесены к одному виду. В тоже время, различия в размерах и особенности окраски наводят на мысль о том, что в бассейне р. Иртыш обитают два различных вида, относящихся к роду *Helobdella*. Однако существует вероятность, что описанные выше расхождения являются результатом особенностей среды обитания или же возрастными изменениями, происходящими у представителей одного вида.

Род: *Hemiclepsis* Vejdowsky, 1884

Вид: *Hemiclepsis marginata* (Müller, 1774)

Синонимия: *Hirudo marginata*: Müller, 1774; *Hirudo variegates*: Braun, 1805; *Hirudo cephalota* Carena, 1820; *Hirudo oscillatoria*: Saint-Amas, 1825; *Piscicola tesselata*: Maquin-Tandon, 1826; *Piscicola linearis*: Kollar, 1842; *Glossobdella cephalota*: Blainville, 1827; *Haemoharis marginata*: Filippi, 1837; *Glossiphonia marginata*: Maquin-Tandon, 1846; *Hirido flava*: Dalyell, 1953; *Glossiphonia flava*: Johnston, 1865; *Glossiphonia marginata*: Blanchard, 1892.

Географическое распространение: Палеарктика. Согласно литературным источникам на территории Казахстана данный вид был ранее обнаружен только в Бухтарминском вдхр. Проведенные нами исследования показали, что *H. marginata* имеет более широкий ареал и обитает в основном русле р. Иртыш и в Шульбинском вдхр. (Рис.18).

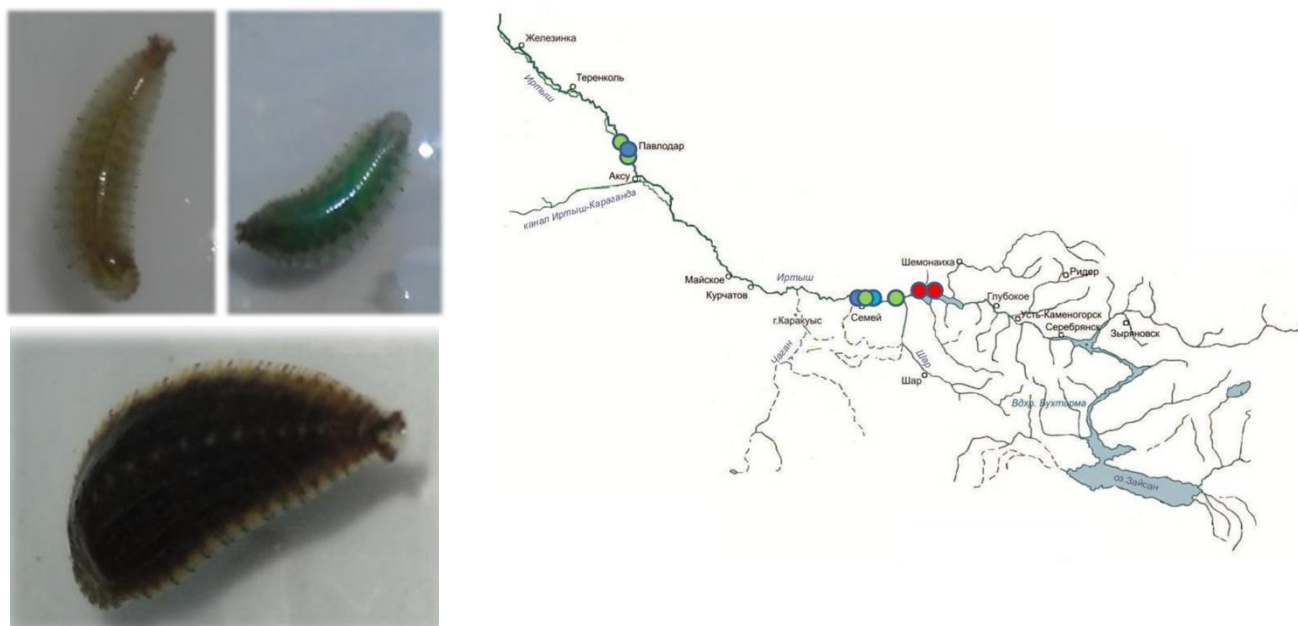


Рис.18 – Морфология и географическое распространение *H. marginata*

Морфологическое описание: плоская пиявка среднего размера (Рис. 18), длина тела различных особей составляет 4-12 мм, при ширине 2-6 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 2.4:1. Тело более или менее плотное, при этом передний конец расширен и явственно отделен от остальной части тела. На переднем конце тела располагается две пары глаз, причем, первая пара меньше второй. Задняя присоска достаточно хорошо развита. Прижизненная окраска весьма разнообразная от светло-коричневой и светло-зеленой до темно-бурой, что возможно обуславливается особенностями питания и спецификой мест обитания. Края тела прозрачные с характерным рисунком. Дорсальная поверхность практически гладкая покрыта одним медиальным и тремя парамедиальными рядами маленьких едва заметных сосочков.

Род: *Alboglossiphonia* Lukin, 1976

Вид: *Alboglossiphonia* sp.

На территории Казахстана вид обнаружен впервые (Рис. 19).

Морфологическое описание: мелкая пиявка листообразной формы (Рис. 19), длина тела различных особей составляет 3-6 мм, при ширине 1-4 мм. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 2:1. Прижизненная

окраска тела желтовато-белая с черными вкраплениями на дорсальной поверхности, особенно выраженными около задней присоски. Фиксированные образцы приобретают белый практически полупрозрачный цвет. На переднем конце тела расположены три пары глаз. Расположение глаз напоминает своеобразный «треугольник». При этом глаза фронтальной пары расположены очень близко к друг другу, расстояние же между следующими парами глаз больше. Тело более или менее плотное. Передний конец тела не отделен от остальной части тела. Дорсальная поверхность гладкая, без заметных сосочков. Края тела ровные. Задняя присоска небольшая и округлая.

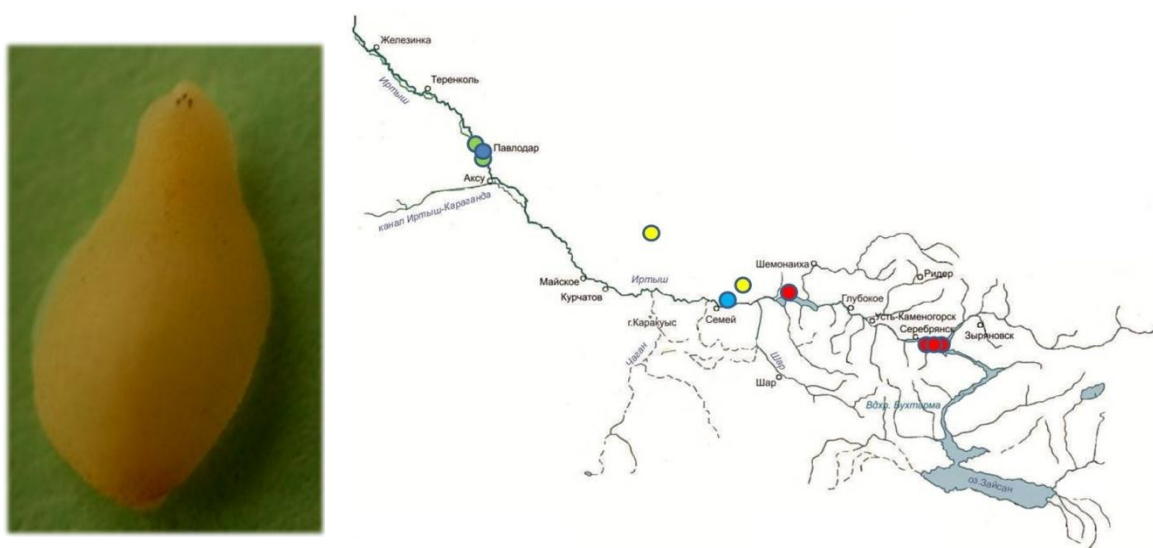


Рис. 19 – Морфология и географическое распространение *Alboglossiphonia* sp.

Согласно определителю Лукина *Alboglossiphonia* был подродом рода *Glossiphonia*. Позже в определителе европейской фауны пиявок *Alboglossiphonia* был отнесен к отдельному роду. Видовое разграничение для представителей данного рода имеет достаточно размытые границы и обуславливается в основном характером распределения пигментных клеток. В связи с чем, провести более детальный анализ на основании существующих ключей не представляется возможным.

СЕМЕЙСТВО: PISCICOLIDAE Johnston, 1865 (synonym Icthyobdellidae

Leuckart, 1863)

Род: *Piscicola*, DeBlainville, 1818

Вид: *Piscicola geometra* (Linnaeus, 1758)

Синонимия: *Hirudo geometra*: Linnaeus, 1758; *Hirud ogalearia*: Braun, 1805; *Ichthyobdella geometra*: Blainville, 1828; *Ichthyobdella percae*: Johnston, 1836; *Piscicola piscium*: Apathy, 1888; *Piscicola lippa*: Oesson, 1893; *Piscicola perspiens*: Oesson, 1893.

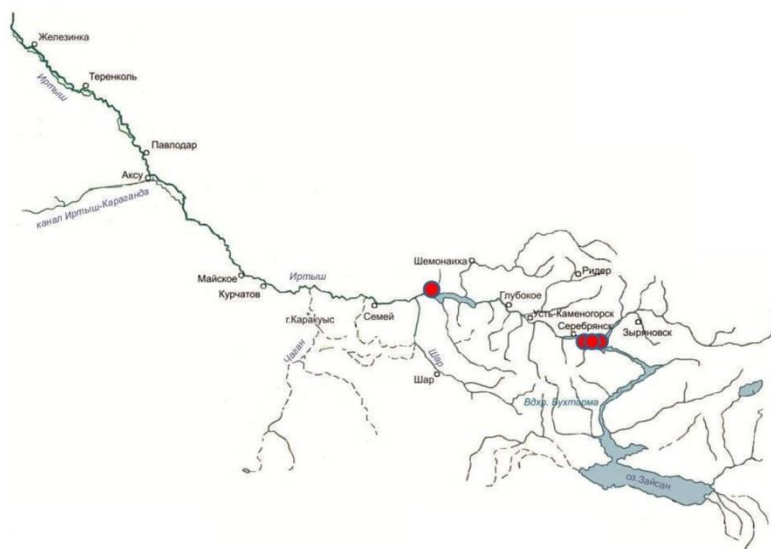


Рис.20 – Морфология и географическое распространение *P. geometra*

Географическое распространение: Голарктика. Согласно литературным источникам на территории Казахстана данный вид был ранее обнаружен только в Бухтарминском вдхр. Проведенные нами исследования показали, что *P. geometra* также обитает в Шульбинском вдхр. (Рис. 20).

Морфологическое описание: пиявка средних размеров, длина тела различных особей составляет 5-18 мм, при ширине 1.5-2 мм, вытянутой цилиндрической формы с четко выраженными передней и задней присосками. Соотношение длины к ширине тела в среднем составляет 9:1. Передний конец тела резко отделен в виде дискообразной присоски. Задняя часть тела расширена умерено, не вздута. На передней присоске расположены две пары глаз. На задней присоске имеются глазоподобные точки. Диаметр задней присоски превышает наибольшую ширину тела в 1.3-1.6 раза. На вентральной поверхности имеется

хорошо выраженная копуляционная зона. Прижизненная окраска тела имеет от зеленоватого до светло-коричневого цвета. На дорсальной поверхности всех образцов отнесенных к данному виду имеется характерный рисунок – сегментально расположенные светлые крестообразные пятна.

Вид: *Piscicola* sp. 1.

Географическое распространение: единственная особь обнаружена в прибрежной части Шульбинского вдхр.

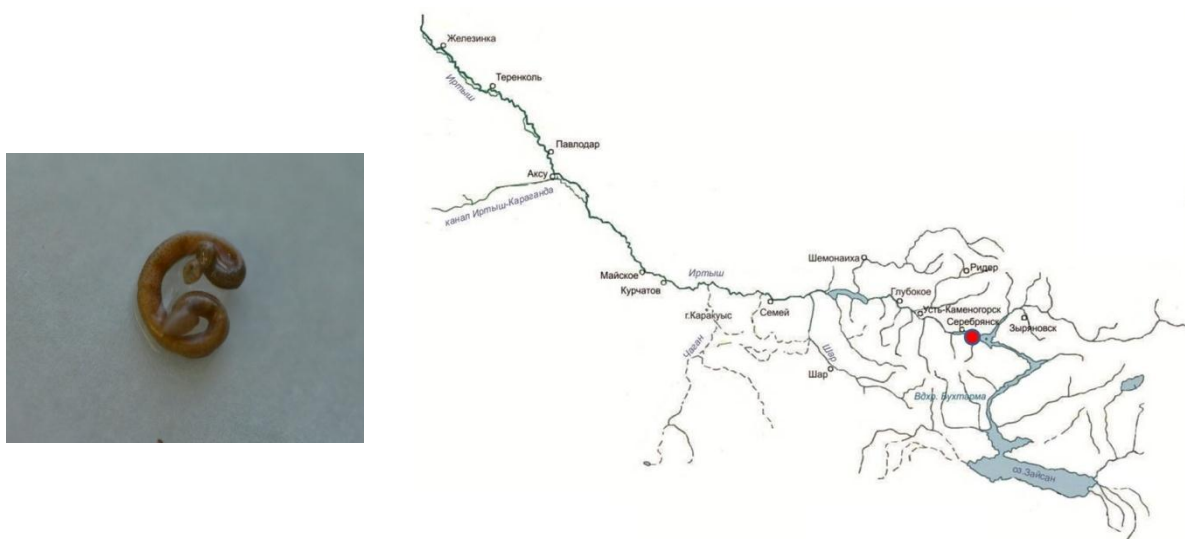


Рис.21 – Морфология и географическое распространение *Piscicola* sp. 1

Морфологические характеристики: пиявка средних размеров, вытянутой нитевидной формы. Длина тела составляет 17 мм при ширине 2 мм. Передний конец тела резко отделен в виде дискообразной присоски. Присоски относительно маленькие, при этом задняя присоска диаметром 1.5 мм немного больше передней присоски. На переднем конце тела имеется две пары глаз, на задней присоске присутствуют глазоподобные пятна. Прижизненная окраска светло-коричневая, с темными пигментными клетками, равномерно распределенными по всей поверхности тела (Рис. 21). Копуляционная зона не выражена, что возможно обуславливается ювенальным возрастом.

Вид: *Piscicola* sp. 2

Географическое распространение: обитание приурочено к северной части Бухтарминского вдхр. На территории Казахстана вид обнаружен впервые.

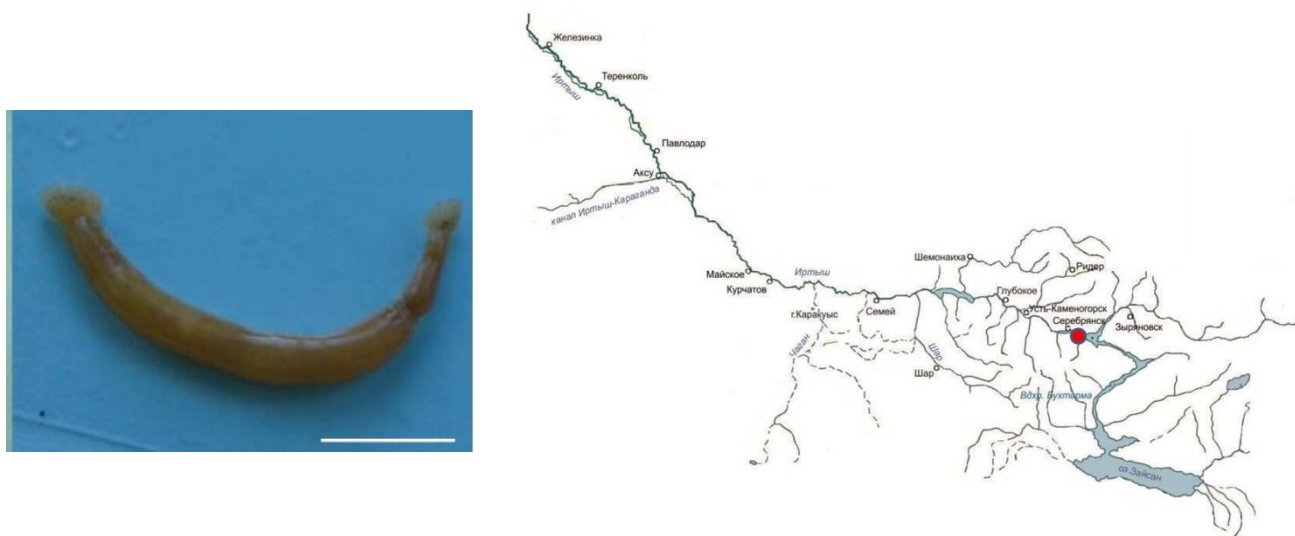


Рис.22 – Морфология и географическое распространение *Piscicola* sp. 2

Морфологические характеристики: пиявка средних размеров, длина тела фиксированных образцов от 12-16 мм, при ширине 1.5-2.5 мм, вытянутой цилиндрической формы с четко выраженными передней и задней присосками (Рис. 22). Передний конец тела резко отделен в виде дискообразной присоски. На передней присоске располагается четыре глаза. На задней присоске присутствуют глазоподобные пятна. Задняя присоска не значительно больше ширины тела. Цвет окраски светло коричневый. Совокупительная область достаточно крупная, что позволяет отнести данный вид к роду *Piscicola*. Для более точной видовой идентификации нет достаточных сведений.

Таким образом, на основании морфологических сведений видовой состав фауны Hirudinea в бассейне р. Иртыш включает в себя 16 видов, принадлежащих 5 семействам и 9 родам. Впервые на территории Казахстана обнаружено 13 видов пиявок. Тем не менее, идентификация некоторых видов требует дополнительной проверки в силу неоднозначности морфологических критериев у некоторых особей. Данное обстоятельство дает основание предполагать, что использование традиционных морфологических методов для оценки биологического разнообразия в некоторых случаях недостаточно, что обуславливает

необходимость молекулярно-генетического подхода для определения видовой принадлежности в комплексе с классическими морфологическими методами исследования.

## 4.2. Филогенетическое разнообразие бесхоботных пиявок

Исследования филогенетического разнообразия представителей отряда Rhynchobdellida (Бесхоботные пиявки) были разделены на две части. Молекулярная делимитация видов выполнена отдельно для представителей двух подотрядов Erpobdelliformes и Hurudiniformes.

### 4.2.1. Молекулярно-генетический анализ *Erpobdelliformes*

Для определения филогенетического разнообразия представителей подотряда Erpobdelliformes, обитающих в бассейне р. Иртыш, было расшифровано 50 нуклеотидных последовательностей представителей семейства Erpobdellidae, отнесенных к 4 морфологическим формам: 23 последовательности *E. villnensis*, 9 – *E. monostriata*, 12 – *E. octoculata* и 6 – *Erpobdella* sp. (Приложение 1).

Статистический анализ полученных данных показал, что последовательности содержат 544 консервативных, 163 варибельных и 137 филогенетически информативных сайтов. Общий набор последовательностей в выравнивании содержит 26 уникальные единичные замены (singleton sites). Нуклеотидные последовательности исследуемых пиявок имеют длину 655-708 п.н. и состоят на 53.5% из пиримидинов, что свидетельствует об их принадлежности к L-цепи («легкая» цепь), а ген соответственно расположен на H-цепи («тяжелая» цепь) митохондриальной ДНК, как и у большинства исследованных организмов [19].

Для подбора группы сравнения и вычисления статистической значимости совпадений был использован поиск базового локального сходства (BLAST, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). В результате отобрана группа 44 генетически наиболее близких последовательностей (генетическое сходство с исследуемыми

образцами не менее 85%). В состав группы сравнения вошли представители семейства Eprobdeidae (Приложение 1).

Для проведения биоинформационного анализа на основе полученных молекулярных данных построена матрица нуклеотидных последовательностей, выровненных относительно друг друга, состоящая из 94 последовательностей. Полученная матрица молекулярных данных была использована для филогенетических реконструкций используемые в качестве группы сравнения (Рис. 23).

Как показал анализ внутривидовой генетической вариабельности, девять филогенетических линий, соответствующих таксонам *E. lineata*, *E. mexicana*, *E. monostriata*, *E. ochoterinai*, *E. triannulata*, *E. octoculata*, *E. japonica*, *E. vilnensis* и *E. obscura* имеют уровень генетического полиморфизма, превышающий 2% порог внутривидовых значений (Табл. 5), что согласно теории ДНК-штрихкодирования [115, 116] может свидетельствовать о генетической неоднородности этих групп. Поэтому для получения более точных оценок межвидовых генетических дистанций представители перечисленных видов были подразделены на подгруппы в соответствии с расположением на филогенетическом древе (Рис. 23).

В пределах морфологического вида *E. octoculata* выявлено 4 кластера последовательностей (Рис. 23) со значениями генетических дистанций между ними в пределах 6.5-10.1 % нуклеотидных замен (Приложение 2). Генетическая вариабельность в пределах группы казахстанских октокулят составила  $d=0.00789\pm 0.0024$ , что не превышает пороговое значение, принятое в ДНК-штрихкодировании.

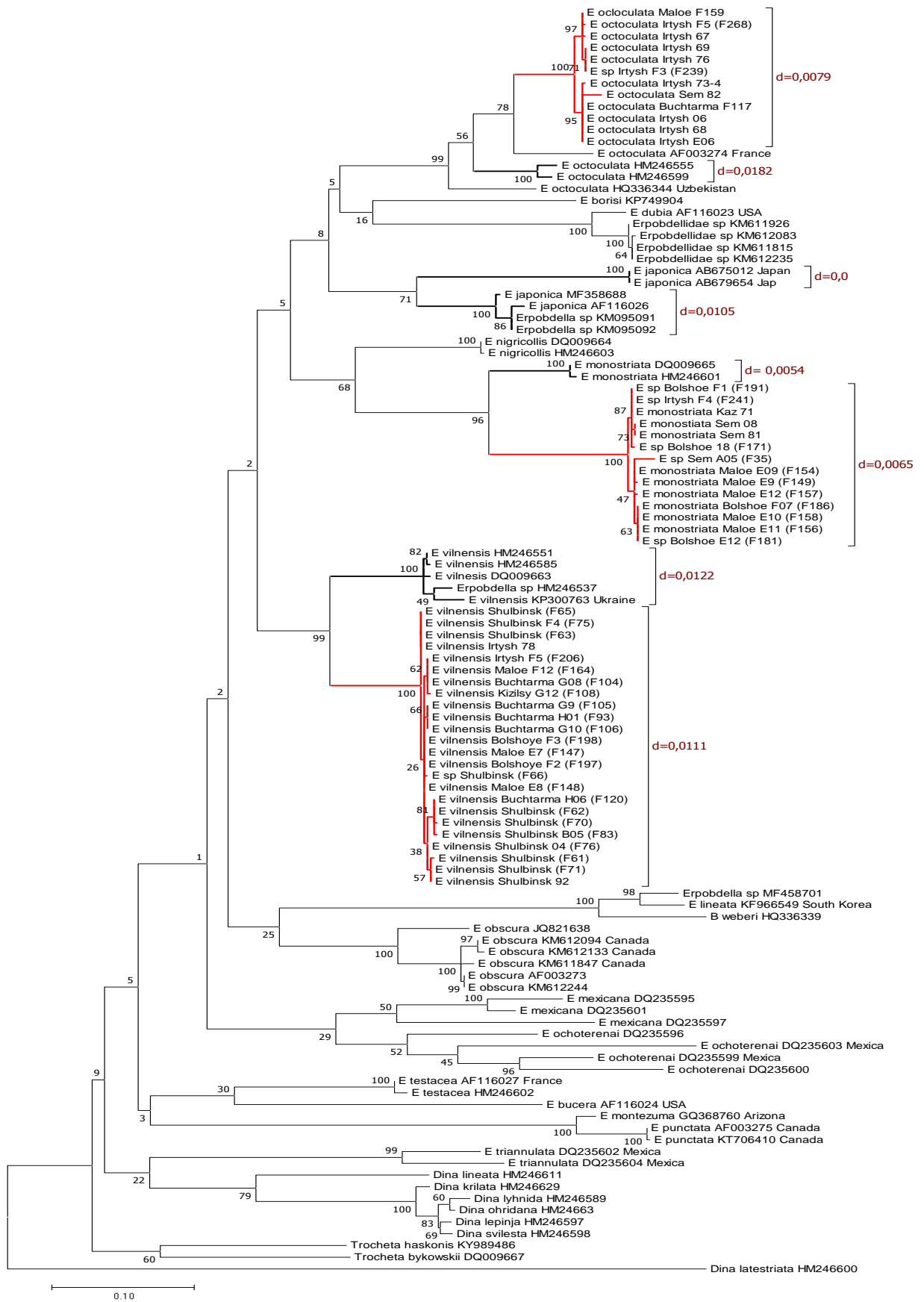


Рис. 23. COI-филогения Ерпобделлиформес.

морфологически соответствующих диагнозу вида *E. monostriata*, кластеризуются отдельно от европейских представителей, образуя филогенетически однородную группу ( $d=0.0065\pm 0.0031$ ) (Рис. 23) со значительным генетическим расстоянием от европейских сородичей (10.0%) (Приложение 2). Таким образом, выявлен еще один криптический комплекс, состоящий из двух генетически отдаленных видов.

Нуклеотидные последовательности *E. vilnensis* из Восточного Казахстана с высокой вероятностью (100%) кластеризуются вместе независимо от географического положения водоёма их обитания (Рис. 23). Однако в пределах вида *E. vilnensis* образуется две генетически однородные линии ( $d=0.0122$  и  $d=0.0111$ ) с генетическим расстоянием между ними равным  $7.9\pm 1.2\%$  (Рис. 23, Табл. 5 и Приложение 2), что свидетельствует в пользу независимого таксономического статуса казахстанских образцов.

Таблица 5.

Оценки уровней генетической вариабельности ( $d$ ) в пределах видов, выраженные в количестве замен нуклеотидных оснований на сайт. Жирным выделены показатели, превышающие пороговое значение. Стандартные ошибки (S.E.) выделены серым.

Таксон	$d$	S.E.
<i>E. nigricollis</i>	0.00181	0.0017
<i>E. punctata</i>	0.00181	0.0018
<i>E. testacea</i>	0.00727	0.0036
<i>E. dubia</i>	0.01447	0.0034
<i>E. vilnensis</i>	0.02528	0.0037
<i>E. monostriata</i>	0.02662	0.0038
<i>E. obscura</i>	0.02892	0.0046
<i>E. octoculata</i>	0.03166	0.0042
<i>E. lineata</i>	0.03907	0.0084
<i>E. japonica</i>	<b>0.06068</b>	0.0079
<i>E. triannulata</i>	<b>0.06643</b>	0.0113
<i>E. mexicana</i>	<b>0.09301</b>	0.0110
<i>E. ochoterenai</i>	<b>0.10897</b>	0.0108

Образец *Erpobdella* sp. из GenBank (HM246537) неопределенного видового статуса можно с уверенностью отнести к виду *E. vilnensis* на основании показателей его филогенетического и генетического родства (Рис. 23).

Четыре из 7 таксономических групп эрпобделлид Неарктики, как оказалось, являются типичными криптическими видами. *E. mexicana* – это комплекс из трех генетически детерминируемых видов. Группа *E. ochoterinai* состоит из 4 видов, *E. triannulata* – из 2 видов, *E. obscura* – из 2 видов (Табл. 5 и Приложение 2).

Таким образом, молекулярный анализ позволил выявить 9 комплексов криптических видов в семействе Erpobdellidae, каждый из этих комплексов состоит из двух и более близкородственных видов, что предполагает необходимость проведения углубленной морфологической ревизии этих таксонов.

В ходе морфологического анализа не удалось достоверно идентифицировать 7 особей рода *Erpobdella* из Восточного Казахстана. Применение техники ДНК-штрихкодирования позволило устранить неясность и уточнить их видовой статус.

Несмотря на морфологическое сходство казахстанских представителей *E. vilnensis*, *E. monostriata* и *E. octoculata* с соответствующими видами, филогенетический анализ позволил выявить значительные генетические дистанции между ними. Концепция ДНК-штрихкодирования базируется на признании в качестве порогового значения внутривидового генетического полиморфизма показатель в 2-3% нуклеотидных замен в последовательностях COI, все значения, превышающие этот показатель, соответствуют группам независимого видового статуса [115, 116]. Исходя из этого положения, можно предположить, что три вида макрофоговых пиявок, обитающих в бассейне р. Иртыш и выявленных в данной работе, представляет собой новые виды, так как генетические дистанции, отделяющие эти группы от всех известных науке видов значительно выше пороговых (Приложение 2).

#### 4.2.2. Молекулярно-генетический анализ *Hirudiniformes*

В целях уточнения таксономической принадлежности и филогенетических взаимоотношений казахстанских представителей *Hirudiniformes* были

расшифрованы нуклеотидные последовательности двух особей, морфологически отнесенных к *Haemopsis sanguisuga* (сем. Haemoridae) и одного неполовозрелого образца из оз. Большое (Восточный Казахстан), предварительно отнесённого к роду *Limnatis* (сем. Praobdellidae).

Статистический анализ полученных молекулярных данных показал, что последовательности содержат 381 консервативных, 328 переменных и 284 филогенетически информативных сайтов. Общий набор последовательностей в выравнивании содержит 44 уникальные единичные замены (singleton sites). Нуклеотидные последовательности исследуемых пиявок имеют длину 675-681 п.н. (за исключением украинского образца, у которого расшифровано 639 п.н.) и состоят на 54.8% из пиримидинов, что свидетельствует об их принадлежности к L-цепи («легкая» цепь), а ген соответственно расположен на H-цепи («тяжелая» цепь) митохондриальной ДНК, как и у большинства исследованных организмов [31]. Следует также отметить, что в исследуемом наборе выявлено 4 гаплотипа (уникальные последовательности). Пиявки из бассейна р. Иртыш и р. Днепр имеют по одному уникальному гаплотипу, тогда как в бассейне р. Кударейка обнаружено 2 гаплотипа.

Для проведения биоинформационного анализа построена матрица нуклеотидных последовательностей, выровненных относительно друг друга, состоящая из 55 последовательностей, в состав которых вошли 49 генетически наиболее близких последовательностей отобранных с помощью программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). В состав группы сравнения вошли представители пяти семейств отряда Arhyncobdellida: Haemoridae, Haemodipsidae, Hirudinidae, Orobdellidae и Praobdellidae (Приложение 1). На основе полученных нуклеотидных последовательностей было выведено максимально правдоподобное древо (Рис. 24).

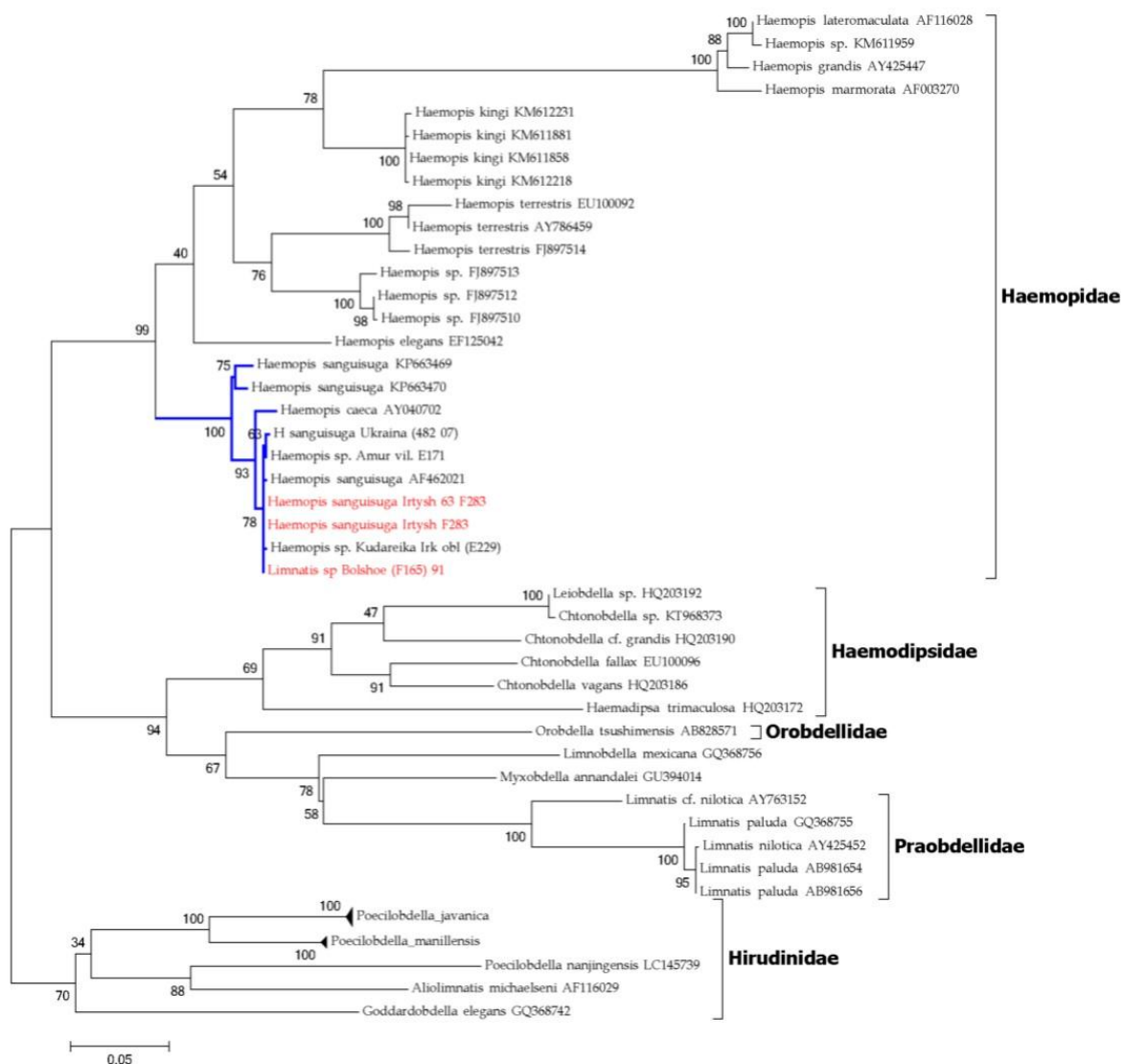


Рис. 24. Молекулярн СОI-филогения челюстных пиявок.

Анализ филогенетических связей исследуемого набора СОI-последовательностей выявил, что кластеризация таксонов на уровне семейств в целом согласуется с современной классификацией. Исключение составляют 2 последовательности представителей сем. Hirudinidae, соответствующие видам *Myxobdella annandalei* и *Limnobdella mexicana* (Рис. 24). Согласно полученной филограмме (= дендрограмме или схеме филогенетических отношений) все шесть целевых образцов, включая *Limnatis* sp., кластеризуются вместе в пределах сем. Haemoridae (Рис. 24).

На рисунке видно, что в пределах этого семейства имеется шесть филогенетических линий, которые имеют максимальные статистические

поддержки (100%), пять из них таксономически однородны и соответствуют видам рода *Haemopis*: *H. sanguisuga*, *H. kingi*, *H. terrestris*, *H. elegans* и группа неидентифицированных образцов *Haemopis* sp. Шестая группа, как оказалось, состоит из представителей трех видов *H. lateromaculata*, *H. grandis* и *H. marmorata*, нуклеотидные последовательности которых формируют гомогенную филогенетическую ветвь, соответствующую одному единственному виду (условно назовём эту группу ‘*H. marmorata*’ по названию более старого таксона, входящего в неё). Не имея возможности провести морфологическую ревизию биологического материала, достоверно определить видовой статус образцов из этой группы не представляется возможным. Однако можно уверенно заключить, что генетически данная группа относится к одному таксономическому виду.

Полученные данные о внутривидовых дистанциях позволили заключить, что перечисленные в Таблице 6 клады имеют видовой статус, генетическая вариабильность внутри каждой из них не превышает установленный показатель внутривидового генетического полиморфизма. Максимальный показатель ( $d=0.016\pm 0.004$ ) наблюдается у представителей *H. terrestris*.

Таблица 6.

Оценки уровней генетической вариабельности ( $d$ ) в пределах видов, выраженные в количестве замен нуклеотидных оснований на сайт. Стандартные ошибки (S.E.) выделены серым.

Таксон	$d$	S.E.
<i>H. sanguisuga</i>	0.011	0.003
<i>Haemopis</i> sp.	0.012	0.004
<i>H. kingi</i>	0.003	0.002
<i>H. terrestris</i>	0.016	0.004
<i>H. lateromaculata</i>	0.006	0.003
<i>Limnatis paluda</i>	0.000	0.000

Нуклеотидные последовательности *H. sanguisuga*, *H. caeca* и *Limnatis* sp. из Восточного Казахстана, Украины, Восточной Сибири и Европы, образуют единый кластер как на филогенетическом древе (Рис. 24). При этом уровень генетического полиморфизма внутри этой клады составил 1.11% (Табл. 6).

Гаплотип румынского эндемика *H. caeca* имеет 6 уникальных позиций относительно остальных 9 последовательностей, входящих в группу ‘*H. sanguisuga*’. Диапазон генетических отличий румынского вида от других представителей рода *Haemopsis* варьирует в пределах 12.1-22.7%. Генетические дистанции, отделяющие COI-последовательность *H. caeca* от филогенетически родственных последовательностей *H. sanguisuga* (AF462021 и казахстанские образцы) и *H. sanguisuga* (KP663469-70), составляют 1.64 и 2.96%, соответственно. Таким образом, приспособленная к пещерному образу жизни пиявка *H. caeca* [98], согласно правилам ДНК-штрихкодирования не является самостоятельным видом. Видовое название *H. caeca* должно быть синонимизировано с *H. sanguisuga*.

Таблица 7.

Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Hirudinidae. Стандартные ошибки показаны серым и расположены над диагональю

№	Группа	1	2	3	4	5	6
1	<i>H. sanguisuga</i>		0.013	0.013	0.013	0.013	0.017
2	<i>H. elegans</i>	0.108		0.013	0.014	0.013	0.017
3	<i>Haemopsis</i> sp.	0.112	0.113		0.013	0.012	0.016
4	<i>H. kingi</i>	0.122	0.126	0.112		0.013	0.016
5	<i>H. terrestris</i>	0.112	0.113	0.091	0.114		0.017
6	<i>H. marmorata</i>	0.182	0.187	0.177	0.158	0.185	

Образец, отнесённый на основании морфологического анализа к роду *Limnatis*, согласно полученным данным, был определен нами не правильно. Как видно на филогенетическом древе (Рис. 24), его нуклеотидная последовательность кластеризуется вместе с *H. sanguisuga*. Более того *Limnatis* sp. имеет общий гаплотип с пиявками *H. sanguisuga*, обитающими в бассейне р. Иртыш. Ошибка морфологического определения, вероятно, связана с отсутствием у образца половых признаков и нечетко выраженными другими таксономически значимыми морфологическими признаками из-за ювенильной стадии развития. Недостаток информации для точного определения видовой принадлежности животного привел к неверной его идентификации. Это обстоятельство ещё раз подтверждает

необходимость использования филогенетического анализа, в качестве дополнительного метода выявления генетического и таксономического разнообразия.

### **4.3. Филогенетическое разнообразие хоботных пиявок**

Все представители отряда Rynhobdellida являются паразитическими видами, что обуславливает многообразие их форм и широкое распространение. Филогенетические взаимоотношения данной таксономической группы далее будет рассматриваться на уровне рода в связи с большим объемом данных и определенными сложностями в таксономии данного отряда.

#### *4.3.1. Молекулярно-филогенетический анализ семейства Piscicolidae*

Согласно результатам морфологического анализа в водохранилищах бассейна реки Иртыш обитает три представителям сем. Piscicolidae: *P. geometra* и два не идентифицируемых до вида таксона – *Piscicola* sp. 1 и *Piscicola* sp. 2, имеющие морфологические отличия от всех известных в литературе писциколид. Для уточнения таксономической принадлежности данных видов и определения филогенетического разнообразия фауны рыбных пиявок казахстанского Прииртышья был проведен молекулярный анализ методом ДНК-штрихкодирования. С этой целью были изготовлены препараты ДНК и расшифрованы нуклеотидные последовательности фрагментов гена митохондриальной COI трех образцов *P. geometra*, единственного экземпляра *Piscicola* sp. 1 и четырех индивидуумов *Piscicola* sp. 2 (Приложение 4).

Статистический анализ полученных молекулярных данных показал, что полученные последовательности содержат 648 консервативных, 29 переменных и 10 филогенетически информативных сайтов. Общий набор последовательностей в выравнивании содержит 19 уникальных единичных замен (singleton sites). Нуклеотидные последовательности исследуемых пиявок имеют длину 653-677 п.н. и состоят на 54.5% из пиримидинов, что свидетельствует об их принадлежности к L-цепи («легкая» цепь), а ген соответственно расположен на H-

цепи («тяжелая» цепь) митохондриальной ДНК, как и у большинства исследованных организмов [31].

Для подбора группы сравнения был использован поиск базового локального сходства (BLAST, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) для сравнения нуклеотидных последовательностей с базами данных последовательностей и вычисления статистической значимости совпадений. В результате отобрана группа 63 генетически наиболее близких последовательностей (генетическое сходство с исследуемыми образцами не менее 85%) (Приложение 3).

Для проведения биоинформационного анализа на основе полученных молекулярных данных построена матрица нуклеотидных последовательностей, выровненных относительно друг друга, состоящая из 71 COI-последовательностей, включая впервые исследованные образцы из Восточного Казахстана и гомологичные нуклеотидные последовательности близкородственных видов используемые в качестве группы сравнения. На основе полученной матрицы было выведено филогенетическое древо (Рис. 25).

В систематике рассматриваемого семейства по-прежнему имеются серьезные противоречия, осложняющие видовую идентификацию образцов. Особенно сложной ситуация представляется среди океанических видов. Как видно при детальном анализе филогенетического дерева в одной кладе могут оказаться два различных вида, примером тому могут служить виды *Oceanobdella khani* и *Oceanobdella* sp. ( $d=0.01154\pm 0.0044$ ) и *Malmiana brunnea* и *M. sporpii* ( $d=0.0019\pm 0.0018$ ), тогда как *M. buthi* кластеризуется отдаленно (Рис. 25).

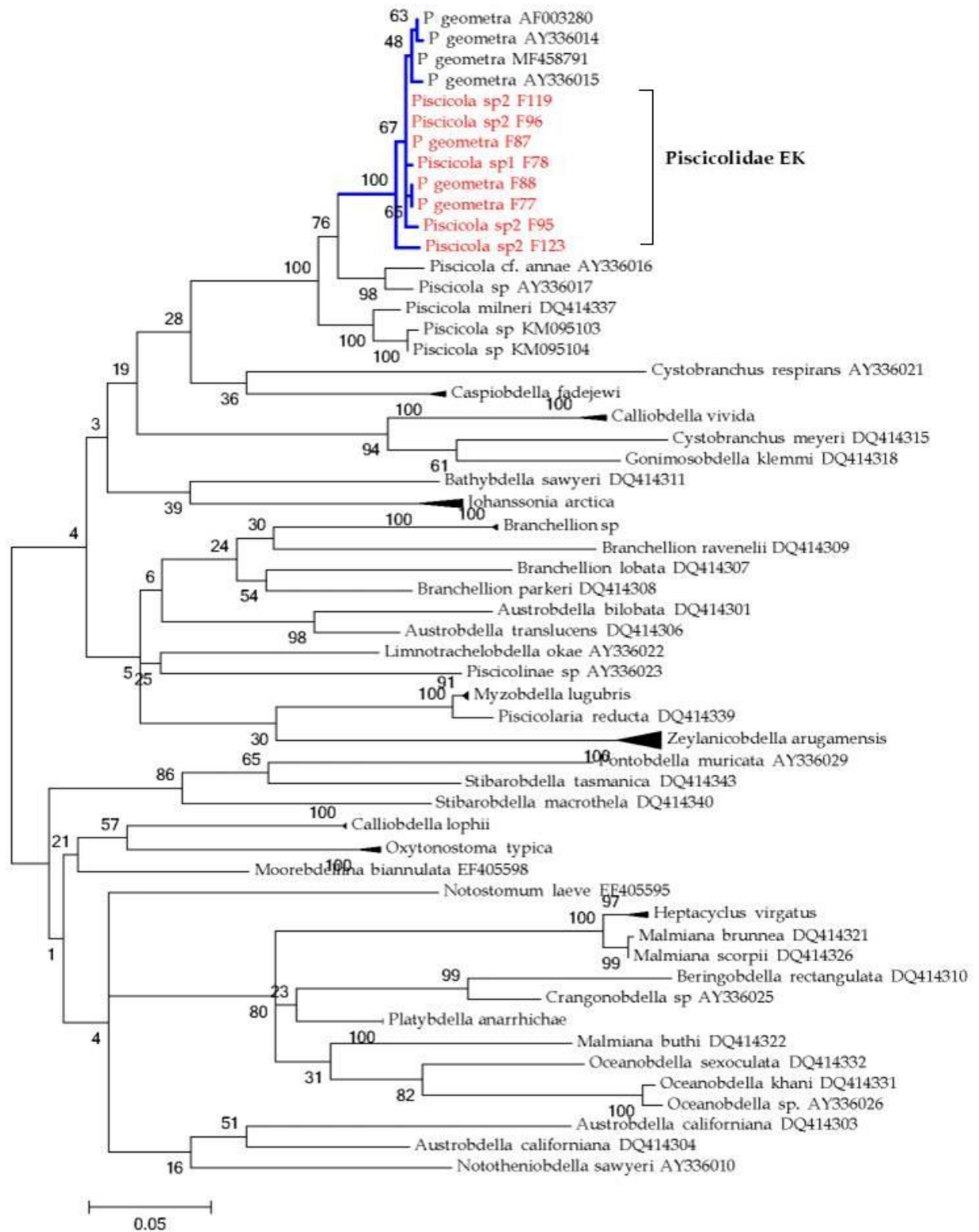


Рис. 25. COI-филогения Piscicolidae.

В тоже время, между представителями одного вида могут быть значительные внутривидовые дистанции, что ставит под сомнение правильность их морфологической идентификации. Например, внутривидовое расстояние в

кладе *Austrobdella californiana* составляет 13.1% (Табл. 8). Подобные явления легко объяснимы спецификой представителей изучаемого таксона.

Таблица 8.

Оценки уровней генетической вариабельности (d) в пределах видов, выраженные в количестве замен нуклеотидных оснований на сайт. Стандартные ошибки (S.E.) показаны серым, жирным шрифтом выделены показатели, превышающие пороговое значение.

Таксон	d	S.E.
<i>Platybdella anarrhi</i>	0.00000	0.0000
<i>Calliobdella lophii</i>	0.00191	0.0018
<i>Malmiana</i>	0.00191	0.0018
<i>Myzobdella lugubris</i>	0.00255	0.0018
<i>Piscicola sp.</i>	0.00382	0.0025
<i>Branchellion sp.</i>	0.00382	0.0027
<i>P. geometra</i>	0.00569	0.0046
<i>P. milneri</i>	0.01658	0.0016
<i>Zeylanicobdella</i>	0.01118	0.0027
<i>C. fadejewi</i>	0.01153	0.0047
<i>Oceanobella khani</i>	0.01154	0.0044
<i>Oxytonostoma typica</i>	0.01543	0.0054
<i>Heptacyclus virgatus</i>	0.01545	0.0054
<i>Calliobdella vivida</i>	0.01931	0.0059
<i>Johanssonia arctica</i>	0.02726	0.0058
<i>Austrobdella californiana</i>	<b>0.13140</b>	0.0170

Все писциколиды (и особенно пресноводные) являются достаточно сложным объектом морфологического анализа из-за слабой изученности группы ввиду труднодоступности образцов. Кроме того ДНК-штрихкодирование образцов сем. Piscicolidae осложняется сравнительно небольшим количеством последовательностей, представленных в GenBank. В то же время с помощью молекулярного подхода подтверждается независимый видовой статус 38 из 41 включенных в анализ видов (Рис. 25). Для 14 видов, представленных в GenBank двумя и более последовательностями, их генетическая однородность подтверждается низкими значениями внутривидовой вариабельности (Табл. 8).

Представители фауны писцикоolid Восточного Казахстана с высокой вероятностью (100%) кластеризуются вместе, образуя единую филогенетическую

ветвь с европейскими представителями широко распространенного в Палеарктике вида *P. geometra*. Вопреки результатам анализа морфологических признаков, генетический анализ показывает, что все собранные в казахстанском Прииртышье образцы рыбьих пиявок относятся к одному виду. Это подтверждается низким уровнем генетического полиморфизма в этой группе (0.56%). Ненадежность выводов морфологического анализа объясняется высоким уровнем экологической лабильности и в связи с этим широким ареалом вида *P. geometra*, и, как следствие, достаточно высокой изменчивостью признаков внешней морфологии.

Генетические дистанции относительно групп филогенетически близких к целевой составляют 0.056-0.187 (Приложение 4), что значительно выше пороговых значений, принятых в ДНК-штрихкодировании для разграничения видов. Следовательно, все группы, перечисленные в таблице 8 имеют самостоятельный видовой статус.

Проведенный биоинформационный анализ молекулярных данных подтверждает принадлежность казахстанских рыбьих пиявок к группе пресноводных писциколид рода *Piscicola* (Рис. 25), таксономическое разнообразие которого совпадает с филогенетическим.

Таким образом, подтверждается достоверность морфологической идентификации образцов *P. geometra*, *P. milneri* и *P. annae* из GenBank. Не идентифицированные до вида образцы европейской *Piscicola* sp. (AY336017) и восточносибирских *Piscicola* sp. (KM095103) и KM095104 относятся к потенциально новым видам (Приложение 4).

Следует также отметить, что обнаруженные нами в ходе исследований писциколиды, имеют значительное генетическое расстояние (11.9%) по отношению к виду *Caspiobdella fadejewi*, обитание которого согласно литературным данным предполагалось в Бухтарминском водохранилище.

#### 4.3.2. Молекулярно-генетический анализ семейства Glossiphoniidae

Род *Alboglossiphonia*. Для определения таксономического статуса рода *Alboglossiphonia* было получено девять нуклеотидных последовательностей с различных водоемов бассейна р. Иртыш.

Статистический анализ полученных данных показал, что рассматриваемые последовательности содержат 690 консервативных, 16 переменных и 8 филогенетически информативных сайтов. Общий набор последовательностей в выравнивании содержит 8 уникальные единичные замены (singleton sites). Нуклеотидные последовательности исследуемых пиявок имеют длину 649-709 п.н. и состоят на 53.6% из пиримидинов, что свидетельствует об их принадлежности к L-цепи («легкая» цепь), а ген соответственно расположен на H-цепи («тяжелая» цепь) митохондриальной ДНК, как и у большинства исследованных организмов [31].

Для подбора группы сравнения был использован поиск базового локального сходства (BLAST, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) для сравнения нуклеотидных последовательностей с базами данных последовательностей и вычисления статистической значимости совпадений. В результате отобрана группа из 44 генетически близких последовательностей (генетическое сходство с исследуемыми образцами не менее 85%).

В состав группы сравнения вошли представители пяти родов: *Alboglossiphonia*, *Batracobdella*, *Placobdella*, *Placobdelloides*, *Glossiphoniidae*.

Для проведения биоинформационного анализа на основе полученных молекулярных данных построена матрица нуклеотидных последовательностей, выровненных относительно друг друга, состоящая из 37 последовательностей, включая впервые исследованные образцы и гомологичные нуклеотидные последовательности близкородственных видов, ранее депонированные в Международной базе генетических данных Национального центра биотехнологической информации, используемые в качестве группы сравнения (Приложение 3).

На основе полученных нуклеотидных последовательностей было выведено филогенетическое древо (Рис. 26).

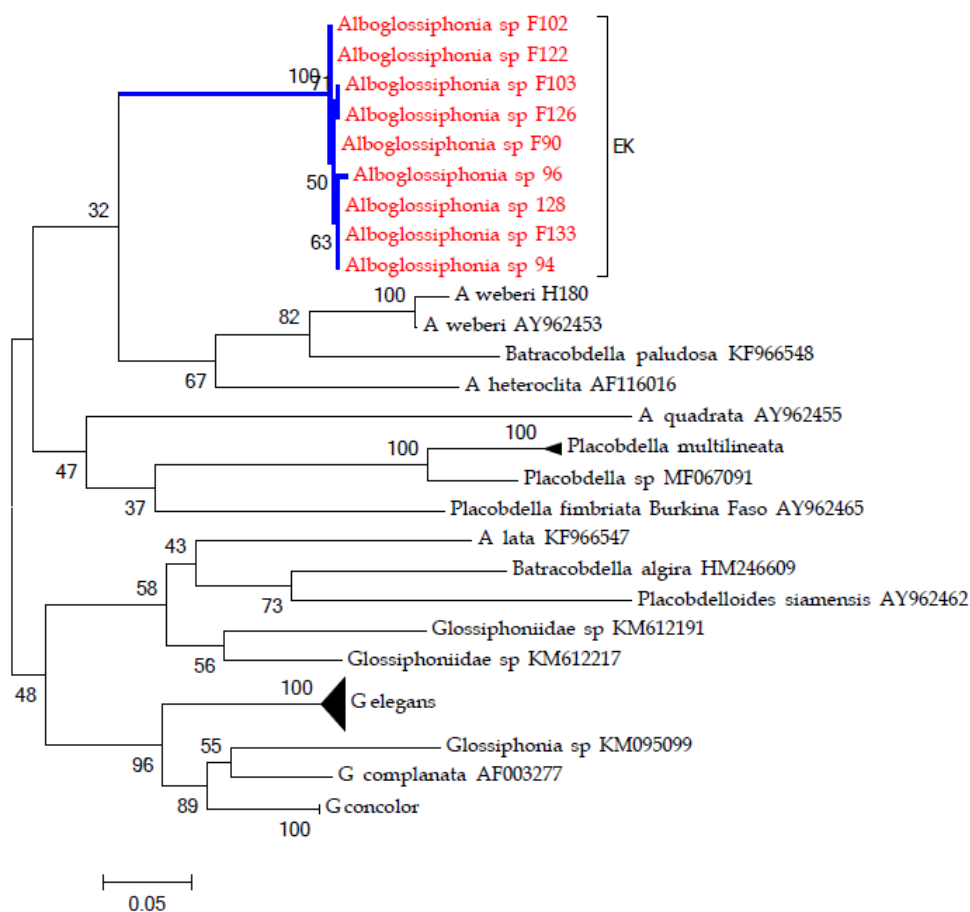


Рис. 26. COI-филогения рода *Alboglossiphonia*

Все виды, представленные на филогенетическом дереве, в том числе клада *Alboglossiphonia* sp. из Восточного Казахстана, имеют незначительную внутривидовую дистанцию ( $d=0.003\pm 0.001$ , что подтверждает их генетическую однородность).

Для определения систематической позиции пиявок Иртыша были определены генетические дистанции между филогенетическими группами рода *Alboglossiphonia* (Табл. 9).

Согласно построенному филогенетическому дереву обитающие в Иртыше представители рода *Alboglossiphonia* кластеризуются в отдельную ветвь. Несмотря на определенное морфологическое сходство с *A. heteroclita*, эти два вида имеют значительно генетическое расстояние –  $13.6\pm 0.016\%$ . С другими представителями рода данный показатель также превышает межвидовой порог 3%, и составляет соответственно с *A. weberi* –  $13.4\pm 0.015\%$ , *A. lata* –  $17.2\pm 0.017\%$ , *A. quadrata* –  $18.9\pm 0.019\%$ . Приведенные сведения подтверждает тот факт, что

обитающий в бассейне р. Иртыш вид *Alboglossiphonia* sp. имеет таксономическую независимость и является не известным ранее для науки видом. Полученные сведения согласуются с данными морфологического анализа казахстанских представителей рода *Alboglossiphonia*.

Таблица 9.

Генетические дистанции между филогенетическими группами рода *Alboglossiphonia*. Стандартные ошибки показаны серым и расположены над диагональю

	Группа	1	2	3	4	5
1	<i>Alboglossiphonia</i> sp. ЕК		0.016	0.017	0.019	0.015
2	<i>A. heteroclita</i>	0.136		0.017	0.021	0.014
3	<i>A. lata</i>	0.172	0.172		0.021	0.017
4	<i>A. quadrata</i>	0.189	0.188	0.239		0.017
5	<i>A. weberi</i>	0.134	0.120	0.163	0.173	

Род *Helobdella*. Для определения таксономического статуса рода *Helobdella* было получено 11 нуклеотидных последовательностей с различных водоемов бассейна р. Иртыш (Приложение 3).

Статистический анализ полученных данных показал, что рассматриваемые последовательности содержат 659 консервативных, 17 переменных и 4 филогенетически информативных сайтов. Общий набор последовательностей в выравнивании содержит 13 уникальные единичные замены (singleton sites). Нуклеотидные последовательности исследуемых пиявок имеют длину 659-676 п.н. и состоят на 54.7% из пиримидинов, что свидетельствует об их принадлежности к L-цепи («легкая» цепь), а ген соответственно расположен на H-цепи («тяжелая» цепь) митохондриальной ДНК, как и у большинства исследованных организмов [31].

Для проведения биоинформационного анализа на основе полученных молекулярных данных построена матрица нуклеотидных последовательностей, выровненных относительно друг друга, состоящая из 92 последовательностей, в том числе 49 генетически наиболее близких последовательностей (генетическое сходство с исследуемыми образцами не менее 85%), отобранных в GenBank программой BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) (Приложение 3).

На основе полученных нуклеотидных последовательностей было выведено филогенетическое древо (Рис. 27) и получены внутривидовые дистанции (Табл. 10).

Анализ филогенетических связей исследуемого набора COI-последовательностей выявил, что кластеризация таксонов на уровне родов в целом согласуется с современной классификацией. Исключение составляют представители вида *H. modesta*, образующих на филогенетическом дереве две различные клады (внутривидовая дистанция составляет  $13.8 \pm 1.5\%$ ) и представители вида *H. triserialis*, также имеющие большие внутривидовые дистанции ( $8.9 \pm 1.3\%$ ). Клада, включающая три не идентифицированных до вида образца Glossiphoniidae sp. (KM612127), *Helobdella* sp. (KF000141, KF000158), состоит из представителей одного вида, так как дистанции внутри этой группы составляет всего  $1.2 \pm 0.4\%$  (Табл. 10).

Таблица 10.

Оценки уровней генетической вариабельности (d) в пределах видов, выраженные в количестве замен нуклеотидных оснований на сайт. Стандартные ошибки (S.E.) показаны серым, жирным шрифтом выделены показатели, превышающие пороговое значение.

Таксон	d	S.E.
<i>H. stagnalis</i> EK	0.004	0.002
<i>H. stagnalis</i> Siberia	0.013	0.003
<i>H. stagnalis</i> Genbank	<b>0.106</b>	0.010
<i>Helobdella</i> sp.	0.012	0.004
<i>H. anti</i>	0.013	0.004
<i>H. bowermani</i>	0.000	0.000
<i>H. europaea</i>	0.000	0.000
<i>H. modesta</i>	<b>0.138</b>	0.015
<i>H. octalestisaca</i>	0.006	0.003
<i>H. simplex</i>	0.006	0.003
<i>H. socimulcensis</i>	0.013	0.003
<i>H. triserialis</i>	<b>0.089</b>	0.013

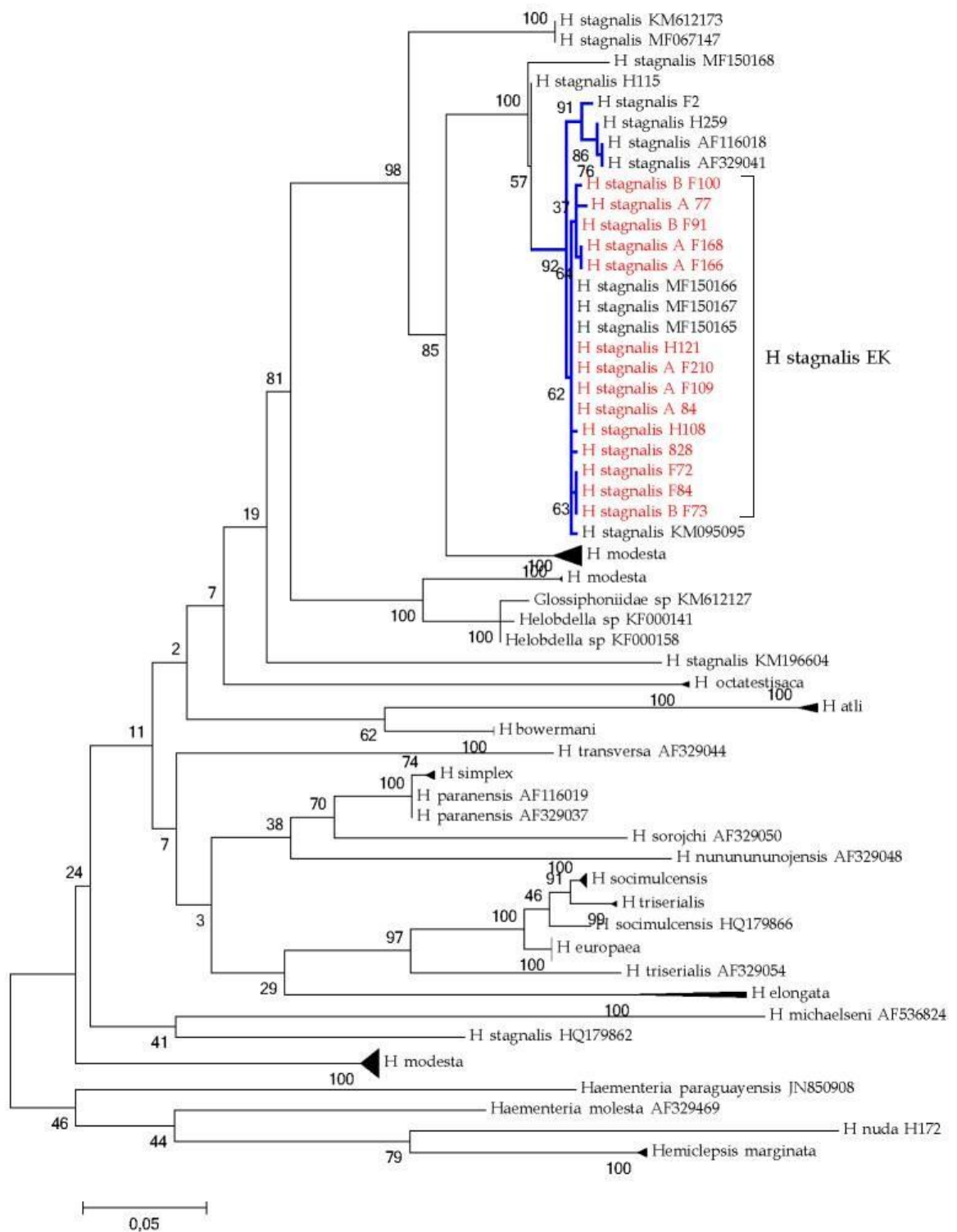


Рис. 27. COI-филогения рода *Helobdella*

Группа *H. stagnalis* представленная на филогенетическом древе также генетически неоднородна, что вероятно обуславливается разнообразием условий обитания и большим ареалом данного вида.

Нуклеотидные последовательности *H. stagnalis* из Восточного Казахстана с высокой вероятностью (100%) кластеризуются вместе независимо от географического положения водоёма их обитания (Рис. 27). Для установления систематической позиции пиявок Иртыша были определена генетическая дистанция между группами (Приложение 5).

В пределах морфологического вида *H. stagnalis* выявлено три кластера. В первый кластер (*H. stagnalis* GB1), отделяются две последовательности из Северной Америки (KM612173, MF067147). Второй кластер наиболее многочисленный и включает в себя восемь европейских последовательностей (H259, MF150168, AF116018, AF329041, MF150165, MF150166, MF150167, KM095095), пять из Восточной Сибири (828, F2, H108, H115, H121) и 11 образцов из Казахстана. Филогенетическое расстояние между этими последовательностями находится в пределах 0.8-1.2%, что говорит об их принадлежности одному виду.

Род *Glossiphonia*. Для определения таксономического статуса было получено 20 нуклеотидных последовательностей представителей рода *Glossiphonia*, отнесенных морфологически к трем формам: 12 последовательностей *Glossiphonia* sp. 1, четыре последовательности *Glossiphonia* sp. 2 и четыре последовательности *Glossiphonia* sp. 3.

Статистический анализ полученных данных показал, что рассматриваемые последовательности содержат 581 консервативных, 101 вариабельных и 86 филогенетически информативных сайтов. Общий набор последовательностей в выравнивании содержит 15 уникальные единичные замены (singleton sites). Нуклеотидные последовательности исследуемых пиявок имеют длину 652-708 п.н. и состоят на 54.8% из пиримидинов, что свидетельствует об их принадлежности к L-цепи («легкая» цепь), а ген соответственно расположен на H-цепи («тяжелая» цепь) митохондриальной ДНК, как и у большинства исследованных организмов [31].

Для подбора группы сравнения был использован поиск базового локального сходства (BLAST, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) для сравнения нуклеотидных последовательностей с базами данных последовательностей и вычисления

статистической значимости совпадений. В результате отобрана группа 37 генетически наиболее близких последовательностей (генетическое сходство с исследуемыми образцами не менее 85%).

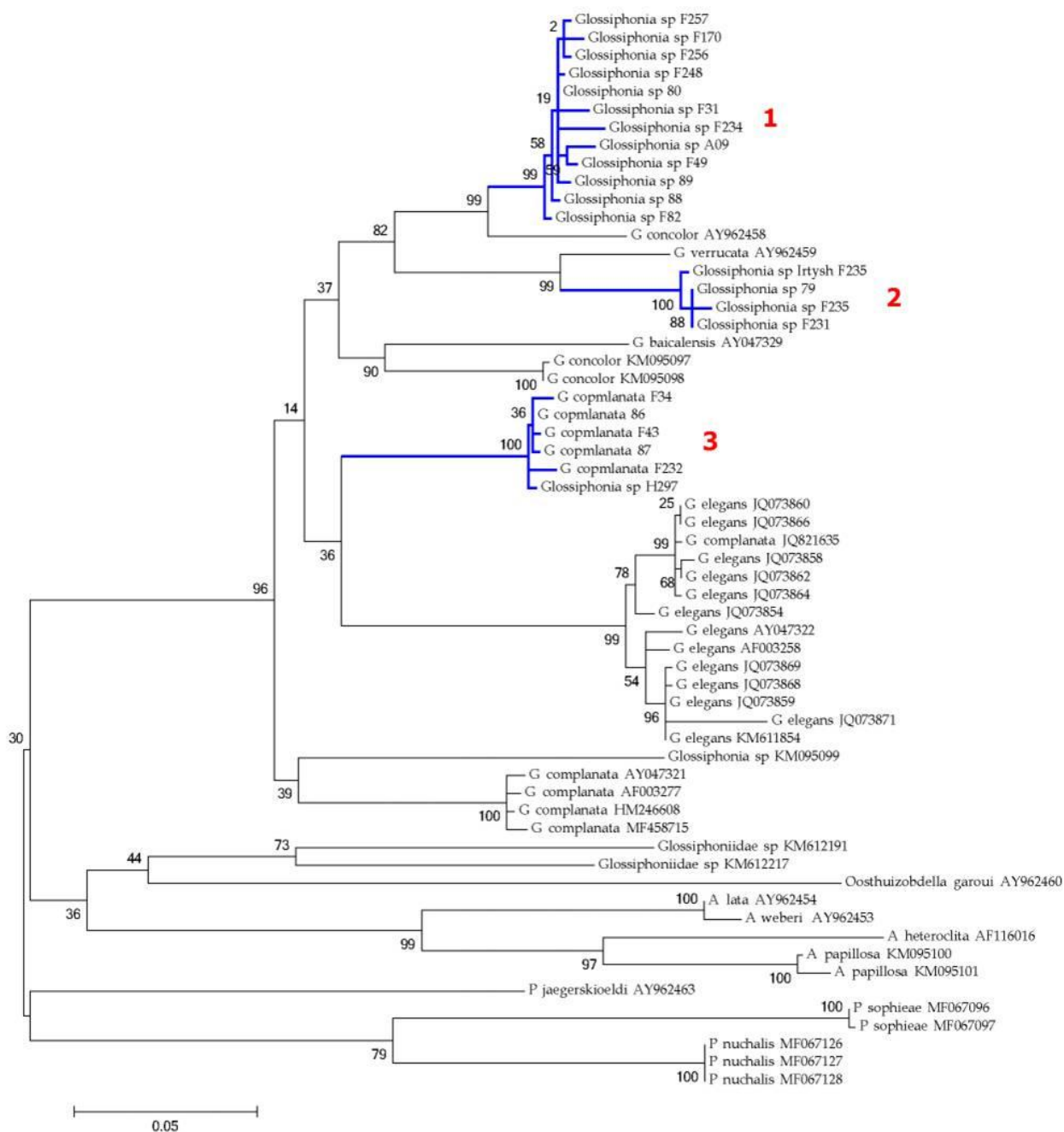


Рис. 28. COI-филогения рода *Glossiphonia*

Для проведения биоинформационного анализа на основе полученных молекулярных данных построена матрица нуклеотидных последовательностей, выровненных относительно друг друга, состоящая из 57 нуклеотидных последовательностей, включая впервые исследованные образцы и гомологичные

нуклеотидные последовательности близкородственных видов используемые в качестве группы сравнения (Приложение 3). Полученная матрица молекулярных данных была использована для филогенетических реконструкций (Рис. 28).

Вид *G. concolor* распался на дереве на две клады, при этом внутривидовая вариабельность оказалась достаточно большой 6.2%. Также значительная дистанция (12.0%) выявлена в кладе *Glossiphoniidae* sp., куда кластеризовались две последовательности из GenBank (KM612191, KM612217), что говорит об их принадлежности двум разным видам.

Для определения систематической позиции представителей рода *Glossiphonia* была определена внутривидовая вариабельность (Табл. 11). Анализ полученных дистанций показал, что внутривидовая дистанция практически всех представителей рода *Glossiphonia* находится в пределах  $0.2-1.6 \pm 0.3\%$ . Исключение составляет вид *G. concolor* превышает пороговый показатель и составляет  $6.7 \pm 1.2\%$ . Как можно увидеть на филогенетическом дереве образец из Швеции (AY962458) наиболее отдален от клады своего вида *G. concolor*. Кроме того, данный образец имеет значительные генетические дистанции ( $10 \pm 1.6\%$ ) отдаляющие его от других последовательностей отнесенных к этому же виду и представленных на филогенетическом дереве (Рис. 28), что говорит о его видовой независимости.

Таблица 11.

Оценки уровней генетической вариабельности (d) в пределах видов, выраженные в количестве замен нуклеотидных оснований на сайт. Стандартные ошибки (S.E.) показаны серым, жирным шрифтом выделены показатели, превышающие пороговое значение.

Таксон	d	S.E.
<i>Glossiphonia</i> sp. 1 EK	0.002	0.001
<i>Glossiphonia</i> sp. 2 EK	0.002	0.001
<i>Glossiphonia</i> sp. 3 EK	0.003	0.002
<i>G. complanata</i>	0.004	0.002
<i>G. elegans</i>	0.016	0.004
<i>G. concolor</i>	<b>0.067</b>	0,012
<i>P. papillosa</i>	0.006	0.003
<i>P. nuchalis</i>	0.000	0.000
<i>P. sophieae</i>	0.002	0.002

Полученные межвидовые дистанции (Приложение 6) позволили подтвердить видовую независимость и правильность морфологического определения глоссифонид из Казахстана. Минимальные генетические дистанции, ограничивающие рассматриваемые виды от размещенных нуклеотидных последовательностей в GenBank составляют 4.4-7.9%. Что превышает установленный показатель внутривидового генетического полиморфизма.

Рода *Hemiclepsis* и *Theromyzon*. В связи с небольшим количеством нуклеотидных последовательностей и близким генетическим родством данные два рода будут рассмотрены вместе. Для определения таксономического статуса было получено восемь нуклеотидных последовательностей вида *H. marginata* и одна *T. tessulatum*.

Статистический анализ полученных данных показал, что рассматриваемые последовательности содержат 590 консервативных, 92 переменных и 1 филогенетический информативный сайт. Общий набор последовательностей в выравнивании содержит 90 уникальные единичные замены (singleton sites). Нуклеотидные последовательности исследуемых пиявок имеют длину 646-682 п.н. и состоят на 54.1% из пиримидинов, что свидетельствует об их принадлежности к L-цепи («легкая» цепь), а ген соответственно расположен на H-цепи («тяжелая» цепь) митохондриальной ДНК, как и у большинства исследованных организмов [31].

Для подбора группы сравнения был использован поиск базового локального сходства (BLAST, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) для сравнения нуклеотидных последовательностей с базами данных последовательностей и вычисления статистической значимости совпадений. В результате отобрана группа 19 генетически наиболее близких последовательностей (генетическое сходство с исследуемыми образцами не менее 85%).

Для проведения биоинформационного анализа на основе полученных молекулярных данных построена матрица нуклеотидных последовательностей,

выровненных относительно друг друга, состоящая из 38 нуклеотидных последовательностей, включая впервые исследованные образцы и гомологичные нуклеотидные последовательности близкородственных видов (Приложение 3). Полученная матрица молекулярных данных была использована для филогенетических реконструкций (Рис. 29).

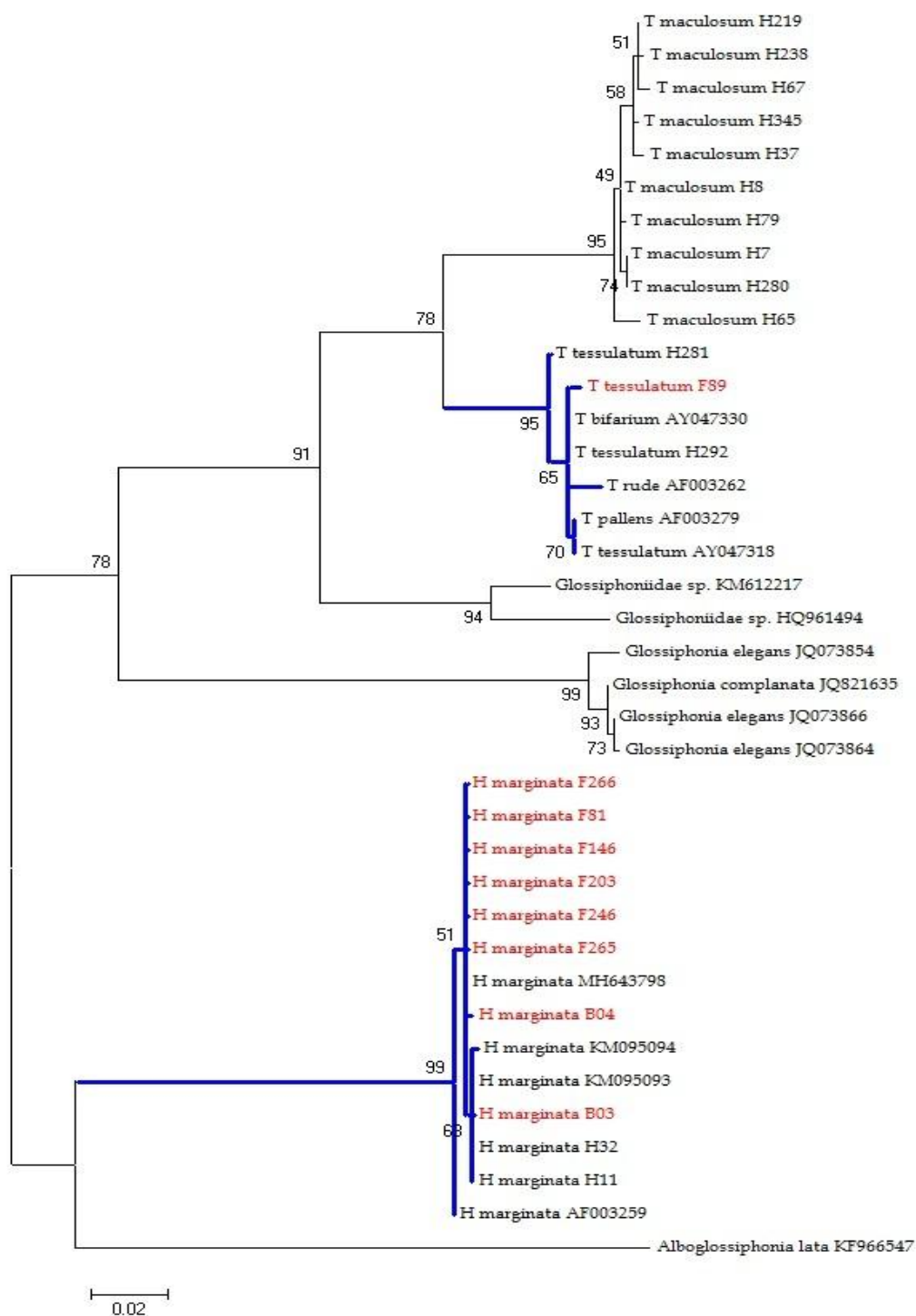


Рис. 29. COI-филогения родов *Hemiclepsis* и *Theromyzon*

Анализ филогенетических связей исследуемого набора COI-последовательностей выявил, что кластеризация таксонов на уровне родов в целом согласуется с современной классификацией. Представленное древо типологически кластеризовалось на шесть групп, внутривидовая дистанция в которых находится в пределах  $0.2-1.1\pm 0.2\%$ .

Следует отметить, что обитающие в Восточной Сибири и Казахстане представители *H. marginata* образуют единые группы с последовательностями GenBank, что подтверждается низкой внутривидовой дистанцией  $d=0.001\pm 0.001$ . Образцы, отнесенные к роду *Theromyzon*, распались на две клады – одна из которых однородна и представлена последовательностями только одного вида *T. maculosum*. В тоже время, для объяснения неоднородности другой клады и определения систематической позиции пиявок были определены генетические дистанции между группами (Табл. 12).

Таблица 12.

Генетические дистанции между филогенетическими группами родов *Hemiclepsis* и *Theromyzon*. Стандартные ошибки показаны серым и расположены над диагональю

№	Группа	1	2	3	4	5	6
1	<i>H. marginata</i>		0.017	0.017	0.017	0.016	0.017
2	<i>T. bifarium</i>	0.143		0.002	0.003	0.001	0.010
3	<i>T. pallens</i>	0.145	<b>0.002</b>		0.003	0.001	0.010
4	<i>T. rude</i>	0.145	<b>0.008</b>	<b>0.008</b>		0.004	0.011
5	<i>T. tessulatum</i>	0.144	<b>0.002</b>	<b>0.003</b>	<b>0.010</b>		0.010
6	<i>T. maculosum</i>	0.148	0.063	0.063	0.068	0.063	

Как видно из представленной таблицы вид *H. marginata* имеет четкие таксономические границы, при этом межвидовые дистанции отделяют его от других таксонов на 14.3-14.8%. Гораздо сложнее обстоят дела с разграничением птичьих пиявок: *T. bifarium*, *T. pallens*, *T. rude*, *T. tessulatum*. Не смотря на различия видовых названий, генетически все образцы чрезвычайно близки (дистанции 0.2-1.0%) и, вероятнее всего, принадлежат одному виду – *T. tessulatum*. Вместе с тем, другой палеарктический вид *T. maculosum* имеет значительные филогенетические расстояния (6.3-14.8%), отделяющие его от

других представленных последовательностей. В таксономической структуре рода *Theromyzon* еще множество проблем, которые разрешатся по мере восполнения генетической базы данных новыми последовательностями и публикациями подробных морфологических описаний обнаруженных видов.

В целом, филогенетический анализ представителей двух вышеназванных родов дал основание полагать, что *H. marginata* и *T. tessulatum*, морфологически были определены верно.

Преимущества применения методики ДНК-штрихкодирования очевидны. Результаты современной филогении и систематической ревизии пиявок Казахстана позволили определить их таксономический статус (Табл. 13).

Среди представленных семейств пиявок наиболее высоким таксономическим разнообразием отличается семейство Glossiphoniidae, насчитывающее пять родов и семь видов. Семейство Erpobdellidae, включающее в себя свободноживущих макрофаговых пиявок, представлено тремя видами. Семейства пиявок – эктопаразитов Piscicolidae и челюстных пиявок Haemopidae представлены одним видом (Табл. 13).

Таблица 13

Гирудофауна бассейна р. Иртыш

Таксон					
Подкласс	Отряд	Семейство	Род	Вид	
Hirudinea	Rhynchobdellida	Glossiphoniidae	<i>Glossiphonia</i>	<i>Glossiphonia</i> sp.1	
				<i>Glossiphonia</i> sp.2	
				<i>Glossiphonia</i> sp.3	
			<i>Alboglossiphonia</i>	<i>Alboglossiphonia</i> sp.	
			<i>Theromyzon</i>	<i>T. tessulatum</i>	
			<i>Hemiclepsis</i>	<i>H. marginata</i>	
			<i>Helobdella</i>	<i>H. stagnalis</i>	
		Piscicolidae	<i>Piscicola</i>	<i>P. geometra</i>	
	Arhynchobdellida				
		Haemopidae	<i>Haemopsis</i>	<i>H. sanguisuga</i>	
		Erpobdellidae	<i>Erpobdella</i>	<i>Erpobdella</i> sp.1	
				<i>Erpobdella</i> sp.2	
				<i>Erpobdella</i> sp.3	

Таким образом, в ходе морфолого-генетической идентификации нами было подтверждено присутствие в современной фауне бассейна р. Иртыш 12 видов пиявок, относящихся к двум отрядам, четырем семействам, восьми родам. Девять видов обнаружены впервые, что составляет 75% от фауны рассматриваемой территории. Представленность мировой гирудофауны в бассейне р. Иртыш составляет 1,63%.

## **ГЛАВА 5. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПИЯВОК**

### **5.1. Пространственное распределение различных видов пиявок**

Пиявки являются неотъемлемым компонентом водных биоценозов. Несмотря на распространенное мнение, что большинство пиявок являются эврибионтными организмами, такую точку зрения нельзя признать абсолютно верной. Лишь небольшое количество гирудинид имеют достаточно широкое распространение, большинство же видов, как правило, обитают в водах со свойствами их жизнедеятельности благоприятными условиями, что, так или иначе, отражается на частоте их встречаемости, плотности, биомассе и других популяционных показателях. Как и стенобионты, эврибионтные виды в разнообразных по условиям средам обитания также могут иметь свои характерные особенности. При этом, на распределение пиявок, несомненно, оказывает влияние целый комплекс факторов. Аналогичная ситуация наблюдается и в бассейне р. Иртыш.

Важным фактором, определяющим обитание пиявок – является наличие стабильного субстрата, обеспечивающего их эффективное прикрепление и перемещение. Считается, что гирудиниды предпочитают наиболее твердый субстрат, который наблюдается в основном в проточных водотоках. В то же время, в местах с песчаным или другим мелким грунтом зачастую присутствует водная растительность, которая берет на себя роль твердого субстрата. Наряду с естественными субстратами вблизи населенных пунктов присутствуют субстраты антропогенного происхождения, которые также хорошо заселены пиявками. Тем не менее, в большинстве собранных в бассейне Иртыша проб большее количество пиявок обнаруживалось на достаточно крупных твердых субстратах, таких как камни. Вероятной причиной такого явления может быть то, что нижняя часть камней используется в качестве убежища, уменьшающего риск воздействия быстрого течения или хищников. Кроме того, подобные местообитания на дне водных сред могут представлять достаточно богатые бентосными организмами

источники пищи для макрофаговых пиявок. Улитковые пиявки, основными объектами питания, которых являются моллюски, обнаруживались по большей мере на растительных субстратах в средних глубинах воды, что связано с наиболее удобным обнаружением подходящей жертвы. Рыбные пиявки обитают как на субстратах, плавающих на поверхности воды (деревяшки, пластиковые пакеты, бутылки), так и на субстратах расположенных в придонном слое (камни). Пиявки, паразитирующие на водоплавающих птицах обнаруживались в свободно плавающем состоянии и среди водной растительности. Глоточные пиявки, ведущие наземно-водный образ, жизни обитают преимущественно в придонном илистом грунте и в корневой системе прибрежной водной растительности. В целом, характер предпочтения пиявками того или иного типа субстрата обуславливается особенностями питания каждого конкретного вида, и связан с наибольшей вероятностью обнаружения пиявками кормовых объектов.

Доступность кормовых объектов является одной из основных характеристик среды обитания, в тоже время оценка других факторов окружающей среды может выявить некоторые важные закономерности влияющие на распределение пиявок. В целях выявления структурных особенностей сообществ пиявок различных типов экосистем, нами были изучены различные среды обитания для этой группы организмов.

Все районы сбора проб, исходя из их гидрологических особенностей были подразделены на следующие типы: текущие воды – основное русло р. Иртыш (r) и его притоки горные реки (p-g), равнинные реки (p-r), протока (p); стоячие воды – озера (o), временно стоячие водоемы: старицы (r\_s) и водохранилища (v). Далее приводятся данные характеризующие особенности распределения пиявок в районе исследования (Табл. 14). Приведенные в таблице данные наглядно показывают достаточно неравномерный характер распределения пиявок.

Космополитический вид *H. stagnalis* широко распространен во всех типах водных сред. Вид *Alboglossiphonia* sp. встречается в стоячих водоемах, а также в основном русле р. Иртыш. Улитковая пиявка *Glossiphonia* sp. 1 также как и предыдущий вид обитает в р. Иртыш и в озерах, в основном старичного типа.

*Glossiphonia* sp. 2 – в р. Иртыш и некоторых озерах, *Glossiphonia* sp. 3 – исключительно в основном русле р.Иртыш. В целом, практически все улитковые пиявки встречаются в местах с хорошо развитой водной растительностью.

Таблица 14

Состав фауны пиявок бассейна р. Иртыш

Станция отбора проб	Тип водной среды	Вид пиявок											
		<i>Theromyzon tessulatum</i>	<i>Hemicleipsis marginata</i>	<i>Glossiphonia sp.1</i>	<i>Glossiphonia sp. 2</i>	<i>Glossiphonia sp. 3</i>	<i>Alboglossiphonia sp.</i>	<i>Helobdella stagnalis</i>	<i>Piscicola geometra</i>	<i>Haemopsis sanguisuga</i>	<i>Erpobdella sp.1</i>	<i>Erpobdella sp.2</i>	<i>Erpobdella sp. 3</i>
1	Река	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+	+	–
2	Река	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3	Река	–	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	–
4	Река	–	+	+	–	+	+	+	–	–	+	–	+
5	Старица	–	+	+	–	–	+	+	–	+	+	+	–
6	Старица	–	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+	–
7	Старица	–	–	+	–	–	–	+	–	–	+	–	–
8	Протока	–	+	+	–	+	+	+	–	–	+	+	+
9	Гор.река	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
10	Гор.река	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11	Гор.река	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	Гор.река	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
13	Рав. река	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	+	+
14	Гор.река	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
15	Рав. река	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
16	Вдхр.	–	+	–	–	–	–	+	+	–	+	–	+
17	Вдхр.	–	+	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+
18	Вдхр.	+	–	–	–	–	+	+	+	–	+	–	+
19	Вдхр.	+	–	–	–	–	+	+	+	–	+	–	+
20	Вдхр.	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	+	+
21	Озеро	–	–	–	–	–	–	+	–	–	+	+	+
22	Озеро	–	–	+	+	–	–	+	–	+	–	+	+
23	Озеро	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–
24	Озеро	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	+	+
Частота встречаемости (%)		10	40	30	10	20	40	70	20	10	50	40	50

Паразитирующий на водных птицах *T. tessulatum* имеет ограниченный ареал и был обнаружен только в Бухтарминском вдхр. Рыбная пиявка *P. geometra* обитает в водохранилищах богатых рыбными ресурсами. Обитание *H. marginata*

приурочено к равнинным рекам, старицам, водохранилищам, в местах, где наблюдается незначительная численность *P. geometra*, что говорит о том, что эти два вида являются пищевыми конкурентами.

Распространение непаразитических видов пиявок также имеет свои характерные особенности. *H. sanguisuga* в связи с условиями жизнедеятельности обитает в стоячих водоемах – озерах и старицах. *Erpobdella* sp. 1 встречается в равнинных реках, старицах, водохранилищах, *Erpobdella* sp. 2 – в равнинных реках, реже озерах, старицах и водохранилищах. Вид *Erpobdella* sp. 3 вопреки распространенному мнению, что он обитает только в проточных водотоках, в бассейне р. Иртыш распространен во всех типах водных сред.

Согласно полученному индексу частоты встречаемости, наиболее типичным представителем гирудофауны бассейна р. Иртыш является вид *H. stagnalis*, который встречается в 70% проб. В половине исследуемых водоемов и водотоков встречаются *Erpobdella* sp. 1 и *Erpobdella* sp. 3. Несколько ниже показатель встречаемости у следующих видов: *H. marginata*, *Alboglossophonia* sp., *Erpobdella* sp. 2 и составляет 40%. Наиболее маловстречаемыми видами можно назвать *T. tessulatum*, *Glossiphonia* sp. 2. и *H. sanguisuga*. Следует отметить, что паразитические виды пиявок по сравнению с макрофаговыми имеют характерную специфику распределения в достаточно ограниченном ареале. Вероятнее всего на характер их распределения немаловажное влияние оказывает наличие кормовых объектов. Рассматриваемые виды пиявок имеют разные реакции по отношению к факторам среды, которые либо способствуют их интенсивному размножению и, следовательно, высокой численности, либо напротив угнетают их жизнедеятельность.

Взаимоотношения пиявок и других животных в речных экосистемах весьма разнообразны и проявляются главным образом в пищевых связях. Выявленные виды пиявок подразделяются на две группы хоботные пиявки, ведущие паразитический образ жизни, доля которых составила 56%, а также бесхоботные свободно живущие макрофаговые пиявки, к которым относятся челюстные и

глочные виды, их встречаемость в бассейне р. Иртыш несколько меньше чем паразитических форм и составляет 44% (Табл. 15).

Таблица 15

Структура сообществ гирудинид

Название вида	Индекс доминирования (Di)							
	р. Иртыш	Равнинная река	Горная река	Протока	Старица	Озеро	Водохранилище	Во всех пробах
<i>Theromyzon tessulatum</i>	-	-	-	-	-	-	2	0.29
<i>Hemiclepsis marginata</i>	3.6	10	-	3.6	2.4	-	3.3	3.0
<i>Glossiphonia</i> sp.1	<b>18.6</b>	-	-	<b>52.7</b>	<b>13.5</b>	0.25	-	4.9
<i>Glossiphonia</i> sp. 2	1.8	-	-	-	-	-	-	0.3
<i>Glossiphonia</i> sp. 3	1.8	-	-	3.6	0.3	-	-	0.6
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	3.9	-	-	1.8	0.3	1.0	<b>16.9</b>	3.4
<i>Helobdella stagnalis</i>	9.1	<b>40</b>	-	3.6	<b>36.0</b>	<b>18.2</b>	<b>28.3</b>	<b>19.1</b>
<i>Piscicola geometra</i>	-	-	-	-	-	-	7.6	1.1
<i>Haemopsis sanguisuga</i>	-	-	-	-	3.0	0.3	-	0,5
<i>Erpobdella</i> sp. 1	<b>22.7</b>	-	-	<b>20.0</b>	<b>10.8</b>	0.5	2.3	5.5
<i>Erpobdella</i> sp. 2	4.6	10	-	9.1	<b>19.8</b>	<b>38.6</b>	1.1	<b>10.9</b>
<i>Erpobdella</i> sp. 3	0.9	10	20	5.5	-	<b>13.6</b>	<b>24.4</b>	<b>10.1</b>
Общее число видов пиявок	9	4	1	8	8	8	8	12
Индекс плотности населения	5.93	0	0	5.0	5.94	5.40	8.47	6.2
Доля паразитических видов (%)	57.0	60.0	-	65.5	55.0	27.3	68.9	56.0
Доля макрофаговых видов (%)	43.0	40.0	100.0	34.5	45.0	72.7	31.1	44.0

В норме количественное соотношение паразитических и макрофаговых видов должно быть приблизительно равным. Данная ситуация с небольшими отклонениями наблюдается в р. Иртыш и старицах. Значительное преобладание паразитических видов отмечено в водохранилищах, равнинных реках и протоках. Преобладание же макрофаговых пиявок выявлено в горных реках и озерах (Табл. 15). Полученные результаты свидетельствует о том, что экосистема изучаемого бассейна реки благоприятна для представителей как паразитических форм, так и свободно живущих хищных (макрофаговых) пиявок и во многом определяется типом водной среды.

Для определения числового обилия видов в составе населения каждой из исследуемых экосистем, нами был определен индекс доминирования (Табл. 15). Для характеристики структуры сообщества пиявок по этому признаку в основу были взяты общепринятые критерии, согласно которым в пределах  $10 < Di < 100$  выделяются доминанты,  $1 < Di < 10$  субдоминанты,  $0.01 < Di < 0.1$  второстепенные члены.

Показана неоднородность пространственного распределения видового разнообразия и структурных компонентов популяции гирудинид. Изменения данных показателей носит закономерный характер и зависит от среды обитания.

Наибольшее таксономическое разнообразие гирудинид наблюдается в основном русле р. Иртыш и составляет 9 видов. Доминирующими видами здесь являются *Glossiphonia* sp. 1 и *Erpobdella* sp. 1, в тоже время здесь значительное количество субдоминантных видов – *H. stagnalis*, *Erpobdella* sp. 2, *Alboglossiphonia* sp., *H. marginata*, *Glossiphonia* sp. 2, *Glossiphonia* sp. 3. К второстепенным членам был отнесен только один вид *Erpobdella* sp. 3. Основное русло р. Иртыш делится на горную часть и равнинную часть, при этом пространственное распределение пиявок в равнинной части р. Иртыш отличается относительной равномерностью. Отмечено, что видовое разнообразие пиявок увеличивается с востока на запад, несмотря на то, что восточная часть бассейна р. Иртыш более богата притоками. Логично предположить, что основное русло р. Иртыш пополняется пиявками за счет за водохранилищ и боковой приточности рек, однако это не так. Видовой состав равнинных рек сравнительно небольшой и составляет четыре вида, в числе которых доминирующим является *H. stagnalis*, остальные виды субдоминантны. В горных реках бассейна р. Иртыш встречается всего один вид *Erpobdella* sp. 3.

Протоки – это пойменные водоемы, видовой состав пиявок в которых очень близок к речному. В экосистеме протоки также насчитывается 8 видов, к доминирующим видам были отнесены - *Glossiphonia* sp. 1, *Erpobdella* sp. 1, а к субдоминантным все остальные виды. В старичных экосистемах видовой состав пиявок несколько ниже и составляет 8 видов. Доминирующими видами здесь

являются – *H. stagnalis*, *Erpobdella* sp. 2, *Erpobdella* sp. 1, *Glossiphonia* sp. 1. Остальные четыре вида относительно немногочисленны.

Поскольку озерные экосистемы пространственно изолированы от других водных объектов, видовое разнообразие не пополняется и подвержено механизмам саморегуляции. В них также выявлено восемь видов пиявок: к доминантным видам были отнесены *Erpobdella* sp. 2, *H. stagnalis*, *Erpobdella* sp. 3, к субдоминантным *Alboglossiphonia* sp., остальные три вида являются второстепенными членами рассматриваемого сообщества. Следует отметить, что в озерах Восточного Казахстана наблюдается полное отсутствие рыбных и птичьих паразитов, не смотря на присутствие потенциальных хозяев для этих видов. Возможно, в данных экосистемах благодаря их высокой минерализации некоторые виды пиявок обитать не могут. Большое количество эрпобделид в озерах говорит о большом количестве бентосных организмов. Кроме того, в данной экосистеме найдены достаточно крупные, предположительно двух летние эрпобделлиды, что подтверждает фактор о достаточном питании. Вероятно, озера в зимнее время промерзают не до конца, и эрпобделиды выживают зарывшись в придонный ил. Кроме того, в данных экосистемах встречались пиявки вида *H. stagnalis* с эктопаразитами на роговой пластинке, природу этого явления еще предстоит выяснить.

Экосистема Иртышского каскада водохранилищ обладает неоднородной структурой абиотических условий и особенностей, что обуславливает принципиально иной видовой состав фауны пиявок, который представлен восьмью видами. Среди них *H. stagnalis*, *Erpobdella* sp. 3, *Alboglossiphonia* sp. являются доминантными, остальные виды субдоминантны. В Шульбинском водохранилище часто встречаются эрпобделиды дипигментированные в той или иной степени.

Как видно по результатам индекса доминирования, в различных водоемах и водотоках наблюдаются своеобразная структура гирудофауны. Согласно полученным показателям, к доминантным видам среди всей гирудофауны бассейна р. Иртыш относятся *H. stagnalis* (19.1), *Erpobdella* sp. 2 (10.9) и

*Erpobdella* sp. 3 (10.1). К субдоминантным видам относятся *Erpobdella* sp. 1 (5.5), *Glossiphonia* sp. 1 (4.9), *Alboglossiphonia* sp. (3.4), *H. marginata* (3.0), что согласуется с показателем частоты встречаемости.

Наибольшая биомасса наблюдается у глоточных пиявок – *H. sanguisuga*, в тоже время этот вид встречается в пробах в небольшом количестве. Чего не скажешь об улитковых пиявках – *H. stagnalis*, *Alboglossiphonia* sp., которые в некоторых местах чрезвычайно многочисленны, но в силу небольшого размера не оказывают влияние на показатель биомассы. Учитывая такие особенности сообществ пиявок, для более точной характеристики был рассчитан индекс плотности населения. Исходя из рассчитанного индекса плотности, можно увидеть, что наименьший показатель наблюдается в горных и равнинных реках (0.0), наибольший же показатель (8.47) в водах Шульбинского и Бухтарминского водохранилищ. В остальных экосистемах данный показатель находится на среднем уровне и находился в пределах 5.0-5.94.

Следовательно, наименьшая численность и видовое разнообразие гирудиниид приурочено к горным рекам, в тоже время следует отметить, в горной части бассейна р. Иртыш наиболее высокий уровень загрязнения в результате функционирования горно-металлургических предприятий и не пригодны для обитания рассматриваемой группы организмов. В равнинных реках, также существуют ограничивающие факторы для пиявок, поэтому численность их также не стабильна и подвержена колебанию. Равнинные реки притоки характеризуются относительно небольшим видовым разнообразием и имеют небольшую численность пиявок, что говорит о том, что притоки не оказывают особого влияния на миграцию и расселение пиявок в основном русле р. Иртыш. Озера рассматриваемого бассейна отличаются средними показателями, что вероятно, обуславливается характерными особенностями кормовой базы. Фауна водохранилищ, характеризуется достаточно высокими показателями численности и включает в себя фауну пиявок характерную как для стоячих, так и для проточных сред. Фаунистический состав пиявок стариц также имеет своих характерные особенности и имеет условия схожие с озерами, но в тоже время

тличающиеся более высокими показателями за счет сезонного пополнения фауны из реки. Наибольшие рассматриваемые показатели отмечаются в основном русле р. Иртыш и в протоках, где более низкое течение и наблюдаются более благоприятные условия для жизнедеятельности пиявок.

В целом, выявленные закономерности состава и структуры гирудофауны показали, что в различных экосистемах имеются свои характерные особенности. Во всех стоячих водоемах доминирующим видом является улитковая пиявка *H. stagnalis* и хищная пиявка *Erpobdella* sp. 2. Экосистемы стоячих водоемов характеризуются общей стабильностью водных масс, более высокая температура воды, низкий уровень кислорода, особенно в придонных слоях воды, что видимо благоприятно для вышеназванных видов.

Основными гидрологическими особенностями водотоков является высокая скорость течения и насыщенностью воды кислородом. К проточным водотокам можно отнести экосистему р. Иртыш, протоку, притоки р. Иртыш – равнинные и горные реки, причем последние имеют существенные различия и немногочисленное видовое обилие пиявок, что вероятно связано с определенными факторами, влияние которых будет рассмотрено далее. Доминирующими видами в р. Иртыш и в Семипалатинской протоке являются *Glossiphonia* sp. 1, *Erpobdella* sp. 1.

Структура сообщества пиявок в водохранилищах достаточно специфична, среди доминирующих видов отмечены как улитковые пиявки *H. stagnalis*, *Alboglossiphonia* sp., так и макрофаговая пиявка *Erpobdella* sp. 3.

Тип водной среды рассматривается как один из основных факторов, влияющих на видовое и численное обилие пиявок и характер их распределения. Для соотнесения различных типов водных сред как элементов обитания пресноводных пиявок, нами был рассчитан коэффициент общности видового состава Серенсена. Полученные результаты представлены в таблице 16.

Если полагаться на классические представления о распределении пиявок, то оно основывается на сходстве видового состава в проточных, стоячих и условно-стоячих водоемах. Однако полученные результаты показали, что подобным

образом сообщества пиявок по типу место обитания группировать нельзя. Так, например, условно-проточные водоемы, то есть водоемы подверженные периодическим изменениям гидрологического режима, к которым можно отнести водохранилища и старицы имеют незначительный коэффициент общности – 1.7. В то же время, в проточных водотоках: горных и равнинных реках по видовому составу гирудинид коэффициент общности составил – 0.7. Видимо, группирование, таким образом, не возможно, в силу значительных различий физико-химических свойств этих водных объектов.

Таблица 16

Коэффициенты общности видового состава гирудинид

	р. Иртыш	Старица	Протока	Равнинная река	Горная река	Вдхр.	Озеро
р. Иртыш							
Старица	<b>4.7</b>						
Протока	<b>16.0</b>	<b>7.0</b>					
Равнинная река	1.6	1.0	2.0				
Горная река	0.3	0	0.3	0.7			
Водоохранилище	2.4	1.7	3.0	2.0	0.3		
Озеро	4.0	3.0	3.0	1.0	0.3	1.7	

В тоже время приведенный коэффициент позволил определить наиболее схожие водотоки. Наибольший показатель наблюдается у основного русла р. Иртыш и протоки – 16.0, а также между старицей и протокой – 7.0. Между протокой и основным руслом р. Иртыш этот показатель составил 4.7 соответственно. В связи с этим можно сделать предположение, что благодаря большой протяженности р. Иртыш и пересечению ею различных природных зон, характеристика ее гидрологического режима весьма разнообразна и состоит из взаимосвязанного комплекса: река – протока – озеро-старица. При этом каждый тип водных экосистем имеет свое ядро специфических видов.

Приведенные данные о географическом распределении пиявок в бассейне р. Иртыш вызывают множество вопросов, сопряженных главным образом, с причинами неравномерности распределения и наличием лимитирующих факторов.

## **5.2. Влияние факторов окружающей среды на гирудофауну**

Влияние различных экологических стрессов на биологическое разнообразие является одним из наиболее важных и исследуемых проблем современной экологии. Сопоставление полученных результатов может успешно применяться в качестве способа изучения влияния различного рода стрессоров, и дает возможность определять их интенсивность. При этом, показатели разнообразия позволяют проводить сравнение различных водных сообществ в многообразных типах сред. Причем, на уровне одного вида, обычно производят специфическую идентификацию какого-либо одного стрессора, в тоже время на уровне популяции или биоценоза – оценивают общее состояние природной среды.

Пиявки в числе донных беспозвоночных организмов, в связи с достаточно широким распространением в различных водных средах и являются перспективной группой для оценки качества и биологического мониторинга водных сред. Однако, в связи слабой изученностью видового разнообразия гирудинид во многих частях ареала, недостаточным количеством опубликованных сведений о взаимоотношении пиявок с окружающей средой и влиянием на них различных загрязняющих веществ, широкое использование гирудинид в этих целях затруднительно.

В рамках нашей работы для определения факторов, оказывающих влияние на распределение пиявок в бассейне реки Иртыш был проведен анализ данных методом многомерной статистики.

Экологический статус каждого водного объекта, в котором были взяты пробы, был изучен на основании литературных источников (Гл. 1.). Для отображения уровня загрязнения была введена собственная градация, где 1 – умеренный уровень, 2 – повышенный и 3 – высокий уровень загрязнения. Дополнительно были проведены собственные измерения пяти показателей: температура воды, рН, общий уровень минерализации, содержание солей и электропроводность (Табл. 17).

Таблица 17

Физико-химические свойства воды

Станция отбора проб	Тип водной среды	Уровень загрязнения	Средний показатель				
			Температура, °С	рН	Электропроводность, мСм	Общая минерализация, мг/л	Соленость, мг/л
1	r	Умеренный	22.5	6.8	235	167	114
2	r	Высокий и очень высокий	14.5	7.3	198	144	93
3	r	Умеренный	20.4	7.6	212	150	102
4	r	Умеренный	21.3	7.2	220	156	105
5	r_s	Умеренный	27.6	7.8	184	149	112
6	r_s	Умеренный	30.3	8.8	192	136	94
7	r_s	Умеренный	22.5	6.7	235	167	114
8	p	Умеренный	24.2	6.6	263	187	127
9	p_g	Высокий и очень высокий	18.5	6.5	361	256	174
10	p_g	Высокий и очень высокий	23.2	6.7	882	626	431
11	p_g	Высокий и очень высокий	21.8	7.8	729	517	355
12	p_g	Высокий и очень высокий	24.6	7.7	944	670	464
13	p_r	Высокий и очень высокий	22.1	7.5	1482	1056	740
14	p_g	Высокий и очень высокий	23.3	7.5	1197	849	593
15	p_r	Повышенный	24.4	7.6	1388	985	692
16	v	Повышенный	25.8	6.0	211	150	103
17	v	Повышенный	26.5	6.25	210	148	102
18	v	Повышенный	23.4	7.7	185	195	143
19	v	Повышенный	21.0	7.67	146	131	93
20	v	Повышенный	18.6	7.66	172	180	134
21	o	Умеренный	26.4	6.8	369	261	177
22	o	Умеренный	17.8	7.8	367	260	177
23	o	Умеренный	16.4	8.3	5037	3080	2088
24	o	Повышенный	29.6	6.7	162	115	80

Предварительно все пиявки были идентифицированы посредством морфологического и филогенетического анализа (Гл. 3). Было учтено пять структурных показателей сообществ пиявок, которые были определены для каждой пробы: общее количество видов пиявок, численность, биомасса, индекс плотности населения, количество непаразитических и паразитических пиявок (Табл. 18).

Таблица 18

Структурные показатели гирудофауны

Станция отбора проб	Кол-во видов пиявок	Численность (экз. /м <sup>2</sup> )		Биомасса (г/м <sup>2</sup> )		Индекс плотности населения
		min	max	min	max	
1	7	65	72	3.26	3.61	15.2
2	0	0		0		0
3	8	44	51	0.43	0.5	4.7
4	7	45	53	0.74	0.88	6.3
5	8	68	73	1.2	1.29	9.4
6	7	28	33	1.72	2.02	7.4
7	3	9	11	0.05	0.07	0.8
8	8	53	57	2.12	2.28	11.0
9	0	0		0		0
10	0	0		0		0
11	0	0		0		0
12	1	0	1	0	0	0
13	3	2	4	0	0	0
14	0	0		0		0
15	2	1	3	0	0	0
16	6	57	62	1.26	1.37	8.8
17	4	31	33	0.13	0.15	2.2
18	7	44	50	0.9	1.02	6.7
19	7	8	14	0	0	0
20	6	31	35	0.09	0.11	1.8
21	4	21	27	1.01	1.29	5.3
22	6	58	62	1.72	1.84	10.3
23	1	0	1	0	0	0
24	5	12	15	0.39	0.49	2.5

Приведенные данные были проанализированы методом многомерного шкалирования. Степень влияния числовых абиотических переменных на формирование видового разнообразия и численность пиявок была оценена при помощи коэффициента детерминации (далее  $R^2$ ) и перестановочных тестов. Перестановочный тест необходим для оценки статистической достоверности значения коэффициента детерминации, показатель которого обуславливает долю вариабельности видового состава, определяемую фактором среды. При этом, чем ближе значение  $R^2$  к числу 1, тем более выражено влияние параметра окружающей среды на сообщество гирудинид. Кроме того, воздействие фактора считается достоверными при значении P value < 0.05.

Таблица 19

Результаты анализа влияния факторов на видовой состав сообщества пиявок

Наименования фактора	R <sup>2</sup>	P_value
Т	0.126	0.244
рН	0.076	0.439
Электропроводность	0.048	0.593
Минерализация	0.049	0.589
Соленость	0.049	0.591
<b>Уровень загрязнения</b>	<b>0.255</b>	<b>0.050</b>
<b>Тип водной среды</b>	<b>0.600</b>	<b>0.001</b>

Исходя из полученных результатов, данным критериям соответствуют два фактора: уровень загрязнения и тип водной среды (Табл. 19). При этом значение коэффициента детерминации R<sup>2</sup> для фактора загрязнения (R<sup>2</sup>=0.255) приблизительно в 2.35 раза меньше чем для фактора региона отбора проб (R<sup>2</sup>=0.6). Это говорит о том, что тип водной среды, оказывает влияние на гирудофауну в большей степени.

Остальные рассматриваемые факторы (температура в момент отбора проб, рН, электропроводность, минерализация, соленость) не оказали достоверного влияния на популяционные показатели пиявок в пробах. Для того чтобы определить, на какие показатели сообществ данные факторы оказывают воздействие, был применен критерий Фишера (Табл. 20).

Таблица 20

Результаты оценки достоверности и интенсивности влияния факторов на различные популяционные показатели гирудофауны

Показатель разнообразия	Значение F статистики	P_value
<b>Общее количество видов</b>	<b>5.752</b>	<b>0.00201</b>
<b>Общая численность</b>	<b>2.855</b>	<b>0.0413</b>
Биомасса	1.91	0.137
Количество макрофаговых пиявок	1.36	0.286
<b>Количество паразитических пиявок</b>	<b>3.624</b>	<b>0.0168</b>

Результаты оценки достоверности и интенсивности влияния фактора принадлежности пробы к определенному региону отбора образцов на различные количественные показатели в сообществе пиявок, полученные с помощью однофакторного дисперсионного анализа показали, что достоверно в зависимости

от вышеназванных факторов находятся показатели видового разнообразия, общая численность и количество паразитических пиявок.

Значения абиотических переменных относящихся к окружающей среде были отображены на диаграмме рассеяния (Рис. 30).

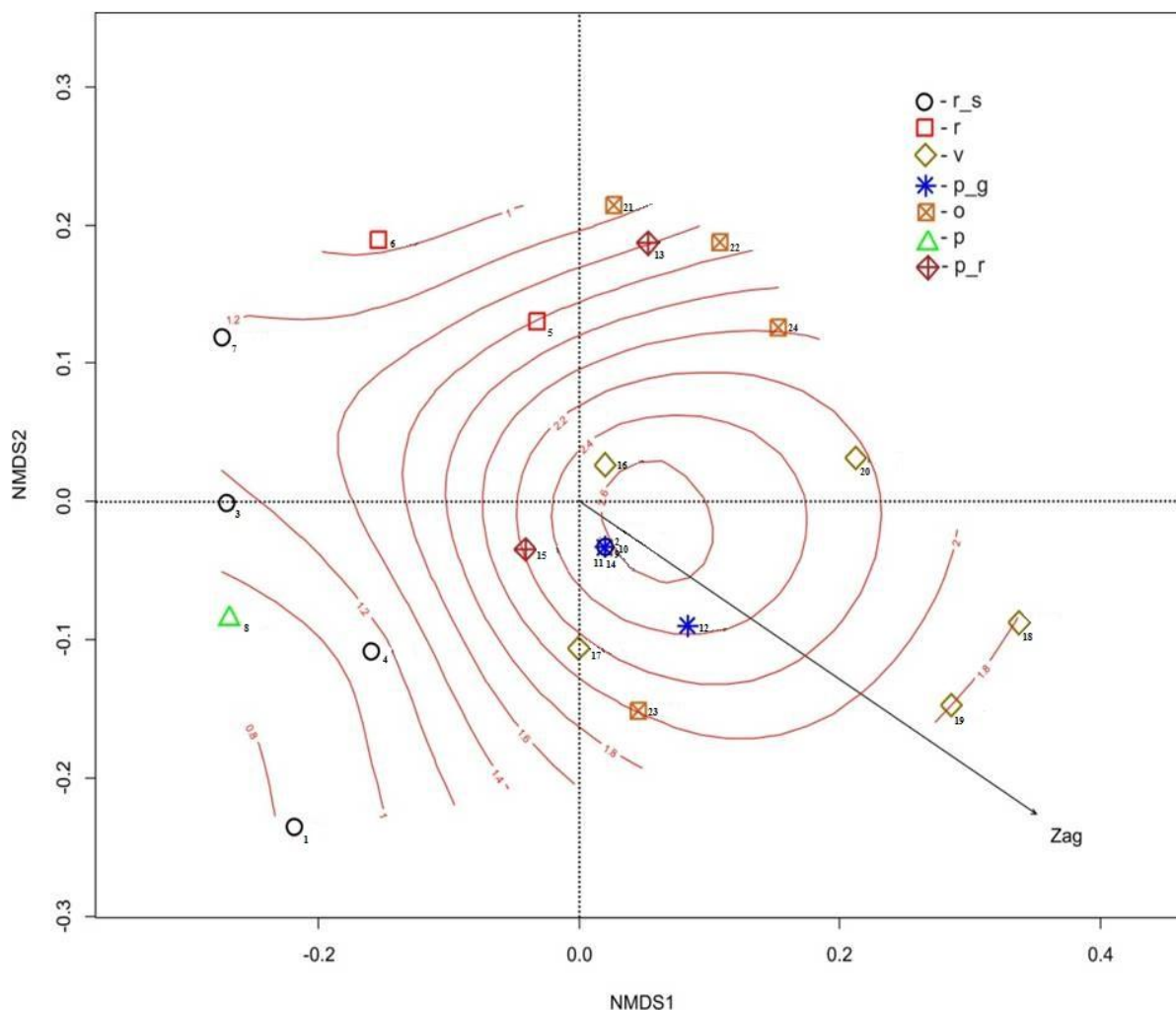


Рис. 30. Диаграмма рассеяния точек сбора материала в пространстве двух координат по результатам неметрического многомерного шкалирования, проведенного по сходству видового состава сообщества пиявок. Стрелкой показан вектор увеличения уровня загрязнения как фактора, достоверно влияющего на состав сообщества пиявок. Изолинии показывают распределения уровня загрязненности в исследуемых пробах. Различными типами геометрических фигур выделена принадлежность точек сбора к определенным типам водных сред.

Визуализация результата многомерного шкалирования в виде диаграммы рассеяния (Рис. 30) показывает, что изолинии уровня загрязнения образуют замкнутые, близкие к окружностям кривые, демонстрирующие убывание уровня загрязнения по мере удаления от начала координат. В центре диаграммы

рассеяния в области высоких уровней загрязнения (пробы 2, 9, 10, 11, 14) находятся точки с минимальным уровнем видового разнообразия пиявок, на периферии диаграммы в областях с минимальными уровнями загрязнения находятся пробы, в которых встречалось максимальное количество видов с высокими показателями разнообразия и численности.

С повышением уровня загрязнения происходит перераспределение доминирующих видов пиявок и снижения количества видов и численности пиявок. В водных экосистемах с высоким уровнем загрязнения воды, встречаются одиночные особи, вероятно наиболее устойчивые к воздействию различных загрязняющих веществ. К ним можно отнести *Erpobdella* sp. 3, *H. stagnalis*, *Erpobdella* sp. 2 (Табл. 17). На участках бассейна реки Иртыш, подвергающихся наиболее сильному антропогенному воздействию, наблюдается обеднение видового состава снижение численности и показателя биомассы по сравнению с таковыми на относительно чистых участках реки. Количество видов в водных экосистемах с высоким загрязнением варьирует от 0 до 3 видов, в водоемах и водотоках с повышенным уровнем загрязнения этот показатель находится в пределах от 2 до 6 видов. Наиболее высоких показателей видового разнообразия достигается в водах с умеренным уровнем загрязнения от 1 до 8 видов.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что увеличение уровня загрязнения приводит к обеднению состава сообщества пиявок в исследуемых регионах отбора проб. Влияние типа водной среды на видовое разнообразие сообщества, вероятно, определяется через другие факторы, не рассматриваемые в рамках исследования. В то же время стоит отметить, что наиболее подверженными антропогенному загрязнению экосистемами бассейна р. Иртыш являются горные реки, что согласуется с представленными результатами.

Для определения специфики влияния внешних факторов на гирудофауну пиявок и определения характера их взаимосвязи был также проведен корреляционный анализ, результаты которого отображены в виде тепловой карты, где столбцы и строки были сгруппированы по сходству значений полученных коэффициентов корреляции (Рис. 31).

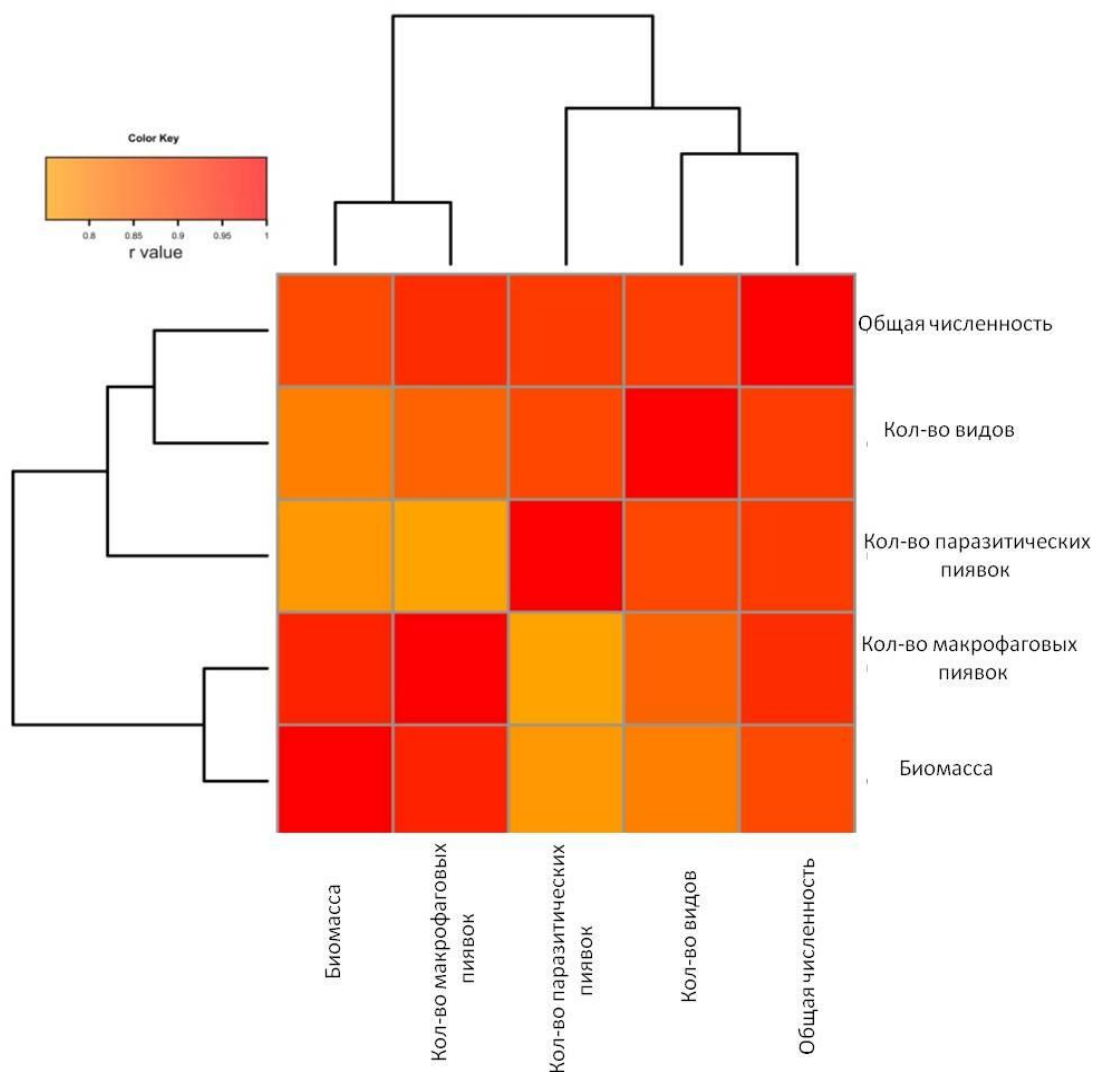


Рис. 31. Тепловая карта корреляционных взаимосвязей между различными количественными показателями, характеризующими биоразнообразие в сообществе пиявок.

Корреляционный анализ показал, что между всеми количественными показателями видового разнообразия (видовое разнообразие, численность, биомасса, количество макрофаговых и паразитических пиявок) существует тесная взаимосвязь, при этом значение коэффициента линейной корреляции между парами рассматриваемых показателей варьирует в диапазоне от 0.71 до 0.94, что говорит о достаточно высокой тесной связи. Положительный коэффициент корреляции говорит о том, что увеличение значение одного из показателей, как правило, приводит к увеличению других популяционных показателей.

Некоторые из оцениваемых показателей видового разнообразия (видовое разнообразие, численность, количество паразитических пиявок) находятся в зависимости от типа водной среды. Опираясь на полученные значения критерия

Фишера (Табл. 20) данный показатель в большей степени влиял на количество видов и количество паразитических пиявок и в меньшей степени на общую численность пиявок.

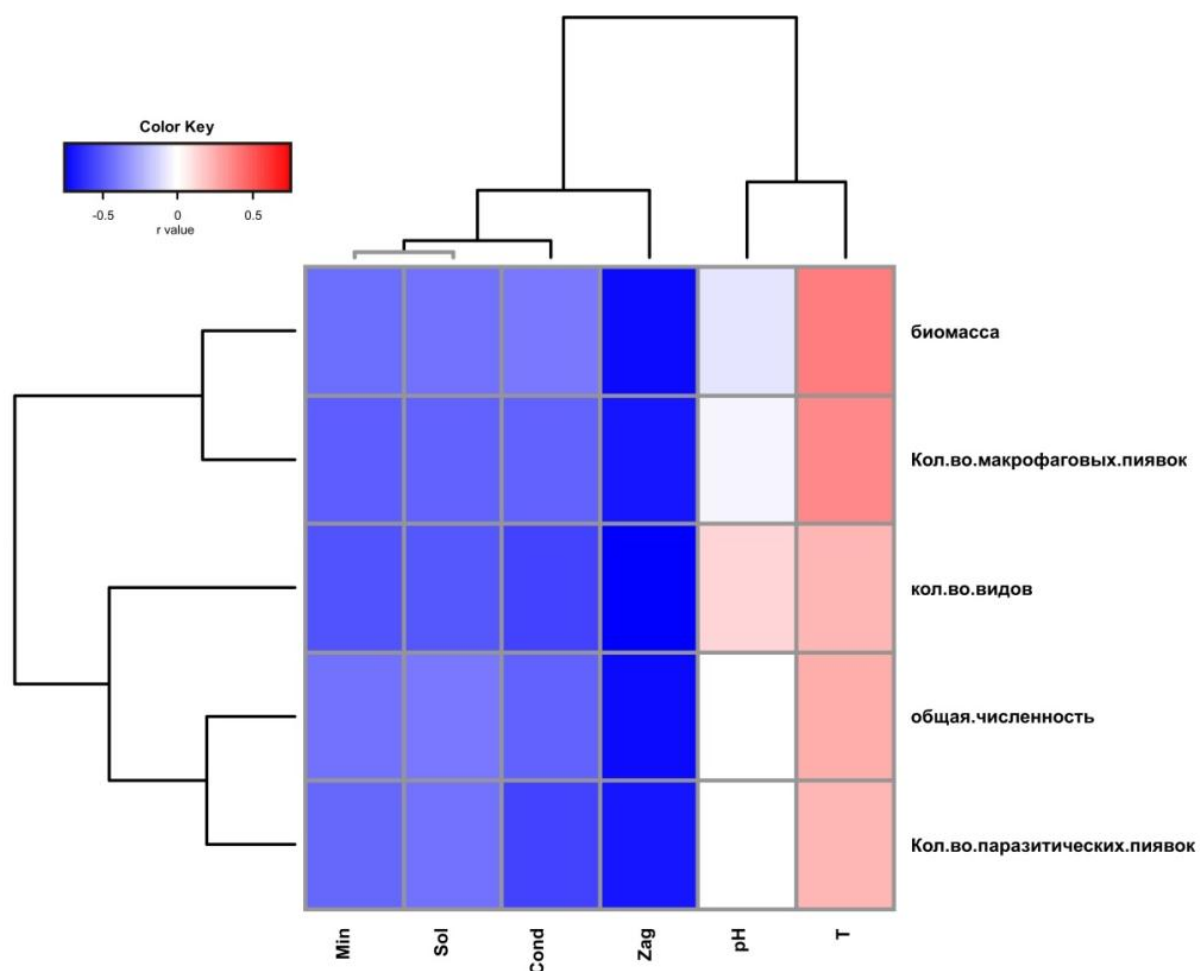


Рис. 32. Тепловая карта, корреляционных взаимосвязей между различными количественными показателями, характеризующими биоразнообразие в сообществе пиявок и количественными абиотическими факторами окружающей среды.

Результаты корреляционного анализа отображают (Рис. 32) следующие результаты – все показатели разнообразия (видовое разнообразие, численность, биомасса, количество макрофаговых и паразитических пиявок) были тесно связаны с уровнем загрязнения в водоемах, значение коэффициента линейной корреляции находилось в районе -0.7. Таким образом, увеличение уровня загрязнения приводит к уменьшению оцениваемых показателей биоразнообразия. Выводы корреляционного анализа для уровня загрязнения согласуются с результатами многомерного шкалирования (Рис. 32). Увеличение других показателей – соленость, электропроводность, минерализация также отрицательно

сказывались на всех показателях биоразнообразия (значение коэффициента корреляции вирировало от -0.55 до -0.39). Однако влияние их было меньшим, нежели, уровня загрязнения. Косвенно отрицательное влияние увеличение солености, электропроводности, минерализации может объясняться тем, что эти показатели, как правило, возрастают при увеличении уровня загрязнения. Влияние показателя кислотности pH на разнообразие отсутствовало (значение коэффициента корреляции близко к 0). При увеличении температуры все показатели разнообразия в небольшой степени увеличивались (значение коэффициента корреляции вирировало от 0.22 до 0.37). В особенности температура сказывалась на биомассе ( $r=0.37$ ) и количестве макрофаговых пиявок ( $r=0.36$ ).

В результате проведенного статистического анализа было определено влияние различных физико-химических показателей на сообщества пиявок. Также определено достоверное влияние уровня загрязнения на гирудофауну.

Таким образом, в ходе исследования нами была предпринята попытка проанализировать пригодность использования пресноводных пиявок в целях биологической оценки качества водной среды в бассейне р. Иртыш, посредством изучения взаимоотношения организмов и окружающей среды, а также степени влияния на них экологического стресса.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что увеличение уровня загрязнения приводит к обеднению состава сообщества пиявок в исследуемых регионах отбора проб. Следовательно, оценка видового богатства гирудофауны может быть успешно использована в качестве косвенного индикатора уровня загрязнения пресных водоемов.

Приведенные в данной главе результаты позволили определить структуру гирудофауны и установить закономерность распределения пиявок в различных типах водных сред. Используя методы многомерной статистики, были выявлены важные закономерности и факторы, которые оказывают влияние на изменения в составе сообществ пиявок. Раскрыты экологические факторы, определяющие особенности биологического разнообразия гирудинид и влияющие на структуру

видового разнообразия. Установлено, что в водных средах бассейна р. Иртыш, подверженных сильному антропогенному загрязнению наблюдается снижение численности и биомассы, обеднение видового состава за счет выпадения наиболее чувствительных видов.

## Выводы

1. На основе оригинальных молекулярных данных и морфологического исследования определено видовое разнообразие гирудофауны бассейна р. Иртыш, включающее 12 видов пиявок, семь из них являются потенциально новыми для науки (*Alboglossiphonia* sp., три *Glossiphonia* sp. и три *Erpobdella* sp.). *Theromyzon tessulatum* и *Haemopis sanguisuga* указываются впервые для Восточного Казахстана. Следовательно, видовой состав фауны исследуемой территории увеличен на 75%. Представленность мировой гирудофауны в бассейне р. Иртыш составляет 1.63%.
2. Определена структура гирудотаксоценозов водоемов бассейна Иртыша. Показано, что доминирующими видами практически во всех типах водных сред являются *Hellobdella stagnalis* ( $Di = 19.1$ ), *Erpobdella* sp. 2 ( $Di = 10.9$ ) и *Erpobdella* sp. 3 ( $Di = 10.1$ ). К субдоминантным видам относятся *E. octoculata* ( $Di = 5.5$ ), *Glossiphonia* sp. 1 ( $Di = 4.9$ ), *Alboglossiphonia* sp. ( $Di = 3.4$ ), и *H. marginata* ( $Di = 3.0$ ). Массовое развитие пиявок *Glossiphonia* sp. 1 наблюдалось в протоке Иртыша ( $Di = 52.7$ ).
3. Показатели видового разнообразия и общей численности пиявок находятся в прямой зависимости от типа водной среды и уровня загрязнения. Коэффициент детерминации для фактора загрязнения составил 0.255, а для типа водной среды 0.6, что свидетельствует о том, что тип водной среды оказывает влияние на гирудофауну в большей степени.
4. Структурные показатели сообщества гирудинид имеют отрицательную корреляцию с физико-химическими показателями водной среды: соленостью, электропроводностью, минерализацией (значение коэффициента корреляции от -0.55 до -0.39) и положительную корреляцию с температурой воды (значение коэффициента корреляции от 0.22 до 0.37).
5. Определение структурных показателей сообществ пиявок позволяет охарактеризовать состояние экосистемы и отображает степень загрязненности поверхностных вод. С повышением уровня загрязнения происходит перераспределение доминирующих видов пиявок и снижение видового

разнообразия и численности. В водоемах с повышенным уровнем загрязнения встречаются одиночные особи устойчивые к воздействию различных загрязняющих веществ. К ним можно отнести *H. stagnalis*, *Erpobdella* sp. 2 и *Erpobdella* sp. 3. В водных экосистемах с высоким уровнем загрязнения пиявки не обитают.

### Список литературы:

1. Абрамсон, Н. И. Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов / Н. И. Абрамсон // Труды зоологического института РАН. – 2009. – С. 185-198.
2. Абубакирова, К. Д. Состояние водных ресурсов Республики Казахстан / К. Д. Абубакирова, Т.А. Базарбаева // Наука и новые технологии. География, экология, геология. – 2014. – № 2. – С. 62-64.
3. Авыкян, А. Б. Водохранилища, их влияния на природу и хозяйство, принципы создания / А. Б. Авыкян // Вестник РАН. – 1973. – № 11. – С. 42-51.
4. Безматерных, Д. М. Уровень минерализации воды как фактор формирования зообентоса озер Барабинско-Кулундинской лимнобиологической области / Д. М. Безматерных // Мир науки, культуры, образования. – 2007. – № 4 (7). – С. 7-11.
5. Бейсембаева, М. А. Оценка многолетней динамики водного стока Верхнего Иртыша в целях устойчивого водопользования / М. А. Бейсембаева, Л. И. Дубровская // Вестник ТГУ. – 2014. – № 379. – С. 189-195.
6. Березина, Н. А. Резистентность пресноводных беспозвоночных к изменению минерализации воды / Н. А. Березина // Экология. – 2003. – № 4. – С. 296-301.
7. Березовиков, Н. Н. Шульбинское водохранилище – новый очаг гнездования водоплавающих и околоводных птиц в бассейне Верхнего Иртыша / Н. Н. Березовиков // Русский орнитологический журнал. – 2013. – Т. 22 (873). – С. 1121-1129.
8. Бурлибаев, М. Ж. Динамика режима гидрохимических токсикологических параметров в трансграничной реки Иртыш и характер их трансформации / М. Ж. Бурлибаев, Н. А. Амиргалиев, Е. Ж. Муртазин, И. В. Шенбергер, А. С. Перевалов, Д. М. Бурлибаева // Водное хозяйство Казахстана. – 2012. – № 12 (50). – С. 9-20.
9. Бурлибаев, М. Ж. Затопление поймы Иртыша – главный фактор устойчивого развития речной экосистемы / М. Ж. Бурлибаев, С. И. Куц, Б. В.

Фашевский, А. Г. Царегородцева, И. В. Шенбергер, Д. М. Бурлибаева, А. М. Айтуреев. – Алматы: Изд-во: «Каганат», 2014. – 396 с.

10. Бурлибаев, М. Ж. Проблемы загрязнения основных трансграничных рек Казахстана / М. Ж. Бурлибаев, Н. А. Амиргалиев, И. Шенбергер, В. А. Скольский, Д. М. Бурлибаева, Д. В. Увасов, Д. А. Смирнова, А. В. Ефименко, Д. Ю. Милюков. – Алматы: Изд-во «Каганат», 2014. – Т. 1. – 744 с.

11. Винокуров, Ю. И. Региональные экологические проблемы в трансграничных бассейнах рек Урал и Иртыш / Ю. И. Винокуров, А. А. Чибилев, Б. А. Красноярова, В. М. Павлейчик, С. Г. Платонова, Ж. Т. Сивохип // Известия РАН. Серия географическая. – 2010. – № 3. – С. 95-104.

12. Галушак, С. С. Некоторые биологические характеристики популяции сибирского ельца (*Leuciscus leuciscus baicalensis*) из водоема, загрязненного ртутью / С. С. Галушак // Вестник КазГУ серия Экологическая. – 2003. – №2 (13). – С. 87-89.

13. Гильманов, Д. Традиционная энергетика Казахстана: экологические проблемы и пути их решения / Д. Гильманов, Н. Г. Джумамухамбетов, В. А. Яшков // Техника и технологии: пути инновационного развития. сб. науч. трудов 4-й международной научно-практической конференции (29-30 июня). – Курск, 2014. – С. 82-86.

14. Девятков, В. И. О разнообразии макрозообентоса Бухтарминского водохранилища в 2005–2009 гг. / В. И. Девятков // Вестник Казахского национального ун-та им. аль Фараби. Сер.экологическая. – 2012. – № 1 (33). – С. 162-165.

15. Демшин, Н. И. Олигохеты и пиявки как промежуточные хозяева гельминтов / Н. И. Демшин. – Новосибирск: Изд-во: «Наука», 1975. – 190 с.

16. Доровских, Г. Н. Итоги изучения видового состава паразитов рыб бассейнов рек Северо-Востока Европейской России. Пиявки (Hirudinea), моллюски (Mollusca), раки (Crustacea), паукообразные (Arachnida) / Г. Д. Доровских // Паразитология. – 2000. – Вып. 2. – С. 158-163.

17. Евсеева, А. А. Макрозообентос реки Ульба (Восточный Казахстан) в условиях антропогенной нагрузки / А. А. Евсеева, Л. В. Яныгина // Мир науки, культуры, образования. – 2010. – № 6 (25). – С. 258-262.
18. Евсеева, А. А. Особенности использования кормовой базы рипусом в Бухтарминском водохранилище / А. А. Евсеева // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2011. – №5 (51). – С. 56-61.
19. Евсеева, А. А. Оценка экологического состояния Усть-Каменогорского водохранилища по показателям зоопланктона / А. А. Евсеева // Гидрометеорология и экология. – 2010. – № 4. – С. 141-148.
20. Жукова, О. Н. Минерализация как фактор формирования зообентоса озер юга Обь-Иртышского междуречья / О. Н. Жукова, Д. М. Безматерных // Труды ЗИН РАН. – 2013. – Т. 317 (3). – С. 120-127.
21. Зинченко, Т. Д. Соленая толерантность донных организмов речных вод (обзор) / Т. Д. Зинченко, Л. В. Головатюк // Аридные экосистемы. – 2013. – Т. 19. – № 3 (56). – С. 5-11.
22. Изюмова, Н. А. Паразитофауна рыб водохранилищ СССР и пути ее формирования / Н. А. Изюмова. – Ленинград: Наука, 1977. – 284 с.
23. Кайгородова, И. А. Молекулярная идентификация байкальских рыбьих пиявок / И. А. Кайгородова, Е. Ю. Петряева // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология, Экология». – 2014. – Т. 7. – С. 27-31
24. Кайгородова, И. А. Молекулярная филогения сибирских пиявок семейства Glossiphoniidae (Hirudinea) / И. А. Кайгородова, Н. Б. Манзяк // Молекулярная биология. – 2014. – Т. 48. – № 3. – С. 523-527.
25. Карта реки Иртыш. От 2048 км до Омска. – Омск, ФБУ «Администрация Обь-Иртышводпуть», 2015. – 14 с.
26. Ковальчук, Л. А. Видовое разнообразие пиявок, обитающих в водоемах Среднего Урала / Л. А. Ковальчук, Л. В. Черная // Экология. – 2003. – № 2. – С. 154-156.

27. Козлов, Л. Н. Иртышско-Обская глубоководная магистраль от Китая до северного морского пути в составе транспортно-энергетической водной системы (ТЭВС) Евразии / Л. Н. Козлов, А. А. Беляков // Евразийская экономическая интеграция. – 2009. – № 3 (4). – С. 132-143.
28. Куликов, Е. В. Возможные последствия для рыбного хозяйства на Иртыше увеличения забора воды в КНР / Е. В. Куликов // Известия Челябинского научного центра. – 2007. – Вып. 4 (38). – С.55-58.
29. Куликов, Е. В. Рекомендации по улучшению состояния рыбных ресурсов водоемов Зайсан-Иртышского бассейна / Е. В. Куликов, И. О. Кириченко, Е. В. Куликова, В. И. Девятков, А. А. Евсеева. – Астана, 2011. – 46 с.
30. Лада, Г. А. Черепашья пиявка *Haementeria Costata*: новый вид фауны Тамбовской области / Г. А. Лада / Вестник ТГУ. – 2015. – Т.20. – Вып. 1. – С. 183-184.
31. Лапкина, Л. Н. Зараженность рыб пиявками (сем. Piscicolidae) в волжских водохранилищах / Л. Н. Лапкина, Т. И. Жарикова, А. М. Свирский // Паразитология. – 2002. – № 36 (2). – С. 132-139.
32. Лукашов, В. В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ / В. В. Лукашов. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – С. 136-138.
33. Лукин, Е.И. Пиявки пресных и солоноватых водоемов (фауна пиявок СССР) / Е. И. Лукин. – Ленинград: Наука, 1976. – 284 с.
34. Магомедов, М. А. Влияние органолептических показателей экосистем на видовой и численный состав фауны пиявок в низменном и предгорном Дагестане / М. А. Магомедов, Ш. К. Алиев // Изв. Дагестанского гос. педагогич. ун-та. Естественные и точные науки. – 2011. – № 4. – С. 44-47.
35. Монаков, А. В. Питание пресноводных беспозвоночных / А. В. Монаков. – М.: Наука, 1998. – 321 с.
36. Мустафаев, К. Ж. Водный след производства Республики Казахстан / К. Ж. Мустафаев, Н. И. Иванова // Вестник КРСУ. – 2015. – Т. 15. – №. 5. – С. 185-188.

37. Основы палеонтологии. Губки, археоцеаты, кишечнополостные, черви / под ред. Ю.А. Орлова. – М. : Изд-о Академии наук СССР, 1962. – Т. 2. – 718 с.
38. Пальгов, Н. Н. Реки Казахстан (физико-географический очерк) / Пальгов Н. Н. – Алма-Ата: Изд-во Академии наук КазССР, 1959. – 100 с.
39. Плащев, А. В. Гидрография СССР / Плащев А. В., Чекмарев В. А. – Л. : Гидрометиздат, 1967. – 287 с.
40. Раткович, Л. Д. Влияние переброски стока в Китайской Народной Республике на состояние водохозяйственного комплекса реки Иртыш / Л. Д. Раткович, Ю. А. Романова // Природообустройство. Гидравлика, гидрология, водные ресурсы. – 2011. – № 5.– С. 71-75.
41. Регель, К. В. О таксономическом положении аплопараксидных метацестод, обнаруженных у пиявок *Erpobdella octoculata* в бассейне верхней Колымы / К. В. Регель // Труды центра паразитологии. – 2016. – Т. 49. – С. 121-123.
42. Романова, Е. М. Биоресурсы класса Hirudinea в зоне среднего Поволжья: экологическая значимость и перспективы использования / Е. М. Романова, О. М. Климина // История Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – № 1 (12). – С. 208-211.
43. Романова, Е. М. Роль пиявок в биологическом механизме аккумуляции токсикантов / Е. М. Романова, О. М. Климина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2009. – № 1 (9). – С. 85-88.
44. Романова, С. М. Бессточные водоемы Казахстана. Гидрохимический режим / С. М. Романова. – Алматы: Қазақ. ун-ті, 2008. – Т. 1. – 250 с.
45. Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем / под ред. В.А. Абакумова. – СПб: Гидрометеиздат, 1992. – 320 с.
46. Савкин, В. М. Водохранилища Сибири, водно-экологические и водно-хозяйственные последствия их создания / В. М. Савкин // Сибирский экологический журнал. – 2000. – № 2. – С. 109-121.

47. Сарсембенова, О. Ж. Уровень загрязнения поверхностных вод в районах влияния городов и промышленных центров / Сарсембенова О. Ж. // Научный альманах. – 2015. – № 9 (11). – С. 809-812.

48. Севастьянова, Ю. М. Эколого-географическое состояние реки Иртыш / Ю. М. Севастьянова, Г. С. Ажаев // Вестник ПГУ. Серия химико-биологическая. – 2012. – № 2.– С. 115-121.

49. Сизов, О. С. Опыт применения дистанционных методов для оценки экологических рисков трансграничных бассейнов (на примере р. Иртыш) / О. С. Сизов, С. Г. Платонова, Е. Д. Кошелева, А. Б. Голубева // Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее: материалы II междунар. конф. (20-24 сентября 2010 г.). – Горно-Алтайск: Изд-во ГАГУ, 2010. – С. 252-255.

50. Сляднев, А.П. Географические основы климатического районирования и опыт их применения на Юго-Востоке Западно-Сибирской равнины / А. П. Слядев // География Западной Сибири, Новосибирск. – 1965. – Вып. 21. – С. 3-122.

51. Сыдыкова, И. О. Потенциальные источники загрязняющих веществ в водотоках и водоемах Восточно-Казахстанской области / И. О. Сыдыкова // Проблемы рационального использования и геоэкологии Восточного Казахстана. – 1998. – С. 17-21.

52. Умарова, А. К. Роль антропогенного фактора в бассейне Среднего Иртыша / А. К. Умарова, А. В. Убаськин // Вестник СГУ им. Шакарима. – 2015. – № 2 (70). – С. 75-78.

53. Филонец, П. П. Содержание микроэлементов в озерных водах Восточного Казахстана / П. П. Филонец, Ю. П. Филонец // Труды КазНИГМИ. Исследование озер и водохранилищ. – 1975. – Вып. 52.– С. 168-172.

54. Фролова, Н. Л. Гидроэкологические ограничения водопользования в бассейне Иртыша / Н. Л. Фролова, И. Б. Воробьевский // Вестник Московского университета. Серия география. – 2011. – № 6.– С. 34-42.

55. Хайбулаев, К. Х. Изучения развития трипаносом (*Trypanosoma*) и криптобий (*Cryptobia*) карпа и линя в пиявке *Piscicola geometra* / К. Х. Хайбулаев, М. А. Гусейнов // Паразитология. – 1985. – Т. 19. – Вып. 1. – С. 75-77.
56. Хайбулаев, К. Х. О роли пиявок в жизненном цикле кровепаразитов рыб / К. Х. Хайбулаев // Паразитология. – 1970. – IV (1). – С. 13-17.
57. Целищева, Л. Рачья пиявка (*Branchiobdella Astaci* Odier, 1823) в Кировской области / Л. Целищева // Вестник ИБ. – 2008. – № 4. – С. 31-32.
58. Черная, Л. В. Географическая и сезонная изменчивость аминокислотного состава тканей пресноводной пиявки *Haemopis sanguisiga* (L., 1758) / Л. В. Черная // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – С. 1353.
59. Черная, Л. В. Свободные аминокислоты пиявок с различной трофической организацией / Л. В. Черная, Л. А. Ковальчук // Вестник ОГУ. – 2008. – № 10 (92). – С. 225-229.
60. Черная, Л. В. Содержание тяжелых металлов в тканях пиявок обитающих в озерах Южного Урала / Л. В. Черная, Л. А. Ковальчук // Вестник ОГУ. – 2010. – № 12 (118). – С. 65-68.
61. Черная, Л. В. Фауна пиявок Ильменского заповедника / Л. В. Черная, Л. А. Ковальчук // Известия Челябинского научного центра. – 2007. – Вып. 1 (35). – С. 123-124.
62. Шаповалов, М. И. Пиявки (Hirudinea) в условиях антропогенной трансформации водных экосистем Северо-Западного Кавказа / М. И. Шаповалов, А. А. Моторин, А. У. Тхабисимова // Вода: Химия и экология. – 2012. – № 4. – С. 61-67.
63. Шитиков В.К. и др. Количественная гидроэкология: методы системной идентификации / В.К. Шитиков, Г.С. Розенберг, Т.Д. Зинченко. – Тольяти: ИЭВБ РАН, 2003. – 463 с.
64. Эпштейн, В. М. Тип кольчатые черви – Annelida / В. М. Эпштейн // Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР – 1987. – Т. 3(2). – С. 340-372.

65. Яковлев, В. А. Пресноводный зообентос северной Фенноскандии (разнообразие, структура и антропогенная динамика) / В.А. Яковлев. – Апатиты: Изд. Кольского научного центра РАН. – 2015. – Ч.1. – 161 с.
66. Adamiak-Brud, Ž. Rate of short-term colonization and distribution of leeches (Clitellata: Hirudinia) on artificial substrates / Ž. Adamiak-Brud, A. Bielecki, J. Kobak, I. Jabłońska-Barna // Journal of Zoology. – 2016. – 299. – P. 191-201.
67. Ahne, W. *Argulus foliaceus* L. and *Piscicola geometra* L. as mechanical vectors of spring viraemia of carp virus (SVCV) / W. Ahne // J. of Fish Diseases. – 1985. – Vol. 8. – P. 241-242.
68. Bajková, J. Species richness and composition patterns of clitellate (Annelida) assemblages in the treeless spring fens: the effect of water chemistry and substrate / J. Bajková, J. Schenková, M. Horsák, M. Hájek // Hydrobiologia. – 2011. – 667. – P. 159-171
69. Barley, A. J. Assessing the performance of DNA barcoding using posterior predictive simulation / A. J. Barley, R. C. Thomson // Molecular ecology. – 2016. – 25. – P. 1944-1957.
70. Barraclough, T. G. Inferring evolutionarily significant units of bacterial diversity from broad environmental surveys of single-locus data / T. G. Barraclough, M. Hughes, N. Ashford-Hodges [et al.] // Biology letters. – Vol. 5. – P. 425-428.
71. Bely, A. E. Lessons from leeches: a call for DNA barcoding in the lab / A. E. Bely, D. A. Weisblat // Evolution & development. – 2006. – 8 (6). – P. 491-501.
72. Beracko, P. Life Cycle and Feeding Habits of *Dina punctata* Johansson, 1927 (Erpobdellidae, Hirudinea) in a Small Carpathian Stream / P. Beracko, V. Košel // Int. Rev. Hydrobiol. – 2011. – 96. – P. 39-47.
73. Beresic-Perrins, R. *Helobdella blinni* sp. n. (Hirudinida, Glossiphoniidae) a new species inhabiting Montezuma Well, Arizona, USA / R. K. Beresic-Perrins, F. R. Govedich, K. Banister, B. A. Bain, D. Rose, S. M. Shuster // ZooKeys. – 2017. – 661. – P. 137-155.

74. Bickford, D. Cryptic species as a window on diversity and conservation / D. Bickford, D. J. Lohman, N. S. Sodhi, P. K. L. Ng, R. Meier, K. Winker, K. K. Ingram, I. Das // Trends in Ecology and Evolution. – 2007. – Vol. 22. – No. 3. – P. 148-155.
75. Bielecki, A. A new leech species (Clitellata: Hirudinida: Piscicolidae) from the Łyna river near Olsztyn, Poland / A. Bielecki, J. M. Cichocka, P. Świątek, M. Gorzel // J Parasitol. – 2013. – 99 (3). – P. 467-74.
76. Bielecki, A. Diversity of features of the female reproductive system and other morphological characters in leeches (Clitellata, Hirudinida) in phylogenetic conception / A. Bielecki, P. Świątek, J. M. Cichocka, M. E. Siddall, A. Z. Urbisz, J. Płachno // Cladistics. – 2014. – 30. – P. 540-554.
77. Borda, E. Arhynchobdellida (Annelida: Oligochaeta: Hirudinida) phylogenetic relationships and evolution / E. Borda, M. E. Siddall // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2004. – 30. – P. 213-225.
78. Brinkhurst, R. O. Annelida: Oligochaeta and Branchiobdellida / R. O. Brinkhurst, S. R. Gelder // Ecology and classification of North American freshwater invertebrates; ed.: J. H. Thorp & A. P. Covich. – San Diego, CA: Academic Press, 1991. – P. 401-435.
79. Brower, V. Z. Phylogeny of Heliconius butterflies inferred from mitochondrial DNA sequences (Lepidoptera: Nymphalidae) / V. Z. Brower // Mol. Phylogenet. Evol. – 1994. – 3 (2). – P. 159-174.
80. Brown, W. M. Mitochondrial DNA Sequences of primates: Tempo and mode of evolution / W. M. Brown, E. M. Prager, A. Wang, A. C. Wilson // J. Mol. Evol. – 1982. – Vol. 18. – P. 252-271.
81. Cadotte, M. W. Experimental evidence that evolutionarily diverse assemblages results in higher productivity / M.W. Cadotte // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2013. – 110. – P. 8996-9000.
82. Chatterjee, N. Genetic assessment of leech species from yak (*Bos grunniens*) in the tract of Northeast India / N. Chatterjee, B. Dhar, D. Bhattacharya, S. Deori, J. Doley, J. Bam, P. J. Das, A. K. Bera, S. M. Deb, N. N. Devi, R. Paul, S. Malvika, S. K. Ghosh // Mitochondrial DNA. Part A. – 2017. – 1-9 p.

83. Cichocka, J. Leech (Clitellata: Hirudinea) of an upland stream: taxonomic composition in relation to habitat condition / J. Cichocka, I. Jabłońska-Barna, A. Belecki, E. Buczyński, R. Stryjecki, D. Pikuła // *Oceanological and Hydrobiological Studies*. – 2015. – Vol. 44. – Is. 2. – P. 245-253.
84. Convention on biological diversity, – United Nations, 1992. – 30 p.
85. Cruz-Lacierda, E. R. Marine leech (*Zeylanicobdella arugamensis*) infestation in cultured orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* / E. R. Cruz-Lacierda, J. D. Toledo, J. D. Tan-Fermin, E. M. Bureson // *Aquaculture*. – 2000. – Vol. 185. – P. 191-196.
86. Culver, M. Genetic methods for biodiversity assessment / M. Culver, R. Fitak, H. Herrmann // *Biological diversity: frontiers in measurement and assessment*; eds.: A. E. Magurran, B.J. McGill. – Oxford: Oxford University Press, 2011. – P. 175-193.
87. Curran, S. S. *Austrobdella cairae* n. sp., an Oioxenous Marine Leech (Clitellata: Piscicolidae) from the Banded Guitarfish, *Zapteryx exasperata*, in the Northeastern Pacific Ocean / S. S. Curran, A. J. Phillips, R. O. Overstreet, G. W. Benz, A. D. Henningsen // *Journal of Parasitology*. – 2016. – 102 (2). – P. 179-186.
88. Czarnecka, M. The role of solid waste materials as habitats for macroinvertebrates in a lowland dam reservoir / M. Czarnecka, M. Poznańska, J. Kobak, N. Wolnomiejski // *Hydrobiologia*. – 2009. – 635. – P. 125-135.
89. Davies, R. W. Leech Parasites of Birds / R. W. Davies, F. R. Govedich, W. E. Moser // *Parasitic diseases of Wild Birds*; ed. G. T. Atkinson. – 2008. – P. 501-515.
90. Davies, T. J. Phylogenetic diversity as a window into the evolutionary and biogeographic histories of present-day richness gradients for mammals / T. J. Davies, L. B. Buckley // *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.* – 2011. – 366 (1576). – P. 2414-2425.
91. Dinnage, R. Diversity of plant evolutionary lineages promotes arthropod diversity / R. Dinnage, M. W. Cadotte, N. M. Haddad, G. M. Crutsinger, D. Tilman // *Ecol. Lett.* – 2012. – 15. – P. 1308-1317.

92. Doyle, J. J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue / J. J. Doyle, J. L. Doyle // *Phytochemistry Bulletin*. – 1987. – 19. – P. 11-15.
93. Drummond, A. J. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 / A. J. Drummond, M. A. Suchard, D. Xie, A. Rambaut // *Mol. Biol. Evol.* – 2012. – Vol. 29 (8). – P. 1969-1973.
94. Dudgeon, D. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges / D. Dudgeon, A. H. Arthington, M. O. Gessner, Z.-I. Kawabata [et al.] // *Biol. Rev.* – 2006. – 81. – P. 163-182.
95. Ecology and general biology. Thorp and covich's freshwater invertebrates / Eds.: J. H. Thorp, D. C. Rogers. – 2015. – Vol. I. – 1118 p.
96. Faisal, M. High prevalence of buccal ulcerations in largemouth bass, *Micropterus salmoides* (Centrarchidae) from Michigan inland lakes associated with *Myzobdella lugubris* Leidy 1851 (Annelida: Hirudinea) / M. Faisal, C. Schulz, A. Eissa, G. Whelan // *Parasite*. – 2011. – Vol. 18. – № 1. – P. 79-84.
97. Faith, D. P. Conservation evaluation and phylogenetic diversity / D. P. Faith // *Biological Conservation*. – 1992. – 61. – P. 1-10.
98. Faith, D. P. Integration phylogenetic diversity, complementary, and endemism for conservation assessment / D. P. Faith, C. A. M. Reid, J. Hunter // *Conservation biology*. – 2004. – Vol. 1. – № 1. – P. 255-261.
99. Fauchald, K. Polychaete phylogeny: a problem in protostome evolution / K. Fauchald // *Systematic Zoology*. – 1974. – Vol. 23. – P. 493-506.
100. Fediras, S. Prevalence of *Placobdella costata* (Fr. Müller, 1846) (Hirudinida: Glossiphoniidae) on the European pond turtle (*Emys orbicularis*) in northeast Algeria / S. Fediras, R. Rouag, N. Ziane, A. Olivier, A. Béchet, S. Benyacoub // *Herpetology Notes*. – 2017. – Vol. 10. – P. 3-8.
101. Felsenstein, J. Evolutionary trees from DNA sequences: maximum likelihood approach / J. Felsenstein // *J. Mol. Evol.* – 1981. – Vol. 17 (6). – P. 368-376.
102. Felsenstein, J. Maximum-likelihood estimation of evolutionary trees from continuous characters / J. Felsenstein // *Am. J. Hum. Genet.* – 1973. – Vol. 25. – P. 471-492.

103. Ferraguti, M. Sperm types and their use for a phylogenetic analysis of aquatic clitellates / M. Ferraguti, C. Ersèus // *Hydrobiologia*. – 1999. – 402. – P. 225-237.
104. Fitch, W. M. Toward defining the course of evolution / W. M. Fitch // *Syst. Biol.* – 1971. – Vol. 20 (4). – P. 406-416.
105. Folmer, O. DNA primer for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates / O. Folmer, M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, R. Vrijenhoek // *Mol. Mar. Biol. Biotech.* – 1994. – 3. – P. 294-299.
106. Frezal, L. Four years of DNA barcoding: current advances and prospects / L. Frezal, R. Leblois // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2008. – Vol. 8. – P. 727-736.
107. Fujisawa, T. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed Yule coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets / T. Fujisawa, T. G. Barraclough // *Syst. Biol.* – 2013. – 62 (5). – P. 707-724.
108. Gernhard, T. The conditioned reconstructed process / T. Gernhard // *J. Theor. Biol.* – 2008. – Vol. 253 (4). – P. 769-778.
109. Giere, O. W. Questidae – Polychaetes with Oligochaetoid morphology and development / O. W. Giere, N. W. Riser // *Zoologica Scripta*. – 1981. – 10. – P. 95-103.
110. Gleick, P. H. Water resources / P. H. Gleick // *Encyclopedia of climate and weather*; ed. S. H. Schneider. – New York: Oxford University Press, 1996 – P. 817-823.
111. Grosser, C. *Glossiphonia balcanica* n. sp. and *Dina prokletijaca* n. sp. (Hirudinida: Glossiphoniidae, Erpobdellidae) – two new leeches from Montenegro and Kosovo / C. Grosser, V. Pešić, V. Berljolli, B. Gligorović // *Ecologica Montenegrina*. – 2016. – 8. – P. 17-26.
112. Grosser, C. Untersuchungen zur Eignung heimischer Hirudineen als Bioindikatoren für Fließgewässer / C. Grosser, D. Heidecke, G. Moritz // *Hercynia N.F.* – 2001. – 34. – P. 101-127.
113. Hall, K. A. Further phylogenetic studies of the Polychaeta using 18S rDNA sequence data / K. A. Hall, P. A. Hutchings, D. J. Colgan // *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. – 2004. – 84. – P. 949-960.

114. Hall, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T.A. Hall // Nucl. Acids. Symp. Ser. – 1999. – 41. – P. 95-98.
115. Hebert, P. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species / P. Hebert, S. Ratnasingham, J. Waard // Proc. R. Soc. Lond. B. – 2003b. – 270 (1). – S96-S99.
116. Hebert, P. Biological identifications through DNA barcodes / P. Hebert, A. Cywinska, S. L. Ball [et al.] // Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. – 2003a. – 270. – P. 313-321.
117. Hebert, P. From writing to reading the encyclopedia of life. / P. Hebert, P. Hollingsworth, M. Hajibabaei // Phil. Trans. R. Soc. B. – 2016. – Vol. 371. – 20150321.
118. Holder, M. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches / M. Holder, P. O. Lewis // Nature Reviews Genetics. – 2003. – Vol. 4. – P. 275-284.
119. Hollander, M. Nonparametric Statistical Methods / M. Hollander, D. A. Wolfe. – New York: John Wiley & Sons, 1973. – P. 185-194.
120. Iwama, R. E. *Helobdella Buzz* n. sp. (Clitellata: Hirudinida), a bromeliad leech from the Brazilian Atlantic Forest / R. E. Iwama, J. M. de M. Nogueira, A. Z. Goncalves // Zootaxa. – 2017. – 4272 (4). – P. 591-595.
121. Jamieson, B. G. M. Parsimony analysis of the phylogeny of some Oligochaeta (Annelida) using spermatozoal ultrastructure / B. G. M. Jamieson, C. Ersèus, M. Ferraguti // Cladistics 3. – 1987. – P. 145-155.
122. Jördens, J. Phylogenetic inference regarding Parergodrilidae and *Hrabeiella periglandulata* (“Polychaeta”, Annelida) based on 18S rDNA, 28S rDNA and COI sequences / J. Jördens, T. H. Struck, G. Purschke // Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research. – 2004. – 42. – P. 270-280.
123. Kaygorodova, I. A. A revised checklist of the Baikal Hirudinida fauna / I. A. Kaygorodova // Lauterbornia. – 2012. – 75. – P. 49-62.
124. Kaygorodova, I. A. Genetic diversity of leeches in Lake Gusinoe (Eastern Siberia, Russia) / I. A. Kaygorodova, N. B. Mandzyak, E. Y. Petryaeva // The Scientific World Journal. – 2014. – 2014. – P. 1-11.

125. Kazanci, N. Hirudinea (Annelida) species and their ecological preferences in some running waters and lakes / N. Kazanci, P. Ekingen, M. Dügel, G. Türkmen // Int. J. Environ. Sci. Technol. – 2015. – 12. – P. 1087-1096.
126. Khan, R. A. Host-parasite interactions in some fish species / R. A. Khan // Journal of Parasitology Research. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-7.
127. Kim, C. Phylogenetic relationships of annelids, molluscs, and arthropods evidenced from molecules and morphology / C. Kim, S. Moon, S. Gelder, W. Kim // Journal of Molecular Evolution. – 1996. – 43. – P. 207-215.
128. Klemm, D.J. Leeches (Annelida: Hirudinea) of North America / Klemm D.J. – Cincinnati: United States Environmental Protection Agency: Environmental and Support Laboratory, 1982. – 177 p.
129. Koperski, P. Searching for cryptic species in *Erpobdella ocloulata* (L.) (Hirudinea: Clitellata): discordance between the results of genetic analysis and cross-breeding experiments / P. Koperski, R. Milanowski, A. Krzyk // Contributions to Zoology. – 2011. – 80 (1). – P. 85-94.
130. Koperski, P. Testing the suitability of leeches (Hirudinea, Clitellata) for biological assessment of lowland streams / P. Koperski // Polish Journal of Ecology. – 2005. – 1. – P. 65-80.
131. Kubová, N. Tolerance, optimum ranges and ecological requirements of free-living leech species (Clitellata: Hirudinida) / N. Kubová, J. Schenková // Fundam. Appl. Limnol. – 2014. – Vol. 185/2. – P. 167-180.
132. Kumar, S. MEGA 7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. – 2016. – 33. – P. 1870-1874.
133. Lajus, D. Cryptic or pseudocryptic: can morphological methods inform copepod taxonomy? An analysis of publications and a case study of the *Eurytemora affinis* species complex / D. Lajus, N. Sukhikh, V. Alekseev // Ecology and Evolution. – 2015. – 5 (12). – P. 2374-2385.

134. Lankau, R. Incorporating evolutionary principles into environmental management and policy / R. Lankau, P.T. Jorgensen, D. J. Harris, A. Sih // *Evol. Appl.* – 2011. – 4. – P. 315-325.
135. Larkin, M. Clustal W and Clustal X version 2.0 / M. Larkin, G. Blackshields, N. Brown [et al.] // *Bioinformatics.* – 2007. – 23. – P. 2947-2948.
136. Lavergne, S. Biodiversity and climate change: integrating evolutionary and ecological responses of species and communities / S. Lavergne, N. Mouquet, W. Thuiller, O. Ronce // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* – 2010. – 41. – P. 321-350.
137. Li, W.H. *Molecular Evolution* / W. H. Li. – USA Sunderland Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers, 1997. – 487 p.
138. Lyashevskaya, O. How many dimensions of biodiversity do we need? / O. Lyashevskaya, K. D. Farnsworth // *Ecol. Indic.* – 2012. – 18. – P. 485-492.
139. López-Jiménez, S. New species of Rhynchobdellid leech (Hirudinea: Glossiphoniidae): a parasite of turtles from Chiapas, Mexico / S. López-Jiménez, A. Ocegüera-Figueroa // *Journal of Parasitology.* – 2009. – 95 (6). – P. 1356-9.
140. Manenti, R. Parasitism of the leech, *Batracobdella algira* (Moquin-Tandon, 1846), on Sardinian cave salamanders (Genus *Hydromantes*) / R. Manenti, E. Lunghi, C. Canendoli, M. Bonaccorsi, G. F. Ficetola // *Herpetozoa.* – 2016. – 29 (1/2). – P. 27-35.
141. Mann, K. H. *Leeches (Hirudinea) their structure, physiology, ecology and embryology* / K. H. Mann. – New York: Pergamon Press, 1962. – Vol. 11. – 201 p.
142. Mann, K.H. The ecology of the British Freshwater leeches / K. H. Mann // *Journal of Animal Ecology.* – 1955. – Vol. 24. – № 1. – P. 98-119.
143. Martin, P. On the origin of the Hirudinea and the demise of the Oligochaeta / P. Martin // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences.* – 2001. – 268. – P. 1089-1098.
144. Minelli, A. Fauna Europaea: Annelida – Hirudinea, incl. Acanthobdellea and Branchiobdellea / A. Minelli, B. Sket, Y. Jong // *Biodiversity Data Journal.* – 2014. – 2. – e4015.

145. Mouquet, N. Ecophylogenetics: advances and perspectives / N. Mouquet, V. Devictor, C.N. Meynard, F. Munoz, L.-F. Bersier [et al.] // *Biol. Rev.* – 2012. – 87. – P. 769-785.
146. Mulcahy, D. Isolation of infectious hematopoietic necrosis virus from a leech (*Piscicola salmositica*) and a copepod (*Salminocola sp.*), ectoparasites of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* / D. Mulcahy, D. Klaybor, W. N. Batts // *Diseases of Aquatic Organisms.* – 1990. – Vol. 8. – P. 29-34.
147. Nakamura, G. Functional and phylogenetic dimensions are more important than the taxonomic dimension for capturing variation in stream fish communities / G. Nakamura, W. Vicentin, Y. R. Suárez // *Austral ecology.* – 2017. – P. 1-11.
148. Nakano, T. A new species of Orobdella (Hirudinida, Arhynchobdellida, Orobdellidae) from Taipei, Taiwan / T. Nakano, Y.-T. Lai // *ZooKeys.* – 2012. – 207 (207). – P. 49-63.
149. Nakano, T. First record of *Limnatis paluda* (Hirudinida, Arhynchobdellida, Praobdellidae) from Kazakhstan, with comments on genetic diversity of *Limnatis* leeches / T. Nakano, T. Dujsebajeva, K. Nishikawa // *Biodiversity Data Journal.* – 2015. – 3. – e5004.
150. Neesemann, H. Clitellata, Branchiobdellada, Acanthobdellada, Hirudinea / H. Neesemann, E. Neubert; eds.: J. Schwoebel, P. Zwig. – *Susswasserfauna von Mitteleuropa.* Heidelberg, Berlin: Spectrum Akademischer Verlag, 1999. – 6 (2). – 178 p.
151. Oksanen, J. The vegan package / J. Oksanen, R. Kindt, P. Legendre, B. O'Hara, M. Stevens, M. J. Oksanen, M. A. S. S. Suggests // *Community ecology package.* – 2007. – 10. – P. 631-637.
152. Pfeiffer, I. Molecular phylogeny of selected predaceous leeches with reference to the evolution of body size and terrestriality / I. Pfeiffer, B. Brenig, U. Kutschera // *Theory in Biosciences.* – 2005. – 124. – P. 55-64.
153. Pimm, S. L. Can we defy nature's end? / S. L. Pimm, M. Ayres, A. Balmford, G. Branch, K. Brandon, T. Brooks // *Science.* – 2001. – 293. – P. 2207-2208.

154. Pons, J. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects / J. Pons, T. G. Barraclough, J. G. Gomes-Zurita, A. Cardoso, D. P. Hazell // *Syst. Biol.* – 2006. – 55 (4). – P. 595-609.
155. Posada, D. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging / D. Posada // *Mol. Biol. Evol.* – 2008. – Vol. 25. – № 7. – P. 1253-1256.
156. Proctor, R.M. The life history, diet and migration of a lake-dwelling population of the leech *Alboglossiphonia heteroclita* (L.) / R. M. Proctor, J. O. Young // *Hydrobiologia.* – 1987. – 150. – P. 133-139.
157. Puillandre, N. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation / N. Puillandre, A. Lambert, S. Brouillet, G. Achaz // *Molecular Ecology.* – 2012. – Vol. 21. – P. 1864-1877.
158. Purschke, G. Terrestrial polychaetes - models for the evolution of the Clitellata (Annelida)? / G. Purschke // *Hydrobiologia.* – 1999. – 406. – P. 87-99.
159. Purvis, A. Nonrandom extinction and the loss of evolutionary history / A. Purvis, P. M. Agapow, J. L. Gittleman, G. M. Nonrandom // *Science.* – 2000. – 288. – P. 328-330.
160. Reed, D.H. Impact of climate change on Biodiversity / D. H. Reed // *Handbook of climate change mitigation and adaptation.* – 2017. – P. 595-620.
161. Richardson, D. J. A new species of leech of the genus *Placobdella* (Hirudinida, Glossiphoniidae) from the American alligator (*Alligator mississippiensis*) in Mississippi, USA / D. J. Richardson, W. E. Moser, Ch. I. Hammond, E. A. Lazo-Wasem, C. T. McAllister, E. E. Pulis // *ZooKeys.* – 2017. – 667. – P. 39-49.
162. Rota, E. Soil-dwelling polychaetes: enigmatic as ever? Some hints on their phylogenetic relationships as suggested by a maximum parsimony analysis of 18S rRNA gene sequences / E. Rota, P. Martin, C. Erséus // *Contributions to Zoology.* – 2001. – 70. – P. 127-138.
163. Rouse, G. W. Cladistics and polychaetes / G. W. Rouse, K. Fauchald // *Zoologica Scripta.* – 1997. – 26. – P. 139-204.
164. Rousset, V. A molecular phylogeny of annelids. / V. Rousset, F. Pleijel, G. W. Rouse, C. Erséus, M. E. Siddall // *Cladistics.* – 2007. – 23. – P. 41-63.

165. Rutherford, J. C. Effects of salinity on stream ecosystems: improving models for macroinvertebrates / J. C. Rutherford, B. J. Kefford. – CSIRO Land and Water Technical Report. CSIRO Land and Water. Canberra. Australia, 2005. – 64 p.
166. Saglam, N. A new species of *Hirudo* (Annelida: Hirudinidae): historical biogeography of Eurasian medicinal leeches / N. Saglam, R. Saunders, S. A. Shirley, D. H. Shain // *BMC Zoology*. – 2016. – № 1. – 5.
167. Saitou, N. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees / N. Saitou, M. Nei // *Mol. Biol. Evol.* – 1987. – Vol. 4 (4). – P. 406-425.
168. Salas-Montiel, R. Description of a new leech species of *Helobdella* (Clitellata: Glossiphoniidae) from Mexico with a review of Mexican congeners and a taxonomic key / R. Salas-Montiel, A. J. Phillips, G. Pèrez-Ponce de León, A. Ocegüera-Figueroa // *ZooTaxa*. – 2014. – 3900 (1). – P. 77-94.
169. Sawyer, R. T. Leech biology and behavior / R. T. Sawyer. – Oxford: Clarendon press. – 1986. – 793 p.
170. Schloss, P. D. Introducing sons, a tool for operational taxonomic unit-based comparisons of microbial community memberships and structures / P. D. Schloss, J. Handelsman // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – 72 (10). – P. 6773-6779.
171. Schulz, A. Leeches (Annelida: Hirudinida) Parasitizing Fish of Lake St. Clair, Michigan, U.S.A. / A. Schulz, Michael V. Thomas, S. Fitzgerald, M. Faisal // *Comparative Parasitology*. – 2011. – 78 (1) – P. 73-83.
172. Siddall, M. E. Leeches (Oligochaeta?: Euhirudinea), their phylogeny and the evolution of lifehistory strategies / M. E. Siddall, E. M. Burreson // *Hydrobiologia*. – 1996. – 334. – P. 277-285.
173. Singh, P. K. Biodiversity and its conservation / P. K. Singh, R. C. Chauhan, P. Singh // *Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future*. – 2017. – P. 315-340.
174. Sket, B. Global diversity of leeches (Hirudinea) in freshwater / B. Sket, P. Trontelj // *Hydrobiologia*. – 2008. – 595 (1). – P. 129-137.

175. Sládeček, V. Indicator value of freshwater leeches (Hirudinea) with a key to determination of European species / V. Sládeček, V. Košel // *Acta Hydrochim et Hydrobiol.* – 1984. – Vol. 12. – P. 451-461.

176. Sokal, R. R. A statistical method for evaluating systematic relationships / R.R. Sokal, C.D. Michiner // *University of Kansas science bulletin.* – 1958. – Vol. 38 (2). – P. 1409-1438.

177. Sørensen T.A. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content, and its application to analyses of the vegetation on Danish commons / T.A. Sørensen // *K dan Vidensk Selsk Biol Skr.* – 5. – P. 1-34.

178. Srivastava, D. S. Phylogenetic diversity and the functioning of ecosystems / D. S. Srivastava, M. W. Cadotte, A. A. M. MacDonald, R. G. Marushia // *Ecol. Lett.* – 2012. – 15. – P. 637-648

179. Stiassny, M. L. J. Conservation of freshwater fish biodiversity: the knowledge impediment / M. L. J. Stiassny // *Verhandlungen der Gesellschaft für Ichthyologie.* – 2002. – 3. – P. 7-18.

180. Struck, T. H. Detecting possibly saturated positions in 18S and 28S sequences and their influence on phylogenetic reconstruction of Annelida Lophotrochozoa / T. H. Struck, M. P. Nesnidal, G. Purschke, K. M. Halanych // *Mol Phylogenet Evol.* – 2008. – 48. – P. 628-645.

181. Struck, T. H. Phylogeny of Annelida / T. H. Struck // *Zoology Online.* – Berlin: DeGruyter. – 2012. – 12 p.

182. Tang, X. Roles of N-glycosylation and lipidation in Wg secretion and signaling / X. Tang, Y. Wu, Y. Belenkaya et al. // *Dev. Biol.* – 364 (1). – P. 32-41.

183. Tasiemski, A. Leech immunity: from brain to peripheral responses / A. Tasiemski, M. Salzet // *Invertebrate Immunity.* – 2010. – 708. – P. 80-101.

184. The R project for statistical computing. Rversion 3.2.2 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.R-project.org>.

185. Tiberti, R. First report of freshwater leech *Helobdella stagnalis* (Rhyncobdellida: Glossiphoniidae) as a parasite of an anuran Amphibian / R. Tiberti, A. Gentili // *Acta Herpetologica*. – 2010. – 5 (2). – P. 255-258.
186. Utevsky, A. A new genus and species of marine fish leech (Annelida: Hirudinea: Piscicolidae) from the South Africa / A. Utevsky // *African Invertebrates*. – 2007. – 48 (2). – P. 41-46.
187. Utevsky, A. New tentacled leech *Ceratobdella quadricornuta* n. g., n. sp. (Hirudinida: Piscicolidae) parasitic on the starry skate *Raja georgiana* Norman from the Scotia Sea, Antarctica / A. Utevsky, I. I. Gordeev // *Systematic Parasitology*. – 2015. – 91 (3). – P. 203-10.
188. Utevsky, S. Y. Phylogenetic relationships of fish leeches (Hirudinea, Piscicolidae) based on mitochondrial DNA sequences and morphological data / S. Y. Utevsky, P. Trontelj // *Zoological Scripta*. – 2004. – 33. – P. 375-385.
189. Vellend, M. Measuring phylogenetic biodiversity / M. Vellend, W. K. Cornwell, K. Magnuson-Ford, A. Ø. Mooers // *Biological diversity. Frontiers in measurement and assessment*. – New York: Oxford University Press. – 2011. – P. 194-207.
190. Westheide, W. The direction of evolution within the Polychaeta / W. Westheide // *J Nat Hist*. – 1997. – 31. – P. 1-15.
191. Wicke, K. Phylogenetic diversity and biodiversity indices on phylogenetic networks / K. Wicke, M. Fischer // *Population and evolution*. – 2017. – Vol. 2. – P. 1-18.
192. Wilsey, B. J. Relationships among indices suggest that richness is an incomplete surrogate for grassland biodiversity / B. J. Wilsey, D. R. Chalcraft, C. M. Bowles, M. R. Willig // *Ecology*. – 2005. – 86. – P. 1178-1184.
193. Wilson, E.O. *Biodiversidade* / E.O. Wilson. – Nova Fronteira, 1997. – 657 p.
194. Winter, W. Phylogenetic diversity and nature conservation: where are we? / W. Winter, V. Devictor, O. Schweiger // *Trends in ecology and evolution*. – 2013. – Vol. 28. – № 4. – P. 199-204.

195. Young, J. O. Competitive interactions between the lake-dwelling leeches *Glossiphonia complanata* and *Helobdella stagnalis*: an experimental investigation of the significance of a food refuge / J. O. Young, A. J. Martin, R. M. H. Seaby // *Oecologia*. – 1993. – 93. – P. 156-161.

196. Zrzavy, J. Phylogeny of Annelida (Lophotrochozoa): total-evidence analysis of morphology and six genes / J. Zrzavy, P. Riha, L. Pialek, J. Janouskovec // *BMC Evol. Biol.* – 2009. – 9 (1). – P. 189.

Приложение 1. Список образцов, использованных для делимитации видов бесхоботных пиявок Прииртышья

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Erpobdella</i>			
<i>E. boris</i>	KP749904	Иран	Cichocka et al., 2015
<i>E. bucera</i>	AF116024	США	Arapurakul et al., 1999
<i>E. dubia</i>	AF116023	США	Arapurakul et al., 1999
<i>E. japonica</i>	AB679654	Япония	Nakano, 2012
<i>E. japonica</i>	AB675012	Япония	Nakano et al., 2012
<i>E. japonica</i>	MF358688	-	Guan, 2014
<i>E. japonica</i>	AF116026	Южная Корея	Arapurakul et al., 1999
<i>E. lineata</i>	KF966549	Южная Корея	Park, Oh, 2014
<i>E. mexicana</i>	DQ235597	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. mexicana</i>	DQ235595	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. mexicana</i>	DQ235601	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. monostiata</i>	08	Казахстан (Семипалатинская протока)	Данные автора
<i>E. monostiata</i>	71	Казахстан (р.Иртыш)	
<i>E. monostiata</i>	81	Казахстан (Семипалатинская протока)	
<i>E. monostiata</i>	F149	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F154	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F156	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F157	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F158	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F186	Казахстан (оз. Большое)	
<i>E. monostiata</i>	DQ009665	Германия	
<i>E. monostiata</i>	HM246601	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. montezuma</i>	GQ368760	США	Phillips, Siddall, 2009
<i>E. nigricollis</i>	DQ009664	Германия	Pfeiffer et al., 2005
<i>E. nigricollis</i>	HM246603	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. obscura</i>	AF003273	Канада	Siddall, Burreson, 1998
<i>E. obscura</i>	KM612244	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	KM611847	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	KM612094	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	KM612133	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	JQ821638	-	Williams et al., 2013
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235599	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235600	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов	
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235603	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235596	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. octoculata</i>	6	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора	
<i>E. octoculata</i>	67			
<i>E. octoculata</i>	68			
<i>E. octoculata</i>	69			
<i>E. octoculata</i>	73			
<i>E. octoculata</i>	76	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора	
<i>E. octoculata</i>	E06			
<i>E. octoculata</i>	F239			
<i>E. octoculata</i>	F268	Казахстан (Семипалатинская протока)		
<i>E. octoculata</i>	82			
<i>E. octoculata</i>	F117	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)		
<i>E. octoculata</i>	F159	Казахстан (оз. Малое)		
<i>E. octoculata</i>	HM246555	Македония		Trajanovski et al., 2010
<i>E. octoculata</i>	HM246599	Македония		Trajanovski et al., 2010
<i>E. octoculata</i>	HQ336344	Узбекистан		Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>E. punctata</i>	AF003275	Канада	Siddall, Burreson, 1998	
<i>E. punctata</i>	KT706410	Канада	Telfer et al., 2015	
<i>E. testacea</i>	AF116027	Франция	Arapakul et al., 1999	
<i>E. testacea</i>	AF116027	Франция	Arapakul et al., 1999	
<i>E. testacea</i>	HM246602	Германия	Trajanovski et al., 2010	
<i>E. triannulata</i>	DQ235602	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. triannulata</i>	DQ235604	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. vilnensis</i>	78	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора	
<i>E. vilnensis</i>	F206			
<i>E. vilnensis</i>	F108	Казахстан (р. Кызылсу)		
<i>E. vilnensis</i>	92	Казахстан (Шульбинское вдхр.)		
<i>E. vilnensis</i>	F61			
<i>E. vilnensis</i>	F62			
<i>E. vilnensis</i>	F63			
<i>E. vilnensis</i>	F65			
<i>E. vilnensis</i>	F70			
<i>E. vilnensis</i>	F71			
<i>E. vilnensis</i>	F75			
<i>E. vilnensis</i>	F76			
<i>E. vilnensis</i>	F83			

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>E. vilnensis</i>	F93	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора
<i>E. vilnensis</i>	F104		
<i>E. vilnensis</i>	F105		
<i>E. vilnensis</i>	F106		
<i>E. vilnensis</i>	F120		
<i>E. vilnensis</i>	F147	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. vilnensis</i>	F148		
<i>E. vilnensis</i>	F164		
<i>E. vilnensis</i>	F197	Казахстан (оз. Большое)	Данные автора
<i>E. vilnensis</i>	F198		
<i>E. vilnensis</i>	HM246551	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. vilnensis</i>	HM246585	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. vilnensis</i>	DQ009663	Германия	Pfeiffer et al., 2005
<i>E. vilnensis</i>	KP300763	Украина	Utevsky et al., 2015
<i>Erpobdella</i> sp.	F35	Казахстан (Семипалатинская протока)	Данные автора
<i>Erpobdella</i> sp.	F66	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	
<i>Erpobdella</i> sp.	F171	Казахстан (оз. Большое)	
<i>Erpobdella</i> sp.	F181		
<i>Erpobdella</i> sp.	F191		
<i>Erpobdella</i> sp.	F241	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>Erpobdella</i> sp.	KM095091	Россия (оз. Гусинное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	KM095092	Россия (оз. Гусинное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	MF458701	Франция	Corse et al., 2017
<i>Erpobdella</i> sp.	HM246537	Македония	Trajanovski et al., 2010
<i>Erpobdella</i> sp.	KM611926	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	KM611815	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	KM612235	Канада	Dewaard et al., 2014
<b>Haemodipsidae</b>			
<i>Haemopsis</i> sp.	KM611959	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. lateromaculata</i>	AF116028	США	Apakupakul et al., 1999
<i>H. grandis</i>	AY425447	Канада	Borda, Siddal, 2004
<i>H. marmorata</i>	AF003270	США	Borda, Siddal, 2004
<i>H. kingi</i>	KM612231	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. kingi</i>	KM611881	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. kingi</i>	KM611858	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. kingi</i>	KM612218	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. terrestris</i>	EU100092	США	Borda et al., 2008

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>H. terrestris</i>	AY786459	США	Siddal et al., 2007
<i>H. terrestris</i>	FJ897514	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>Haemopis sp.</i>	FJ897513	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>Haemopis sp.</i>	FJ897512	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>Haemopis sp.</i>	FJ897510	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>H. elegans</i>	EF125042	Европа	Kutschera et al., 2007
<i>H. caeca</i>	AY040702	Румыния	Siddal et al., 2001
<i>H. sanguisuga</i>	KP663469	Сербия	Zivic et al., 2015
<i>H. sanguisuga</i>	KP663470	Сербия	Zivic et al., 2015
<i>H. sanguisuga</i>	AF462021	Швеция	Siddal, 2002
<i>H. sanguisuga</i>	482_07	Украина (р. Днепр)	Неопубликованные данные Сороковиковой
<i>H. sanguisuga</i>	E171	Россия (с. Амур)	
<i>H. sanguisuga</i>	E229	Россия (р. Кударейка)	
<i>H. sanguisuga</i>	F282	Казахстан (старица вблизи р. Иртыш)	Данные автора
<i>H. sanguisuga</i>	F283		
<i>Haemadipsa trimaculosa</i>	HQ203172	Таиланд	Borda, Siddal, 2010
<i>Leiobdella sp.</i>	HQ203192	Папуа - Новая Гвинея	Borda, Siddal, 2010
<i>Chtonobdella sp.</i>	KT968373	Папуа - Новая Гвинея	Tessler et al., 2015
<i>Chtonobdella grandis</i> cf.	HQ203190	Танзания	Borda, Siddal, 2010
<i>Chtonobdella fallax</i>	EU100096	Мадагаскар	Borda et al., 2008
<i>Chtonobdella vegans</i>	HQ203186	Мадагаскар	Borda, Siddal, 2010
Praobdellidae			
<i>Limnatis sp.</i>	F165	Казахстан (оз. Большое)	Данные автора
<i>Limnatis cf. nilotica</i>	AY763152	Хорватия	Trontelj, 2004
<i>Limnatis nilotica</i>	AY425452	Израиль	Borda, Siddal, 2003
<i>Limnatis paluda</i>	GQ368755	Афганистан	Phillips, Siddall, 2009
<i>Limnatis paluda</i>	AB981654	Казахстан	Nakano et al., 2015
<i>Limnatis paluda</i>	AB981656	Казахстан	Nakano et al., 2015
Orobodellidae			
<i>Orobodella tsushimensis</i>	AB828571	Корея	Nakano, Seo, 2014
Hirudinidae			
<i>Limnobdella mexicana</i>	CQ368756	Мексика	Phillips, Siddall, 2009
<i>Myxobdella annandalei</i>	GU394014	Индия	Phillips et al., 2010
<i>Poecilobdella javanica</i>	KJ551853	Таиланд	Tubtimon et al., 2014
<i>Poecilobdella manillensis</i>	KJ551850	Таиланд	Tubtimon et al., 2014
<i>Poecilobdella manillensis</i>	KX579976	Индия	Pathak et al., 2016
<i>Poecilobdella nanjingensis</i>	LC145739	Тайвань	Nakano, Lai, 2016
<i>Aliolimnatis michaelsoni</i>	AF116029	Конго	Arapakul et al., 1998
<i>Goddardobdella elegans</i>	GQ368742	Австралия	Phillips, Siddall, 2009

Приложение 2. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Eprobdeidae

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>E. vilnensis</i> EK		0,012	0,022	0,021	0,021	0,020	0,018	0,019	0,018	0,020	0,017	0,019	0,020	0,020	0,021
2	<i>E. vilnensis</i> GB	<b>0,079</b>		0,019	0,019	0,021	0,020	0,020	0,019	0,016	0,017	0,017	0,017	0,021	0,020	0,019
3	<i>E. monostriata</i> EK	0,172	0,152		0,015	0,025	0,025	0,021	0,022	0,020	0,022	0,022	0,025	0,024	0,027	0,024
4	<i>E. monostriata</i> GB	0,165	0,140	<b>0,100</b>		0,022	0,023	0,022	0,022	0,020	0,016	0,021	0,026	0,025	0,020	0,022
5	<i>E. octoculata</i> EK	0,158	0,155	0,192	0,167		0,014	0,012	0,016	0,018	0,021	0,021	0,025	0,020	0,020	0,022
6	<i>E. octoculata</i> GB	0,149	0,153	0,193	0,175	0,082		0,015	0,015	0,019	0,020	0,019	0,025	0,022	0,020	0,022
7	<i>E. octoculata</i> Fr	0,135	0,152	0,158	0,161	<b>0,065</b>	0,096		0,015	0,019	0,022	0,020	0,024	0,021	0,021	0,021
8	<i>E. octoculata</i> Uzb	0,136	0,145	0,161	0,168	0,101	0,088	0,087		0,019	0,019	0,020	0,023	0,022	0,020	0,020
9	<i>E. japonica</i> 2	0,128	0,120	0,152	0,157	0,137	0,144	0,139	0,140		0,017	0,019	0,022	0,017	0,020	0,017
10	<i>E. nigricollis</i>	0,134	0,126	0,157	0,113	0,156	0,144	0,163	0,137	0,130		0,020	0,024	0,022	0,019	0,019
11	<i>E. obscura</i>	0,134	0,138	0,179	0,166	0,170	0,158	0,160	0,159	0,159	0,163		0,018	0,021	0,021	0,019
12	<i>E. ochoterenai</i>	0,137	0,135	0,195	0,206	0,190	0,194	0,179	0,181	0,175	0,183	0,151		0,023	0,024	0,021
13	<i>E. japonica</i> 1	0,145	0,160	0,189	0,196	0,147	0,160	0,156	0,156	0,114	0,163	0,164	0,177		0,023	0,020
14	<i>E. testacea</i>	0,153	0,160	0,209	0,161	0,160	0,151	0,163	0,155	0,159	0,139	0,171	0,186	0,172		0,020
15	<i>E. dubia</i>	0,154	0,153	0,195	0,170	0,170	0,158	0,160	0,145	0,137	0,146	0,157	0,165	0,160	0,157	

Приложение 3. Список образцов, использованных для делимитации видов хоботных пиявок Прииртышья

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Austrobdella</i>			
<i>Austrobdella biolobata</i>	DQ414301	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Austrobdella californiata</i>	DQ414303	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Austrobdella californiata</i>	DQ414304	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Austrobdella translucens</i>	DQ414306	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Bathybdella</i>			
<i>Bathybdella sawyeri</i>	DQ414311	Тихий океан	Williams, Burreson, 2006
<i>Beringobdella</i>			
<i>Beringobdella rectangulata</i>	DQ414310	Беренгово море	Williams, Burreson, 2006
<i>Branchellion</i>			
<i>Branchellion lobata</i>	DQ414307	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Branchellion parkeri</i>	DQ414308	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Branchellion ravenelii</i>	DQ414309	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Branchellion</i> sp.	DQ414312	Индийский океан, о. Борнео	Williams, Burreson, 2006
<i>Branchellion</i> sp.	DQ414313	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Calliobdella</i>			
<i>Calliobdella lophii</i>	AY336024	Норвегия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Calliobdella lophii</i>	DQ414314	Норвегия	Williams, Burreson, 2006
<i>Calliobdella vivida</i>	AF003260	США	Siddall and Burreson, 1998
<i>Calliobdella vivida</i>	KU905901	США	Aguilar et al., 2017
<i>Caspiobdella</i>			
<i>Caspiobdella fadejewi</i>	AY336019	Германия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Caspiobdella fadejewi</i>	AY336020	Украина	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Crangonobdella</i>			
<i>Crangonobdella</i> sp.	AY336025	Россия (Татарский пролив)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Cystobranchnus</i>			
<i>Cystobranchnus meyeri</i>	DQ414315	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Cystobranchnus respirans</i>	AY336021	Словения	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Gonimosobdella</i>			
<i>Gonimosobdella klemmi</i>	DQ414318	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Hetacyclus</i>			
<i>Hetacyclus virgatus</i>	AY336027	Россия (з-в Анива)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Hetacyclus virgatus</i>	DQ414319	Беренгово море	Williams, Burreson, 2006
<i>Johanssona</i>			
<i>Johanssona arctica</i>	AY336012	Норвегия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Johanssona arctica</i>	AY336013	Россия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Johanssona arctica</i>	DQ414320	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Limnotrachelobdella</i>			
<i>Limnotrachelobdella okae</i>	AY336022	Россия	Utevsky and Trontelj, 2004

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Malmiana</i>			
<i>Malmiana brunnea</i>	DQ414321	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Malmiana buthi</i>	DQ414322	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Malmiana scorpii</i>	DQ414326	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Moorebdellina</i>			
<i>Moorebdellina biannulata</i>	EF405598	Антарктида (море Росса)	Utevsky et al., 2007
<i>Myzobdella</i>			
<i>Myzobdella lugubris</i>	DQ414323	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Myzobdella lugubris</i>	KU905849	США	Aguilar et al., 2017
<i>Myzobdella lugubris</i>	KU905914	США	Aguilar et al., 2017
<i>Notostomum</i>			
<i>Notostomum laeve</i>	EF405595	Беренцево море	Utevsky et al., 2007
<i>Nototheniobdella</i>			
<i>Nototheniobdella sawyeri</i>	AY336010	Антарктида (море Росса)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Oceanobdella</i>			
<i>Oceanobdella khani</i>	DQ414331	Беренцево море	Williams, Burreson, 2006
<i>Oceanobdella sexoculata</i>	DQ414332	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Oceanobdella</i> sp.	AY336026	Россия (з-в Анива)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Oxytonostoma</i>			
<i>Oxytonostoma typica</i>	DQ414333	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Oxytonostoma typica</i>	EF405596	Беренцево море	Utevsky et al., 2007
<i>Piscicola</i>			
<i>P. geometra</i>	AF003280	Франция	Siddall, Burreson, 1998
<i>P. geometra</i>	AY336014	Германия	Utevsky Trontelj, 2004
<i>P. geometra</i>	AY336015	Украина	Utevsky Trontelj, 2004
<i>P. geometra</i>	MF458791	Франция	Corse et al., 2017
<i>P. geometra</i>	F77	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>P. geometra</i>	F87	Казахстан	
<i>P. geometra</i>	F88	(Бухтарминское вдхр.)	
<i>Piscicola cf. annae</i>	AY336016	Германия	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Piscicola milneri</i>	DQ414337	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Piscicola</i> sp.	AY336017	Германия	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Piscicola</i> sp.	KM095103	Россия (оз. Гусиное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Piscicola</i> sp.	KM095104	Россия (оз. Гусиное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Piscicola</i> sp.1	F78	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>Piscicola</i> sp.2	F119	Казахстан	
<i>Piscicola</i> sp.2	F123	(Бухтарминское вдхр.)	
<i>Piscicola</i> sp.2	F95	вдхр.)	

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Piscicola</i> sp.2	F96	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора
<i>Piscicolaria</i>			
<i>Piscicolaria reducta</i>	DQ414339	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Piscicolinae</i>			
<i>Piscicolinae</i> sp.	AY336023	Россия (оз. Тунайча)	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Platybdella</i>			
<i>Platybdella anarrhichae</i>	DQ414336	Норвегия	Williams, Burreson, 2006
<i>Platybdella anarrhichae</i>	EF405594	Баренцево море	Utevsky et al., 2007
<i>Pontobdella muricata</i>	AY336029	Словения	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Stibarobdella</i>			
<i>Stibarobdella macrothela</i>	DQ414340	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Stibarobdella tasmanica</i>	DQ414343	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Zeylanicobdella</i>			
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	DQ414344	Индийский океан, о. Борнео	Williams, Burreson, 2006
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441717	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441718	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441719	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441720	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441721	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Alboglossiphonia</i>			
<i>A heteroclita</i>	AF116016	США	Apakupakul et al., 1999
<i>A quadrata</i>	AY962455	Намибия	Siddall et al., 1999
<i>A. lata</i>	KF966547	Южная Корея	Park, Oh, 2014
<i>A. lata</i>	AY962454	Тайвань	Siddall et al., 2005
<i>A. papillosa</i>	KM095100	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>A. papillosa</i>	KM095101	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>A. weberi</i>	AY962453	США	Siddall et al., 2016
<i>A. weberi</i>	H180	Россия (Камчатка)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	94	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	96		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F102	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F103		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F122		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F126		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F128		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F133		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F90		

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Batracobdella</i>			
<i>Batracobdella algira</i>	HM246609	Испания	Trajanovski et al., 2010
<i>Batracobdella paludosa</i>	KF966548	Южная Корея	Park, Oh, 2014
<i>Glossiphoniidae</i>			
<i>Glossiphoniidae</i> sp.	KM612127	Канада	Dewaard, et al., 2015
<i>Glossiphoniidae</i> sp.	KM612191	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphoniidae</i> sp.	KM612217	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i>			
<i>G. baicalensis</i>	AY047329	-	Light, Siddall, 1999
<i>G. complanata</i>	AF003277	Англия	Siddall, Burreson, 1998
<i>G. complanata</i>	AY047321	Англия	Siddal, Borda, 2003
<i>G. complanata</i>	JQ821635	-	Williams et al., 2013
<i>G. complanata</i>	HM246608	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>G. complanata</i>	MF458715	Франция	Corse et al., 2017
<i>G. concolor</i>	KM095097	Украина	Kaygorodova et al., 2014
<i>G. concolor</i>	KM095098	Украина	Kaygorodova et al., 2014
<i>G. concolor</i>	AY962458	Швеция	Siddall et al., 2005
<i>G. elegans</i>	AF003258	Северная Америка	Siddall, Burreson, 1998
<i>G. elegans</i>	JQ073854	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073858	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073859	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073860	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073862	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073864	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073866	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073868	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073869	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073871	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	AY047322	США	Light, Siddall, 1999
<i>G. elegans</i>	KM611854	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i> sp.	H297	Россия (р. Обь)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>Glossiphonia</i> sp.	KM095099	Россия (оз. Гусиное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Glossiphonia</i> sp.	KM612191	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i> sp.	KM612217	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i> sp.1	80	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора
<i>Glossiphonia</i> sp.1	88		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	89		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F47	Казахстан (Семипалатинская протока)	
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F170	Казахстан (оз. Большое)	
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F49	Семипалатинская протока	

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F82	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F31	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F234		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F248		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F256		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F257		
<i>Glossiphonia</i> sp.2	79	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора
<i>Glossiphonia</i> sp.2	F231		
<i>Glossiphonia</i> sp.2	F235		
<i>Glossiphonia</i> sp.2.	F229		
<i>Glossiphonia</i> sp.3	87		
<i>Glossiphonia</i> sp.3	86	Семипалатинская протока	
<i>Glossiphonia</i> sp.3	F43		
<i>Glossiphonia</i> sp.3	F34		Казахстан (р. Иртыш)
<i>Glossiphonia</i> sp.3	F232		
<i>Oosthuizobdella</i>			
<i>Oosthuizobdella garoui</i>	AY962460	Южная Африка	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella</i>			
<i>Placobdella fimbriata</i>	AY962465	Буркина Фасо	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella jaegerskioeldi</i>	AY962463	Южная Африка	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella multilneata</i>	KM396760	США	Moser, et al., 2014
<i>Placobdella multilneata</i>	KM396761	США	Moser, et al., 2014
<i>Placobdella multilneata</i>	AY962464	США	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella nuchalis</i>	MF067126	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella nuchalis</i>	MF067127	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella nuchalis</i>	MF067128	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella sophieae</i>	MF067096	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella sophieae</i>	MF067097	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella</i> sp.	MF067091	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdelloides</i>			
<i>Placobdelloides siamensis</i>	AY962462	Тайланд	Siddall et al., 2005
<i>Hellobdella</i>			
<i>H. stagnalis</i>	KM612173	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>H. stagnalis</i>	MF067147	США	Carle et al., 2017
<i>H. stagnalis</i>	MF150168	Исландия	Saglam et al., 2017
<i>H. stagnalis</i>	KM095095	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>H. stagnalis</i>	H108	Россия (оз. Байкал)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>H. stagnalis</i>	828	Россия (р. Лена)	
<i>H. stagnalis</i>	H115	Россия (р. Ангара)	
<i>H. stagnalis</i>	H121	Россия (р. Киренга)	
<i>H. stagnalis</i>	F2	Россия (оз. Байкал)	
<i>H. stagnalis</i>	H259	Чехия	

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов	
<i>H. stagnalis</i>	AF116018	Франция	Arapurakul et al., 1999	
<i>H. stagnalis</i>	AF329041	Англия	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. stagnalis</i>	F100	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора	
<i>H. stagnalis</i>	F109			
<i>H. stagnalis</i>	F91			
<i>H. stagnalis</i>	F73	Казахстан (Шульбинское вдхр.)		
<i>H. stagnalis</i>	A84			
<i>H. stagnalis</i>	F72			
<i>H. stagnalis</i>	A77	Казахстан (р. Иртыш)		
<i>H. stagnalis</i>	F210			
<i>H. stagnalis</i>	F84	Казахстан (Семипалатинская протока)		
<i>H. stagnalis</i>	F166	Казахстан (оз. Безымянное)		
<i>H. stagnalis</i>	F168	Казахстан (оз. Большое)		
<i>H. stagnalis</i>	MF150165- 67	Турция		Saglam et al., 2017
<i>H. stagnalis</i>	KM196604	США		Ram et al., 2014
<i>H. stagnalis</i>	HQ179862	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011	
<i>H. michaelsoni</i>	AF536824	Чили	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. modesta</i>	AF329040	США	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. modesta</i>	HQ179853	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	HQ179854	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319988	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319990	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319991	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319992	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319996	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	KM611981	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612015	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612052	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612054	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612072	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612131	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KP176608	США	Richardson et al., 2015	
<i>H. modesta</i>	MF158963	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. modesta</i>	MF158964	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. modesta</i>	MF158965	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. modesta</i>	MF158966	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. nuda</i>	H172	Россия (оз. Ханка)	Неопубл. данные Манзяк	
<i>H. europaea</i>	AF329052	Австралия	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. europaea</i>	AU856048	Южная Африка	Siddall, Budinoff, 2005	

<i>H. europaea</i>	DQ995297	США	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. europaea</i>	DQ995298	США	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. europaea</i>	DQ995304	США	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. europaea</i>	FJ000349	Тайвань	Lai et al., 2009
<i>H. europaea</i>	KC904241	Испания	Reyes-Prieto et al., 2014
<i>H. europaea</i>	KC904242	Испания	Reyes-Prieto et al., 2014
<i>H. elongata</i>	AF329045	США	Siddall, Borda, 2003
<i>H. elongata</i>	HQ179863	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. bowermani</i>	KF683194	США	Moser et al., 2013
<i>H. bowermani</i>	KF683193	США	Moser et al., 2013
<i>H. bowermani</i>	KF683192	США	Moser et al., 2013
<i>H. atli</i>	HQ179850	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. atli</i>	HQ179851	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. atli</i>	HQ179852	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>Helobdella</i> sp.	KF000158	США	Deiner, et al., 2013
<i>Helobdella</i> sp.	KF000141	США	Deiner, et al., 2013
<i>Helobdella</i> sp.	DQ995311	Мексика	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. nunununojensis</i>	AF329048	Боливия	Siddall, Borda, 2003
<i>H. octatestisaca</i>	FJ000342	Тайвань	Lai et al., 2009
<i>H. octatestisaca</i>	FJ000343	Тайвань	Lai et al., 2009
<i>H. paranensis</i>	AF116019	Уругвай	Arapakul et al., 1999
<i>H. paranensis</i>	AF329037	Уругвай	Siddal., 2002
<i>H. simplex</i>	KF683195	Аргентина	Moser et al., 2013
<i>H. simplex</i>	KF683196	Аргентина	Moser et al., 2013
<i>H. simplex</i>	KF683197	Аргентина	Moser et al., 2013
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179866	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179867	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179868	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179869	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179871	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. sorojchi</i>	AF329050	Боливия	Siddall, Borda, 2003
<i>H. michaelsoni</i>	AF536824	Чили	Siddall, Borda, 2003
<i>H. modesta</i>	AF329040	США	Siddall, Borda, 2003
<i>H. modesta</i>	HQ179853	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. modesta</i>	HQ179854	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>Haementeria</i>			
<i>Haementeria molesta</i>	AF329469	Уругвай	Siddall, Borda, 2003
<i>H. paraguayensis</i>	JN850908	Аргентина	Oceguera-Figueroa, 2012

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Hemiclepsis</i>			
<i>H. marginata</i>	MH643798	Украина	Utevsky and Utevsky, 2018
<i>H. marginata</i>	AF003259	Франция	Siddall, Burreson, 1998
<i>H. marginata</i>	B03	Казахстан (Семипалатинская протока)	Данные автора
<i>H. marginata</i>	B04	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	KM095093	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>H. marginata</i>	H11	Россия (р. Лена)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>H. marginata</i>	H32	Россия (оз. Гусиное)	
<i>H. marginata</i>	F81	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>H. marginata</i>	F146	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	
<i>H. marginata</i>	F203	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	F246	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	F265	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	F266	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>Theromyzon</i>			
<i>T. bifarium</i>	AY047330	Северная Америка	Light, Siddall, 1999
<i>T. pallens</i>	AF003279	Франция	Siddall, Burreson, 1998
<i>T. rude</i>	AF003262	Канада	Siddall, Burreson, 1998
<i>T. tessulatum</i>	AY047318	-	Light, Siddall, 1999
<i>T. tessulatum</i>	F89	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора
<i>T. tessulatum</i>	H281	Россия (Иркутская обл.)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>T. tessulatum</i>	H292	Россия (р. Обь)	
<i>T. maculosum</i>	H7	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H8	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H37	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H52	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H65	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H67	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H79	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H219	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H238	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H280	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H345	Россия (оз. Байкал)	

Приложение 4. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Piscicolidae

	Вид	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	<i>C. fadejewi</i>		0.019	0.018	0.016	0.017	0.018	0.015	0.016	0.016	0.016	0.016
2	<i>C. meyeri</i>	0.167								0.019	0.019	0.018
3	<i>C. resperans</i>	0.157	0.197								0.020	0.018
4	<i>Calliobdella lophii</i>	0.132	0.162	0.172							0.019	0.018
5	<i>Calliobdella vivida</i>	0.164	0.134	0.179	0.183						0.019	0.019
6	<i>Gonimosobdella klemmi</i>	0.160	0.109	0.182	0.171	0.129					0.019	0.019
7	<i>P. geometra</i>	0.119	0.161	0.173	0.161	0.177	0.169				0.010	0.011
8	<i>P. milneri</i>	0.127	0.159	0.145	0.141	0.162	0.163	<b>0.056</b>			0.010	0.007
9	<i>Piscicola</i> cf. <i>annae</i>	0.137	0.168	0.166	0.160	0.187	0.166	<b>0.052</b>	0.065		0.007	0.011
10	<i>Piscicola</i> sp. AY336017	0.137	0.175	0.168	0.167	0.176	0.173	<b>0.051</b>	0.55	0.025		0.010
11	<i>Piscicola</i> sp. KM095103-4	0.135	0.163	0.154	0.153	0.171	0.163	0.064	0.023	0.069	0.059	

Приложение 5. Генетические дистанции между филогенетическими группами рода *Helobdella*

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>H. stagnalis</i> EK		0.002	0.003	0.014	0.020	0.014	0.019	0.019	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020
2	<i>H. stagnalis</i> Siberia	<b>0.008</b>		0.003	0.014	0.019	0.014	0.019	0.019	0.021	0.020	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020
3	<i>H. stagnalis</i> GB Europa	0.012	0.014		0.014	0.019	0.014	0.019	0.019	0.021	0.020	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020
4	<i>H. stagneris</i> GB1	0.104	0.102	0.108		0.020	0.014	0.019	0.019	0.019	0.019	0.020	0.019	0.022	0.021	0.019
5	<i>H. bowermani</i>	0.168	0.168	0.171	0.172		0.015	0.018	0.018	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.021	0.018
6	<i>H. modesta</i>	0.148	0.146	0.149	0.146	0.167		0.015	0.015	0.017	0.017	0.018	0.017	0.017	0.017	0.016
7	<i>H. paranensis</i>	0.165	0.163	0.166	0.152	0.146	0.155		0.003	0.019	0.018	0.019	0.017	0.020	0.019	0.017
8	<i>H. simplex</i>	0.169	0.167	0.170	0.156	0.146	0.159	0.009		0.019	0.018	0.020	0.017	0.021	0.019	0.017
9	<i>H. transversa</i>	0.188	0.187	0.191	0.162	0.165	0.191	0.162	0.165		0.018	0.022	0.018	0.023	0.021	0.018
10	<i>H. socimulcensis</i>	0.191	0.188	0.190	0.166	0.177	0.187	0.152	0.156	0.169		0.021	0.007	0.023	0.019	0.007
11	<i>H. octalestisaca</i>	0.191	0.190	0.189	0.181	0.180	0.194	0.174	0.185	0.205	0.201		0.021	0.021	0.021	0.021
12	<i>H. europaea</i>	0.193	0.190	0.191	0.162	0.172	0.184	0.143	0.147	0.164	0.033	0.195		0.022	0.019	0.009
13	<i>H. atli</i>	0.198	0.194	0.195	0.213	0.156	0.193	0.187	0.191	0.222	0.217	0.213	0.209		0.021	0.021
14	<i>H. elongata</i> HQ63	0.200	0.199	0.197	0.196	0.208	0.195	0.179	0.183	0.191	0.173	0.206	0.167	0.207		0.019
15	<i>H. triserialis</i>	0.203	0.200	0.202	0.181	0.182	0.195	0.163	0.168	0.172	0.056	0.211	0.067	0.215	0.189	

Приложение 6. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Glossiphoniidae

Вид	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 <i>Glossiphonia</i> sp.1 ЕК		0,015	0,014	0,010	0,015	0,014	0,016	0,015	0,017	0,018	0,020	0,023	0,023	0,026
2 <i>Glossiphonia</i> sp.2 ЕК	0,088		0,017	0,017	0,016	0,011	0,016	0,016	0,019	0,020	0,022	0,022	0,022	0,026
3 <i>Glossiphonia</i> sp.3 ЕК	0,082	0,110		0,018	0,016	0,016	0,016	0,014	0,015	0,017	0,019	0,021	0,021	0,025
4 <i>G. concolor</i> AY962458	<b>0,044</b>	0,109	0,115		0,016	0,014	0,018	0,017	0,020	0,020	0,022	0,023	0,023	0,029
5 <i>G. concolor</i>	0,089	0,099	0,098	0,100		0,016	0,013	0,014	0,017	0,017	0,021	0,023	0,023	0,028
6 <i>G. verrucata</i>	0,081	<b>0,058</b>	0,100	0,085	0,097		0,017	0,016	0,019	0,020	0,021	0,024	0,024	0,028
7 <i>G. baicalensis</i>	0,086	0,089	0,095	0,108	0,070	0,105		0,014	0,017	0,019	0,021	0,023	0,023	0,026
8 <i>G. complanata</i>	0,091	0,100	<b>0,079</b>	0,108	0,082	0,105	0,078		0,016	0,016	0,020	0,022	0,022	0,025
9 <i>G. elegans</i>	0,112	0,131	0,092	0,142	0,110	0,135	0,114	0,112		0,019	0,020	0,024	0,024	0,023
10 <i>Glossiphonia</i> sp. KM095099	0,116	0,133	0,110	0,133	0,112	0,139	0,124	0,096	0,127		0,024	0,022	0,022	0,026
11 Glossiphoniidae	0,173	0,191	0,163	0,183	0,183	0,182	0,176	0,167	0,177	0,206		0,021	0,021	0,023
12 <i>A. weberi</i>	0,166	0,159	0,148	0,169	0,162	0,179	0,166	0,150	0,180	0,160	0,177		0,004	0,019
13 <i>A. lata</i>	0,167	0,156	0,148	0,169	0,163	0,179	0,166	0,150	0,176	0,159	0,179	0,009		0,019
14 <i>A. heteroclita</i>	0,203	0,202	0,183	0,230	0,209	0,223	0,191	0,182	0,174	0,200	0,206	0,135	0,129	

Приложение 1. Список образцов, использованных для делимитации видов бесхоботных пиявок Прииртышья

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Erpobdella</i>			
<i>E. boris</i>	KP749904	Иран	Cichocka et al., 2015
<i>E. bucera</i>	AF116024	США	Arapurakul et al., 1999
<i>E. dubia</i>	AF116023	США	Arapurakul et al., 1999
<i>E. japonica</i>	AB679654	Япония	Nakano, 2012
<i>E. japonica</i>	AB675012	Япония	Nakano et al., 2012
<i>E. japonica</i>	MF358688	-	Guan, 2014
<i>E. japonica</i>	AF116026	Южная Корея	Arapurakul et al., 1999
<i>E. lineata</i>	KF966549	Южная Корея	Park, Oh, 2014
<i>E. mexicana</i>	DQ235597	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. mexicana</i>	DQ235595	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. mexicana</i>	DQ235601	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. monostiata</i>	08	Казахстан (Семипалатинская протока)	Данные автора
<i>E. monostiata</i>	71	Казахстан (р.Иртыш)	
<i>E. monostiata</i>	81	Казахстан (Семипалатинская протока)	
<i>E. monostiata</i>	F149	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F154	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F156	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F157	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F158	Казахстан (оз. Малое)	
<i>E. monostiata</i>	F186	Казахстан (оз. Большое)	
<i>E. monostiata</i>	DQ009665	Германия	
<i>E. monostiata</i>	HM246601	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. montezuma</i>	GQ368760	США	Phillips, Siddall, 2009
<i>E. nigricollis</i>	DQ009664	Германия	Pfeiffer et al., 2005
<i>E. nigricollis</i>	HM246603	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. obscura</i>	AF003273	Канада	Siddall, Burreson, 1998
<i>E. obscura</i>	KM612244	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	KM611847	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	KM612094	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	KM612133	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>E. obscura</i>	JQ821638	-	Williams et al., 2013
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235599	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235600	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов	
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235603	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. ochoterenai</i>	DQ235596	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. octoculata</i>	6	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора	
<i>E. octoculata</i>	67			
<i>E. octoculata</i>	68			
<i>E. octoculata</i>	69			
<i>E. octoculata</i>	73			
<i>E. octoculata</i>	76	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора	
<i>E. octoculata</i>	E06			
<i>E. octoculata</i>	F239			
<i>E. octoculata</i>	F268	Казахстан (Семипалатинская протока)		
<i>E. octoculata</i>	82			
<i>E. octoculata</i>	F117	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)		
<i>E. octoculata</i>	F159	Казахстан (оз. Малое)		
<i>E. octoculata</i>	HM246555	Македония		Trajanovski et al., 2010
<i>E. octoculata</i>	HM246599	Македония		Trajanovski et al., 2010
<i>E. octoculata</i>	HQ336344	Узбекистан		Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>E. punctata</i>	AF003275	Канада		Siddall, Burreson, 1998
<i>E. punctata</i>	KT706410	Канада	Telfer et al., 2015	
<i>E. testacea</i>	AF116027	Франция	Arapakul et al., 1999	
<i>E. testacea</i>	AF116027	Франция	Arapakul et al., 1999	
<i>E. testacea</i>	HM246602	Германия	Trajanovski et al., 2010	
<i>E. triannulata</i>	DQ235602	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. triannulata</i>	DQ235604	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2005	
<i>E. vilnensis</i>	78	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора	
<i>E. vilnensis</i>	F206			
<i>E. vilnensis</i>	F108	Казахстан (р. Кызылсу)		
<i>E. vilnensis</i>	92	Казахстан (Шульбинское вдхр.)		
<i>E. vilnensis</i>	F61			
<i>E. vilnensis</i>	F62			
<i>E. vilnensis</i>	F63			
<i>E. vilnensis</i>	F65			
<i>E. vilnensis</i>	F70			
<i>E. vilnensis</i>	F71			
<i>E. vilnensis</i>	F75			
<i>E. vilnensis</i>	F76			
<i>E. vilnensis</i>	F83			

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>E. vilnensis</i>	F93	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора
<i>E. vilnensis</i>	F104		
<i>E. vilnensis</i>	F105		
<i>E. vilnensis</i>	F106		
<i>E. vilnensis</i>	F120		
<i>E. vilnensis</i>	F147	Казахстан (оз. Малое)	Данные автора
<i>E. vilnensis</i>	F148		
<i>E. vilnensis</i>	F164		
<i>E. vilnensis</i>	F197	Казахстан (оз. Большое)	Данные автора
<i>E. vilnensis</i>	F198		
<i>E. vilnensis</i>	HM246551	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. vilnensis</i>	HM246585	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>E. vilnensis</i>	DQ009663	Германия	Pfeiffer et al., 2005
<i>E. vilnensis</i>	KP300763	Украина	Utevsky et al., 2015
<i>Erpobdella</i> sp.	F35	Казахстан (Семипалатинская протока)	Данные автора
<i>Erpobdella</i> sp.	F66	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	
<i>Erpobdella</i> sp.	F171	Казахстан (оз. Большое)	
<i>Erpobdella</i> sp.	F181		
<i>Erpobdella</i> sp.	F191		
<i>Erpobdella</i> sp.	F241	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>Erpobdella</i> sp.	KM095091	Россия (оз. Гусинное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	KM095092	Россия (оз. Гусинное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	MF458701	Франция	Corse et al., 2017
<i>Erpobdella</i> sp.	HM246537	Македония	Trajanovski et al., 2010
<i>Erpobdella</i> sp.	KM611926	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	KM611815	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>Erpobdella</i> sp.	KM612235	Канада	Dewaard et al., 2014
Haemodipsidae			
<i>Haemopsis</i> sp.	KM611959	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. lateromaculata</i>	AF116028	США	Apakupakul et al., 1999
<i>H. grandis</i>	AY425447	Канада	Borda, Siddal, 2004
<i>H. marmorata</i>	AF003270	США	Borda, Siddal, 2004
<i>H. kingi</i>	KM612231	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. kingi</i>	KM611881	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. kingi</i>	KM611858	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. kingi</i>	KM612218	Канада	Dewaard et al., 2014
<i>H. terrestris</i>	EU100092	США	Borda et al., 2008

Вид	GenBank/ образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>H. terrestris</i>	AY786459	США	Siddal et al., 2007
<i>H. terrestris</i>	FJ897514	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>Haemopis sp.</i>	FJ897513	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>Haemopis sp.</i>	FJ897512	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>Haemopis sp.</i>	FJ897510	США	Wirchansky, Shain, 2010
<i>H. elegans</i>	EF125042	Европа	Kutschera et al., 2007
<i>H. caeca</i>	AY040702	Румыния	Siddal et al., 2001
<i>H. sanguisuga</i>	KP663469	Сербия	Zivic et al., 2015
<i>H. sanguisuga</i>	KP663470	Сербия	Zivic et al., 2015
<i>H. sanguisuga</i>	AF462021	Швеция	Siddal, 2002
<i>H. sanguisuga</i>	482_07	Украина (р. Днепр)	Неопубликованные данные Сороковиковой
<i>H. sanguisuga</i>	E171	Россия (с. Амур)	
<i>H. sanguisuga</i>	E229	Россия (р. Кударейка)	
<i>H. sanguisuga</i>	F282	Казахстан (старица вблизи р. Иртыш)	Данные автора
<i>H. sanguisuga</i>	F283		
<i>Haemadipsa trimaculosa</i>	HQ203172	Таиланд	Borda, Siddal, 2010
<i>Leiobdella sp.</i>	HQ203192	Папуа - Новая Гвинея	Borda, Siddal, 2010
<i>Chtonobdella sp.</i>	KT968373	Папуа - Новая Гвинея	Tessler et al., 2015
<i>Chtonobdella grandis</i> cf.	HQ203190	Танзания	Borda, Siddal, 2010
<i>Chtonobdella fallax</i>	EU100096	Мадагаскар	Borda et al., 2008
<i>Chtonobdella vegans</i>	HQ203186	Мадагаскар	Borda, Siddal, 2010
Praobdellidae			
<i>Limnatis sp.</i>	F165	Казахстан (оз. Большое)	Данные автора
<i>Limnatis cf. nilotica</i>	AY763152	Хорватия	Trontelj, 2004
<i>Limnatis nilotica</i>	AY425452	Израиль	Borda, Siddal, 2003
<i>Limnatis paluda</i>	GQ368755	Афганистан	Phillips, Siddall, 2009
<i>Limnatis paluda</i>	AB981654	Казахстан	Nakano et al., 2015
<i>Limnatis paluda</i>	AB981656	Казахстан	Nakano et al., 2015
Orobodellidae			
<i>Orobodella tsushimensis</i>	AB828571	Корея	Nakano, Seo, 2014
Hirudinidae			
<i>Limnobdella mexicana</i>	CQ368756	Мексика	Phillips, Siddall, 2009
<i>Myxobdella annandalei</i>	GU394014	Индия	Phillips et al., 2010
<i>Poecilobdella javanica</i>	KJ551853	Таиланд	Tubtimon et al., 2014
<i>Poecilobdella manillensis</i>	KJ551850	Таиланд	Tubtimon et al., 2014
<i>Poecilobdella manillensis</i>	KX579976	Индия	Pathak et al., 2016
<i>Poecilobdella nanjingensis</i>	LC145739	Тайвань	Nakano, Lai, 2016
<i>Aliolimnatis michaelsoni</i>	AF116029	Конго	Arapakul et al., 1998
<i>Goddardobdella elegans</i>	GQ368742	Австралия	Phillips, Siddall, 2009

Приложение 2. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Eprobdeidae

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>E. vilnensis</i> EK		0,012	0,022	0,021	0,021	0,020	0,018	0,019	0,018	0,020	0,017	0,019	0,020	0,020	0,021
2	<i>E. vilnensis</i> GB	<b>0,079</b>		0,019	0,019	0,021	0,020	0,020	0,019	0,016	0,017	0,017	0,017	0,021	0,020	0,019
3	<i>E. monostriata</i> EK	0,172	0,152		0,015	0,025	0,025	0,021	0,022	0,020	0,022	0,022	0,025	0,024	0,027	0,024
4	<i>E. monostriata</i> GB	0,165	0,140	<b>0,100</b>		0,022	0,023	0,022	0,022	0,020	0,016	0,021	0,026	0,025	0,020	0,022
5	<i>E. octoculata</i> EK	0,158	0,155	0,192	0,167		0,014	0,012	0,016	0,018	0,021	0,021	0,025	0,020	0,020	0,022
6	<i>E. octoculata</i> GB	0,149	0,153	0,193	0,175	0,082		0,015	0,015	0,019	0,020	0,019	0,025	0,022	0,020	0,022
7	<i>E. octoculata</i> Fr	0,135	0,152	0,158	0,161	<b>0,065</b>	0,096		0,015	0,019	0,022	0,020	0,024	0,021	0,021	0,021
8	<i>E. octoculata</i> Uzb	0,136	0,145	0,161	0,168	0,101	0,088	0,087		0,019	0,019	0,020	0,023	0,022	0,020	0,020
9	<i>E. japonica</i> 2	0,128	0,120	0,152	0,157	0,137	0,144	0,139	0,140		0,017	0,019	0,022	0,017	0,020	0,017
10	<i>E. nigricollis</i>	0,134	0,126	0,157	0,113	0,156	0,144	0,163	0,137	0,130		0,020	0,024	0,022	0,019	0,019
11	<i>E. obscura</i>	0,134	0,138	0,179	0,166	0,170	0,158	0,160	0,159	0,159	0,163		0,018	0,021	0,021	0,019
12	<i>E. ochoterenai</i>	0,137	0,135	0,195	0,206	0,190	0,194	0,179	0,181	0,175	0,183	0,151		0,023	0,024	0,021
13	<i>E. japonica</i> 1	0,145	0,160	0,189	0,196	0,147	0,160	0,156	0,156	0,114	0,163	0,164	0,177		0,023	0,020
14	<i>E. testacea</i>	0,153	0,160	0,209	0,161	0,160	0,151	0,163	0,155	0,159	0,139	0,171	0,186	0,172		0,020
15	<i>E. dubia</i>	0,154	0,153	0,195	0,170	0,170	0,158	0,160	0,145	0,137	0,146	0,157	0,165	0,160	0,157	

Приложение 3. Список образцов, использованных для делимитации видов хоботных пиявок Прииртышья

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Austrobdella</i>			
<i>Austrobdella biolobata</i>	DQ414301	Австралия	Williams, Bureson, 2006
<i>Austrobdella californiata</i>	DQ414303	США	Williams, Bureson, 2006
<i>Austrobdella californiata</i>	DQ414304	США	Williams, Bureson, 2006
<i>Austrobdella translucens</i>	DQ414306	Австралия	Williams, Bureson, 2006
<i>Bathybdella</i>			
<i>Bathybdella sawyeri</i>	DQ414311	Тихий океан	Williams, Bureson, 2006
<i>Beringobdella</i>			
<i>Beringobdella rectangulata</i>	DQ414310	Беренгово море	Williams, Bureson, 2006
<i>Branchellion</i>			
<i>Branchellion lobata</i>	DQ414307	США	Williams, Bureson, 2006
<i>Branchellion parkeri</i>	DQ414308	Австралия	Williams, Bureson, 2006
<i>Branchellion ravenelii</i>	DQ414309	США	Williams, Bureson, 2006
<i>Branchellion</i> sp.	DQ414312	Индийский океан, о. Борнео	Williams, Bureson, 2006
<i>Branchellion</i> sp.	DQ414313	Австралия	Williams, Bureson, 2006
<i>Calliobdella</i>			
<i>Calliobdella lophii</i>	AY336024	Норвегия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Calliobdella lophii</i>	DQ414314	Норвегия	Williams, Bureson, 2006
<i>Calliobdella vivida</i>	AF003260	США	Siddall and Bureson, 1998
<i>Calliobdella vivida</i>	KU905901	США	Aguilar et al., 2017
<i>Caspiobdella</i>			
<i>Caspiobdella fadejewi</i>	AY336019	Германия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Caspiobdella fadejewi</i>	AY336020	Украина	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Crangonobdella</i>			
<i>Crangonobdella</i> sp.	AY336025	Россия (Татарский пролив)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Cystobranchnus</i>			
<i>Cystobranchnus meyeri</i>	DQ414315	США	Williams, Bureson, 2006
<i>Cystobranchnus respirans</i>	AY336021	Словения	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Gonimosobdella</i>			
<i>Gonimosobdella klemmi</i>	DQ414318	США	Williams, Bureson, 2006
<i>Hetacyclus</i>			
<i>Hetacyclus virgatus</i>	AY336027	Россия (з-в Анива)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Hetacyclus virgatus</i>	DQ414319	Беренгово море	Williams, Bureson, 2006
<i>Johanssona</i>			
<i>Johanssona arctica</i>	AY336012	Норвегия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Johanssona arctica</i>	AY336013	Россия	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Johanssona arctica</i>	DQ414320	Канада	Williams, Bureson, 2006
<i>Limnotrachelobdella</i>			
<i>Limnotrachelobdella okae</i>	AY336022	Россия	Utevsky and Trontelj, 2004

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Malmiana</i>			
<i>Malmiana brunnea</i>	DQ414321	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Malmiana buthi</i>	DQ414322	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Malmiana scorpii</i>	DQ414326	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Moorebdellina</i>			
<i>Moorebdellina biannulata</i>	EF405598	Антарктида (море Росса)	Utevsky et al., 2007
<i>Myzobdella</i>			
<i>Myzobdella lugubris</i>	DQ414323	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Myzobdella lugubris</i>	KU905849	США	Aguilar et al., 2017
<i>Myzobdella lugubris</i>	KU905914	США	Aguilar et al., 2017
<i>Notostomum</i>			
<i>Notostomum laeve</i>	EF405595	Беренцево море	Utevsky et al., 2007
<i>Nototheniobdella</i>			
<i>Nototheniobdella sawyeri</i>	AY336010	Антарктида (море Росса)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Oceanobdella</i>			
<i>Oceanobdella khani</i>	DQ414331	Беренцево море	Williams, Burreson, 2006
<i>Oceanobdella sexoculata</i>	DQ414332	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Oceanobdella</i> sp.	AY336026	Россия (з-в Анива)	Utevsky and Trontelj, 2004
<i>Oxytonostoma</i>			
<i>Oxytonostoma typica</i>	DQ414333	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Oxytonostoma typica</i>	EF405596	Беренцево море	Utevsky et al., 2007
<i>Piscicola</i>			
<i>P. geometra</i>	AF003280	Франция	Siddall, Burreson, 1998
<i>P. geometra</i>	AY336014	Германия	Utevsky Trontelj, 2004
<i>P. geometra</i>	AY336015	Украина	Utevsky Trontelj, 2004
<i>P. geometra</i>	MF458791	Франция	Corse et al., 2017
<i>P. geometra</i>	F77	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>P. geometra</i>	F87	Казахстан	
<i>P. geometra</i>	F88	(Бухтарминское вдхр.)	
<i>Piscicola cf. annae</i>	AY336016	Германия	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Piscicola milneri</i>	DQ414337	Канада	Williams, Burreson, 2006
<i>Piscicola</i> sp.	AY336017	Германия	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Piscicola</i> sp.	KM095103	Россия (оз. Гусиное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Piscicola</i> sp.	KM095104	Россия (оз. Гусиное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Piscicola</i> sp.1	F78	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>Piscicola</i> sp.2	F119	Казахстан	
<i>Piscicola</i> sp.2	F123	(Бухтарминское вдхр.)	
<i>Piscicola</i> sp.2	F95	вдхр.)	

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Piscicola</i> sp.2	F96	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора
<i>Piscicolaria</i>			
<i>Piscicolaria reducta</i>	DQ414339	США	Williams, Burreson, 2006
<i>Piscicolinae</i>			
<i>Piscicolinae</i> sp.	AY336023	Россия (оз. Тунайча)	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Platybdella</i>			
<i>Platybdella anarrhichae</i>	DQ414336	Норвегия	Williams, Burreson, 2006
<i>Platybdella anarrhichae</i>	EF405594	Баренцево море	Utevsky et al., 2007
<i>Pontobdella muricata</i>	AY336029	Словения	Utevsky Trontelj, 2004
<i>Stibarobdella</i>			
<i>Stibarobdella macrothela</i>	DQ414340	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Stibarobdella tasmanica</i>	DQ414343	Австралия	Williams, Burreson, 2006
<i>Zeylanicobdella</i>			
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	DQ414344	Индийский океан, о. Борнео	Williams, Burreson, 2006
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441717	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441718	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441719	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441720	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Zeylanicobdella arugamensis</i>	KY441721	Малайзия	Ravi et al., 2017
<i>Alboglossiphonia</i>			
<i>A heteroclita</i>	AF116016	США	Apakupakul et al., 1999
<i>A quadrata</i>	AY962455	Намибия	Siddall et al., 1999
<i>A. lata</i>	KF966547	Южная Корея	Park, Oh, 2014
<i>A. lata</i>	AY962454	Тайвань	Siddall et al., 2005
<i>A. papillosa</i>	KM095100	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>A. papillosa</i>	KM095101	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>A. weberi</i>	AY962453	США	Siddall et al., 2016
<i>A. weberi</i>	H180	Россия (Камчатка)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	94	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	96		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F102	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F103		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F122		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F126		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F128		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F133		
<i>Alboglossiphonia</i> sp.	F90		

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Batracobdella</i>			
<i>Batracobdella algira</i>	HM246609	Испания	Trajanovski et al., 2010
<i>Batracobdella paludosa</i>	KF966548	Южная Корея	Park, Oh, 2014
<i>Glossiphoniidae</i>			
<i>Glossiphoniidae</i> sp.	KM612127	Канада	Dewaard, et al., 2015
<i>Glossiphoniidae</i> sp.	KM612191	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphoniidae</i> sp.	KM612217	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i>			
<i>G. baicalensis</i>	AY047329	-	Light, Siddall, 1999
<i>G. complanata</i>	AF003277	Англия	Siddall, Burreson, 1998
<i>G. complanata</i>	AY047321	Англия	Siddal, Borda, 2003
<i>G. complanata</i>	JQ821635	-	Williams et al., 2013
<i>G. complanata</i>	HM246608	Германия	Trajanovski et al., 2010
<i>G. complanata</i>	MF458715	Франция	Corse et al., 2017
<i>G. concolor</i>	KM095097	Украина	Kaygorodova et al., 2014
<i>G. concolor</i>	KM095098	Украина	Kaygorodova et al., 2014
<i>G. concolor</i>	AY962458	Швеция	Siddall et al., 2005
<i>G. elegans</i>	AF003258	Северная Америка	Siddall, Burreson, 1998
<i>G. elegans</i>	JQ073854	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073858	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073859	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073860	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073862	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073864	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073866	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073868	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073869	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	JQ073871	США	Moser, et al., 2012
<i>G. elegans</i>	AY047322	США	Light, Siddall, 1999
<i>G. elegans</i>	KM611854	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i> sp.	H297	Россия (р. Обь)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>Glossiphonia</i> sp.	KM095099	Россия (оз. Гусиное)	Kaygorodova et al., 2014
<i>Glossiphonia</i> sp.	KM612191	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i> sp.	KM612217	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>Glossiphonia</i> sp.1	80	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора
<i>Glossiphonia</i> sp.1	88		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	89		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F47	Казахстан (Семипалатинская протока)	
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F170	Казахстан (оз. Большое)	
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F49	Семипалатинская протока	

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F82	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F31	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F234		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F248		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F256		
<i>Glossiphonia</i> sp.1	F257		
<i>Glossiphonia</i> sp.2	79	Казахстан (р. Иртыш)	Данные автора
<i>Glossiphonia</i> sp.2	F231		
<i>Glossiphonia</i> sp.2	F235		
<i>Glossiphonia</i> sp.2.	F229		
<i>Glossiphonia</i> sp.3	87		
<i>Glossiphonia</i> sp.3	86	Семипалатинская протока	
<i>Glossiphonia</i> sp.3	F43		
<i>Glossiphonia</i> sp.3	F34	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>Glossiphonia</i> sp.3	F232		
<i>Oosthuizobdella</i>			
<i>Oosthuizobdella garoui</i>	AY962460	Южная Африка	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella</i>			
<i>Placobdella fimbriata</i>	AY962465	Буркина Фасо	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella jaegerskioeldi</i>	AY962463	Южная Африка	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella multilneata</i>	KM396760	США	Moser, et al., 2014
<i>Placobdella multilneata</i>	KM396761	США	Moser, et al., 2014
<i>Placobdella multilneata</i>	AY962464	США	Siddall et al., 2005
<i>Placobdella nuchalis</i>	MF067126	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella nuchalis</i>	MF067127	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella nuchalis</i>	MF067128	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella sophieae</i>	MF067096	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella sophieae</i>	MF067097	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdella</i> sp.	MF067091	США	De Carle et al., 2017
<i>Placobdelloides</i>			
<i>Placobdelloides siamensis</i>	AY962462	Тайланд	Siddall et al., 2005
<i>Hellobdella</i>			
<i>H. stagnalis</i>	KM612173	Канада	Dewaard et al., 2015
<i>H. stagnalis</i>	MF067147	США	Carle et al., 2017
<i>H. stagnalis</i>	MF150168	Исландия	Saglam et al., 2017
<i>H. stagnalis</i>	KM095095	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>H. stagnalis</i>	H108	Россия (оз. Байкал)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>H. stagnalis</i>	828	Россия (р. Лена)	
<i>H. stagnalis</i>	H115	Россия (р. Ангара)	
<i>H. stagnalis</i>	H121	Россия (р. Киренга)	
<i>H. stagnalis</i>	F2	Россия (оз. Байкал)	
<i>H. stagnalis</i>	H259	Чехия	

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов	
<i>H. stagnalis</i>	AF116018	Франция	Arapurakul et al., 1999	
<i>H. stagnalis</i>	AF329041	Англия	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. stagnalis</i>	F100	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора	
<i>H. stagnalis</i>	F109			
<i>H. stagnalis</i>	F91			
<i>H. stagnalis</i>	F73	Казахстан (Шульбинское вдхр.)		
<i>H. stagnalis</i>	A84			
<i>H. stagnalis</i>	F72			
<i>H. stagnalis</i>	A77	Казахстан (р. Иртыш)		
<i>H. stagnalis</i>	F210			
<i>H. stagnalis</i>	F84	Казахстан (Семипалатинская протока)		
<i>H. stagnalis</i>	F166	Казахстан (оз. Безымянное)		
<i>H. stagnalis</i>	F168	Казахстан (оз. Большое)		
<i>H. stagnalis</i>	MF150165- 67	Турция		Saglam et al., 2017
<i>H. stagnalis</i>	KM196604	США		Ram et al., 2014
<i>H. stagnalis</i>	HQ179862	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011	
<i>H. michaelsoni</i>	AF536824	Чили	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. modesta</i>	AF329040	США	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. modesta</i>	HQ179853	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	HQ179854	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319988	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319990	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319991	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319992	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	JF319996	США	Moser et al., 2011	
<i>H. modesta</i>	KM611981	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612015	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612052	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612054	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612072	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KM612131	Канада	Dewaard et al., 2014	
<i>H. modesta</i>	KP176608	США	Richardson et al., 2015	
<i>H. modesta</i>	MF158963	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. modesta</i>	MF158964	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. modesta</i>	MF158965	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. modesta</i>	MF158966	США	Saglam et al., 2017	
<i>H. nuda</i>	H172	Россия (оз. Ханка)	Неопубл. данные Манзяк	
<i>H. europaea</i>	AF329052	Австралия	Siddall, Borda, 2003	
<i>H. europaea</i>	AU856048	Южная Африка	Siddall, Budinoff, 2005	

<i>H. europaea</i>	DQ995297	США	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. europaea</i>	DQ995298	США	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. europaea</i>	DQ995304	США	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. europaea</i>	FJ000349	Тайвань	Lai et al., 2009
<i>H. europaea</i>	KC904241	Испания	Reyes-Prieto et al., 2014
<i>H. europaea</i>	KC904242	Испания	Reyes-Prieto et al., 2014
<i>H. elongata</i>	AF329045	США	Siddall, Borda, 2003
<i>H. elongata</i>	HQ179863	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. bowermani</i>	KF683194	США	Moser et al., 2013
<i>H. bowermani</i>	KF683193	США	Moser et al., 2013
<i>H. bowermani</i>	KF683192	США	Moser et al., 2013
<i>H. atli</i>	HQ179850	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. atli</i>	HQ179851	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. atli</i>	HQ179852	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>Helobdella</i> sp.	KF000158	США	Deiner, et al., 2013
<i>Helobdella</i> sp.	KF000141	США	Deiner, et al., 2013
<i>Helobdella</i> sp.	DQ995311	Мексика	Bely, Weisblat, 2006
<i>H. nunununojensis</i>	AF329048	Боливия	Siddall, Borda, 2003
<i>H. octatestisaca</i>	FJ000342	Тайвань	Lai et al., 2009
<i>H. octatestisaca</i>	FJ000343	Тайвань	Lai et al., 2009
<i>H. paranensis</i>	AF116019	Уругвай	Arapakul et al., 1999
<i>H. paranensis</i>	AF329037	Уругвай	Siddal., 2002
<i>H. simplex</i>	KF683195	Аргентина	Moser et al., 2013
<i>H. simplex</i>	KF683196	Аргентина	Moser et al., 2013
<i>H. simplex</i>	KF683197	Аргентина	Moser et al., 2013
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179866	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179867	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179868	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179869	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. socimulcensis</i>	HQ179871	Мексика	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. sorojchi</i>	AF329050	Боливия	Siddall, Borda, 2003
<i>H. michaelsoni</i>	AF536824	Чили	Siddall, Borda, 2003
<i>H. modesta</i>	AF329040	США	Siddall, Borda, 2003
<i>H. modesta</i>	HQ179853	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>H. modesta</i>	HQ179854	США	Oceguera-Figueroa et al., 2011
<i>Haementeria</i>			
<i>Haementeria molesta</i>	AF329469	Уругвай	Siddall, Borda, 2003
<i>H. paraguayensis</i>	JN850908	Аргентина	Oceguera-Figueroa, 2012

Вид	GenBank/ Образец	Место сбора	Ссылка на авторов
<i>Hemiclepsis</i>			
<i>H. marginata</i>	MH643798	Украина	Utevsky and Utevsky, 2018
<i>H. marginata</i>	AF003259	Франция	Siddall, Burreson, 1998
<i>H. marginata</i>	B03	Казахстан (Семипалатинская протока)	Данные автора
<i>H. marginata</i>	B04	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	KM095093	Россия	Kaygorodova et al., 2014
<i>H. marginata</i>	H11	Россия (р. Лена)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>H. marginata</i>	H32	Россия (оз. Гусиное)	
<i>H. marginata</i>	F81	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	Данные автора
<i>H. marginata</i>	F146	Казахстан (Шульбинское вдхр.)	
<i>H. marginata</i>	F203	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	F246	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	F265	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>H. marginata</i>	F266	Казахстан (р. Иртыш)	
<i>Theromyzon</i>			
<i>T. bifarium</i>	AY047330	Северная Америка	Light, Siddall, 1999
<i>T. pallens</i>	AF003279	Франция	Siddall, Burreson, 1998
<i>T. rude</i>	AF003262	Канада	Siddall, Burreson, 1998
<i>T. tessulatum</i>	AY047318	-	Light, Siddall, 1999
<i>T. tessulatum</i>	F89	Казахстан (Бухтарминское вдхр.)	Данные автора
<i>T. tessulatum</i>	H281	Россия (Иркутская обл.)	Неопубликованные данные Мандзяк
<i>T. tessulatum</i>	H292	Россия (р. Обь)	
<i>T. maculosum</i>	H7	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H8	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H37	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H52	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H65	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H67	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H79	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H219	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H238	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H280	Россия (оз. Байкал)	
<i>T. maculosum</i>	H345	Россия (оз. Байкал)	

Приложение 4. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Piscicolidae

	Вид	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	<i>C. fadejewi</i>		0.019	0.018	0.016	0.017	0.018	0.015	0.016	0.016	0.016	0.016
2	<i>C. meyeri</i>	0.167								0.019	0.019	0.018
3	<i>C. resperans</i>	0.157	0.197								0.020	0.018
4	<i>Calliobdella lophii</i>	0.132	0.162	0.172							0.019	0.018
5	<i>Calliobdella vivida</i>	0.164	0.134	0.179	0.183						0.019	0.019
6	<i>Gonimosobdella klemmi</i>	0.160	0.109	0.182	0.171	0.129					0.019	0.019
7	<i>P. geometra</i>	0.119	0.161	0.173	0.161	0.177	0.169				0.010	0.011
8	<i>P. milneri</i>	0.127	0.159	0.145	0.141	0.162	0.163	<b>0.056</b>			0.010	0.007
9	<i>Piscicola</i> cf. <i>annae</i>	0.137	0.168	0.166	0.160	0.187	0.166	<b>0.052</b>	0.065		0.007	0.011
10	<i>Piscicola</i> sp. AY336017	0.137	0.175	0.168	0.167	0.176	0.173	<b>0.051</b>	0.55	0.025		0.010
11	<i>Piscicola</i> sp. KM095103-4	0.135	0.163	0.154	0.153	0.171	0.163	0.064	0.023	0.069	0.059	

Приложение 5. Генетические дистанции между филогенетическими группами рода *Helobdella*

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>H. stagnalis</i> EK		0.002	0.003	0.014	0.020	0.014	0.019	0.019	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020
2	<i>H. stagnalis</i> Siberia	<b>0.008</b>		0.003	0.014	0.019	0.014	0.019	0.019	0.021	0.020	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020
3	<i>H. stagnalis</i> GB Europa	0.012	0.014		0.014	0.019	0.014	0.019	0.019	0.021	0.020	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020
4	<i>H. stagneris</i> GB1	0.104	0.102	0.108		0.020	0.014	0.019	0.019	0.019	0.019	0.020	0.019	0.022	0.021	0.019
5	<i>H. bowermani</i>	0.168	0.168	0.171	0.172		0.015	0.018	0.018	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.021	0.018
6	<i>H. modesta</i>	0.148	0.146	0.149	0.146	0.167		0.015	0.015	0.017	0.017	0.018	0.017	0.017	0.017	0.016
7	<i>H. paranensis</i>	0.165	0.163	0.166	0.152	0.146	0.155		0.003	0.019	0.018	0.019	0.017	0.020	0.019	0.017
8	<i>H. simplex</i>	0.169	0.167	0.170	0.156	0.146	0.159	0.009		0.019	0.018	0.020	0.017	0.021	0.019	0.017
9	<i>H. transversa</i>	0.188	0.187	0.191	0.162	0.165	0.191	0.162	0.165		0.018	0.022	0.018	0.023	0.021	0.018
10	<i>H. socimulcensis</i>	0.191	0.188	0.190	0.166	0.177	0.187	0.152	0.156	0.169		0.021	0.007	0.023	0.019	0.007
11	<i>H. octalestisaca</i>	0.191	0.190	0.189	0.181	0.180	0.194	0.174	0.185	0.205	0.201		0.021	0.021	0.021	0.021
12	<i>H. europaea</i>	0.193	0.190	0.191	0.162	0.172	0.184	0.143	0.147	0.164	0.033	0.195		0.022	0.019	0.009
13	<i>H. atli</i>	0.198	0.194	0.195	0.213	0.156	0.193	0.187	0.191	0.222	0.217	0.213	0.209		0.021	0.021
14	<i>H. elongata</i> HQ63	0.200	0.199	0.197	0.196	0.208	0.195	0.179	0.183	0.191	0.173	0.206	0.167	0.207		0.019
15	<i>H. triserialis</i>	0.203	0.200	0.202	0.181	0.182	0.195	0.163	0.168	0.172	0.056	0.211	0.067	0.215	0.189	

Приложение 6. Генетические дистанции между филогенетическими группами семейства Glossiphoniidae

Вид	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 <i>Glossiphonia</i> sp.1 ЕК		0,015	0,014	0,010	0,015	0,014	0,016	0,015	0,017	0,018	0,020	0,023	0,023	0,026
2 <i>Glossiphonia</i> sp.2 ЕК	0,088		0,017	0,017	0,016	0,011	0,016	0,016	0,019	0,020	0,022	0,022	0,022	0,026
3 <i>Glossiphonia</i> sp.3 ЕК	0,082	0,110		0,018	0,016	0,016	0,016	0,014	0,015	0,017	0,019	0,021	0,021	0,025
4 <i>G. concolor</i> AY962458	<b>0,044</b>	0,109	0,115		0,016	0,014	0,018	0,017	0,020	0,020	0,022	0,023	0,023	0,029
5 <i>G. concolor</i>	0,089	0,099	0,098	0,100		0,016	0,013	0,014	0,017	0,017	0,021	0,023	0,023	0,028
6 <i>G. verrucata</i>	0,081	<b>0,058</b>	0,100	0,085	0,097		0,017	0,016	0,019	0,020	0,021	0,024	0,024	0,028
7 <i>G. baicalensis</i>	0,086	0,089	0,095	0,108	0,070	0,105		0,014	0,017	0,019	0,021	0,023	0,023	0,026
8 <i>G. complanata</i>	0,091	0,100	<b>0,079</b>	0,108	0,082	0,105	0,078		0,016	0,016	0,020	0,022	0,022	0,025
9 <i>G. elegans</i>	0,112	0,131	0,092	0,142	0,110	0,135	0,114	0,112		0,019	0,020	0,024	0,024	0,023
10 <i>Glossiphonia</i> sp. KM095099	0,116	0,133	0,110	0,133	0,112	0,139	0,124	0,096	0,127		0,024	0,022	0,022	0,026
11 Glossiphoniidae	0,173	0,191	0,163	0,183	0,183	0,182	0,176	0,167	0,177	0,206		0,021	0,021	0,023
12 <i>A. weberi</i>	0,166	0,159	0,148	0,169	0,162	0,179	0,166	0,150	0,180	0,160	0,177		0,004	0,019
13 <i>A. lata</i>	0,167	0,156	0,148	0,169	0,163	0,179	0,166	0,150	0,176	0,159	0,179	0,009		0,019
14 <i>A. heteroclita</i>	0,203	0,202	0,183	0,230	0,209	0,223	0,191	0,182	0,174	0,200	0,206	0,135	0,129	