

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ЛИМНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

НЕБЕСНЫХ

Иван Александрович

ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ DIPLOMONADIDA В
ЛОСОСЕВИДНЫХ РЫБАХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ:
ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТЫ

03.02.08 – экология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Деникина Н. Н.
Научный консультант:
кандидат биологических наук
Дзюба Е. В.

Иркутск, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	9
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Характеристика представителей отряда Diplomonadida	10
1.1.1. Эволюционное положение, филогения и таксономия дипломонад	10
1.1.2. Морфология дипломонад	14
1.1.3. Разнообразие мест обитания дипломонад	16
1.1.4. Жизненный цикл и размножение дипломонад	18
1.1.5. История изучения представителей отряда Diplomonadida в рыбах	19
1.1.6. Патологии, связанные с зараженностью дипломонадами	23
1.1.7. Дипломонады в рыбах Восточной Сибири	27
1.2. Особенности экологии лососевидных рыб Восточной Сибири	30
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1. Характеристика объектов исследования и пробоподготовка	36
2.2. Методы исследования	42
2.2.1. Молекулярно-генетические методы	42
2.2.2. Методы микроскопического анализа	49
ГЛАВА 3. Определение зараженности лососевидных рыб Восточной Сибири представителями отряда Diplomonadida	50
3.1. Разработка и апробация метода молекулярно-генетической детекции представителей отряда Diplomonadida	50
3.2. Определение зараженности рыб сем. Thymallidae представителями отряда Diplomonadida	55
3.3. Детекция Diplomonadida у байкальского омуля	58
3.4. Детекция <i>S. barkhanus</i> у прибрежно-пелагических и пелагических коттоидных рыб оз. Байкал	61
3.5. Детекция <i>S. barkhanus</i> у других видов лососевидных рыб Восточной Сибири	64
3.6. Краткая характеристика пищевых взаимоотношений лососевидных рыб реки Чечуй	66
3.7. Детекция <i>S. barkhanus</i> у кормовых объектов лососевидных рыб Восточной Сибири	72
ГЛАВА 4. Определение генетического разнообразия <i>S. barkhanus</i> в лососевидных рыбах Восточной Сибири	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	80
ВЫВОДЫ	82
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	83
Приложение 1	103
Приложение 2	121
Приложение 3	126

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Diplomonadida – жгутиковые простейшие, известные как самые примитивные эукариоты, поскольку лишены характерных митохондрий, пероксисом и аппарата Гольджи [Keeling, Doolittle, 1997]. Многие аспекты биологии и экологии этих животных, включая специфичных хозяев, географические ареалы и патогенность различных видов мало изучены, что, прежде всего, связано с неточным определением родов и видов отряда Diplomonadida. В настоящее время разрабатываются надежные систематические критерии, предлагаемые для характеристики этой группы паразитических простейших. Среди представителей отряда Diplomonadida встречаются как обычные комменсалы пищеварительного тракта животных, так и патогенные организмы [Poynnton, Morrison, 1990; Jorgensen, Sterud, 2004 и др.]. Изучение их является весьма актуальным, особенно для аквакультуры, с целью разработки тонких методов диагностики протозойных инфекций для предотвращения гибели разводимых рыб.

Среди дипломонад наиболее характерными и специфичными паразитами рыб являются представители рода *Spironucleus*. Вызванные ими периодические вспышки заболеваний лососевых рыб приносят огромные убытки при индустриальном рыбоводстве [Jorgensen, Sterud, 2006; Guz, Puk, 2015]. В качестве симбионтов лососевидных рыб описаны три представителя этого рода: *Spironucleus barkhanus*, *S. salmonicida* и *S. salmonis*. В настоящее время *S. barkhanus* относят к комменсалам пресноводных рыб, этот вид выделен из кишечника и желчного пузыря европейского хариуса *Thymallus thymallus*, сибирского хариуса *T. arcticus* и арктического гольца *Salvelinus alpinus*, в естественных условиях не вызывает заболевания рыб. *S. salmonis* локализуется в пилорических придатках и кишечнике хозяина, в аквакультуре может приводить к массовой гибели пресноводных лососевых рыб, таких, как радужная форель *Oncorhynchus mykiss* (Польша, Ирландия). *S. salmonicida* вызывает серьезные системные инфекции у выращиваемых в морской

аквакультуре рыб, таких как атлантический лосось *Salmo salar* и арктический голец (Норвегия), чавыча *Oncorhynchus tshawytscha* (Канада) и радужная форель *O. mykiss* (Норвегия) [Mo et al., 1990; Kent et al., 1992; Sterud et al., 1998; Jorgensen, Sterud, 2006; Guz, Puk, 2015 и др.].

Несмотря на сравнительно высокий уровень изученности животных озера Байкал, данные о видовом составе паразитических простейших до сих пор являются неполными [Заика, 1965; Пронин, 2001; Русинек, 2007]. К настоящему времени в рыбах оз. Байкал зарегистрированы представители двух родов диплонад. Методы микроскопии позволили определить *Hexamita* sp. и *H. truttae* в пищеварительной системе байкальского омуля *Coregonus migratorius*, байкальских хариусов (Thymallidae), сибирского ельца *Leuciscus leuciscus*, налима *Lota lota*, а также у эндемичных коттоидных рыб: *Batrachocottus multiradiatus*, *Batrachocottus nikolskii*, *Cottocomephorus grewingkii*, *Limnocottus bergianus* [Заика, 1965; Пронин, 1981, 2001; Пугачев, 2001; Русинек, 2007]. Молекулярно-генетический анализ ассоциированной микрофлоры кишечника черного байкальского хариуса *Thymallus baicalensis* выявил генотип *S. barkhanus* [Белькова и др., 2008, 2009].

Лососевидные рыбы являются перспективными объектами для искусственного воспроизводства и акклиматизации в озерах и водохранилищах. В настоящий момент становится очевидной необходимость применения комплекса классических и молекулярно-генетических методов для детекции паразитических простейших отряда Diplomonadida в рыбах Восточной Сибири с учётом экологических особенностей рыб. Изучение диплонад послужит основой для подготовки рекомендаций по профилактике заболеваний рыб в условиях искусственного содержания: в живых музейных экспозициях, при подращивании молоди и товарном производстве рыб в аквакультуре.

Цель и задачи. Цель работы – изучить распространение и генетическое разнообразие Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири с учётом экологических особенностей рыб. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Разработать систему молекулярно-генетической детекции представителей паразитических простейших отряда Diplomonadida в пищеварительной системе рыб.

2. Определить зараженность лососевидных рыб Восточной Сибири представителями Diplomonadida и выявить экологические характеристики рыб, которые могут являться факторами, влияющими на распространение инфекции и повышающими риск инвазии.

3. Определить генетическое разнообразие паразитических простейших отряда Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Использование молекулярно-генетических методов для изучения представителей отряда Diplomonadida в пищеварительной системе различных видов рыб является решением проблемы их идентификации и исследования зараженности.

2. В составе микробиоценоза пищеварительной системы рыб родов *Thymallus* и *Coregonus* Восточной Сибири присутствует единственный вид отряда Diplomonadida – *S. barkhanus*. Вид представлен двумя генотипами, космополитным для лососевидных и родоспецифичным для сиговых рыб.

Научная новизна. В пищеварительной системе лососевидных рыб Восточной Сибири определён единственный представитель паразитических простейших Diplomonadida – вид *S. barkhanus*. Наряду с космополитным генотипом *S. barkhanus*, зарегистрированным ранее в лососевидных рыбах Голарктики, выявлен новый генотип, достоверно отличающийся по последовательности гена малой субъединицы рРНК, характерный для сиговых рыб. Установлено, что зараженность дипломонадами детерминирована морфофункциональными и экологическими особенностями рыб.

Степень обоснованности и достоверности полученных научных результатов подтверждена использованием в качестве теоретической и методической базы трудов отечественных и зарубежных исследователей. Зараженность дипломонадами исследовали у разных видов рыб: черного

байкальского хариуса *Thymallus baicalensis*, байкалоленского хариуса *Thymallus baicalolenensis*, байкальского омуля *C. migratorius*, сига-пыжьяна *Coregonus lavaretus pidschian*, обыкновенного сига *Coregonus lavaretus*, обыкновенного валька *Prosopium culindraseum*, тугуна *Coregonus tugun* и ленка *Brachymystax lenok*. Исследование особенностей экологии различных видов лососевидных рыб осуществляли с использованием общепринятых методов (полный биологический анализ и анализ питания) и гидроакустического метода (анализ распределения). На присутствие ДНК Diplomonadida проанализированы выборки рыб родов *Thymallus*, *Coregonus*, *Prosopium* и *Brachymystax*, общее количество рыб составило 967 экз. Для исследования использованы современные методы, основанные на анализе рибосомных генов: выделение ДНК проводили тремя методами; использовали видо- и групп-специфичную ПЦР; лигирование, трансформацию и секвенирование последовательностей осуществляли по стандартным методам. Исследование выполнено с использованием бесплатных серверов и стандартных пакетов программ для работы с последовательностями: BLAST, ClustalW 2.0.10, BioEdit v.8.0, Mega v.5.0. Оценку достоверности различий между выборками оценивали с помощью критерия хи-квадрат χ^2 (с поправкой на непрерывность) [Лакин, 1990]. Статистическая обработка материала проведена в системе анализа R [Мастицкий, 2014].

Практическая значимость полученных результатов. Разработанные системы молекулярно-генетической детекции позволяют диагностировать присутствие представителей паразитических простейших отряда Diplomonadida в пищеварительной системе рыб. В качестве основного объекта выбраны лососевидные рыбы, которые являются перспективными объектами для искусственного воспроизводства и акклиматизации в озерах и водохранилищах. Методические разработки детекции паразитических Diplomonadida могут быть рекомендованы к использованию для проведения профилактических мероприятий в аквакультуре.

Реализация и внедрение результатов исследования. Теоретические положения и результаты проведенных исследований использованы при подготовке научно-исследовательских отчетов по Программе РАН «Биологическое разнообразие»: № 27.13 «Исследование симбиотической и паразитической микрофлоры лососевидных рыб и закономерности ее формирования» (2009-2011 гг.) и № 30.9 «Микрофлора, ассоциированная с рыбами: биоразнообразие и экологическая безопасность» (2013-2015 гг.), интеграционному проекту СО РАН № 6 «Закономерности поведения байкальского омуля и гидроакустическая оценка динамики его популяций как ключевого промыслового вида» (2009-2011 гг.). Результаты исследований были использованы при составлении Государственного доклада о состоянии и об охране окружающей среды Иркутской области в 2011 году (2012 г.), а также при составлении отчетов по бюджетной теме ФГБУН ЛИН СО РАН «Молекулярная экология и эволюция живых систем Центральной Азии на примере рыб, губок и ассоциированной с ними микрофлоры» (0345–2014–0002, № гос. рег. 01201353444).

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы представлены на международных и российских конференциях: Первой международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения М.А. Козлова «Современные зоологические исследования в России и сопредельных странах» (Чебоксары, 2011); II международной научно-практической конференции «Проблемы современной биологии» (Москва, 2011); VI международной конференции «Биология: от молекулы до биосферы» (Харьков, Украина, 2011); V Всероссийском с международным участием медико-биологическом Конгрессе «Симбиоз-Россия 2012» (Тверь, 2012); VIII Международной научно-практической конференции «Наука и инновации – 2012» (Польша, 2012); Международной научно-практической конференции «Биологическое разнообразие – основа устойчивого развития» (Грозный, Махачкала, 2017).

Публикации. Результаты исследования опубликованы в 16 научных работах, из них 4 – статьи, из которых 2 из списка ВАК, одна коллективная монография и 11 – тезисы и материалы конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка литературы и трех приложений. Работа изложена на 128 страницах, содержит 8 таблиц, 24 рисунка и три приложения. Список литературы включает 181 наименование, из которых 78 - российских и 103 зарубежных изданий.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность научным руководителям: к.б.н., доценту Н.Н. Деникиной и к.б.н. Е.В. Дзюба за помощь в организации и проведении исследований, к.б.н., доценту Н.Л. Бельковой, к.б.н. А.М. Мамонтову и к.б.н. Л.И. Черногор за ценные консультации, к.б.н. Н.А. Рожковой и к.б.н. И.В. Вейнберг за помощь в определении кормовых объектов рыб, сотрудникам отдела микробиологии, лаборатории ихтиологии, аналитической биоорганической химии ЛИН СО РАН, зав. лабораторией паразитологии и экологии гидробионтов Института общей и экспериментальной биологии СО РАН д.б.н., профессору Н.М. Пронину гл.н.с. Байкальского музея ИНЦ СО РАН д.б.н. О.Т. Русинек, за оказанную помощь при выполнении работ и обсуждении результатов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДМСО – диметилсульфоксид

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

МЭГ – морфо-экологическая группа

п. н. – пара нуклеотидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

рДНК – рибосомная дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

рРНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТА – триацетатный буфер

трис-НСl – трис-оксиметиламинометана гидрохлорид

ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия

ЭДТА – этилендиаминтетраацетат

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Характеристика представителей отряда *Diplomonadida*

1.1.1. Эволюционное положение, филогения и таксономия дипломонад

Diplomonadida – жгутиковые простейшие, многие годы считавшиеся самыми примитивными из эукариот, поскольку лишены характерных митохондрий, пероксисом и аппарата Гольджи [Keeling, Doolittle, 1997]. Их рассматривали, как переходную группу организмов, в эволюции прокариот, образовавшуюся до формирования типичных эукариотических органелл [Cavalier-Smith, 1983, 1993; Sogin et al., 1989; Van Keulen et al., 1992; Leipe et al., 1993]. Тем не менее, достижения в области молекулярной филогенетики и клеточной биологии в течение последних десятилетий ставят под сомнение это мнение [Baldauf, 2003; Embley, Martin, 2006; Simpson, Roger, 2004]. Обнаружение у дипломонад нескольких разновидностей митохондрий стало поворотным пунктом для представления эволюции митохондрий ранних эукариот. Так, было доказано, что патогенные дипломонады человека рода *Giardia* (лямблии) имеют упрощенные митохондрии, которые называются митосомами [Tovar et al., 2003]. В отличие от обычных митохондрий, митосомы у представителей рода *Giardia* не используют АТФ в качестве источника энергии, а собирают железо-серные кластеры (Fe-S), которые используют в окислительно-восстановительных реакциях и могут катализировать большой спектр биохимических реакций, связанных с переносом электронов. Сходные по структуре и функциям, подобные митосомам лямблий органеллы, названные гидрогеносомами, обнаружены у *S. salmonicida*. Результаты анализа эволюционных изменений состава гидрогеносом позволили сделать вывод о наличии у предка дипломонад подобных митохондриям органелл, которые впоследствии были утрачены лямблиями [Jerlstrom-Hultqvist et al., 2013]. Таким образом, клетки дипломонад вторично упрощены и эти протисты не могут быть

промежуточным этапом формирования органелл в общей схеме эволюционной истории эукариот [Embley et al., 2003; Tovar et al., 2003; Jerlstrom-Hultqvist et al., 2013].

В начале нынешнего столетия, благодаря молекулярной филогении, были достигнуты большие успехи в таксономии эукариот, и используемые с 70-90-х гг. системы Вёза, основанные на рибосомной филогении [Woese, Fox, 1977; Woese et al., 1990], заменяются на системы, включающие новые данные филогенетических исследований геномов эукариот и определяющие шесть основных групп эукариотических организмов: Opisthokonts, Amoebozoa, Archaeplastida, Chromalveolates, Rhizaria и Excavata [Berger, 2002; Embley, Martin, 2006; Roger, Simpson, 2009]. В соответствии с новой системой дипломонады вместе с Retortamonads, Oxyomonads, Parabasalids, Jakobids, Euglenozoa, Heterolobosea и такими родами гетеротрофных жгутиконосцев, как *Trimastix*, *Malawimonas* и *Carpediemonas*, образуют группу Excavata. Монофилетичность этой группы была неоднократно подтверждена различными молекулярными методами [Simpson, Roger, 2002, 2004; Adl et al., 2005; Embley, Martin, 2006; Hampl et al., 2009] (рис. 1).

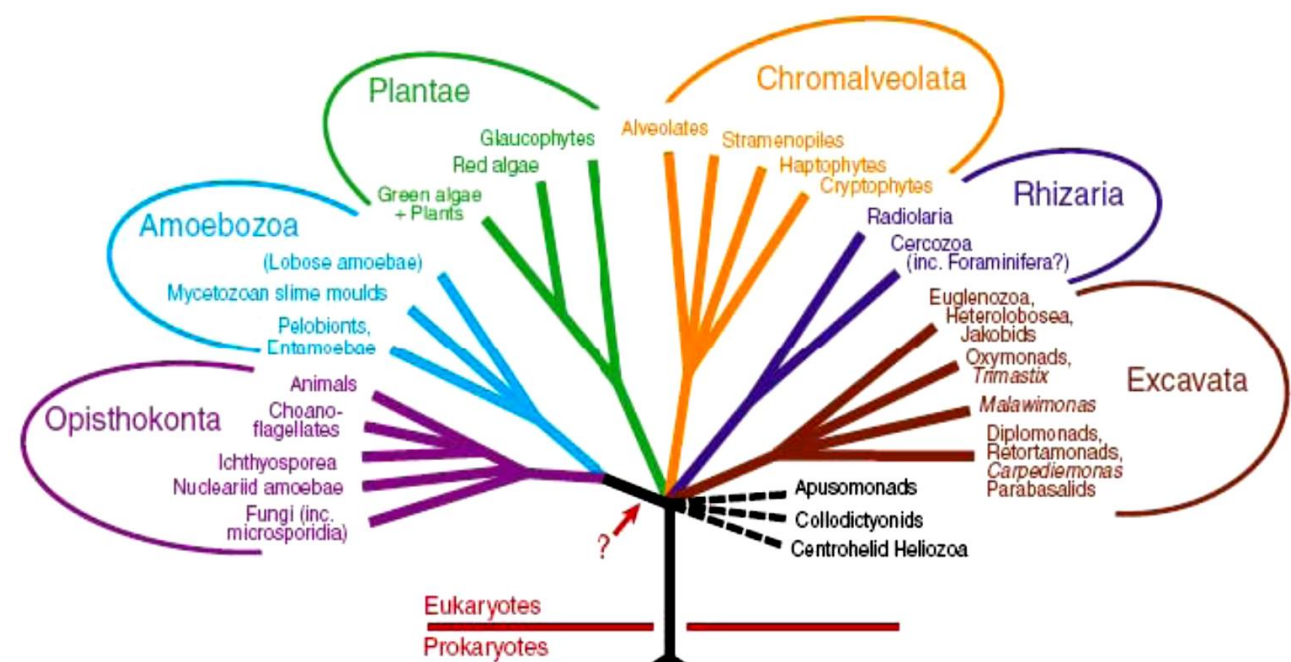


Рис. 1. Схематическое древо основных групп эукариот [по Fard, 2008].

Дальнейшие исследования организации цитоскелета, филогенетических взаимоотношений и систематики представителей Excavata позволили валидно охарактеризовать новые таксоны более низких рангов в его пределах (рис. 2). Один из этих таксонов – Fornicata – включает Diplomonadida и Retortamonadida, а также представителей рода *Carpodomonas* [Simpson, 2003]. Валидность этого таксона подтверждена последующими филогенетическими исследованиями [Adl et al., 2005, 2012], однако его внутренняя структура претерпела некоторые изменения. Так, согласно таксономическим исследованиям 2005 г. [Adl et al., 2005], таксон Fornicata включал в себя два таксона более низкого уровня: *Carpodomonas* Ekebom, Patterson, and Vors, 1996 и *Eopharyngia* Cavalier-Smith, 1993, куда были отнесены Diplomonadida Wenyon, 1926, emend. Brugerolle et al., 1975 и Retortamonadida Grasse, 1952. При этом Hexamitinae Kent, 1880, emend. Brugerolle et al., 1975 (*Hexamita*, *Spironucleus*, *Trepomonas*), Gardiinae Kulda and Nohynkova, 1978 (*Giardia*, *Octomitus*) и Enteromonadida Brugerolle, 1975 (*Caviomonas*, *Enteromonas*, *Trimitus*) выделены в самостоятельные таксоны [Adl et al., 2005].

Excavata
 Preaxostyla
 Oxymonadida
Trimastix
Malawimonas
 Fornicata
Carpodomonas
 Eopharyngia
 Retortamonadida
 Diplomonadida
 Parabasalia
 Jakobida
 Heterolobosea
 Euglenozoa

Рис. 2. Схема иерархии таксонов в пределах группы Excavata
 [цит. по Simpson, 2003; Adl et al., 2007].

Молекулярно-генетические исследования генов малой субъединицы рРНК, теплового шока hsp90 и α -тубулина позволили строго кластеризовать всех энтеромонад в пределах таксона Hexamitinae и показали, что они не являются монофилетической группой [Kolisko et al., 2008]. Таким образом, были упразднены названия таксонов Enteromonadida, Enteromonadidae и Enteromonadinae, а рода *Enteromonas* и *Trimitus* отнесены к таксону Hexamitinae diplomonads [Kolisko et al., 2008]. Термин «энтеромонада» имеет исключительно практическое значение – дипломонады с единственным кариомастигонтом. Таким образом, на сегодняшний день систематика дипломонад выглядит, как представлено на рис. 3.

EXCAVATA Cavalier-Smith 2002, emend. Simpson 2003

- Metamonada Cavalier-Smith 1987 [Metamonadina Grasse' 1952], emend. Cavalier-Smith 2003
- Fornicata Simpson 2003
 - Diplomonadida Wenyon 1926, emend. Brugerolle et al. 1975
 - Hexamitinae Kent 1880, emend. Brugerolle et al. 1975
Enteromonas, Hexamita, Spiroucleus, Trepomonas, Trimitus.
 - Giardiinae Kulda and Nohynkova 1978
Giardia, Octomitus.

Рис. 3. Развернутая систематика дипломонад [цит. по Simpson, 2003; Adl et al., 2005, 2007, 2012; Kolishko et al., 2008].

В настоящее время в молекулярной филогении дипломонад дополнительно к гену малой субъединицы рибосомной РНК используют широкий спектр белок-кодирующих генов, таких как гены α -тубулина, β -тубулина, фактора элонгации-1 α , актина, белков теплового шока hsp70 и hsp90 [Harper et al., 2005]. Для определения распределения генетических кодов в пределах дипломонад используют анализ белков фактора элонгации-1 α , α -тубулина, гамма

субъединицы трансляционного фактора eIF-2 γ [Keeling, Doolittle, 1996, 1997]. Исследования фактора элогации -1 α , глутамат дегидрогеназы *gdh* и триозофосфат изомеразы *tpi* используют для получения адекватной таксономии на видовом уровне диплоноад рода *Giardia*, который, как было показано, содержит как минимум шесть генетически различающихся видов [Monis et al., 1999; Adams et al., 2004; Thompson, Monis, 2004].

1.1.2. Морфология диплоноад

Поскольку представители *Diplomonadida* менее 30 мкм в длину, электронная микроскопия имеет большое значение для визуализации деталей их строения. Большинство ранних работ, проведенных с использованием световой микроскопии, носят описательный характер [Moore, 1922 а, б; Davis, 1926; Wenyon, 1926]. Использование для описания и идентификации *Diplomonadida* электронной микроскопии за последующие несколько десятилетий позволило получить ультраструктурные данные с высоким разрешением и даже сформировать определитель на их основе [Poynnton, Sterud, 2002]. Современная систематика диплоноад отражает представление об их эволюции. Использование современных высокопроизводительных геномных исследований должно сопровождаться доступной фенотипической характеристикой новых видов, включая микроскопию. Фотографии, также, как и нуклеотидные последовательности, должны быть доступны в электронном виде в базах данных, таких как Discover Life или Microscope [Adl et al., 2007]. В перспективе все виды должны быть занесены в цифровой идентификатор, содержащий не только данные о нуклеотидных последовательностях и микрофотографии, но и полную биологическую информацию.

Диплоноады существуют в двух формах: подвижные трофозоиты, которые размножаются путем продольного деления, и цисты. В связи с тем, что жгутиковые диплоноады, заражающие рыб, чаще всего встречаются в виде

трофозоитов, описания видов и родов основаны на этой стадии жизненного цикла. Цисты диплонад слабо изучены [Poynton, Sterud, 2002].

Представители Diplomonadida являются диплоидными организмами с двумя кариомастигонтами и обычно имеют бинарную осевую симметрию. Каждый кариомастионт состоит из одного ядра и четырех жгутиков. Родовая диагностика Diplomonadida основана на отличиях в ориентации их 8 жгутиков и некоторым особенностями ультраструктуры [Poynton, Sterud, 2002]. Представители трех родов, которые были зарегистрированы в рыбах, а именно *Hexamita*, *Octomitus* и *Spiroucleus*, имеют одинаковое расположение жгутиков. Однако каждый из этих трех родов имеет уникальное сочетание ультраструктурных особенностей (рис. 4).

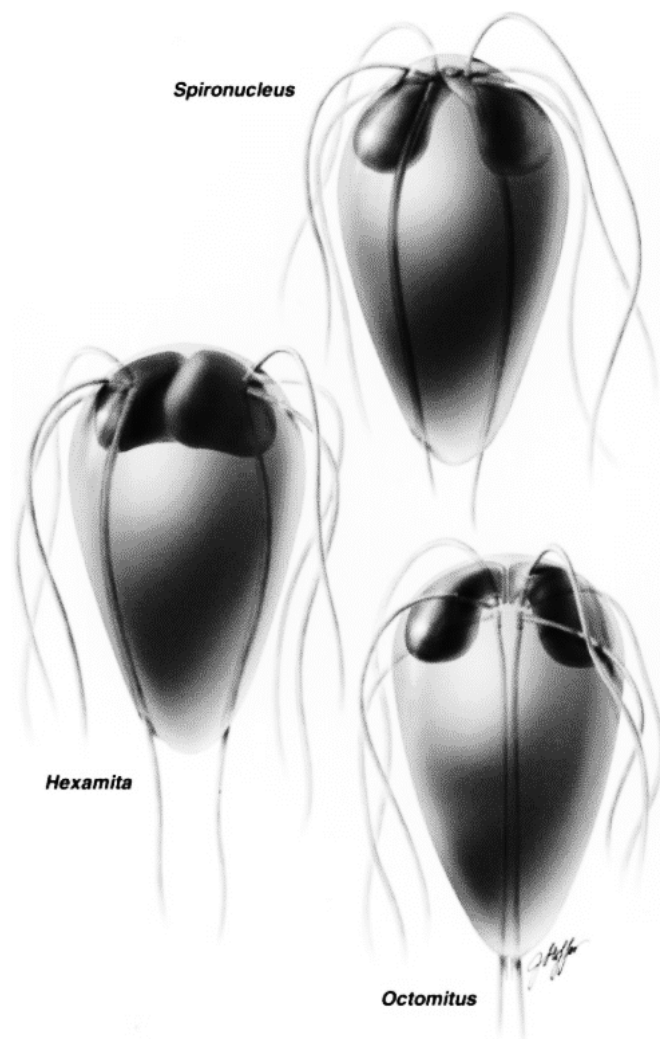


Рис. 4. Основные отличительные особенности трех родов диплонад: *Spiroucleus*, *Hexamita* и *Octomitus* [цит. по Poynton, Sterud, 2002].

1.1.3. Разнообразие мест обитания дипломонад

В 2004 г. было сделано следующее описание Excavata: «Excavata - одноклеточные эукариоты, большинство из которых являются гетеротрофными жгутиконосцами. Однако они включают несколько групп, которые могут являться причиной серьезных системных заболеваний, это такие группы как трипаносиматиды, дипломонады и парабазалии ... но каждая паразитическая группа имеет свободно живущих родственников ...» [Simpson, Roger, 2004].

Паразитические дипломонады в основном обитают в ЖКТ хозяина, но также были обнаружены и в других органах [Brugerolle, Lee, 2002; Kulda, Nohýnková, 1978; Woo, 2006]. Большинство из них – комменсалы, питающиеся бактериями. Тем не менее, некоторые из них могут быть патогенами.

Представители таксона *Giardiinae* Kulda and Nohynkova, 1978 преимущественно населяют пищеварительную систему хозяина. Виды родов *Giardia* и *Octomitus* представлены в пищеварительном тракте различных позвоночных животных: *G. agilis* и *O. neglecta* у земноводных, *G. muris* у грызунов, а *G. lamblia* в организме млекопитающих (людей, собак, коров, овец, коз, кроликов, шиншил) [Brugerolle, Lee, 2002; Faubert, 2000;]. Вид *O. intestinalis* паразитирует в кишечнике у грызунов [Brugerolle, Lee, 2002] и рептилий [Tomova, Golemansky, 2001]. Некоторые дипломонады могут быть связаны с клетками хозяина, например, у *G. lamblia* с брюшной стороны имеется присоска, с помощью которой происходит ее прикрепление к слизистой оболочке тонкого кишечника [Faubert, 2000].

Представители трех известных родов таксона Hexamitidae Kent, 1880, emend. Brugerolle et al., 1975 *Enteromonas*, *Trimitus* и *Caviomonas*, населяют кишечник позвоночных и беспозвоночных животных в качестве безвредных комменсалов. *Enteromonas hominis* обитает в слепой кишке человека, обезьян, грызунов и кроликов [Goldberg, 1990, Kulda, Nohýnková, 1978; Spriegel et al., 1989]. Представители рода *Trimitus* населяют кишечник насекомых, рыб, лягушек, змей и черепах [Brugerolle, Lee, 2002]. *Caviomonas mobilis* была

найдена в слепой кишке морской свинки [Brugerolle, Lee, 2002]. Представители рода *Treptomonas* являются свободноживущими организмами, за исключением вида *Treptomonas agilis*, который является паразитом кишечника амфибий, рыб и черепах, *Hexamita* содержит свободноживущие и паразитические виды, а *Spiroucleus* – исключительно паразитические организмы [Brugerolle, Lee, 2002; Kulda, Nohýnková, 1978; Siddall et al., 1992].

Свободноживущие дипломонады, такие как *Hexamita inflata*, обитают в водах, богатых органикой и с дефицитом кислорода, в осадках, застойных водоемах, болотах, водах очистных сооружений, а также в солоноватых или соленых водах. Жгутиконосцы активно плавают и питаются бактериями и отмершими клетками других простейших, растений и животных, которые поглощают при помощи жгутикового канала [Fenchel et al., 1995; Biagini et al., 1997, 1998; Brugerolle, Lee 2002]. Паразитические виды рода *Hexamita* живут в ЖКТ различных позвоночных: *H. cryptocerci* у насекомых, *H. nelsoni* в устрицах, *H. teres* у грызунов и *H. pitheci* у обезьян [Brugerolle, Lee, 2002].

Виды рода *Spiroucleus* живут в кишечнике различных позвоночных животных: *S. elegans* у земноводных, *S. muris* у мышей и *S. meleagridis* у птиц [Brugerolle, Lee, 2002; Cooper et al., 2004]. Представители рода *Spiroucleus*, обитающие в рыбах, в норме населяют различные микронихи в пищеварительной системе хозяина. Так, *S. torosa* и *S. vortens* детектируют и выделяют из заднего кишечника рыб [Poynnton, Morrison, 1990; Sterud, 1998 а, б], тогда как *S. salmonis* обычно обитает в пилорических придатках [Poynnton et al., 2004]. Желчный пузырь, передний и средний кишечник – нормальные местообитания *S. salmonicida* и *S. barkhanus*.

Однако в период эпизоотий для представителей рода *Spiroucleus* описаны генерализованные системные поражения: *S. salmonicida* регистрировали в мышцах и крови больных рыб [Jorgensen, Sterud, 2004, 2006]. У арктических гольцов, выращиваемых в аквакультуре, обнаружено внутриклеточное заражение *S. salmonicida* в капиллярах и синусоидах печени, селезенки, почках и голове [Sterud et al., 2003].

Изучение представителей рода *Spiroucleus* имеет не только таксономическое значение, но также может быть важным для понимания отношений «паразит-хозяин». Например, известно, что *S. torosa* может вторгаться в микроворсинки кишечника рыб [Poynnton, Morrison, 1990; Siddal et al., 1992], описаны внутриклеточные инфекции *S. salmonicida* у культивируемого арктического гольца [Sterud et al., 2003].

1.1.4. Жизненный цикл и размножение диплоноад

Жизненный цикл диплоноад представлен двумя стадиями: трофозоиды и цисты. Трофозоид является подвижной стадией, он активно питается и размножается в просвете кишечника хозяина. Циста – это устойчивая стадия жизненного цикла, в которой клетка может выжить вне хозяина [Woo, 2006]. Эти два этапа встречаются как у свободно живущих, так и у паразитических форм [Brugerolle, Lee, 2002; Kulda, Nohýnková, 1978].

Трофозоиды и цисты выходят из хозяина с фекалиями и попадают оральным путем в следующего хозяина. Хотя фекально-оральная передача цист диплоноад является основным путем передачи у рыб, инфицирование трофозоидами через повреждения на коже отмечено у атлантического лосося [Poppe et al., 1992], кроме этого предполагается ректальный путь передачи цист и трофозоидов [Kulda, Lom, 1964; Moore, 1922 а, б; Poynnton, Morrison, 1990; Kent et al., 1992].

Трофозоиды размножаются бесполым способом путем продольного деления клетки на две дочерние. При этом ядро делится митозом. Делятся надвое базальное и парабазальное тельца, жгутик же переходит к одной из дочерних клеток, а у другой образуется заново. У некоторых жгутиковых различают цисту покоя и цисту размножения. В состоянии цисты покоя оболочки толстые, студневидные или твёрдые; состоят из хитиноподобных веществ, иногда минерализуются. Образуются при неблагоприятных условиях (например, при пересыхании или промерзании водоёма); у паразитических

форм циста покоя обеспечивает переход от одного организма-хозяина к другому через внешнюю среду. Циста размножения имеет тонкую оболочку и образуется на короткий период, в течение которого содержимое цисты делится на несколько самостоятельных организмов. Бинарное разделение цист, вероятно, имеет место у представителей всех родов диплонад [Kulda, Nohýnková, 1978; Siddal et al., 1992]. Большинство исследований цист диплонад было выполнено на *G. lamblia* [Adam, 2001], однако некоторые исследования также были проведены на *S. muris* и *S. meleagridis*, как важных патогенов лабораторных и промысловых животных.

Цисты *G. lamblia* примерно 5×7 и до 10 мкм в диаметре, с толщиной стенки 0,3-0,5 мкм, содержат два жгутика с четырьмя ядрами (два ядра для каждого жгутиконосца) [Adam, 2001]. Размеры цист *S. muris* составляют $7,5-13 \times 4,5-6$ мкм, информация о толщине их стенки отсутствует [Brugerolle et al., 1980]. Толщина стенки цист *S. meleagridis* составляет примерно 0,3 мкм [Wood, Smith, 2005]. Цисты *S. meleagridis* обычно содержат два жгутика и четыре ядра. Однако ранее отмечали отдельные трофозоиды с двумя ядрами в цисте *S. muris* и цисты с двумя или тремя ядрами у *S. meleagridis* [Brugerolle et al., 1980; Wood, Smith, 2005].

1.1.5. История изучения представителей отряда Diplomonadida в рыбах

Среди представителей отряда Diplomonadida встречаются как обычные комменсалы, так и патогенные организмы [Poynnton, Morrison, 1990; Jorgensen, Sterud, 2004 и др.], которые зарегистрированы в рыбах, обитающих в различных экологических условиях: в холодных, умеренных и теплых водах естественных мест обитаний и в аквакультуре. Они детектированы у представителей различных семейств карповых, цихлид, лососевых и тресковых рыб [Paull, Matthews, 2001; Woo, 2006]. Патогенные кишечные простейшие, в том числе диплонады, ответственны за клинически значимые инфекции рыб по всему миру. Диплонады рода *Spironucleus* обычно встречаются в пищеварительной

системе рыб, а *Spironucleus salmonicida* является возбудителем спиронуклеоза, одного из самых серьезных заболеваний выращиваемых в аквакультуре лососей [Poynnton, Sterud, 2002]. В связи с небольшими размерами представителей отряда Diplomonadida возникают трудности в определении и описании видов, поэтому в настоящее время надежными диагностическими методами для их характеристики является сочетание методов электронной микроскопии и молекулярно-генетического анализа.

Дипломонады у рыб были впервые зарегистрированы в обыкновенной верховке *Leucaspius delineates* (Cyprinidae) в Германии [Seligo, 1887]. На этом этапе эти микроорганизмы описывали и характеризовали с использованием исключительно световой микроскопии, что привело к множеству ошибок, однако исследования экологии, видоспецифичности и изменчивости носили прогрессивный характер. Первым описанием дипломонад из лососевых рыб стала характеристика вида *Urophagus intestinalis* из радужной форели [Moroff, 1903], который 16 лет спустя был выделен из культивируемой форели и идентифицирован как *Octomitus intestinalis truttae* [Schmidt, 1919]. Вскоре после этого в форелевых хозяйствах восточного побережья Северной Америки был детектирован *Octomitus salmonis* и проведено его видовое описание [Moore, 1922 а, б; Davis, 1926]. Появились первые сведения о том, что американские виды дипломонад вызывают серьезные повреждения эпителия кишечника и гибель мальков форели, тогда как европейские виды в основном являются комменсалами [Moore, 1922 а, б]. В этом же году в обзоре [Wenyon, 1926] было показано, что описываемый в работах [Moore, 1922 а, б] и [Davis, 1926] вид является представителем другого рода – *Hexamita* и должен быть назван *Hexamita salmonis*, под именем которого он и стал наиболее часто употребляемым названием дипломонад из лососевых рыб.

Корректная идентификация и синонимия дипломонад приводится в ряде работ европейских и североамериканских авторов [Buchmann, Bresciani, 2001; Kulda, Lom, 1964; Poynnton, Sterud, 2002; Woo, 2006], а путаница в описании видов возникает только в том случае, когда их определение проводится только

с помощью световой микроскопии. Учитывая, что размеры организмов составляют не более 15–30 мкм, разрешающая способность метода ограничивает возможность корректной идентификации.

Первый прогресс в таксономии дипломонад был достигнут в 1979 г., благодаря предварительным исследованиям их ультраструктуры (СЭМ и ТЭМ) [Ferguson, 1979]. При этом дипломонады из мальков радужной форели (Северная Ирландия) были отнесены к виду *H. salmonis* и, таким образом, сохранилось название рода, используемое для жгутиковых простейших из лососевых рыб. Вплоть до этого времени дипломонады из лососевых рыб были отнесены только к родам *Hexamita* или *Octomitis*. Представители рода *Spironucleus* впервые были описаны из амфибий [Lavier, 1936], а впоследствии из не лососевых рыб, включая угреобразных и цихлид [Kulda, Lom, 1964].

Первые подробные исследования дипломонад рыб с использованием сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии были проведены на тресковых рыбах [Poynton, Morrison, 1990]. Авторы описали новый вид *S. torosa* из трески *Gadus morhua* и пикши *Melanogrammus aeglefinus*, и тем самым дали первое описание рода *Spironucleus* в рыбах. *S. torosa* впоследствии был найден у сайды *Pollachius virens* в Норвегии [Sterud, 1998 а, б]. В это же время два новых вида рода *Spironucleus* были охарактеризованы по ультраструктурным данным и идентифицированы как *S. barkhanus* из лососевых рыб (хариус *T. thymallus*, семга *S. salar* и арктический голец *S. alpinus* [Sterud et al., 1997, 1998]) и *S. vortens* из цихлид (обыкновенная скалярия *Pterophyllum scalare*, дискус *Symphysodon discus*) и язя (*L. leuciscus*) [Paull, Matthews, 2001; Poynton et al., 1995; Sterud, Poynton, 2002]. При описании нового патогенного вида *S. barkhanus* из хариуса (*T. thymallus*) и семги (*S. salar*) из Норвегии авторы обсуждали вопрос о возможной синонимичности этого вида с *H. salmonis* [Sterud et al., 1997].

В 2002 г. был предложен определитель для описания видов дипломонад в рыбах на основании ультраструктурных характеристик [Poynton, Sterud, 2002]. Единственными надежными диагностическими методами для различения

дипломонад заявлены просвечивающая электронная микроскопия для определения рода и сочетание сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии с молекулярно-генетическими методами для определения видов. На основе тщательных электронно-микроскопических исследований авторы установили, что все дипломонады из рыб принадлежат к роду *Spironucleus*.

Гипотеза о том, что дипломонады рыб относятся к роду *Spironucleus*, была поддержана рядом комплексных исследований (ТЭМ, СЭМ и молекулярно-генетический анализ). В результате дипломонады вида *Octomitus salmonis* sensu Moore 1922, Davis 1926, и *Hexamita salmonis* sensu Ferguson 1979 из кишечника радужной форели были переименованы в *S. salmonis* [Poynton et al., 2004]. Показана принадлежность к роду *Spironucleus* дипломонад из карповых рыб в Китае, первоначально описанных как *Hexamita capsularis* и *Hexamita nobilis* [Li, 1995; Xiao, Li, 1994]; перенесен ряд видов дипломонад, выделенных из птиц и мышей и отнесенных к роду *Hexamita*, в род *Spironucleus* [Brugerolle et al., 1973, 1980; Kulda, Nohýnková, 1978; Lloyd et al., 2005; Wood, Smith, 2005].

Spironucleus barkhanus Sterud, Mo, & Poppe, 1998 долгое время описывали как эукариотический микроорганизм, существующий в двух морфологически подобных типах. Первый – пресноводный тип был выделен из кишечника и желчного пузыря европейского хариуса (*T. thymallus*), а также желчных пузырей сибирского хариуса (*T. arcticus*) и арктического гольца (*S. alpinus*), не вызывал заболевания рыб и являлся их комменсалом [Jorgensen, Sterud, 2006]. Второй – морской тип, вызывал серьезные системные инфекции у выращиваемых в аквакультуре рыб, таких как семга *S. salar* и арктический голец *S. alpinus* (Норвегия), чавыча (*O. tshawytscha*) (Канада) [Mo et al., 1990; Kent et al., 1992; Sterud et al., 1998 и др.]. На основании филогенетического анализа в 2006 году представители этого патогенного генотипа были описаны как новый вид *Spironucleus salmonicida* n. sp. [Jorgensen, Sterud, 2006].

Таким образом, исследования показали, что молекулярный анализ, в дополнение к ультраструктурным характеристикам, играет ключевую роль в выявлении и корректной идентификации дипломонад у рыб [Jorgensen, Sterud,

2004, 2006; Roxstrom-Lindquist et al., 2010; Jorgensen et al., 2011 и др.]. В дальнейшем, последовательности гена малой субъединицы рибосомной РНК были определены для всех известных видов диплононад из рыб рода *Spironucleus*: *S. barkhanus*, *S. salmonicida*, *S. salmonis*, *S. torosa* и *S. vortens* с исследованной ультраструктурой [Jorgensen, Sterud, 2004, 2006 и др.].

Для установления эволюционной истории и геномной архитектуры диплононад в целом и представителей рода *Spironucleus* в частности с 2007 г. проводятся геномные проекты по изучению *S. salmonicida* [Andersson et al., 2007], *S. vortens* [<http://genome.jgi-psf.org/Spivo0/Spivo0.info.html>], *Giardia lamblia* [Morrison et al., 2007]. В результате выявлена компактность геномов, наличие нескольких генов, содержащих интроны [Andersson et al., 2007; Morrison et al., 2007], вариации в геномах диплононад, наличие некоторых бактериальных генов в *S. salmonicida* и существенную разницу в использовании кодонов. Кроме того, все диплоноады подсемейства Hexamitinae (включая род *Spironucleus*) используют альтернативный генетический код, в то время как представители рода *Giardia* – канонический [Keeling, Doolittle, 1997; Kolisko et al., 2008].

1.1.6. Патологии, связанные с зараженностью диплоноадами

Из всех известных родов диплононад четыре признаны патогенными, а именно: *Hexamita* и *Spironucleus* из таксона Hexamitinae Kent, 1880, emend. Brugerolle et al., 1975 и *Giardia* и *Octomitus* из таксона Giardiinae Kulda and Nohynkova, 1978 [Brugerolle, Lee, 2002; Woo, 2006]. Среди этих родов, *Giardia* и *Spironucleus* привлекают наибольшее внимание, в силу их важности в медицине и ветеринарии.

Особенностью лямблиоза, вызываемого представителями рода *Giardia*, является неравномерное проявление клинических симптомов, начиная от бессимптомного хронического заболевания до диареи, синдрома пониженного всасывания и потери веса [Adam, 2001]. Среди лямблий, виды *G. lamblia* и *G.*

muris – хорошо известные возбудители заболеваний человека. Гистопатологические изменения, происходящие на слизистой оболочке кишечника людей в местах прикрепления к ней трофозоидов *G. lamblia* проявляются в виде энтеропатии с повреждениями энтероцитов, атрофии ворсинок и гиперплазии крипт [Ferguson et al., 1990; Faubert, 2000]. *G. muris* вызывает инфекции у мышей, связанные с потерей веса, замедленным ростом и вздутием живота. Патологические изменения включают в себя притупление ворсинок, увеличение числа интраэпителиальных лимфоцитов и тучных клеток [Venkatesan et al., 1997].

Спиронуклеоз (spironucleosis, hexamitiasis или hexamitosis) впервые был описан, а поэтому хорошо изучен, для *S. meleagridis* и *S. muris*, инфицирующих птиц и мышей соответственно. *S. meleagridis* (син. *Hexamita meleagridis*) заражает различные виды птиц, таких как индейки, пернатую дичь, в том числе куропаток, перепелов и павлинов [Barnes et al., 2003]. Кишечные инфекции проявляются в виде диареи, истощения, дерматитов и быстрой потери веса [Cooper et al., 2004; Lloyd et al., 2005]. Несмотря на отсутствие атрофии ворсинок и воспаления [Lloyd et al., 2005], умеренный энтерит со слиянием ворсинок, наличием воспалительных клеток, отмечали при обследовании куропаток [Cooper et al., 2004]. Инфицирование мышей *S. muris* в основном проходит бессимптомно, однако оно чаще всего связано с диареей, обезвоживанием, потерей веса и вздутием живота [National Research Council, 1991; Whitehouse et al., 1993].

Среди известных кишечных диплонад рыб виды *S. barkhanus*, *S. salmonis* и *S. torosa*, часто встречающиеся в ЖКТ и желчных пузырях, являются в меньшей степени патогенными по сравнению с видами *S. salmonicida* и *S. vortens*, которые вызывают системные инфекции у рыб в аквакультуре [Mankhakh et al., 2012]. Есть сообщение о детекции системного заражения *Spironucleus* (по-видимому, *S. salmonicida*) рыб в природной популяции [Meseck et al., 2007]. Сведения об инфицировании рыб представителями родов *Octomitus* и *Hexamita*, основанные на данных световой микроскопии, в настоящее время

следует считать малонадежными и недостоверными. На основании ультраструктурных и молекулярных данных патогенами рыб являются только виды рода *Spironucleus* [Poynnton, Sterud, 2002; Poynnton et al., 2004]. Вид *S. salmonis* найден в кишечнике радужной форели и вызывает слабость и снижение аппетита рыб [Naich, Bilgees, 1992; Guz, Puk, 2015]. Кроме того, могут наблюдаться энтериты, кишечные кровотечения, желтая слизь в кишечнике и некроз гепатоцитов [Woo, 2006]. *S. salmonicida* связан с системными инфекциями выращиваемых в аквакультуре арктического гольца, атлантического лосося и чавычи. Он детектирован не только в кишечнике и желчном пузыре, но и в печени, почках, селезенке и мышцах заболевших рыб [Kent et al., 1992; Meseck et al., 2007; Poore et al., 1992].

Известен случай внутриклеточной системной инфекции у *S. alpinus*, вызванной *S. salmonicida* [Sterud et al., 2003]. Паразиты были широко представлены по всей сосудистой системе и в большинстве органов. Скопления паразитов были замечены в капиллярах и синусах печени, селезенки и почек. Ранее никогда не сообщалось о внутриклеточной инфекции *Spironucleus*. Распространенность инфекции и смертность была низкой. В отличие от системной инфекции, вызываемой *Spironucleus* у выращиваемого в аквакультуре атлантического лосося, несмотря на огромное число жгутиков в сосудистой системе, ткани органов рыб были не поврежденными [Sterud et al., 2003]. Относительно небольшое число гистопатологических повреждений может указывать на то, что гольцы более толерантны к этому паразиту, чем атлантический лосось [Sterud et al., 2003].

Не смотря на то, что *S. barkhanus* считают слабопатогенным видом, в экспериментальном искусственном заражении атлантического лосося *Salmo salar* L. было показано, что гиперинвазия может вызывать самые тяжелые последствия. Паразиты появились в крови через 1 - 8 недель после заражения, после чего они исчезли из крови и детектировались в основном во внутренних органах (например, печени и селезенке), глазницах и мышцах. Смертность зараженных рыб составила 38 из 40 экз., рыбы погибали от множественных

повреждений внутренних органов и внешних покровов тела. При этом паразитов детектировали в слизи внешних покровов рыб, в том числе и в зонах с очевидными их повреждениями (рис. 5). Предполагается, что паразиты на теле рыбы защищены от осмотического давления слизью [Guo, Woo, 2004].

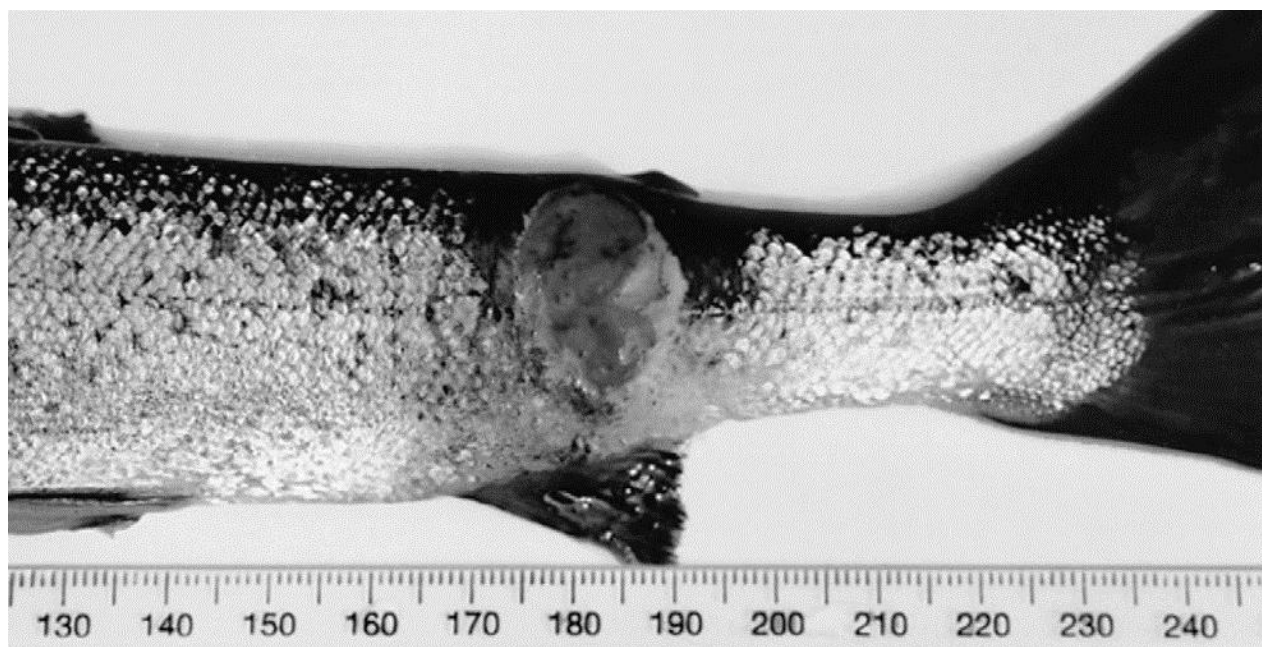


Рис. 5. Повреждения внешних покровов *Salmo salar*, вызванные при искусственном заражении *S. barkhanus* [цит. по Guo, Woo, 2004].

Кроме того, подсаженные к экспериментальным рыбам интактные особи заразились в течение 4 недель экспозиции, что указывает на прямую передачу паразитов. Заболевание развивалось со сходным профилем паразитемии в крови, клиническими признаками и общей патологией, а также с очень высокой смертностью (29 из 30). Клинические признаки включали анемию, волдыри на коже, изъязвления мышц или одностороннее пучеглазие. Внутренние патологии включали кровоизлияния внутренних органов, деформацию селезенки или спленомегалию, гранулематозные повреждения селезенки и печени [Guo, Woo, 2004].

Заболевания, вызванные *Heximita* или *Spironucleus*, были обнаружены у многих тропических (пресноводных и морских) рыб: сем. Cichlidae (скалярия обыкновенная *Pterophyllum scalare*, оскар *Astronotus ocellatus*, цихлида-тапир

Labeotropheus fuelleborni), Osphronemidae (сиамский петушок *Betta splendens*), Anabantidae, Belontiidae, Acanthuridae и Pomacentridae [Bassleer, 1983; Gratzek, 1988; Mankhakheth et al., 2012; Gallani et al., 2016]. Заболевания цихлид, вызванные *Spironucleus*, первоначально характеризуются потерей аппетита и массы тела, пучеглазием и потемнением внешних покровов, затем в области головы появляются отверстия, и рыба полностью отказывается от пищи. Как правило, инвазии осложнены массовым развитием патогенных микроорганизмов на пораженных участках внешних покровов, приводящем в результате к гибели рыб [Peughan et al., 2010].

1.1.7. Дипломонады в рыбах Восточной Сибири

Данные о дипломонадах в рыбах Восточной Сибири крайне скудны [Заика, 1965; Пронин, 2001; Русинек, 2007]. В настоящее время в Байкале известны представители двух родов – *Hexamita* и *Spironucleus*, являющиеся возбудителями инвазионных заболеваний рыб – гексамитоза или спиرونуклеоза [Заика, 1965; Пугачев, 2001; Белькова и др., 2008, 2009]. В озере Байкал паразитические организмы *Hexamita* sp. и *H. truttae* отмечены у байкальского омуля, байкальских хариусов (Thymallidae), сибирского ельца, налима, эндемичных коттоидных рыб: *B. multiradiatus*, *B. nikolskii*, *C. grewingkii*, *L. bergianus* [Заика, 1965; Пронин, 1981, 2001; Русинек, 2007].

В первой части «Каталога паразитов пресноводных рыб Северной Азии», посвященной паразитическим простейшим и охватывающей период с 1850 по 1995 годы, приведена информация по роду *Hexamita* Dujardin, 1838 (Syn.: *Octomitus* Prowazek, 1919 part.), а именно по виду *Hexamita truttae* (Schmidt, 1920) (Syn.: *Octomitus truttae* Schmidt, 1920; ? *Hexamita salmonis* (Moore, 1923) Davis, 1953) [Пугачев, 2001]. Синонимия дана по Хайбулаеву и Шульману [1984]. В данной работе указано, что систематика этих жгутиконосцев только начинает разрабатываться с применением современных методов. Вероятно, при более детальном исследовании могут быть обнаружены представители разных

родов. Уже в настоящее время сборный характер этого вида не вызывает сомнений [Пугачев, 2001].

Биология. В культуре наиболее успешно развиваются при температуре 5°C. Более высокие температуры (10-15°C) быстро угнетают развитие паразита. Размножается делением надвое. При температуре 10°C описано формирование многожгутиковых трофозоитов, которым в процессе деления свойственно амeboидное движение и формирование цист [Uldal, 1996]. Заражение происходит путем заглатывания цист, которые попадают в воду с испражнениями рыб. Вызывает опасное заболевание лососевых рыб в условиях рыбоводных хозяйств [Бауер и др., 1977]. Распространен практически во всех водоемах Сибири и Северной Европы [Пугачев, 2001].

Ниже приведены сведения по дипломонадам в рыбах бассейнов оз. Байкал, р. Лена и водоемов Монголии [Пугачев, 2001].

Хозяин: *B. multiradiatus*. Локализация: желчный пузырь. Распространение: оз. Байкал (Малое Море) [Заика, 1965]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *B. nikolskii*. Локализация: желчный пузырь. Распространение: оз. Байкал (Малое Море) [Заика, 1965]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *C. migratorius*. Локализация: кишечник. Распространение: оз. Байкал (Селенгинское мелководье, р. Верхняя Ангара, северная часть, бухта Дагары) [Пронин, 1981]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *C. baicalensis*. Локализация: кишечник, желчный пузырь. Распространение: оз. Байкал (Чивыркуйский залив) [Заика, 1965]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *C. lavaretus pidschian*. Локализация: желчный пузырь. Распространение: р. Лена (Тит-Ары, Трофимовская протока) [Пугачев, 2001]. Паразит определен как *Hexamita truttae* (Schmidt, 1920).

Хозяин: *C. grewingkii*. Локализация: кишечник, желчный пузырь. Распространение: оз. Байкал (исток Ангары, пос. Листвянка, зал. Б. Коты, пос.

Голоустное) [Заика, 1965]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *Leuciscus leuciscus baicalensis*. Локализация: желчный пузырь. Распространение: оз. Байкал (Посольский Сор) [Заика, 1965]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *L. bergianus*. Локализация: желчный пузырь. Распространение: оз. Байкал (Малое Море) [Заика, 1965]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *L. lota*. Локализация: желчный пузырь. Распространение: р. Лена (р. Чара, оз. Малое Леприндо, р. Чапа, оз. Большое Леприндо) [Пронин, 1966], оз. Байкал (исток Ангары, пос. Листвянка, зал. Б. Коты, пос. Голоустное, Нижнеангарск) [Заика, 1965]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *T. arcticus*. Локализация: желчный пузырь. Распространение: оз. Байкал (исток Ангары, пос. Листвянка, зал. Большие Коты, пос. Голоустное, Посольский Сор, Селенгинское мелководье) [Заика, 1965], р. Лена (Оленекская и Быковская протоки), р. Селенга (р. Тола, около г. Улан-Батора, Монголия) [Пугачев, 2001]. Паразит определен как *Octomitus truttae* Schmidt, 1920.

Хозяин: *T. brevirostris*. Локализация: не указана. Распространение: водоемы Монголии [Пэрэнлэйжамц, 1993].

Все эти данные получены с помощью методов микроскопии до 2001 г. и требуют пересмотра путем дополнительных молекулярно-генетических исследований для приведения в соответствие с современной классификацией Diplomonadida. Так, в кишечнике черного байкальского хариуса *Thymallus baicalensis* молекулярно-генетический анализ ассоциированной микрофлоры выявил генотип *S. barkhanus* [Белькова и др., 2008].

1.2. Особенности экологии лососевидных рыб Восточной Сибири

Представители лососевидных рыб Восточной Сибири занимают различные экологические ниши и обладают разной пищевой стратегией.

Coregonus migratorius - байкальский омуль считается достаточно хорошо изученным видом; постоянное внимание к его биологии определяется его экологической (один из ключевых видов экосистемы) и экономической (основной промысловый вид оз. Байкал) значимостью. Это активно мигрирующий и сложноорганизованный в пространстве вид. По данным гидроакустических съемок было установлено, что он присутствует повсеместно в верхних слоях эпипелагиали до глубин 350–400 м по всей акватории озера Байкал, включая центральную глубоководную часть всех трех котловин. Максимальные концентрации образует в присклоновой зоне, особенно в зоне влияния речного стока (Селенгинский район, Баргузинский залив), а также над поднятиями дна (Академический хребет, Посольская и Муринская банки) [Гидроакустический учет ..., 2009].

Количество популяций байкальского омуля определяется количеством систем рек, в которых он размножается [Смирнов, Шумилов, 1984; Smirnov, 1992]. Анализ репродуктивной разобщенности, морфологической и биологической разнокачественности популяций байкальского омуля позволили объединить их в морфоэкологические группы (МЭГ): 1) пелагическая (многотычинковая), 2) прибрежно-пелагическая (среднетычинковая) и 3) придонно-глубоководная (малотычинковая) [Смирнов и др., 2009].

Байкальский омуль – вид, обладающий сложной пищевой стратегией. В спектр питания омуля входит большое число компонентов: более 40 представителей планктона, бентоса и рыб.

В летне-осенний период пища омуля разных МЭГ неодинакова. В среднем наибольшее значение в пище рыб имеют: у омуля пелагической МЭГ – эпишура байкальская (*Epishura baicalensis*), у придонно-глубоководной – макрогектопус (*Macrohectopus branickii*), у прибрежно-пелагической – эпишура,

макрогектопус и молодь рыб (малая голомянка *Comephorus dybowski* Korotneff, 1905; большая голомянка *Comephorus baicalensis* (Pallas, 1776); желтокрылка *Cottocomephorus grewingkii* (Dybowski, 1874); *Cottocomephorus inermis* и *Leocottus kesslerii*) [Гурова, Пастухов, 1974].

В зимне-весенний период (май-июнь) омуль всех МЭГ обитает в придонных слоях воды и питается макрогектопусом, молодь рыб, донными амфиподами и др. Так, например, пищевой спектр байкальского омуля в мае-июне 2003 г. состоял из следующих групп кормовых организмов: зоопланктона (*E. baicalensis* и *Cyclops kolensis*), макрогектопуca, малой голомянки, донных амфипод, ракушечковых рачков и насекомых, принадлежащих к различным отрядам [Гидроакустический учет..., 2009]. Этот период характеризуется высокой долей рыб с пустыми желудками и низкой интенсивностью питания [Гурова, Пастухов, 1974; Волерман, Конторин, 1983]. После совместной зимовки в придонных слоях склоновой зоны озера омуль всех МЭГ начинает расходиться по различным биотопам [Кожов, 1931; Гурова, Пастухов, 1974; Волерман, Конторин, 1983]. Переход рыб от зимовки к весенне-летнему нагулу (миграции со склона в прибрежную зону и образование крупных скоплений с высокой плотностью) происходит при весеннем прогреве поверхностной воды до 4°C и выше [Гидроакустический учет ..., 2009].

***Thymallus arcticus* – черный байкальский хариус**, типичный представитель ихтиофауны литорали Байкала [Атлас..., 2002; Sideleva, 2003]. В озере Байкал черный байкальский хариус преимущественно сохраняет образ жизни, связанный с речными условиями. В течение всего года он образует плотные скопления в литорали Байкала в предустьевых участках многочисленных быстротекучих притоков, в которых происходит его нерест и частично нагул [Книжин и др., 2006]. Черный байкальский хариус – эврифаг, спектр потребляемых им организмов очень широк и включает в себя как животных бентоса (личинки ручейников, амфипод, гастропод и др.), так и имаго насекомых [Тугарина, Купчинская, 1977; Тугарина, 1981 и др.]. С возрастом рыб их пищевой спектр становится более разнообразным [Тугарина,

1981]. Наибольшая концентрация беспозвоночных отмечается в зоне глубин от 2 до 5 м, где основную массу зообентоса составляют гастроподы, амфиподы, личинки ручейников, хирономиды, турбеллярии и др. [Кожов, 1972; Каплина, 1974], поэтому мелководно-прибрежная область до глубин 15 м является нагульным пастбищем рыб. В питании взрослых особей отмечается сезонная цикличность: зимовка (январь–апрель), размножение (апрель–июнь) и нагул (июнь–декабрь), которая обусловлена особенностями жизненных циклов и миграциями рыб, а также их кормовых объектов [Тугарина, 1981].

Байкальский омуль и черный байкальский хариус являются основными промысловыми видами, которые отличаются по пищевым стратегиям и принадлежат разным (пелагической и бентической) трофическим сетям озера Байкал по пищевым спектрам и диапазонам значений стабильных изотопов углерода [Yoshii, 1999; Yoshii et al., 1999; Дзюба и др., 1999].

***Thymallus baicalolenensis* Matveev, Samusenok, Pronin et Tel'pukhovsky, 2005 – байкалоленский хариус** [Матвеев и др., 2005]. Населяет верхние и средние участки практически всех крупных рек бассейна верхнего течения Лены и их притоки от верховий до устьев. Обитает в большинстве горных озер, расположенных на высоте менее 1200 м над уровнем моря. Популяции в различных водоемах верхнего течения Лены характеризуются значительной вариабельностью биологических показателей, обусловленной условиями обитания и обеспеченностью пищей. Основу питания в летний период составляют личинки и имаго амфибиотических и воздушно-наземных насекомых. В ряде озер значительную роль в питании играет зоопланктон [Матвеев и др., 2009].

***Prosopium culindraseum* (Pallas, 1784) – обыкновенный валец** предпочитает держаться на верхних участках рек с повышенными скоростями течения и каменистыми и песчаными грунтами. В русла крупных рек из притоков выходит редко [Кириллов, 1972]. В России обитает от правых притоков Енисея до Чукотки, отмечен в бассейнах рек Пясины, Хатанга, Лена и др. [Решетников, 1979, 1980; Черешнев, 1996; Аннотированный каталог...,

1998; Шестаков, 2003; Попов, 2007]. Молодь концентрируется по прибрежным мелководьям речной системы. Спектр ее питания состоит из зоопланктона, воздушных насекомых и организмов бентоса. Основная пища взрослых особей – донные беспозвоночные (личинки хирономид, ручейников, поденок, ракообразные и молодь рыб) [Атлас ..., 2002].

Coregonus tугун (Pallas, 1814) – **тугун**. В пределах ареала образует различной степени локальные популяции, отличающиеся по ряду морфоэкологических параметров [Гундризер, 1969; Решетников, 1980; Решетников и др., 1997; Атлас ..., 2002; Попов, 2007]. Является эндемиком Сибири и населяет реки от Оби до Яны. В р. Лена встречается как в верхнем течении, так и в дельте, включая ее притоки. В р. Киренга он наиболее многочислен на участках с развитой озерно-речной системой [Книжин, 1994; Матвеев и др., 2009]. Тугун – короткоцикловый вид. Нерестовое стадо, как правило, состоит из рыб трех-четырёх возрастных групп (от 1+ до 4+ лет) [Мельниченко, Богданов, 2012]. Среди сибирских сиговых тугун является самым теплолюбивым видом, на откорм уходит в мелкие и хорошо прогреваемые участки водоема, где температура иногда достигает 20°C [Никонов, 1958; Богданов, Следь, 1990; Атлас ..., 2002; Попов, 2007]. Пищевой спектр состоит из зоопланктона, личинок и имаго насекомых [Скрябин, 1979; Книжин, 1994; Попов, 2007].

Brachymystax lenok (Pallas, 1773) – **ленок**. Высокая степень изменчивости морфологических признаков и черт экологии послужили основанием для выделения внутри вида нескольких подвидов [Митрофанов, 1959; Кириллов, 1962]. В связи с наличием переходных форм, в настоящее время предложено рассматривать ленка в качестве комплексного вида [Мина, 1986; Аннотированный каталог ..., 1998; Атлас ..., 2002]. Обитает в реках и озерах, по рекам поднимается до самых верховий, в Забайкалье обитает даже в высокогорных ледниковых озерах. Летом широко расселяется по малым и большим горным рекам и озерам, придерживаясь в реках перекатов и порогов, а в озерах – истоков рек и устьев притоков. Размеры и масса сильно колеблются в

зависимости от района обитания [Никольский, 1956]. Взрослый ленок по характеру питания эврифаг. Пищевой рацион состоит из разных видов рыб, их икры, беспозвоночных гидробионтов (личинок поденок, ручейников, веснянок, хирономид, мошек и др.). Молодь питается зоопланктоном [Леванидов, 1951; Тэн, 1959; Сытина, 1965; Тугарина и др., 1996; Попов, 2007].

***Coregonus lavaretus* (Linnaeus, 1758) – обыкновенный сиг, сиг-пыжьян.**

Для вида описано более 30 подвидов [Берг, 1948; Правдин, 1954], но в последнее время их число в России сокращено до 6. Обыкновенный сиг, представляет собой сложнокомплексный вид, образует много экологических форм. Это проходные, речные и озерные сиги; в больших озерах они подразделяются на прибрежных, глубоководных и пелагических с разным характером питания – от типичных планктофагов до типичных бентофагов и хищников [Решетников, 1964, 1966, 1967, 1980].

Характерной чертой для сига-пыжьяна являются образование многочисленных форм, различающимися по числу жаберных тычинок, спектру питания и местам нереста [Анпилова, 1965, 1967; Венглинский, 1974, 1977; Решетников, 1980, 1995; Кириллов, 1983; Тяптиргянов, 1988; Попов, 2007]. Максимальный возраст сигов оценивается в 15–20 лет, но в уловах преобладают особи в возрасте 7–10 лет. В реках Киренга, Окунайка и Моголь сиг в возрасте 14+ имеет 46 см длины и 1400 г массы [Книжин, 1996]. Основу питания молоди составляет зоопланктон, в меньшей степени – зообентос [Москаленко, 1971; Кириллов, 1972; Гудризер и др., 1981; Сорокин, Сорокина, 1988; Попов, 2007]. В среднем течении Лены молодь потребляет рачков планктона и коловраток, личинок хирономид, мошек и одноклеточные водоросли [Кириллов, 1972]. Взрослый сиг питается организмами бентоса (пиявки, личинки ручейников, поденок и др.), а также икрой как своего вида, так и других видов. Летом и осенью в пище присутствуют воздушные насекомые [Венглинский, 1974, 1977].

В целом, питание байкалоленского хариуса, валька, обыкновенного сига и ленка в водоемах Восточной Сибири также достаточно хорошо исследовано

[Тугарина, Купчинская, 1977; Скрябин, 1979; Тугарина, 1981; Егоров, 1985; Книжин и др., 2001; Попов, 2007; Матвеев и др., 2009 и др.]. По характеру питания эти виды можно считать эврифагами, т. к. спектр потребляемых ими организмов очень широк и включает в себя животных бентоса (моллюсков, личинок ручейников, поденок, веснянок и хирономид, амфипод, гастропод и др.), амфибиотических насекомых и рыб.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Характеристика объектов исследования и пробоподготовка

Отбор проб для исследования питания различных видов лососевидных рыб в работе использованы материалы, полученные в августе 2009 г. и в сентябре 2010 г. на р. Чечуй (правый приток р. Лена) (рис. 6). Рыб отлавливали жаберными сетями (ячейка 32-40 мм) общей длиной 100 м. Всего исследовано питание у 42 экз. ленка, 82 экз. хариуса, 34 экз. сига-пыжьяна и 55 экз. валька.

Отбор проб рыб и кормовых организмов для исследования зараженности дипломонадами.

Сбор проб доминирующих в пище рыб кормовых организмов (гастропод, личинок ручейников и амфипод) проводили с использованием легкого водолазного снаряжения в период в июле 2014 г. в районе пос. Большие Коты. Взято по 25 экз. в каждой группе беспозвоночных животных. Кроме этого, были собраны личинки сетеплетущих ручейников *Stenopsyche mormorata* Navas, 1920 – 25 экз. из р. Чечуй в сентябре 2010 г. Пробы фиксировали этанолом 70%.



Рис. 6. Место отбора проб в нижнем течении р. Чечуй (5-6 км выше устья), сентябрь 2010 г.

Для отработки методики детекции диплоноад и исследования зараженности лососевидных рыб были взяты желчные пузыри и пробы разных отделов кишечника у свежевывловленных рыб. Пробы разных отделов кишечника брали в лабораторных условиях (на корабле) непосредственно в лизирующий буфер с последующим выделением ДНК. Желчные пузыри фиксировали 70% этанолом и транспортировали в лабораторию. Часть желчных пузырей брали у свежемороженых рыб в лизирующий буфер с последующим выделением ДНК. В таблице 1 и приложениях 1 и 2 представлен объем исследованных рыб и координаты мест сбора. Для некоторых проб не был проведен полный биологический анализ, т. к. материал был получен от рыбаков.

В работе были использованы пробы из рыб сем. *Thymallidae* из оз. Байкал и Хубсугул (Монголия). Кроме этого, рыб отлавливали в р. Ангара и озерах-истоках рек, впадающих в неё: Аршантай-Нур, Тухурен-Нур и Загасатай-Нур (Восточные Саяны), а также р. Чечуй (бассейн р. Лена) и р. Непа (бассейн р. Нижняя Тунгуска). Байкальский озерный сиг был собран в двух районах оз. Байкал, а сиг-пыжьян в реках Баргузин, Чечуй, Киренга и Непа (табл. 1).

Сборы материалов для изучения зараженности **байкальского омуля** выполняли при проведении гидроакустической съемки по учету ресурсов этого вида рыб 25 мая – 15 июня 2011 г. по всей акватории озера Байкал. Рыбы были собраны разноглубинным тралом РК-15/30 с ячеей в мешке 10 мм, входное отверстие – 6 м по вертикали (среднее раскрытие) и 15 м по горизонтали (стандартное) на различных глубинах. Проведено 20 контрольных тралений, на рис. 7 представлена схема их расположения. Кроме байкальского омуля в период проведения гидроакустической съемки, были взяты эндемичные виды коттоидных рыб: два пелагических вида (малая и большая голомянки) и три бенто-пелагических (длиннокрылая широколобка *Cottocomephorus inermis* (Jakowlew, 1890), желтокрылка и северобайкальская широколобка *Cottocomephorus alexandrae* Taliev, 1935) (табл. 2).

Структура материала, использованного для исследования зараженности лососевидных рыб дипломонадами

Вид рыб	Место отлова	Координаты	Кол-во проб
Байкальский омуль Прибрежно-пелагической МЭГ	оз. Байкал		58
пелагической МЭГ	оз. Байкал		21
придонно- глубоководной МЭГ	оз. Байкал		41
Байкальский озерный сиг	оз. Байкал Малое море	53.192597 107.049668	15
Байкальский озерный сиг	оз. Байкал Баргузинский залив	53.298290 108.741241	10
Тугун	р. Непя	59.275903 107.883845	3
	р. Чечуй	58.064103 109.226312	15
	р. Киренга	57.582932 108.056552	7
Сиг-пыжьян	р. Баргузин	53.426066 109.004172	8
	р. Непя	59.275903 107.883845	1
	р. Чечуй	58.064103 109.226312	19
	р. Киренга	57.582932 108.056552	2
Черный байкальский хариус	р. Ангара	52.322353 104.274972	60
	оз. Загасагай-Нур	52.591911 98.915887	42
	оз. Аршантай-Нур	52.621099 98.921232	18
	оз. Тухурен-Нур	52.676143 99.012610	16
	оз. Байкал		40
	оз. Байкал пос. Большие Коты	51.900686 105.072819	54
	р. Баргузин	53.426066 109.004172	10
Белый байкальский хариус	оз. Байкал р-н дельты р.Селенга		28
Косогольский хариус	оз. Хубсугул	51.280775 100.276467	13
Байкалоленский хариус	р. Чечуй	58.064103 109.226312	89
Сибирский хариус	р. Непя	59.275903 107.883845	5

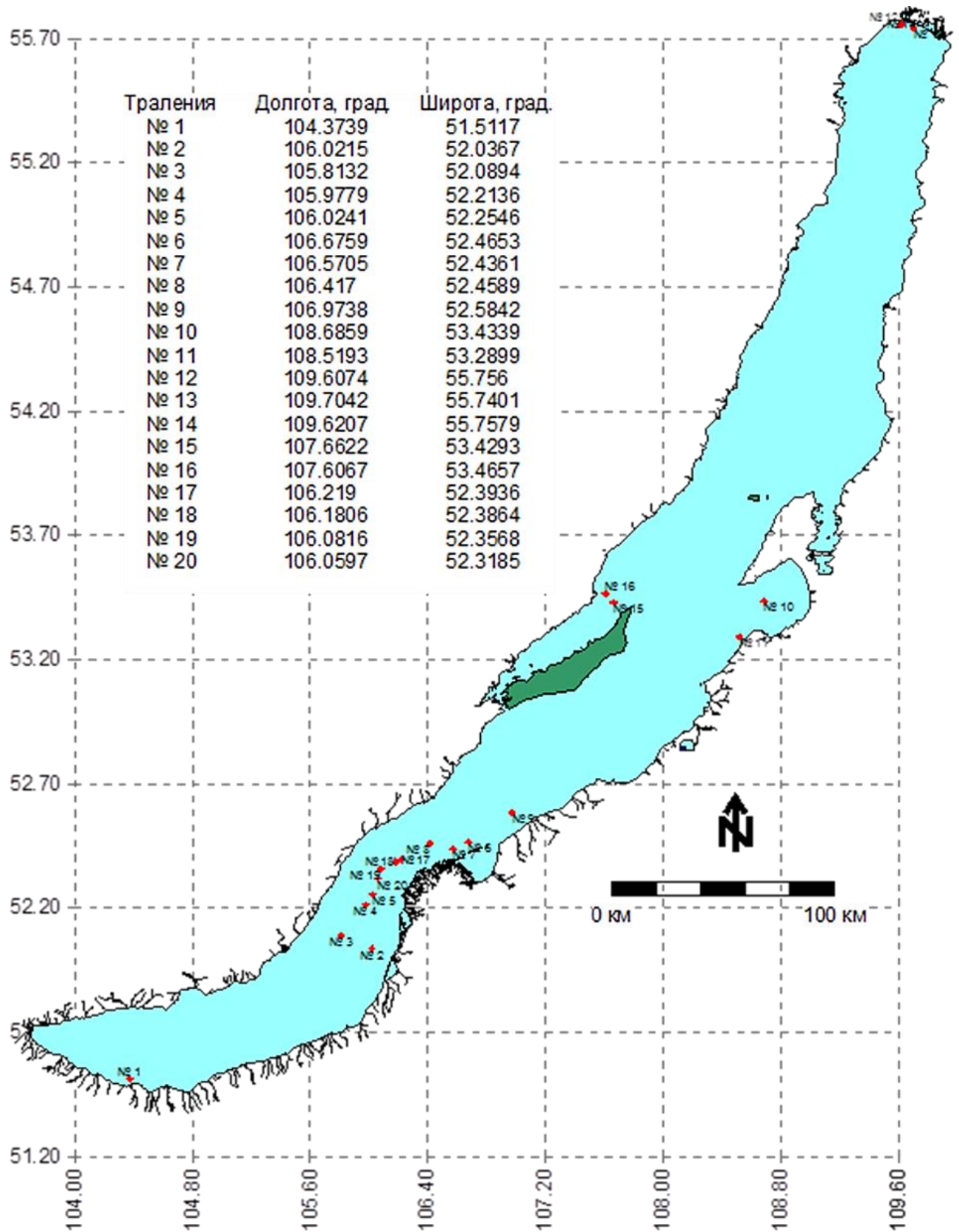


Рис. 7. Места проведения контрольных тралений, май-июнь 2011 г.

Структура материала по коттоидным рыбам, оз. Байкал май-июнь 2011 г.

Место сбора / дата	Вид рыб	Количество, экз.
р-н Муринская банка, 28.05.2011 г.	малая голомянка	5
	большая голомянка	3
Посольский сор, 30.05.2011 г.	малая голомянка	5
р-н Посольская банка, 30.05.2011 г.	большая голомянка	2
	северобайкальская широколобка	10
	длиннокрылая широколобка	3
р-н протоки Шумиха, 31.05.2011 г.	желтокрылка	10
Залив Провал, 01.06.2011 г.	малая голомянка	5
Баргузинский залив, 04.06.2011 г.	длиннокрылая широколобка	1
р-н губа Ширильда, 06.06.2011 г.	длиннокрылая широколобка	3
Малое море, 10.06.2011 г.	длиннокрылая широколобка	3
мыс Средний, 12.06.2011 г.	северобайкальская широколобка	30
	желтокрылка	20
	длиннокрылая широколобка	1
Селенгинское мелководье, 13.06.2011 г.	желтокрылка	28
	северобайкальская широколобка	20
	малая голомянка	12

Общая карта мест сбора проб для анализа зараженности лососевидных рыб Восточной Сибири *S. barkhanus* представлена на карте (рис. 8).

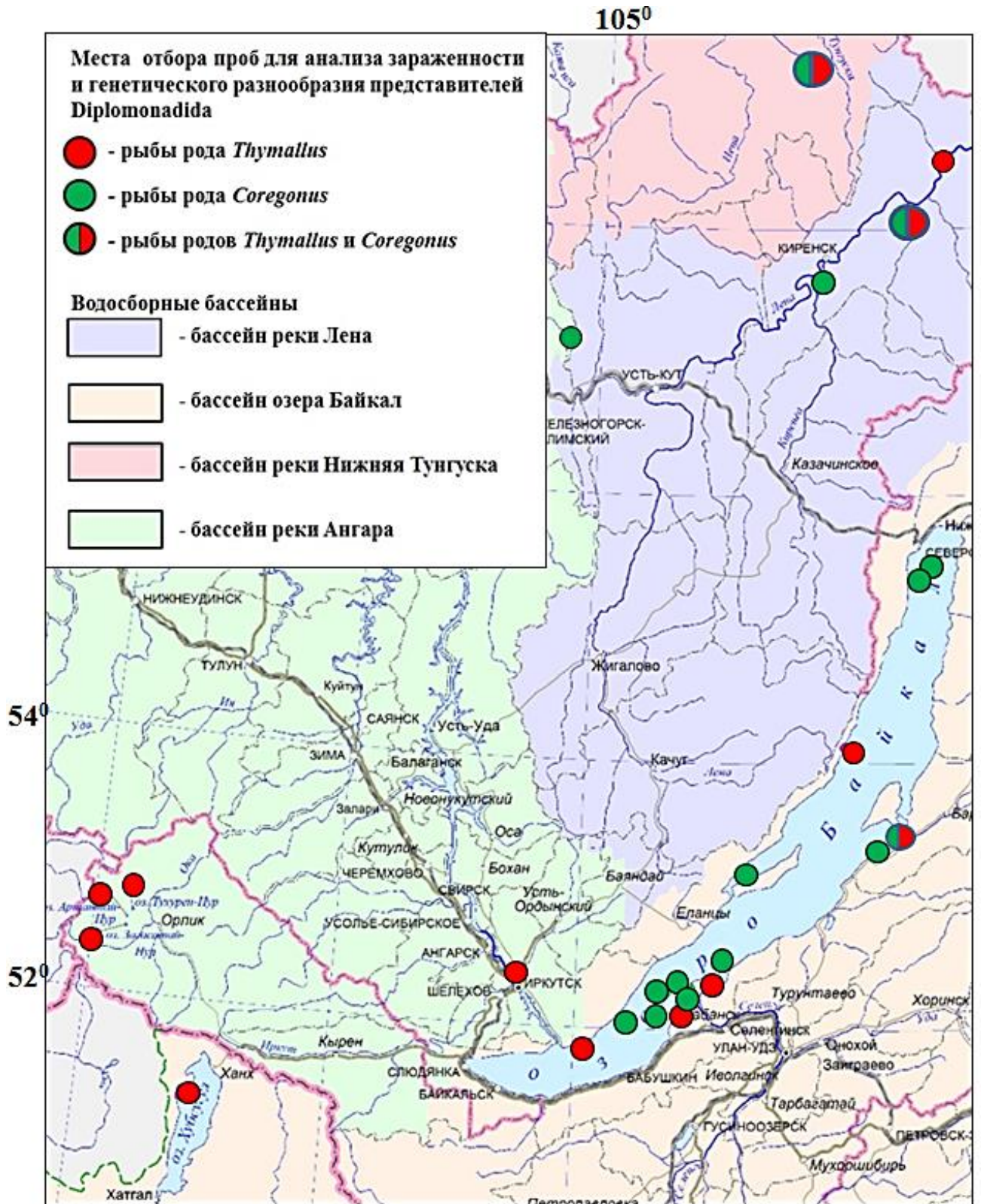


Рис. 8. Карта сбора проб для определения зараженности лососевидных рыб Восточной Сибири *S. barkhanus*.

2.2 Методы исследования

Биологический анализ. Первичную и камеральную обработку всех собранных рыб проводили по общепринятым в ихтиологии методикам [Чугунова, 1939; Правдин, 1966]. Для определения принадлежности особи байкальского омуля к конкретной МЭГ использовалась система морфологических признаков [Смирнов, 1983]. В нее входят следующие признаки: 1) количество тычинок, 2) относительная длина головы; 3) высота хвостового стебля; 4) высота головы у затылка.

Методы изучения питания рыб. Материалы по питанию рыб обрабатывали в соответствии со стандартными количественно-весовыми методами [Руководство ..., 1961]. В лабораторных условиях взвешивали содержимое желудков (фиксированное в 70% этиловом спирте). Определяли кормовые объекты до вида. Относительное значение отдельных групп кормовых организмов в спектрах питания выражали в процентах частоты встречаемости, долях численности и массы отдельных компонентов от их общего значения и внутри каждой группы беспозвоночных. Рассчитывали индексы наполнения желудков ($^0/_{000}$) и долю рыб с пустыми желудками (%). Для характеристики сходства пищевых спектров рыб применяли СП-коэффициент (или ИПС - индекс пищевого сходства) А.А. Шорыгина [1952], выражающий относительную степень совпадения состава пищи сравниваемых видов.

Статистическая обработка. Оценку достоверности различий между выборками оценивали с помощью критерия хи-квадрат X^2 (с поправкой на непрерывность) [Лакин, 1990]. Статистическая обработка материала проведена в системе анализа R [Мастицкий, 2014].

2.2.1 Молекулярно-генетические методы

Выделение суммарной ДНК на сорбентах проводили с помощью наборов ДНК-сорб В и РИБО-сорб по прилагаемым к наборам инструкциям производителя (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). Желчные пузыри вскрывали, центрифугировали и удаляли жидкость (раствор этанола). Фрагменты кишечника растирали. К образцу объемом около 100 мкл добавляли лизирующий буфер в соответствии с инструкцией, тщательно встряхивали. Для удаления клеточного дебриса, стенок желчных пузырей, конкрементов желчных кислот и тканей кишечника лизат центрифугировали 5 мин при 12000 об/мин. Надосадочную жидкость переносили в новую пробирку и добавляли к ней 25 мкл сорбента. Взвесь тщательно суспендировали на вортексе и выдерживали при комнатной температуре 5 мин, периодически перемешивая. Затем центрифугировали 30 с при 12000 об/мин, супернатант удаляли. Далее проводили серию отмывок буферами строго по инструкции. После последней отмывки взвесь центрифугировали 2 мин при 12000 об/мин, супернатант удаляли и осадок подсушивали 30 мин при 60°C. Осадок хранили при 4–10°C до элюции нуклеиновых кислот. Нуклеиновые кислоты элюировали в 50 мкл безнуклеазной стерильной воды или TE-буфера (10 mM трис-HCl pH 7,5; 1 mM ЭДТА). Для этого осадок тщательно суспендировали, прогревали в термостате 5 мин при 60°C и центрифугировали 5 мин при 12000 об/мин. Надосадочную жидкость тщательно, без сорбента, отбирали в новую пробирку и использовали в качестве матрицы в ПЦР.

Выделение суммарной ДНК методом химического лизиса с фенол-хлороформной экстракцией. Желчные пузыри вскрывали, центрифугировали и удаляли жидкость (раствор этанола). Фрагменты кишечника растирали. К 100 мкл образца добавляли 300 мкл лизирующего буфера (ДНК-сорб В), тщательно перемешивали. Лизис вели 15–60 мин при 60°C. Для удаления клеточного дебриса, стенок желчных пузырей, конкрементов желчных кислот и тканей кишечника лизат центрифугировали 5 мин при 12000 об/мин. Надосадочную жидкость переносили в новую пробирку. Белки и полисахариды отделяли фенолом и хлороформом. Для этого к надосадочной жидкости добавляли

равный объем фенола, насыщенного трис-НСl (рН 8,0), суспензию взбалтывали 10–15 мин, добавляли 1/10 объёма хлороформа и центрифугировали при 12000 об/мин 10 мин. Для дальнейшей работы верхнюю водную фазу тщательно отбирали, не захватывая интерфазу, и осаждали нуклеиновые кислоты 0,8 объема изопропилового спирта в течение ночи при -20°C . ДНК осаждали центрифугированием при 14000 об/мин в течение 10 мин. Для удаления солей осадок промывали 400 мкл 70% холодного этанола, еще раз центрифугировали. Надосадочную жидкость удаляли, осадок подсушивали на воздухе и растворяли в ТЕ-буфере или безнуклеазной стерильной воде.

Выделение плазмидной ДНК с исследуемым фрагментом проводили коммерческим набором AxyPrep Plasmid Miniprep Kit (Axygen, США). Для выделения плазмидной ДНК брали 100-150 мкл клеточной суспензии, добавляли 250 мкл буфера S1, перемешивали на вортексе. Затем вносили 250 мкл буфера S2, инкубировали при комнатной температуре 5 мин, мягко перемешивая до просветления раствора. На следующем этапе добавляли 350 мкл буфера S3, мягко перемешивали, центрифугировали на настольной центрифуге 10 мин при 12000 об/мин. Полученный супернатант наносили на колонку, центрифугировали 1 мин при 12000 об/мин. Проводили серию отмывок буфером W1, фильтрат удаляли центрифугированием. Для элюции ДНК добавляли 70 мкл элюента, инкубировали 5 мин при комнатной температуре, центрифугировали при 12000 об/мин 1 мин. Концентрацию полученной плазмидной ДНК измеряли на спектрофотометре NanoVue (GE Healthcare, Великобритания).

Дизайн праймеров разного уровня специфичности на представителей Diplomonadida проводили на основе сравнительного анализа всех нуклеотидных последовательностей гена малой субъединицы рРНК, опубликованных в международных базах данных. Для диагностики присутствия ДНК диплонад в исследуемом образце в качестве праймерных использовали участки, консервативные для эукариот (DpFun-DpR). При этом

специфичность целевых ампликонов обеспечивается значительной разницей в длине фрагмента исследуемого гена у диплоноад (~450 п. н.) и прочих эукариотических организмов (~630 п. н. и более). Амплификацию фрагментов гена малой субъединицы рРНК *S. barkhanus* проводили с использованием видоспецифичных праймеров, разработанных и апробированных в настоящем исследовании (табл. 3, рис. 9).



Рис. 9. Схема размещения праймеров на последовательности гена малой субъединицы рРНК

Таблица 3

Пары праймеров, использованные в работе

Последовательность прямого праймера	Последовательность обратного праймера	Длина ампликона (п.н.)
DPFUN 5'-GCCAGCAGCCGCGGTAATTCC	DPR 5'-AGCCGCAGACTCCACRTCT	450
DPSF 5'- CAGCCGCGGTAATCCGACAC	DPR1+ 5'- AGCCGCAGACTCCACGTCTGGTGG	450
DPSF 5'- CAGCCGCGGTAATCCGACAC	Sp+R 5'-GCAGCSTTGTACGACTTCTCC	984
Sp+1F 5'-GCCATGCATGCCTATGTGTAGAC	DpR1+ 5'- AGCCGCAGACTCCACGTCTGGTGG	881

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в следующей реакционной смеси: 1×буфер (поставляется вместе с ферментом), 2,5 мМ MgCl₂; дезоксинуклеотидтрифосфаты (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ), конечная концентрация 0,2 мМ каждого. В реакцию использовали фермент *Taq* ДНК-полимеразу, конечная концентрация которого составляла 1 ед. акт. на 25 мкл реакционной смеси. Использовали следующие режимы реакции:

DpFun/DpR: 94°C – 15 с; 65°C – 20 с; 72°C – 30 с, 35 циклов;

DPSF/DpR1+: 94°C – 15 с; 68°C – 15 с; 72°C – 15 с, 35 циклов;
DPSF/Sp+R: 94°C – 15 с; 68°C – 15 с; 72°C – 30 с, 35 циклов;
Sp+1F/DpR1+: 94°C – 15 с; 68°C – 15 с; 72°C – 30 с, 35 циклов.

В первом цикле денатурацию проводили в течение 5 мин, в последнем цикле время элонгации увеличивали до 10 мин. Амплификацию проводили в термоциклерах: Techne (Progene, Англия); BioRad (США) и БисН (Россия).

Анализ продуктов амплификации проводили разделением фрагментов ДНК в 1,5% агарозном геле в 1×ТА буфере (20 мМ трис-ацетат, рН 7,6). Ампликоны окрашивали бромидом этидиума (рабочая концентрация 2 мкг/мл) и визуализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе ТСР-15.М (Vilber Lourmat, Франция). Полосы, соответствующие целевым продуктам, вырезали и экстрагировали из геля методом замораживания-оттаивания: замораживали ночь при –20°C и элюировали центрифугированием при 12000 об/мин в течение 15 мин. Водную фазу, содержащую ампликоны, переносили в новые пробирки и использовали для дальнейшего анализа: секвенирования или лигирования.

Лигирование ПЦР-продуктов. Ампликоны, полученные с парой праймеров DpFun/DpR, клонировали с помощью набора GeneJET™ PCR Cloning Kit (Fermentas, Литва).

Реакцию «полирования» концов ампликонов, полученных с помощью *Taq* ДНК-полимеразы, проводили в лигазном буфере, поставляемом фирмой-производителем. К 5 мкл буфера добавляли 3,5 мкл ампликона и 0,5 мкл фермента ДНК-blunting, смесь тщательно перемешивали, центрифугировали 3–5 с и инкубировали при температуре 70°C в течение 5 мин. Охлаждали во льду несколько секунд и сразу же ставили реакцию лигирования. Для этого к реакционной смеси добавляли 50 нг вектора pJET/blunt и 0,5 мкл T4 ДНК-лигазы. Реакционную смесь тщательно перемешивали и инкубировали 30 мин при комнатной температуре (22°C). После этого смесь использовали для трансформации клеток *Escherichia coli*.

Приготовление компетентных клеток. Компетентные клетки *E. coli* (штаммы XL-1 и DH-5L) получали, используя методику трансформации CaCl_2 -зависимых клеток [Sambrook et al., 1989]. Клетки *E. coli* поддерживали и хранили в холодильнике на чашках с минимальной средой M9 (на 100 мл воды: 0,6 г Na_2HPO_4 ; 0,3 г KH_2PO_4 ; 0,05 г NaCl ; 0,1 г NH_4Cl ; 1,5 г агара; 0,2 мл 1 М MgSO_4 ; 0,01 мл 10% CaCl_2 ; 0,75 мл 40% глюкозы). Для получения ночной культуры 2–3 отдельные колонии засеивали в 50 мл среды SOB (на 50 мл воды: 1 г триптон; 0,25 г дрожжевой экстракт; 100 мкл 5 М NaCl ; 62,5 мкл 2 М KCl ; 0,5 мл 1 М MgCl_2 ; 0,5 мл 1 М MgSO_4) и инкубировали до титра $4\text{--}7 \times 10^7$ жизнеспособных клеток в 1 мл среды при постоянном перемешивании. Для определения титра жизнеспособных клеток использовали колориметр КФК-2-УХЛ 4.2 (Россия). После достижения требуемой оптической плотности (ОП 0,2–0,4, длина волны 590 нм, кювета 1 см) клетки (250 мл среды) охлаждали в течение 10 мин в ледяной бане и центрифугировали 15 мин на центрифуге РС-6 (Россия) при 3000 об/мин и 4°C. После центрифугирования супернатант сливали, клетки промывали 80 мл охлажденным во льду буфером для трансформации (ТБ-буфером: 10 мМ MOPS, 55 мМ MnCl_2 , 15 мМ CaCl_2 , 250 мМ KCl), выдерживали 10 мин в ледяной бане и центрифугировали 15 мин при аналогичных условиях. Супернатант сливали, клетки ресуспендировали в 20 мл ТБ-буфера и, медленно перемешивая, добавляли диметилсульфоксид (ДМСО) до конечной концентрации 7%, инкубировали 10 мин в ледяной бане. Затем клеточную биомассу разделяли на аликвоты по 200 мкл, замораживали и хранили при -70°C .

Трансформация клеток *E. coli*. Для трансформации к 50 мкл компетентных клеток добавляли 5 мкл лигазной смеси и инкубировали 30 мин при 0°C . Затем проводили тепловой шок при 42°C в течение 90 с, после чего выдерживали в ледяной бане 2–3 мин и к суспензии аккуратно добавляли 200 мкл среды SOC (в 50 мл среды SOB внести 0,375 мл 40% глюкозы). Клетки со средой инкубировали в термостате при 37°C от 40 до 60 мин, затем проводили поверхностный посев 100 мкл клеток на твердую среду LB с ампициллином (на

100 мл воды: 0,5 г дрожжевого экстракта; 1 г триптона; 1 г NaCl; 1,5 г агара; 50 мкг/мл ампициллин), инкубировали 10-12 часов при 37°C [Sambrook et al., 1989].

Скрининг колоний после лигирования с вектором вектора pJET/blunt (набор GeneJET™ PCR Cloning Kit, Fermentas, Литва) основан на прямой положительной селекции клонов, содержащих вставку целевого ампликона. Клоны без вставок не вырастают, т. к. вектор pJET/blunt содержит ген эндонуклеазы рестрикции, который летален для всех штаммов *E. coli* обычно используемых для клонирования. Клоны без плазмидного вектора не вырастают, потому что вектор содержит ген устойчивости к ампициллину. Таким образом, на среде с ампициллином размножаются только клетки, содержащие рекомбинантные плазмиды.

Секвенирование, идентификация нуклеотидных последовательностей и филогенетический анализ. Секвенирование проводили в Межинститутском центре секвенирования ДНК (г. Новосибирск) на автоматических секвенаторах: ABI310A и ABI 3130xl (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, США).

Сравнительный анализ последовательностей проводили с помощью пакета программы FASTA (URL: <http://www.ebi.ac.uk/fasta33/nucleotide.html>) и BLAST (URL: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Проверка полученных последовательностей на наличие химерных структур была проведена программой Pintail (URL: <http://www.bioinformatics-toolkit.org/Web-Pintail/>). Филогенетический анализ проводили для каждого молекулярного маркера отдельно (фрагменты гена малой субъединицы рРНК 450 п.н. и 1430 п.н.). Для филогенетического анализа использованы ранее опубликованные последовательности генов малой субъединицы рРНК *S. barkhanus*, *S. salmonicida*, *S. torosa*, *S. salmonis* и *S. vortens* (Приложение 3).

Нуклеотидные последовательности были выравнены с помощью программы MAFFT v 6.882b [Katoh, Toh, 2008]. Байесовский анализ проведен с помощью программы MrBayes v. 3.2.1. [Ronquist, Huelsenbeck, 2003] с использованием параметра «mixed». Марковские цепи Монте-Карло были

запущены дважды (параметр по умолчанию) по 2000000 генераций. Из анализа исключали первые 20000 деревьев, считая их неустойчивыми.

2.2.2 Методы микроскопического анализа

Световая микроскопия. Препараты из свежих тканей кишечника черного байкальского хариуса окрашивали по Романовскому-Гимзе. Мазки, фиксированные в метиловом спирте, окрашивали раствором в течение 40 мин, ополаскивали в дистиллированной воде, высушивали и исследовали при иммерсии. Определение микроорганизмов по морфологическим характеристикам проводили с помощью световой микроскопии на микроскопах Axiovert 200 и AxioStar plus (Zeiss, Германия). Использовали объектив с увеличением $\times 100$.

ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАРАЖЕННОСТИ ЛОСОСЕВИДНЫХ РЫБ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ ОТРЯДА DIPLOMONADIDA

3.1. Разработка и апробация метода молекулярно-генетической детекции представителей отряда *Diplomonadida*

В настоящее время в рыбах описаны 5 видов *Diplomonadida*: *S. barkhanus*, *S. salmonicida*, *S. salmonis*, *S. torosa* и *S. vortens*. Разработаны системы видоспецифичной амплификации, однако при исследовании дипломонад в рыбах Восточной Сибири они оказались малоэффективными. Во-первых, неизвестна видовая принадлежность в связи с недостатком корректной информации, следовательно, необходима система детекции дипломонад, как крупного таксона. Во-вторых, *Diplomonadida* имеют тонкую легко разрушающуюся клеточную оболочку. С учетом агрессивности окружающей среды (пищеварительные ферменты, желчь, микрофлора кишечника) и удаленности мест сбора полевого материала, это обстоятельство требует быстрой, простой и качественной пробоподготовки. В противном случае ДНК деградирует до мелких фрагментов.

Разработанный и апробированный в настоящей работе метод молекулярно-генетической детекции представителей отряда *Diplomonadida* в рыбах основан на применении универсальных праймеров (DpFun/DpR) к фрагменту гена малой субъединицы рРНК эукариотических организмов. Дипломонады имеют стандартную для эукариот структуру рибосомного оперона, но размеры генов малой и большой субъединиц рРНК значительно меньше и сравнимы с прокариотическими. Это обстоятельство позволяет разделять целевые ампликоны (~ 450 п.н.) и фрагменты ДНК хозяина и кормовых объектов (~630 п. н. и более) при электрофорезе в агарозном геле. Метод обладает рядом преимуществ по сравнению с ранее принятыми в детекции дипломонад методами микроскопии: сбор и первичная

пробоподготовка образцов в полевых условиях, приемлемые требования к хранению и транспортировке, возможность проведения серийных анализов, экономичность и воспроизводимость.

Определение видовой принадлежности представителей Diplomonadida методами микроскопии требует длительной дорогостоящей пробоподготовки и использования соответствующего оборудования (трансмиссионный микроскоп). Доступная световая микроскопия, к сожалению, такой информации не дает (рис. 10)

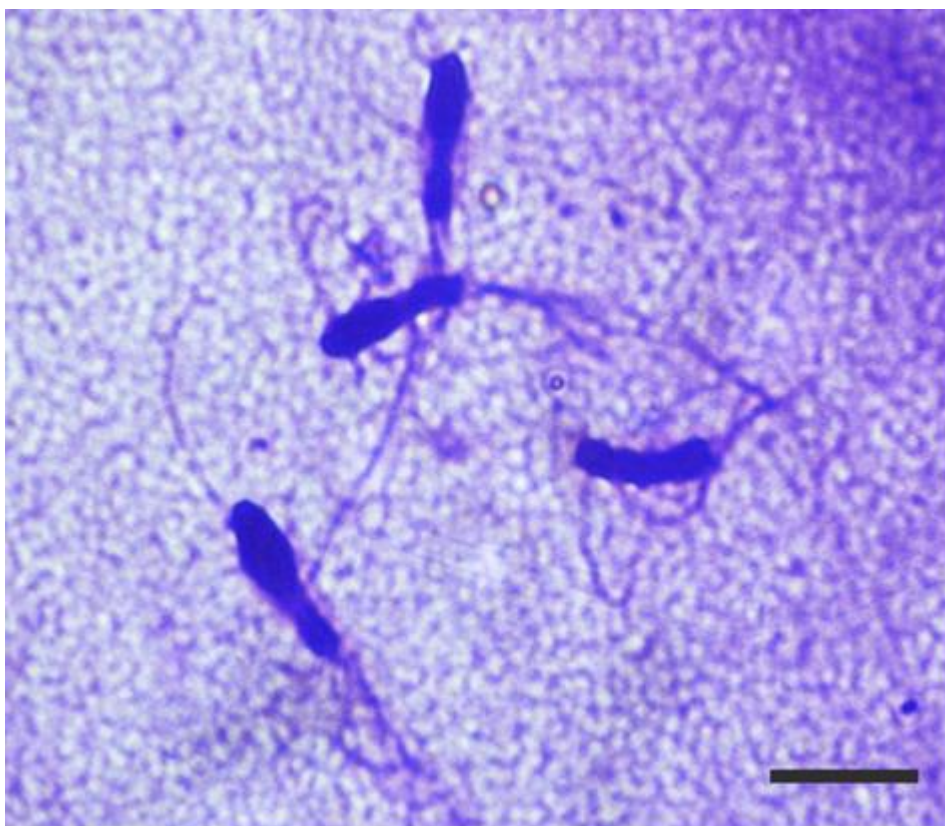


Рис. 10. *S. barkhanus* в желчи черного байкальского хариуса. Окраска по Романовскому–Гимзе, масштаб – 10 мкм. Световая микроскопия.

Небольшая величина амплифицируемого фрагмента ДНК, с одной стороны, позволяет получать целевые ампликоны даже из замороженных и фиксированных спиртом образцов, с другой стороны, достаточна для определения видовой принадлежности дипломонад при анализе нуклеотидной последовательности.

В процессе апробации метода в проанализированных образцах был выявлен единственный вид Diplomonadida - *S. barkhanus*, после чего диагностическая система праймеров была оптимизирована. Праймеры DPSF/DpR1+ более специфичны и их применение позволяет увеличить выход целевого ампликона по сравнению с фрагментми ДНК хозяина и кормовых объектов (рис. 11). Эти же праймеры в парах Sp+1F/DpR1+ и DPSF/DpR1+ были использованы при получении длинных ампликонов для определения последовательности гена малой субъединицы рРНК.

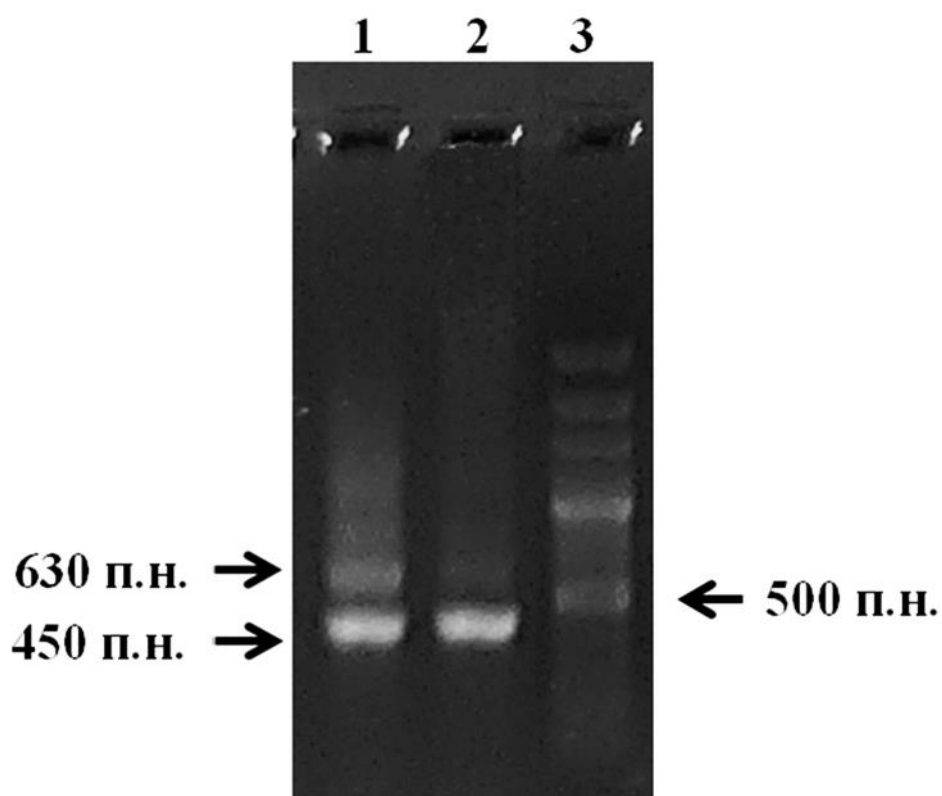


Рис. 11. Пример электрофореграммы продуктов амплификации ДНК *S. barkhanus* из желчного пузыря черного байкальского хариуса на парах праймеров разного уровня специфичности: 1 - DpFun/DpR; 2 - DPSF/DpR1+; 3 – маркер молекулярного веса.

Далее в анализе использовали двустадийную ПЦР: для обогащения ДНК *S. barkhanus* первый раунд проводили на паре специфичных праймеров Sp+1F/Sp+R, фланкирующих фрагмент гена малой субъединицы рРНК длиной 1420

п.н., после чего проводили следующий раунд на паре праймеров DPSF/DpR1+. В качестве матрицы во втором раунде использовали реакционную смесь, полученную в результате первого раунда ПЦР. Этот дополнительный этап анализа позволил значительно очистить целевой ампликон от аналогичного фрагмента ДНК хозяина (рис. 12).

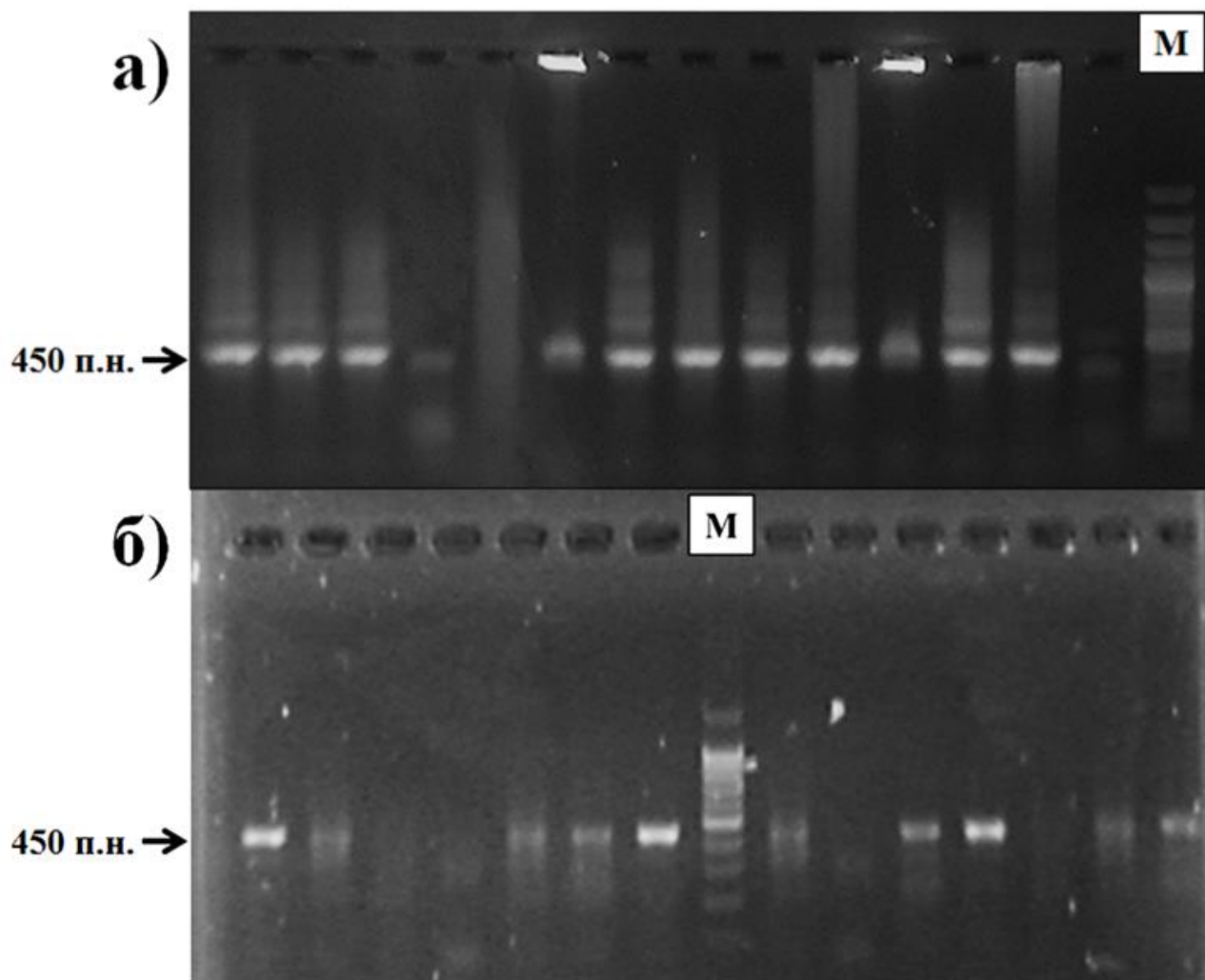


Рис. 12. Пример электрофореграммы продуктов амплификации ДНК *S. barkhanus* из желчного пузыря черного байкальского хариуса, оз. Байкал: а) DPSF/DpR1+; б) двустадийная ПЦР Sp+1F/ Sp+R, DPSF/DpR1+; М – маркер молекулярного веса.

В результате разработки и апробации системы молекулярно-генетической детекции диплонад были определены основные требования к

транспортировке и хранению образцов, пробоподготовке и выделению ДНК. Оптимальным условием получения проб качественной ДНК является непосредственное выделение ДНК из образцов свежесловленных рыб без консервации и хранения. При этом важно, чтобы все операции проводились быстро во избежание нагревания рыб. Если отбор проб проводят в полевых условиях, желчные пузыри необходимо извлечь из свежесловленной рыбы, не допуская ее нагревания на воздухе, и немедленно фиксировать этанолом. Транспортировать фиксированные пробы желчных пузырей необходимо в охлажденном виде. Любое нагревание необработанных проб приводит к существенной деградации ДНК. Это ограничение несет дополнительные сложности: не всегда удается получить пригодную для анализа ДНК из привезенных проб, так, ДНК из нескольких серий, привезенных из географически удаленных мест в летний период, оказалась полностью деградированной. Этот факт легко объяснить: содержимое желчного пузыря является достаточно агрессивной средой, не способствующей сохранению ДНК, особенно при повышении температуры.

При выделении ДНК необходимо учитывать присутствие в образце клеток хозяина и по возможности минимизировать их лизис. С этой целью желчные пузыри необходимо вскрывать и лизис проводить достаточно быстро (5-10 мин). По возможности, в случае крупных наполненных желчных пузырей, их желательно разрезать, содержимое перенести в другую пробирку и только потом приступать к выделению ДНК. Необходимо отметить, что количество и локализация ДНК *S. barkhanus* у зараженных рыб может различаться: так, при анализе разных отделов кишечника у различных особей в некоторых случаях положительными были пробы заднего кишечника, в некоторых – переднего, иногда только желчного пузыря. По-видимому, это зависит от времени, прошедшего с последнего приема пищи и от прочих факторов (в частности, какие именно кормовые объекты употребляла рыба, насколько активно питалась и двигалась, и многих других факторов). Следует также отметить, что диагностика по пробам кишечника крайне затруднительна по причине

значительного количества бактериальной ДНК, создающей мощный фон и не позволяющей проводить прямую идентификацию полученного ампликона. Для установления принадлежности ДНК конкретному виду диплоноад требуется дополнительная стадия клонирования анализируемого ампликона. Для оценки зараженности диполомонадами в дальнейших исследованиях использовали только желчные пузыри рыб. Очевидно, что такой анализ может давать ложноотрицательные результаты, однако оценка даже минимальных показателей зараженности позволяет проводить мониторинг представленности и распространения паразитических простейших отряда *Diplomonadida* в рыбах Восточной Сибири.

3.2. Определение зараженности рыб сем. *Thymallidae* представителями отряда *Diplomonadida*

Ареал представителей рода *Thymallus* занимает большую территорию несвязанных между собой бассейнов рек и озер Палеарктики и Неарктики. Диагностическая система праймеров, позволяющая амплифицировать нуклеотидные последовательности фрагментов гена малой субъединицы рРНК диплоноад длиной 450 п.н., была апробирована в работе по оценке зараженности диплоноадами представителей сем. *Thymallidae* (табл. 1, прил. 1). Обнаружен ярко выраженный тренд зараженности хариусов в водосборном бассейне р. Ангара: минимальная в оз. Хубсугул (38,5%), в р. Баргузин и оз. Байкал значительная (80,0 и 85,2% соответственно) и максимальная в р. Ангара (100%) (рис. 13, 14). Исходя из предположения, что цисты диплоноад лучше сохраняются и/или «захораниваются» в илистых грунтах (д.б.н. Русинек О.Т., личное сообщение), логично было ожидать большую зараженность у белого байкальского хариуса, предпочитающего илистые грунты и обитающего преимущественно на Селенгинском мелководье, чем черного байкальского хариуса, основные места нагула которого расположены в прибрежной зоне озера с каменистыми грунтами. Однако разницы в зараженности черного и

белого хариуса не отмечено. По-видимому, концентрация жизнеспособных цист диплонад не зависит от структуры и состава грунта.

В озерах Восточных Саян Аршантай-Нур, Тухурен-Нур и Загасатай-Нур, являющихся истоками рек, впадающих в Оку - приток р. Ангара, зараженность средняя (табл. 4, рис. 14).

Для сравнительной оценки зараженности рыб рода *Thymallus* в водоемах Восточной Сибири анализировали хариусов, отловленных в р. Чечуй (водосборный бассейн р. Лена) и в р. Непа (водосборный бассейн р. Нижняя Тунгуска). Зараженность рыб в этих реках оказалась наименьшей - 24 и 20% соответственно (табл. 4, рис. 14).

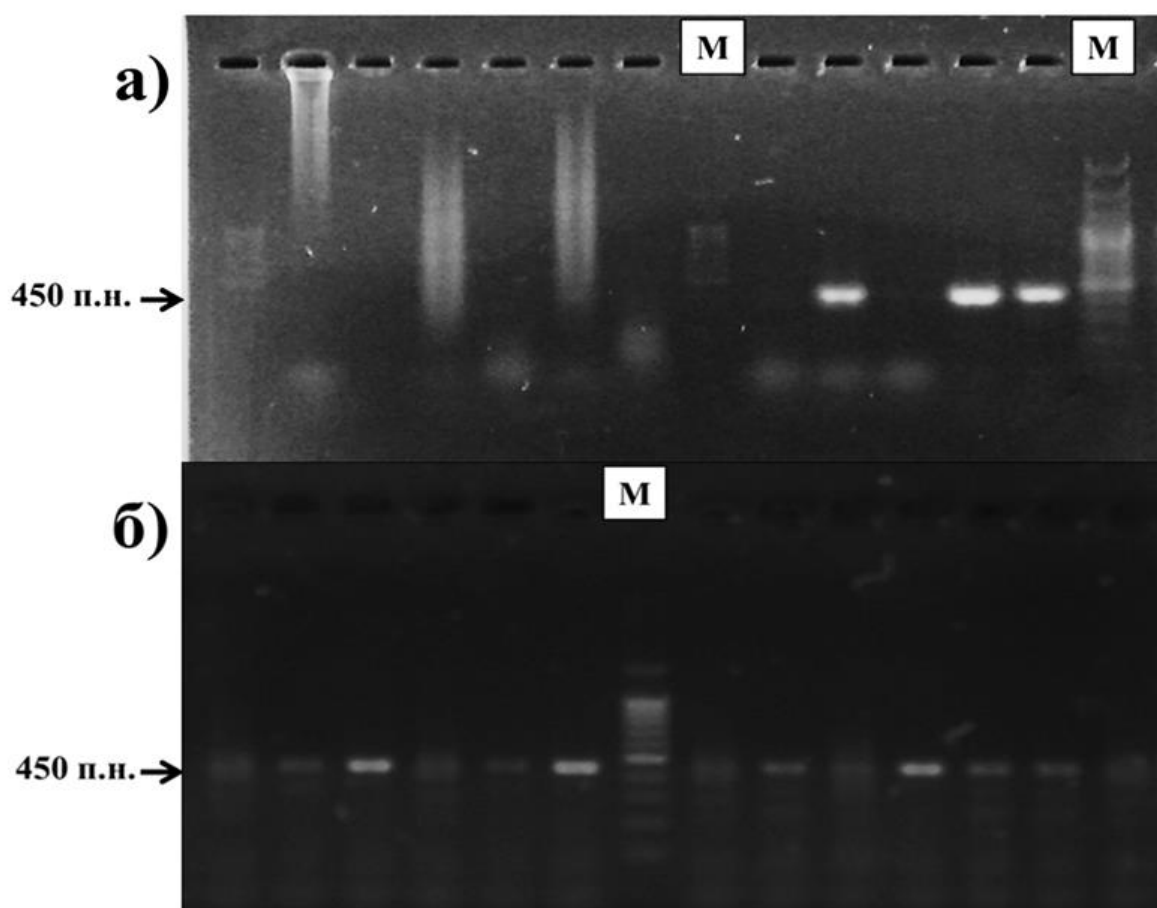


Рис. 13. Пример электрофореграммы продуктов амплификации ДНК *S. barkhanus* из желчного пузыря: а) косокольского хариуса, оз. Хубсугул; б) черного байкальского хариуса, р. Ангара. М – маркер молекулярного веса.

Зараженность представителей рода *Thymallus* в разных водосборных бассейнах Восточной Сибири.

Вид	Место сбора	Кол-во экз.	Зараженность экз.; %
Черный байкальский хариус	р. Ангара	60	60; 100
	оз. Загасатай-Нур	42	21; 50,0
	оз. Аршантай-Нур	18	11; 61,1
	оз. Тухурен-Нур	16	10; 62,5
	оз. Байкал	40	34; 85,0*
	оз. Байкал: пос. Большие Коты	54	46; 85,2*
Белый байкальский хариус	оз. Байкал: р-н дельты р.Селенга	28	24; 85,7
Черный байкальский хариус	р. Баргузин	10	8; 80,0
Косогольский хариус	оз. Хубсугул	13	5; 38,5
Байкалоленский хариус	р. Чечуй	89	22; 24,0*
Сибирский хариус	р. Непа	5	1; 20,0

Примечание. * - значение достоверно отличается от других выборок ($p < 0.05$).

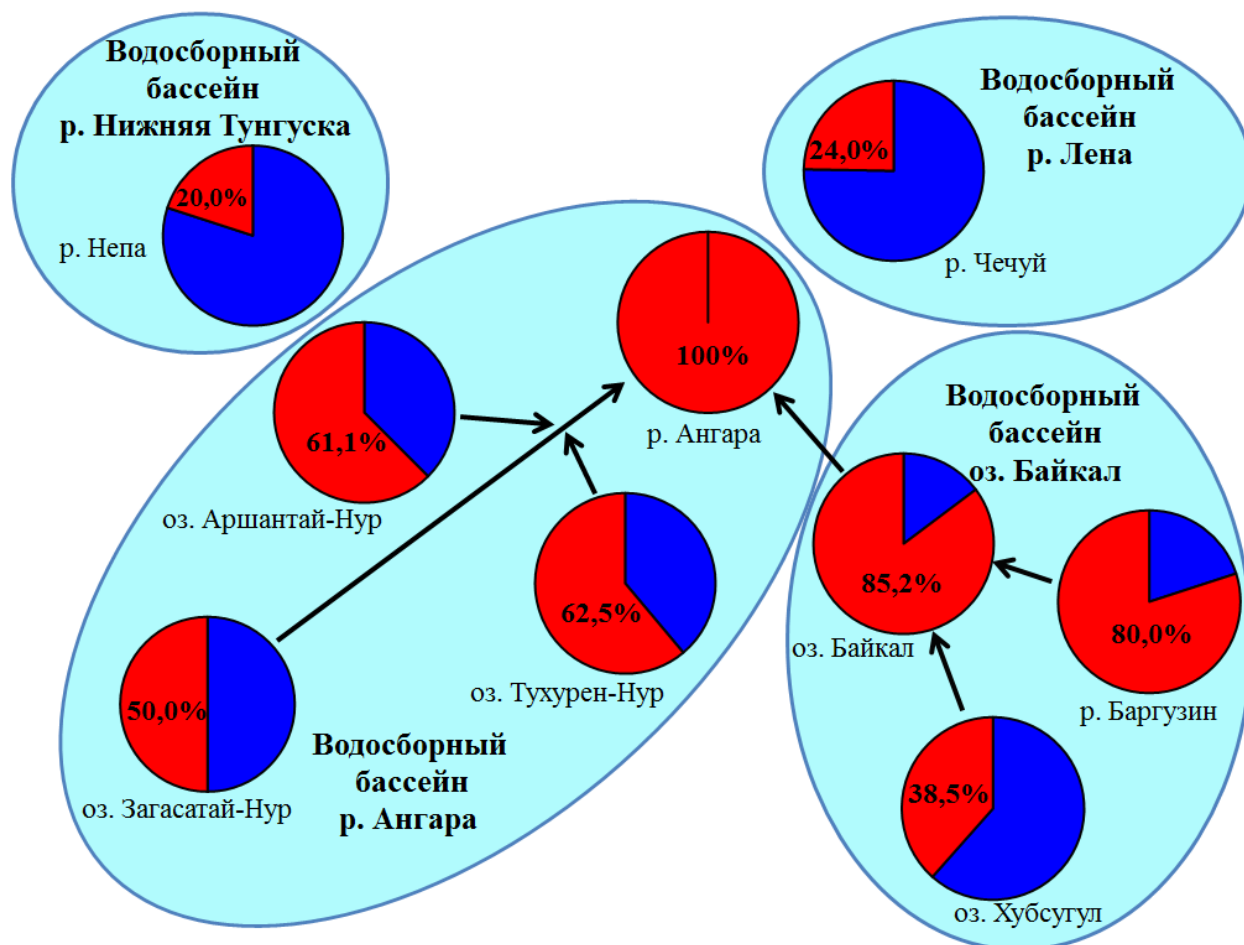


Рис. 14. Зараженность представителей рода *Thymallus* в разных водосборных бассейнах Восточной Сибири.

3.3. Детекция *Diplomonadida* у байкальского омуля

Результаты молекулярно-генетической детекции представителей отряда *Diplomonadida* у байкальского омуля выявили парадоксальную картину зараженности. Исходя из того, что сезонные миграции байкальского омуля прибрежно-пелагической и придонно-глубоководной МЭГ предусматривают достаточно большое пространственное пересечение с черным байкальским хариусом, имеющим высокую зараженность, логично было ожидать максимальную зараженность у этих групп. Однако положительный результат на наличие представителей отряда *Diplomonadida* получен для 17 из 58 особей прибрежно-пелагической МЭГ, 14 из 41 придонно-глубоководной и 16 из 20 пелагической, что составляет 29, 34 и 80%, соответственно (рис. 15).

Полученные результаты сравнительного анализа зараженности байкальского омуля показали, что наибольшая доля инфицированных особей (80%) отмечена у рыб пелагической МЭГ. Это, вероятно, обусловлено различиями в питании рыб разных МЭГ. Байкальский омуль – эврифаг, в годовом рационе разных популяций сходные организмы. При этом у омуля пелагической МЭГ преобладает зоопланктон (эпишура байкальская), у прибрежно-пелагической – донные амфиподы, а у придонно-глубоководной – макрогектопус и молодь коттоидных рыб [Волерман, Конторин, 1983; Смирнов и др., 2009].

У омуля пелагической МЭГ индекс длины жаберной дуги (в % от длины головы) с возрастом уменьшается до 53,5%, что при большом количестве жаберных тычинок обеспечивает формирование своеобразного «жаберного сита», позволяющего отфильтровывать мелкие пищевые объекты. У представителей придонно-глубоководной МЭГ индекс длины жаберной дуги на 6-7% больше. Таким образом, длинная жаберная дужка при наименьшем количестве коротких жаберных тычинок и соответствующем увеличении расстояния между ними обеспечивает больший ток воды через жаберный аппарат при схватывании крупных пищевых объектов [Смирнов и др., 2009].

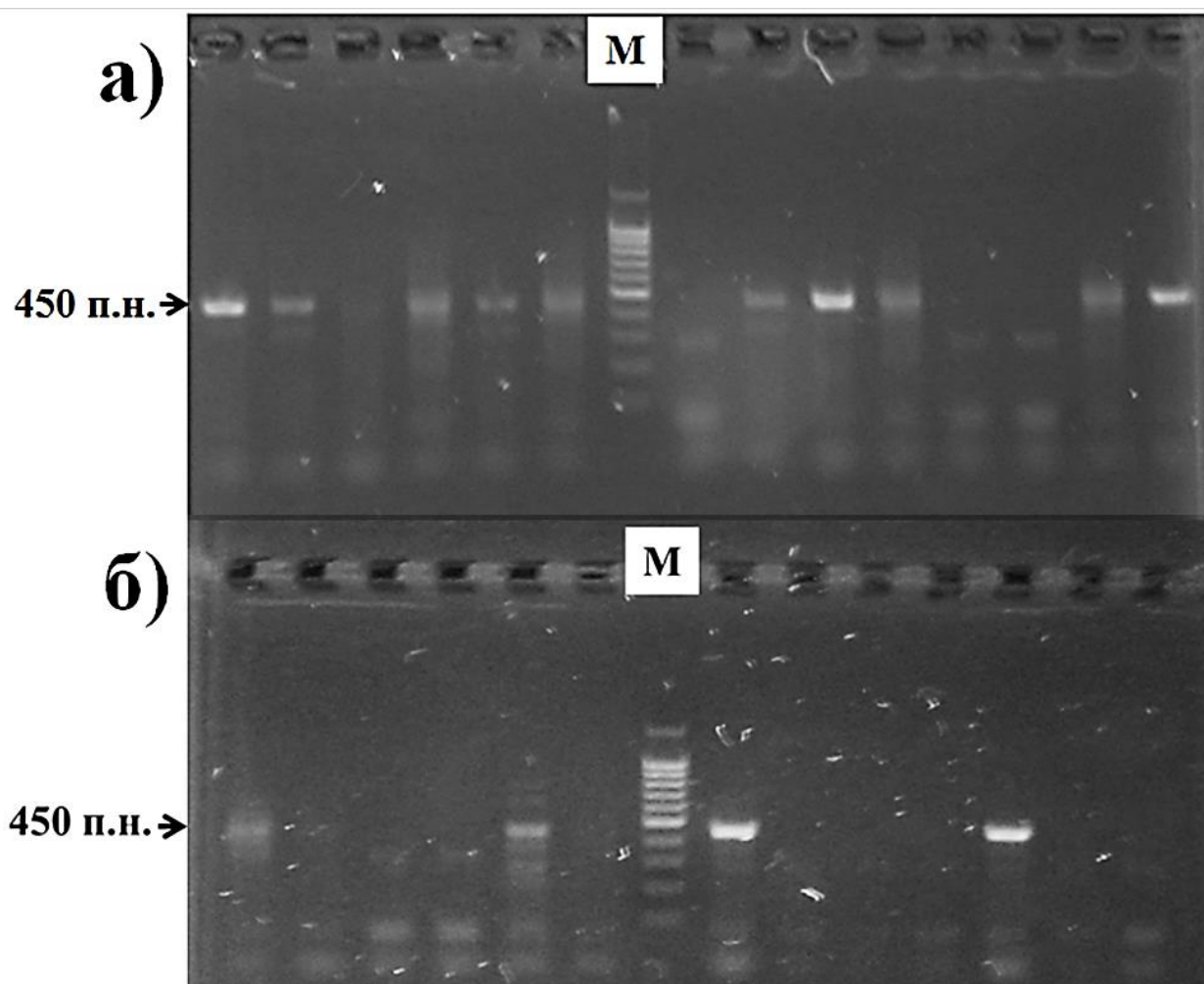


Рис. 15. Пример электрофореграммы продуктов амплификации ДНК *S. barkhanus* из желчного пузыря байкальского омуля: а) пелагической и б) прибрежно-пелагической МЭГ. М – маркер молекулярного веса.

Представители рода *Spiroucleus*, паразитирующие в рыбах, имеют прямой жизненный цикл с двумя этапами: неподвижные цисты в воде и подвижные трофозоиты в рыбе. Цисты - устойчивые стадии жизненного цикла диплонад, способные выжить вне организма хозяина [Kulda et al., 1978; Brugerolle, Lee, 2002; Woo, 2006]. Их размеры от 0,3 до 13 мкм в диаметре. Тщательные исследования жизненного цикла не проводились, но предполагается, что цисты выходят из рыбы с фекалиями, проводят некоторое время в воде, а затем с водой и пищей попадают в нового хозяина [Woo, 2006]. Трофозоиты паразитических видов являются подвижными стадиями, активно питаются и размножаются в просвете кишечника рыб. Они не могут долго существовать

вне хозяина (от 15-30 мин. у *S. salmonis* до четырех часов у *S. salmonicida* [Kent et al., 1992]). Однако в работах по экспериментальному заражению рыб была доказана возможность прямой передачи инвазии в плотной популяции [Guo, Woo, 2004]. Поскольку байкальский омуль в весенний период формирует крупные скопления высокой плотности, а трофозоиты *S. barkhanus* способны выживать в пресной воде, существует высокая вероятность прямого инфицирования ими рыб. Средняя длина тела трофозоитов составляет 15,6 мкм (11,0-20,0), а средняя ширина 9,4 мкм (6,0-14,0) [Sterud et al., 1997]. Длина жгутиков может превышать размеры тела в 1,5-2,0 раза, таким образом, общая длина свободно двигающегося трофозоида со жгутиками достигает более 60 мкм [Woo, 2006]. Вероятно, байкальский омуль пелагической МЭГ способен отфильтровывать их на жаберном сите и заглатывать вместе с основным кормовым объектом эпишурой, минимальная длина тела науплиальных стадий которой составляет от 100 мкм [Атлас ..., 1995]. Таким образом, заражение байкальского омуля пелагической МЭГ более вероятно, чем представителей других морфо-экологических групп.

Для проверки начальных сроков заражения был проведен скрининг желчных пузырей неполовозрелых особей байкальского омуля (возраст до 1+) всех трех МЭГ. В проанализированных образцах ДНК *S. barkhanus* не обнаружена (рис. 16). Этот факт объяснить трудно, т.к. ювенильные особи были отловлены вместе с взрослыми во время тралений, т.е. они участвуют в формировании общих скоплений в весенний период. Основным кормовым объектом ювенильных особей является зоопланктон, что позволяло надеяться на положительные результаты. Однако, проанализированные выборки оказались чистыми, что может быть связано с малым количеством проанализированной молодежи.

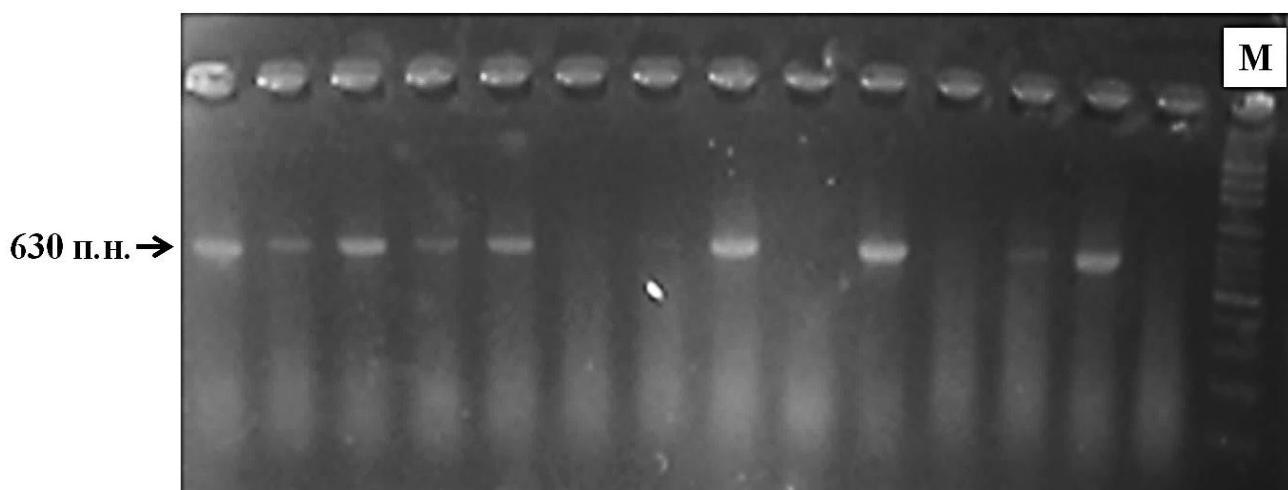


Рис. 16. Пример электрофореграммы продуктов амплификации ДНК *S. barkhanus* из желчного пузыря ювенильных особей байкальского омуля.

М – маркер молекулярного веса.

3.4. Детекция *S. barkhanus* у прибрежно-пелагических и пелагических коттоидных рыб оз. Байкал

Для выявления возможного обмена паразитами между байкальским омулем и другими видами рыб в пелагиали оз. Байкал был проведен скрининг прибрежно-пелагических и пелагических коттоидных рыб на присутствие *S. barkhanus*. Необходимость этих экспериментов продиктована следующими обстоятельствами:

1. в открытой пелагиали оз. Байкал обитают пять эндемичных видов Cottoidei: большая и малая голомянки – истинно пелагические виды; три бенто-пелагических вида рода *Cottocomephorus* (длиннокрылая широколобка, желтокрылка и северобайкальская широколобка) и байкальский омуль, эврибионтный подвид, имеющий промысловое значение [Атлас..., 2002]. Таким образом, места обитания этих видов коттоидных рыб совпадают с таковыми байкальского омуля в зимне-весенний период;

2. пищевые спектры этих коттоидных видов рыб схожи с пищевым спектром байкальского омуля в нагульный период и включают в себя зоопланктон: эпишуру байкальскую и макрогектопуса;

3. бенто-пелагические коттоидные рыбы нерестятся в прибрежной зоне оз. Байкал, где обитает черный байкальский хариус. В «Каталоге паразитов пресноводных рыб Северной Азии» указана находка *Hexamita* в желтокрылке (автор находки: Заика, 1965). Поскольку видовая принадлежность, определенная в 1965 г., в свете пересмотренной классификации достаточно неоднозначна, а указанная локализация - кишечник и желчный пузырь - соответствует *S. barkhanus*, анализ был необходим.

Все перечисленные выше экологические особенности коттоидных рыб, обитающих в пелагиали озера, позволяют предположить наличие у них дипломонад, ранее обнаруженных у черного байкальского хариуса и байкальского омуля.

Для проведения диагностического скрининга использовали образцы желчных пузырей нагульных особей обоих полов малой и большой голомянок, длиннокрылой широколобки, желтокрылки и северобайкальской широколобки (табл. 2). Проведенный анализ не выявил присутствия ДНК *S. barkhanus* в исследованных образцах ДНК (рис. 17). На электрофореграммах видны только четкие ампликоны длиной более 600 п.н., соответствующие продуктам амплификации фрагментов ДНК рыб (~630 п.н.). Таким образом, несмотря на достаточно большое пересечение экологических ниш коттоидных и лососевидных рыб, обмена анализируемыми паразитами между ними не происходит.

Обнаружение *Hexamita* в желтокрылке [Заика, 1965] и отсутствие *S. barkhanus* в наших пробах можно объяснить тем, что взятые на исследование рыбы сильно различались. В цитируемой работе указаны следующие места сбора рыб: исток Ангары, пос. Листвянка, зал. Большие Коты и пос. Голоустное. Скорее всего для паразитологического анализа были взяты рыбы из прибрежной зоны оз. Байкал. Желтокрылка является наиболее многочисленным и важным представителем ихтиоценоза коттоидных рыб мелководной зоны Байкала. Вид распространен по всей акватории открытой части озера с некоторым преобладанием в южной котловине. В пределах вида

выделяют три разновремененно нерестующих популяции (стада): мартовская, майская и августовская [Талиев, 1955; Коряков, 1972]. Желтокрылка - типичный литофил, в качестве субстрата для нереста использует многоярусные каменистые грунты в прибрежной зоне озера.

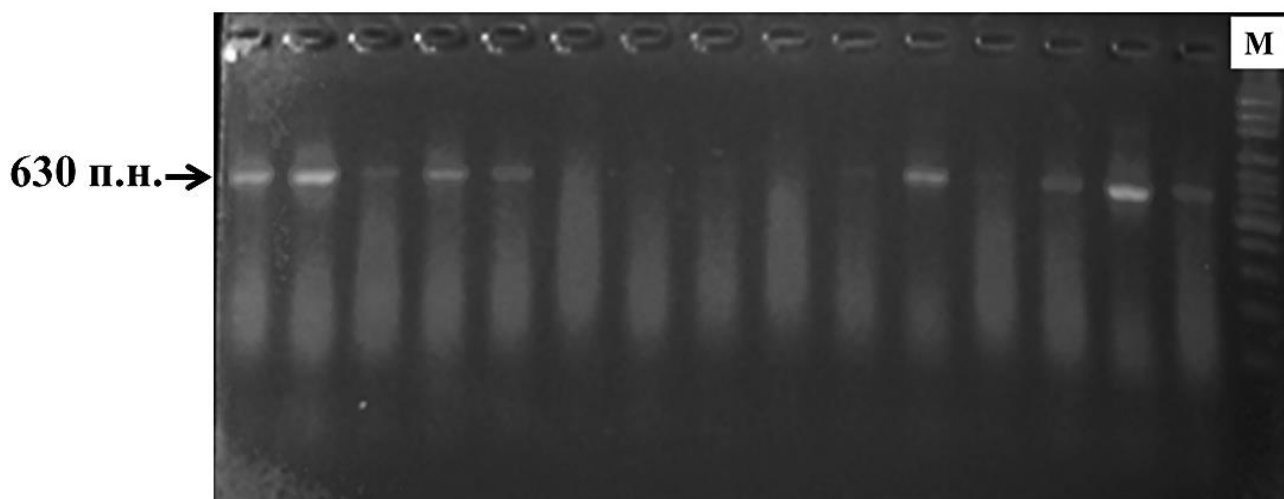


Рис. 17. Пример электрофореграммы результатов диагностического скрининга желчных пузырей желтокрылки. М – маркер молекулярного веса.

В зависимости от сроков нереста и температурного режима в период развития икринок у разновремененно нерестующих стад желтокрылки инкубационный период развития кладок составляет от 20 до 80-90 суток. С момента нереста до самого выхода из неё личинок кладку оберегает самец: обмахивает кладку плавниками, улучшая аэрацию потоком воды, удаляет из кладки погибшие икринки и охраняет ее от хищников, в т.ч. других рыб. Большинство самцов после периода охраны кладок погибают. Данная зона является основным местом нагула черного байкальского хариуса, зараженность которого в озере Байкал достигает 85,2%. Мы предполагаем, что пробы желтокрылки, в которых отмечено наличие *Hexamita* [Заика, 1965] были взяты в период нахождения рыб на нерестилищах, поэтому в открытой пелагиали озера в нагульных особях желтокрылки (наши данные) *S. barkhanus* не были детектированы.

Возможно и другое объяснение: поскольку более ранние данные [Заика, 1965] были получены с использованием методов световой микроскопии, отнесение дипломонад лососевых и коттоидных рыб к одному виду требует проведения дополнительных исследований с использованием молекулярно-генетических методов, так как в коттоидных рыбах могут присутствовать дипломонады другого вида (или видов), отличные от *S. barkhanus*.

3.5. Детекция *S. barkhanus* у других видов лососевидных рыб Восточной Сибири

В работе сделана попытка определить зараженность байкальского озерного сига, сига-пыжьяна, тугуна, ленка и валька из оз. Байкал и других водоемов и водотоков Восточной Сибири (табл. 5). В проанализированных образцах, также, как в байкальском омуле и черном байкальском хариусе, был обнаружен единственный вид дипломонад - *S. barkhanus*. Поскольку выборки непрезентативные, однозначные выводы о реальных масштабах зараженности сделать затруднительно. Тем не менее, можно с уверенностью утверждать, что зараженность сигов существенно ниже, чем у хариусов и байкальского омуля (рис. 18). Однако данные по зараженности ленка и валька можно считать предварительными. Они были получены с применением только одного метода выделения ДНК на сорбенте, поэтому проверить их невозможно. Впоследствии мы отказались от этой методики. Кроме того, длительная транспортировка проб в не всегда приемлемых условиях негативно сказалась на качестве выделенной ДНК и значительная часть проб из северных районов оказалась непригодной для анализа.

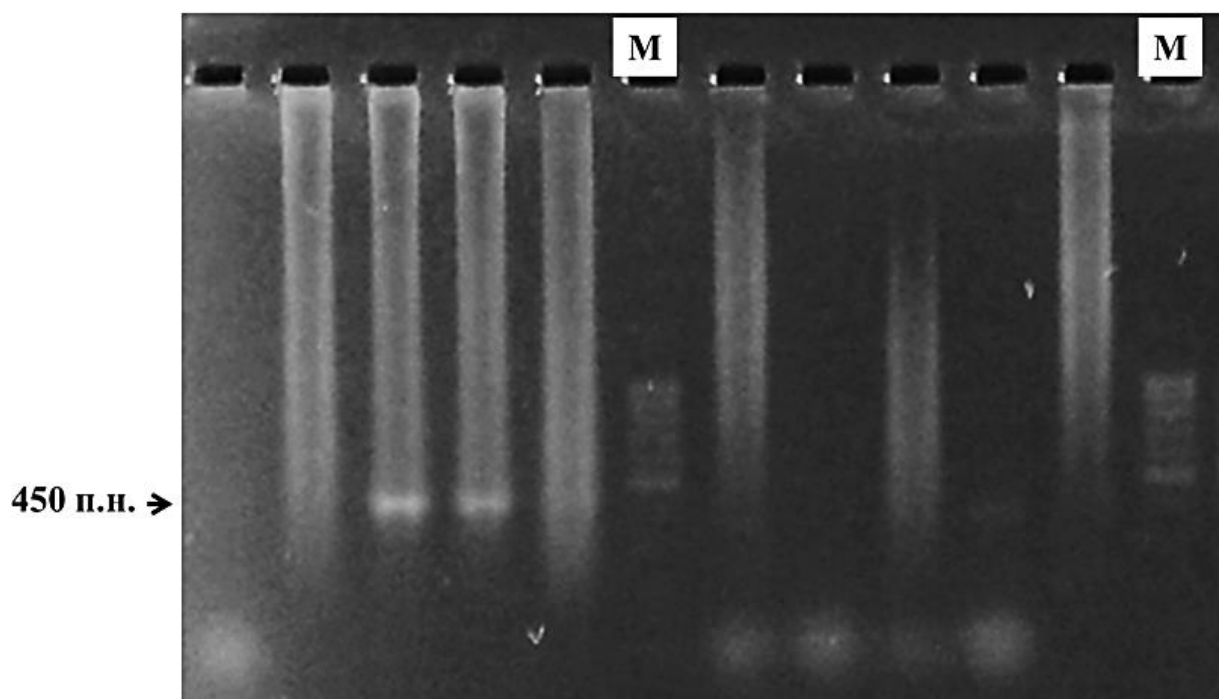


Рис. 18. Пример электрофореграммы продуктов амплификации ДНК *S. barkhanus* из желчного пузыря байкальского озерного сига. М – маркер молекулярного веса.

Таблица 5

Зараженность лососевидных рыб в разных водосборных бассейнах Восточной Сибири

Вид	Место сбора	Кол-во экз.	Зараженность экз.; %
Байкальский озерный сиг	оз. Байкал: Малое море	15	3; 20,0
	оз. Байкал: Баргузинский залив	10	1; 10,0
Тугун	р. Непа	3	0; 0,0
	р. Чечуй	15	2; 13,3
	р. Киренга	7	1; 14,2
Сиг-пыжьян	р. Баргузин	8	1; 12,5
	р. Непа	1	0; 0,0
	р. Чечуй	19	0; 0,0
	р. Киренга	2	0; 0,0
Ленок	р. Чечуй	24	10; 41,5
Валек	р. Чечуй	11	6; 54,6

3.6. Краткая характеристика пищевых взаимоотношений лососевидных рыб реки Чечуй

Подробное исследование пищевых взаимоотношений лососевидных рыб в р. Чечуй было обусловлено необходимостью выявления взаимосвязи зараженности их представителями *Diplomonadida*.

Река Чечуй – правый приток Лены. По классификации Дж. Иллиеса и Л. Ботошняну [Illies, Botosaneanu, 1963] р. Чечуй относится к разряду лососевых. Река обладает большим уклоном и высокими скоростями течения. Дно преимущественно каменистое – галька, гравий и обломки скальных пород, редко встречаются небольшие участки с песчаным грунтом (рис. 6). Река Чечуй является местом размножения и нагула ценных видов лососевидных рыб (рис. 19): ленка *Brachymystax lenok* (Pallas, 1773), байкалоленского хариуса *Thymallus baicalolenensis* Matveev, Samusenok, Pronin et Telpukhovsky, 2005, сига-пыжьяна *Coregonus pidschian* (Gmelin, 1789) и валька *Prosopium cylindraceum* (Pallas, 1784).



Рис. 19 - Ленка (А), байкалоленский хариус (Б), сиг-пыжьян (В) и валец (Г), сентябрь 2010 г.

Характеристики исследованных рыб представлены в таблице 6.

Таблица 6

Размерно-массовая характеристика рыб, р. Чечуй 2009-2010 гг.

Вид	Длина тела, мм	Масса, г	Число рыб, экз.
Ленок	$\frac{283,41 \pm 30,86}{182-512}$	$\frac{233,38 \pm 96,31}{56-1433}$	42
Хариус	$\frac{237,02 \pm 26,8}{120-363}$	$\frac{126,91 \pm 38,44}{13-232}$	82
Сиг	$\frac{301,76 \pm 36,57}{234-455}$	$\frac{259,15 \pm 102,01}{75-872}$	34
Валек	$\frac{290,83 \pm 24,83}{193-392}$	$\frac{219,31 \pm 54,39}{58-475}$	55

Основу питания **байкалоленского хариуса** в реке Чечуй составляли амфибиотические насекомые и другие членистоногие, принадлежащие к различным отрядам (Trichoptera, Chironomidae, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Aranei, Lepidoptera, Diptera, Plecoptera, Ephemeroptera, Cicadidae, Hydracarina и Heteroptera) (76,0% по массе) (рис. 20). Доля личинок ручейников составляла 19,4%. Дополнением к пище служили личинки веснянок сем. Carpiidae, подёнок сем. Neptageniidae и двукрылых сем. Tabanidae. В меньшей степени представлены гастроподы (0,7%). Средний индекс наполнения желудков $90,95^{0/000}$.

Основу питания **валька** в наших уловах составляли амфибиотические насекомые (95,1%) относящиеся к различным отрядам Trichoptera, Chironomidae, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Aranei, Lepidoptera, Diptera, Plecoptera, Ephemeroptera, Cicadidae, Hydracarina и Heteroptera (рис. 20). Доля личинок ручейников составляла 4,9%. Дополнением к пище служили личинки поденок Ephemeroptera, веснянок сем. Perlodidae, хирономид Chironomidae и мокреца Seratorogonidae. Средний индекс наполнения желудков $30,62^{0/000}$.

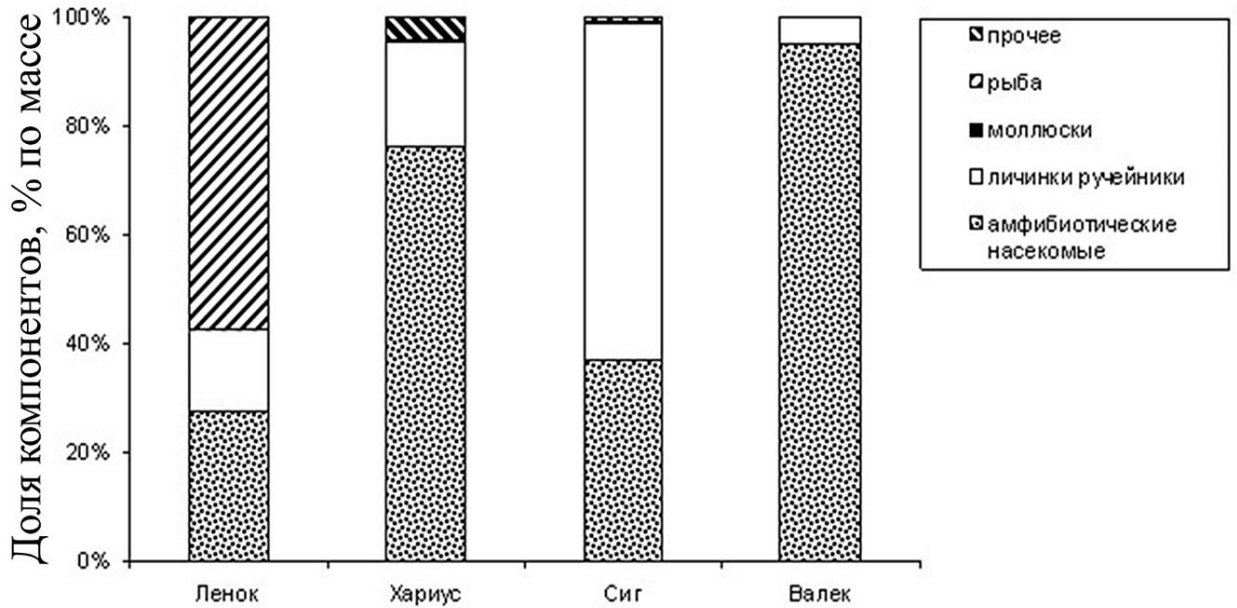


Рис. 20. Состав пищи рыб в р. Чечуй, 2009-2010 гг.

Доля личинок ручейников в пищевом спектре **сига-пыжьяна** составляла 56,2%. Также в большом количестве были отмечены амфиботические насекомые (33,9%). Дополнением к пище служили личинки поденок Ephemeroptera, веснянок сем. Perlodidae, хирономид Chironomidae (рис. 20). Средний индекс наполнения желудков 53,02⁰/₀₀₀.

Основу питания **ленка** составляла рыбная пища (пестроногий подкаменщик *Cottus poecilopus*) (57,6%). Доля личинок ручейников составляла 14,8%. Дополнением к пище служили личинки поденок Ephemeroptera, веснянок сем. Perlodidae, мошки сем. Simuliidae, двукрылых сем. Limoniidae и Tabanidae (27,6%) (рис. 20). Средний индекс наполнения желудков 107,91⁰/₀₀₀.

Сравнительный анализ питания исследуемых видов показал, что степень их пищевого сходства колеблется от 32,5 до 80,9% (табл. 7). Высокий индекс пищевого сходства (80,9%) отмечается у хариуса и валька, за счет питания их амфиботическими насекомыми. Значительное снижение степени сходства состава пищи у ленка и валька (32,5%) происходит за счет потребления рыбной пищи ленком и доминированием амфиботических насекомых в пище валька.

В период массового вылета имаго насекомых, последние становятся доминирующими кормовыми объектами исследуемых видов рыб, что приводит

к перекрыванию их пищевых спектров и повышению индекса пищевого сходства.

Таблица 7

Степень пищевого сходства рыб, (СП, %) по основным группам кормовых объектов, р. Чечуй, 2009-2010 гг.

Вид рыб	Ленок	Хариус	Сиг-пыжьян	Валек
Ленок				
Хариус	42,4			
Сиг-пыжьян	42,9	53,9		
Валек	32,5	80,9	38,8	

Полученные материалы по питанию рыб показывают, что основой пищи байкалоленского хариуса, валька, сига-пыжьяна и ленка являются амфиботические насекомые. У всех перечисленных видов рыб личинки ручейников могут составлять до 100% пищевого комка. В желудках рыб было зарегистрировано 13 таксонов видового и родового уровней ручейников из семейств: Apataniidae, Arctopsychidae, Brachycentridae, Glossosomatidae, Hydropsychidae, Leptoceridae, Limnephilidae, Rhyacophilidae и Stenopsychidae (табл. 8).

Таблица 8

Встречаемость видов ручейников в желудках разных видов рыб (%)

Ручейники	Хариус	Ленок	Валёк	Сиг
<i>Rhyacophila impar</i>	5,7	8,7	0	25,0
<i>Glossosoma</i> sp.	8,6	0	25,0	25,0
<i>Arctopsyche ladogensis</i>	11,4	21,7	43,8	50,0
<i>Hydropsyche nevae</i>	5,7	0	25,0	0
<i>Stenopsyche mormorata</i>	34,3	43,5	56,3	50,0
<i>Apatania crymoiphila</i>	91,4	100	68,7	100
<i>A. stigmatella</i>	5,7	0	0	0
<i>Apatania</i> sp.	17,1	0	12,5	50,0
<i>Limnephilus</i> sp. ₁	5,7	0	25,0	0
<i>Limnephilus</i> sp. ₂	0	0	6,25	0
<i>Brachycentrus americanus</i>	22,9	13,0	31,3	0
<i>Ceraclea annulicornis</i>	2,9	0	0	0
<i>Oecetis</i> sp.	0	4,3	0	0

Ниже приведен эколого-систематический обзор ручейников из желудков рыб.

Rhyacophila impar Martynov, 1914. Палеарктический вид, широко распространен в быстрых горных ручьях и речках Северного полушария. Свободноживущие личинки хищники, но иногда могут употреблять водоросли. В желудках рыб встречались единично.

Glossosoma sp. Личинки видов этого рода – обитатели текучих вод заселяют поверхность каменистого субстрата. Питаются водорослями и детритом. В желудках хариуса и сига редко встречались 1-2 личинки и только в пищевых комках валька их зарегистрировано от 62 до 400 экз. Интересно отметить, что в желудках заполненных личинками рода *Glossosoma* отсутствуют как домики, так и мелкие камешки из которых они сделаны. По-видимому, рыбы высасывают личинок из домиков.

Stenopsyche marmorata Navas, 1920. Восточнопалеарктический вид. Личинки обитают в быстрых предгорных потоках на галечниковом дне, где строят свои сети, питаются отфильтрованным мелким бентосом и водорослями. В августе и сентябре в р. Чечуй встречались личинки всех возрастных групп. Особи последнего V возраста достигали длины 45 мм и массы тела 500 мг. При такой высокой индивидуальной массе тела личинки могут иметь огромные значения общей биомассы. В пищевом комке обычно присутствовало 1-2 личинки, но в одном желудке сига их обнаружено 86 экз. разной степени переваренности (от некоторых остались только головные капсулы).

Arctopsyche ladogensis (Kolenati, 1859). Голарктический вид. Водные стадии населяют холодные потоки. Личинки – хищники-фильтраторы, встречались в рационе всех исследованных видов рыб. В августе–сентябре в пищевом комке рыб присутствовали от одной до четырех личинок старших, реже средних возрастов.

Hydropsyche nevae Kolenati, 1858. Транспалеарктический вид, широко распространен в водотоках Сибири и Дальнего Востока. Единичные личинки зарегистрированы в желудках хариуса и валька.

Apatania crymophila McLachlan, 1880. Голарктический вид обитатель холодных водотоков и литорали горных озер. Личинки являются практически постоянными компонентами пищи рыб р. Чечуй. Особенно большое значение они имеют для питания ленка: их количество достигало 276 экз., а в желудках хариуса – 156 экз. в одном желудке, соответственно. В пищевом рационе хариуса из среднего течения р. Енисей ручейники также представлены преимущественно *A. crymophila* [Зуев и др., 2011]. Личинок апатаниид рыбы поедают вместе с домиками, поэтому, значительную долю в пищевом комке составлял песок.

A. stigmatella (Zetterstedt, 1840). Голарктический вид, населяет холодные озера с каменистым дном, родники, ручьи и реки. Одиночные личинки отмечены в нескольких желудках хариуса.

Limnephilus – Представители рода встречаются по всей Голарктике. Личинки обитают в стоячих и слабопроточных водоемах это преимущественно детритофаги и фитофаги, но при недостатке пищи некоторые виды могут употреблять животную пищу. В желудках хариуса обнаружено по одному экз. *Limnephilus* sp.₁, в желудках валька они встречались довольно в большом количестве – до 44 экз. В 11 желудках валька обнаружено по одному экз. личинок *Limnephilus* sp.₂.

Brachycentrus americanus (Banks, 1899). Голарктический вид обитатель горных речек и ручьев, в предгорных реках встречается реже. Личинки обнаружены в пище всех видов рыб, кроме сига.

Ceraclea annulicornis (Stephens, 1836). Голарктический вид, развивается чаще в водотоках, в озерах встречается на каменистом дне Личинки облигатные хищники. Одиночные экземпляры обнаружены в желудках хариуса.

Oecetis sp. Представители рода, обитают в литорали озер и медленно текущих водотоках. В пробах из р. Чечуй личинки обнаружены в желудках ленка.

Таким образом, постоянными компонентами пищи всех видов исследованных рыб, составляющими значительную её долю являются личинки

A. crytoiphila и сетеплетущих ручейников *A. ladogensis* и *S. mormorata*. Такие виды как *B. americanus*, *Glossosoma* sp., *H. nevae* и *Limnephilus* sp. могут встречаться в желудках отдельных рыб в значительном количестве. Остальные виды ручейников являются случайными компонентами в пище рыб р. Чечуй.

Полученные данные свидетельствуют о динамичности пищевых взаимоотношений лососевидных рыб; конкуренция между видами ослабляется как за счет питания наиболее массовой группой кормовых организмов, так и в результате расхождения пищевых спектров при питании разными группами бентоса.

Подробное исследование пищевых взаимоотношений лососевидных рыб в р. Чечуй для выявления взаимосвязи зараженности их представителями Diplomonadida позволило установить кормовой объект, присутствовавший в пище всех видов рыб – личинки *S. mormorata*. Результаты детекции в них дипломонад приведены в следующей главе.

3.7. Детекция *S. barkhanus* у кормовых объектов лососевидных рыб Восточной Сибири

Для выявления взаимосвязи зараженности черного байкальского хариуса представителями Diplomonadida с его питанием были проанализированы основные группы беспозвоночных животных, доминирующие в желудках рыб. Можно предположить, что беспозвоночные животные – кормовые объекты рыб заглатывают или отфильтровывают цисты дипломонад в процессе питания. Также возможно налипание цист на домики или сети личинок ручейников и на обрастания раковин моллюсков. Разумеется, разработанная система не апробирована на цистах дипломонад. Цисты дипломонад недостаточно изучены. Если принимать во внимание сложность выделения ДНК из цист других паразитов, в частности паразитических червей, трудно было ожидать положительных результатов. Однако была сделана попытка проанализировать

беспозвоночных животных – основных кормовых объектов рыб на присутствие ДНК *S. barkhanus*.

Анализ проб, доминирующих в пище рыб кормовых организмов, принадлежащих к разным систематическим группам животных: гастропод, личинок ручейников и амфипод не выявил присутствия ДНК *S. barkhanus* в исследованных образцах. Полученные нами материалы по питанию рыб в р. Чечуй показывают, что основой пищи байкалоленского хариуса, валька, сига-пыжьяна и ленка являются амфибиотические насекомые. У всех перечисленных видов рыб личинки ручейников могут составлять до 100% пищевого комка. Личинки сетеплетущих ручейников *S. mormorata* в большом количестве присутствовали в пище всех рыб (табл. 6). Однако, проведенный анализ 25 экз. *S. mormorata* не выявил присутствия ДНК *S. barkhanus* в исследованных образцах ДНК (рис. 21). На электрофореграммах видны четкие ампликоны длиной более 600 п.н., соответствующие продуктам амплификации фрагментов ДНК животного-хозяина.

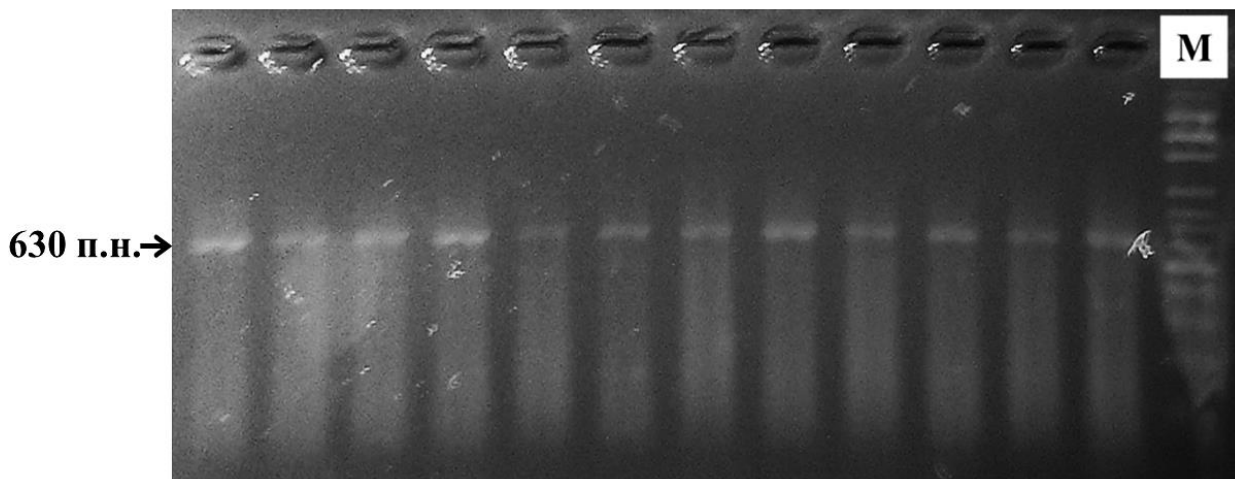


Рис. 21. Пример электрофореграммы результатов диагностического скрининга личинок *S. mormorata*

Таким образом, *S. barkhanus* не был выявлен в кормовых организмах рыб с помощью разработанной молекулярно-генетической системы детекции дипломонад.

ГЛАВА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ *S. BARKHANUS* В ЛОСОСЕВИДНЫХ РЫБАХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Анализ всех секвенированных коротких ампликонов длиной 450 п.н., полученных с использованием пар праймеров DpFun/DpR и DPSF/DpR1+, выявил лишь *S. barkhanus*. Других представителей рода *Spironucleus* в исследованных рыбах обнаружено не было. На кладограмме все анализируемые последовательности с вероятностью 100% сгруппированы со *S. barkhanus*, полученными из лососевых рыб из различных мест обитания (рис. 22).

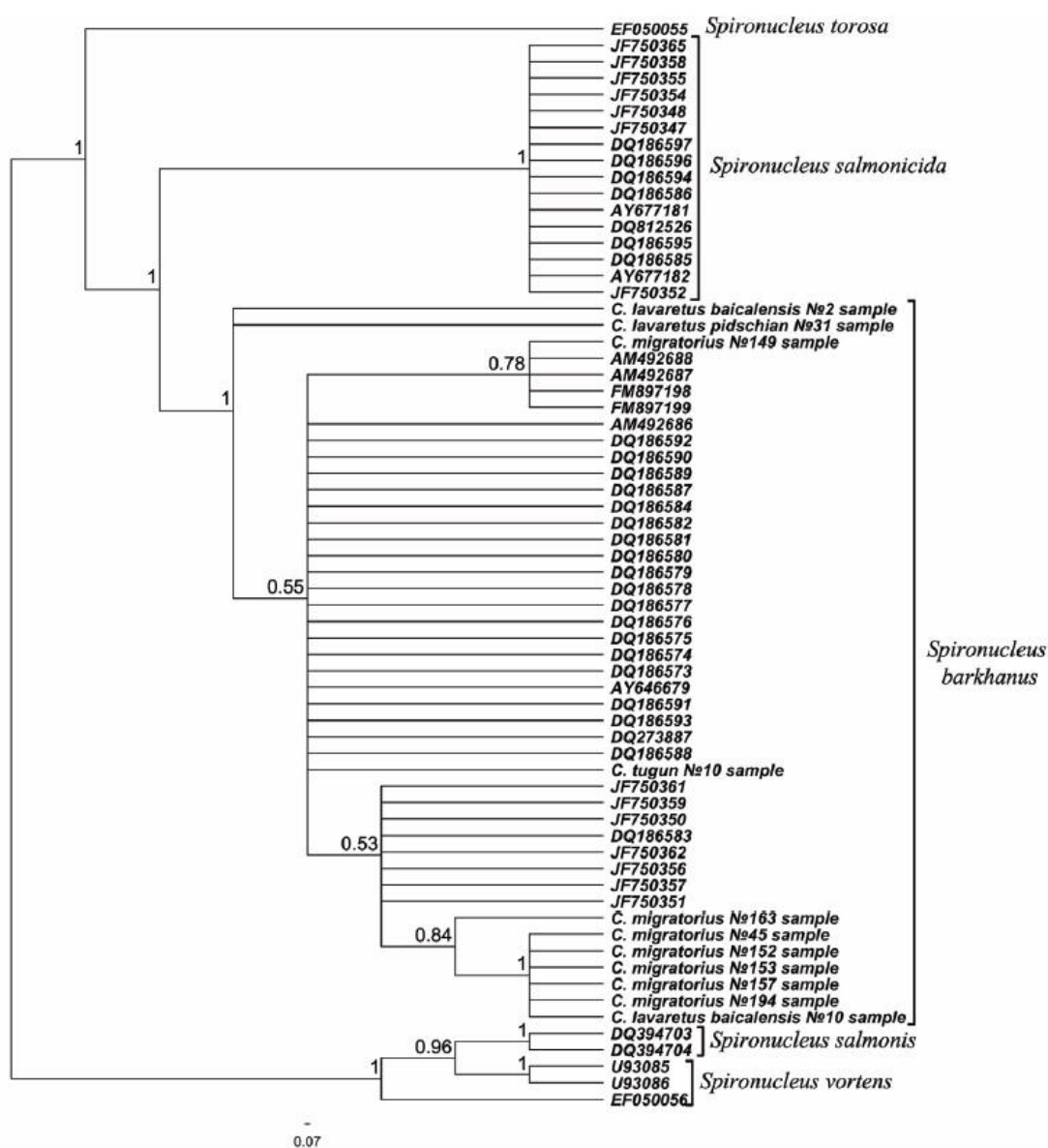


Рис. 22. Байесово дерево, построенное на основании анализа фрагментов гена SSU rRNA длиной от 445 п.н. представителей рода *Spironucleus*

Однако кладограмма, основанная на анализе коротких фрагментов, не представляет информацию о различии генотипов *S. barkhanus* в рыбах Юго-Восточной Сибири. Кластеризация последовательностей в пределах клады *S. barkhanus* показала низкую точность: большинство узлов имеет поддержку менее чем 90%.

Для определения внутривидового генетического разнообразия *S. barkhanus* были идентифицированы и проанализированы последовательности фрагментов гена SSU rRNA длиной 1430 пар оснований. При сравнении со всеми имеющимися в международной базе данных последовательностями соответствующей длины представителей рода *Spironucleus* из рыб, как и в анализе коротких фрагментов, все полученные последовательности с вероятностью 100% вошли в кладу *S. barkhanus* (рис. 23). Однако последовательности из образцов байкальского омуля № 45 и байкальского сига №10 с вероятностью 100% формируют отдельный кластер в кладе *S. barkhanus*. Все остальные последовательности из представителей различных родов семейства лососевых из Северной Европы и Канады, в том числе ранее опубликованные из черного байкальского хариуса, попали в основной кластер *S. barkhanus*. Разделение на группы в рамках этого большого кластера было неоднозначным (апостериорные вероятности менее 95%). Таким образом, результаты показали внутривидовое генетическое разнообразие *S. barkhanus*. Наряду с космополитным генотипом, идентифицированным в рыбах семейства лососевых Голарктики, в том числе Восточной Сибири, у рыб рода *Coregonus* озера Байкал был обнаружен значительно отличающийся генотип *S. barkhanus*.

Байкальский омуль – вид, сложноорганизованный в пространстве. Ранее по данным гидроакустических съемок было установлено, что этот вид присутствует повсеместно в верхних слоях эпипелагиали до глубин 350-400 м по всей акватории озера, включая центральную глубоководную часть всех трех котловин, и образует максимальные концентрации в присклоновой зоне и особенно в зоне влияния речного стока (Селенгинский район, Баргузинский

залив), а также над поднятиями дна (Академический хребет, Посольская и Муринская банки). Показано, что распределение омуля варьирует по сезонам и отличается у разных МЭГ.

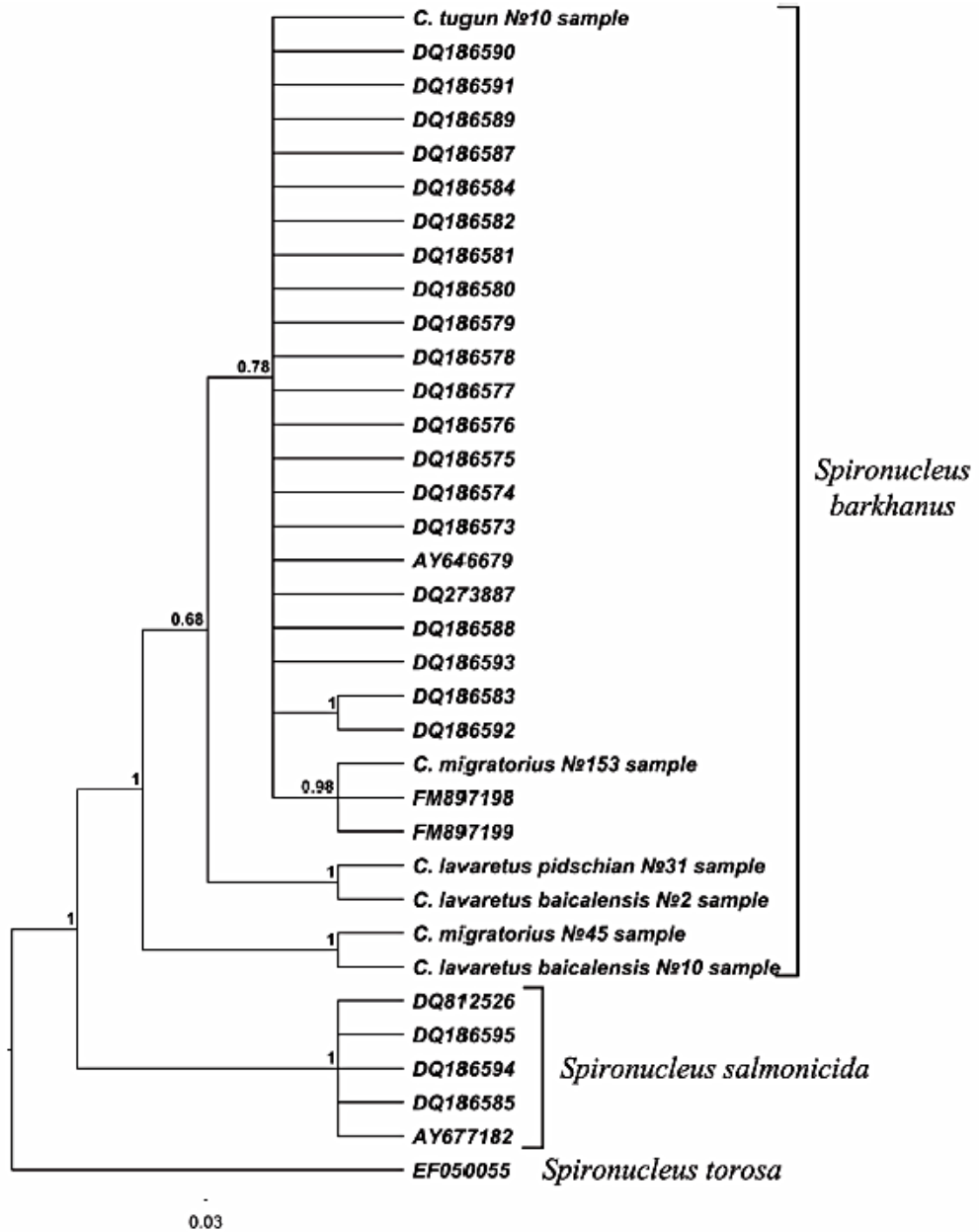


Рис. 23. Байесово дерево, построенное на основании анализа фрагментов гена SSU rRNA длиной от 1430 п.н. представителей рода *Spiroonucleus*

Для зимнего распределения характерна концентрация всех МЭГ в присклоновой зоне на глубине 100-350 м, рассредоточение рыб в нижних

горизонтах эпипелагиали и практическое отсутствие омуля в верхнем 50 м слое как у берега, так и в открытых районах [Гидроакустический учет ..., 2009].

В ранневесенний переходный период пелагический омуль находится на глубине 50-150 м, а придонно-глубоководный на глубине 250-350 м. В этот период омуль разных МЭГ пространственно обособлен и распределение пелагического омуля практически не пересекается с распределением других видов пузырных рыб, присутствующих в верхнем (50 м) слое. В период весенних нагульных миграций байкальский омуль может образовывать огромные скопления высотой до 120 м и протяженностью - 1100 м (рис. 24).

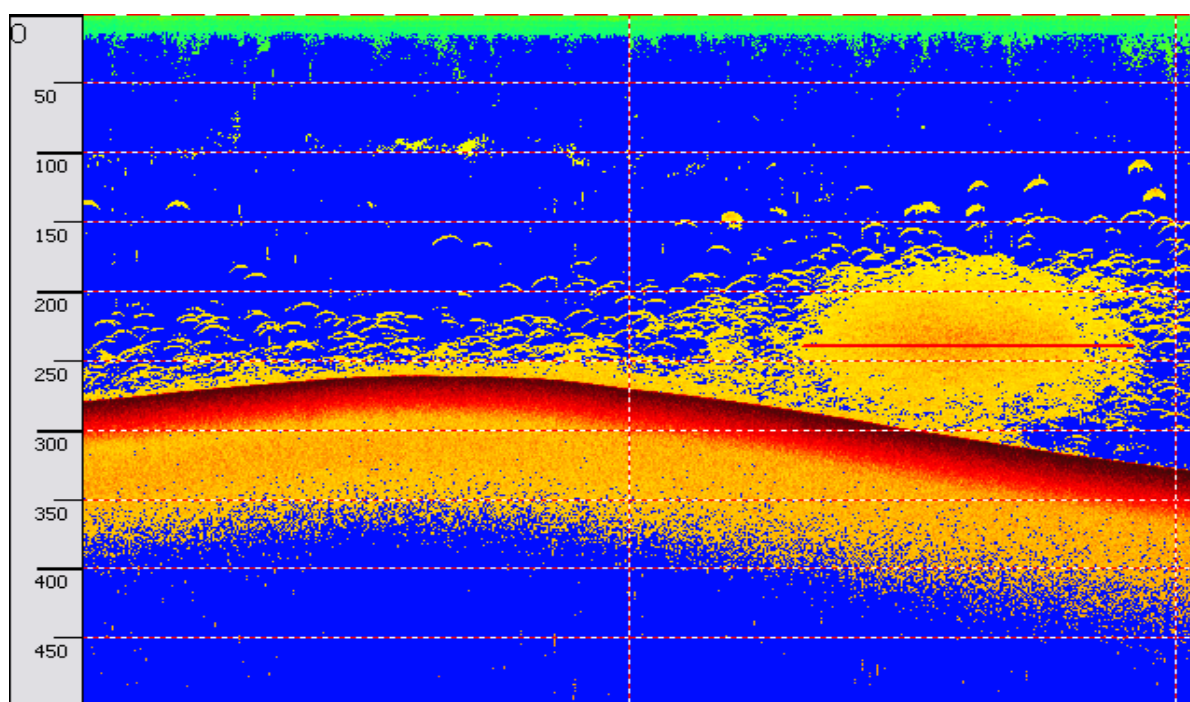


Рис. 24. Скопления байкальского омуля в районе северного створа Малого моря, по данным гидроакустической съемки, май-июнь 2011 г.

Одним из факторов, способствующих заражению спиронуклеусами двух форм внутри нагульных популяций байкальского омуля, являются создаваемые в этот период высокие концентрации численности рыб, физиологическое состояние рыб после «зимовки» и низкая интенсивность их питания.

Морфологические различия в строении жаберного аппарата у трех МЭГ байкальского омуля, вероятно, являются факторами, способствующими более

сильной зараженности пелагического омуля, чем прибрежно-пелагического и придонно-глубоководного. Создаваемые в зимний период высокие концентрации байкальского омуля, подтвержденные данными акустической съемки, также способствуют заражению рыб между собой и смешиванию спиронуклеусов (наличие «прибрежного» генотипа у пелагического омуля).

К сожалению, нет никаких данных о нуклеотидных последовательностях *Diplomonadida*, полученных из рыб рода *Coregonus* из Европы. Генетическое разнообразие *S. barkhanus*, по-видимому, типично для рода *Coregonus*. Поскольку при анализе инвазии использован небольшой размер выборки, выводы о распределении нового генотипа *S. barkhanus* могут оказаться преждевременными. Космополитный генотип *S. barkhanus* был получен из рыб рода *Coregonus* как внутри водосборного бассейна Байкала, так и за его пределами. Новый генотип *S. barkhanus* был обнаружен только у рыб рода *Coregonus* озера Байкал. Современные представления о происхождении и эволюции рыб рода *Coregonus* в озере Байкал [Sukhanova et al., 2012] позволяют сформулировать гипотезу о совместной эволюции рыб и их специфических паразитов. Вероятный предок сиговых рыб в озере был заражен *S. barkhanus* с генотипом, широко распространенным среди лососевых рыб в Голарктике. Симпатрическая изоляция рыб рода *Coregonus* была связана со значительным разнообразием экологических ниш в озере Байкал, где сформировался их родоспецифичный генотип *S. barkhanus*. Результаты, полученные в настоящем исследовании, соответствуют этой гипотезе. Байкальский омуль, в отличие от других сиговых, доминирующий вид в озере и формирует скопления высокой плотности, способствуя интенсивному обмену *Spironucleus* между отдельными особями. Тип питания (фильтрация), вероятно, определяет высокую зараженность *S. barkhanus* у байкальского омуля пелагической группы. О высокой родоспецифичности нового генотипа *S. barkhanus* свидетельствует обнаружение обоих генотипов у сиговых рыб с разными уровнями инвазии, в то время как у рыб рода *Thymallus*, несмотря на очень высокую зараженность, определен только космополитный генотип *S. barkhanus*. По-видимому, рыбы из

рода *Thymallus* являются резервуаром космополитного генотипа и источником заражения для других видов рыб. Для дальнейшей проверки гипотезы необходимо охарактеризовать *S. barkhanus* из рыб рода *Coregonus* других регионов Европы, Западной Сибири и Дальнего Востока.

Применение использованной диагностической тест-системы на основе молекулярно-биологического подхода необходимо как для детекции *Diplomonadida* в рыбах оз. Байкал и других водоемов Сибири с целью уточнения их видоспецифичности и ареалов, так и для проведения паразитологического мониторинга искусственно воспроизводимых и естественных популяций байкальского омуля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе впервые проведен систематизированный анализ распространения и генетического разнообразия представителей отряда Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири с учётом их экологических особенностей. Для реализации поставленной цели разработаны две молекулярно-генетические системы детекции представителей паразитических простейших в пищеварительной системе рыб. Первая система позволяет исследовать широкий спектр представителей отряда Diplomonadida. Вторая система направлена на прямую детекцию *S. barkhanus*.

С помощью первой системы молекулярно-генетической детекции в лососевидных рыбах Восточной Сибири выявлен единственный вид отряда Diplomonadida - *S. barkhanus*. Вторая система позволила провести оценку зараженности *S. barkhanus* не только лососевидных, но и коттоидных рыб, и их кормовых объектов.

Обнаружен ярко выраженный тренд зараженности хариусов спиرونуклеусом в водосборном бассейне р. Ангара: от минимальной в оз. Хубсугул, средней - в озерах Восточных Саян, значительной - в р. Баргузин и оз. Байкал до максимальной в р. Ангара. В то же время реки Чечуй (водосборный бассейн р. Лена) и Непа (водосборный бассейн р. Нижняя Тунгуска) можно считать фоновыми с наименьшей зараженностью рыб.

Для байкальского омуля выявлена зависимость зараженности от морфофункциональных и экологических особенностей рыб различных МЭГ: 29% для прибрежно-пелагической морфо-экологической группы, 34% для придонно-глубоководной и 80% для пелагической.

Кроме того, видо-специфическая диагностическая система позволила идентифицировать у сиговых рыб Восточной Сибири наряду с космополитным генотипом *S. barkhanus* новый родоспецифичный генотип, достоверно отличающийся по последовательности гена малой субъединицы рРНК.

Поскольку проведенными ранее классическими методами паразитологического анализа исследованиями установлено наличие простейших в рыбах, занимающих различное систематическое положение, использование разработанных в данной работе двух диагностических систем молекулярно-генетической диагностики позволит уточнить список видов диплонад и их хозяев.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны молекулярно-генетические системы детекции в пищеварительной системе рыб представителей паразитических простейших отряда Diplomonadida (одностадийная с последующим клонированием) и вида *Spiroucleus barkhanus* (двухстадийная с прямой идентификацией).

2. С помощью разработанной методики молекулярно-генетической детекции представителей Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири выявлен единственный вид отряда - *S. barkhanus*.

3. Обнаружен ярко выраженный тренд зараженности хариусов спиرونуклеусом в водосборном бассейне р. Ангара: минимальная в оз. Хубсугул (38,5%), средняя в озерах Восточных Саян Аршантай-Нур, Тухурен-Нур и Загасатай-Нур (от 50,0 до 62,5%), значительная в р. Баргузин и оз. Байкал (80,0 и 85,2% соответственно) и максимальная в р. Ангара (100%). Наименьшая зараженность рыб отмечена в реках Чечуй (водосборный бассейн р. Лена) и Непа (водосборный бассейн р. Нижняя Тунгуска): 24 и 20% соответственно.

4. Определена зараженность байкальского омуля *S. barkhanus*, которая составляет 29% для прибрежно-пелагической морфо-экологической группы, 34% для придонно-глубоководной и 80% для пелагической, что может быть обусловлено морфофункциональными и экологическими особенностями рыб различных МЭГ.

5. У сиговых рыб Восточной Сибири наряду с космополитным генотипом *S. barkhanus* выявлен новый родоспецифичный генотип, достоверно отличающийся по последовательности гена малой субъединицы рРНК.

6. Зараженность *S. barkhanus* ленка, валька и байкалоленского хариуса р. Чечуй составила 41,5, 54,6, и 13,3%, соответственно, при степени их пищевого сходства от 32,5 до 80,9%. В кормовых объектах рыб ДНК *S. barkhanus* не обнаружена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России / Под ред. Ю. С. Решетникова. – М.: Наука, 1998. – 218 с.
2. Анпилова, В. И. О систематическом положении баунтовского сига *Coregonus lavaretus baunti* Mukhomedjarov / В. И. Анпилова // Известия ГосНИОРХ. – 1967. – Т. 62. – С. 129–140.
3. Анпилова, В. И. Передифференцировка пола у баунтовских сигов *Coregonus lavaretus baunti* Muchomedjarov под влиянием экологических условий // Вопросы ихтиологии. – 1965. – Т. 5. – Вып. 1. – С. 207–209.
4. Атлас и определитель пелагиобионтов Байкала (с краткими очерками по их экологии) / О. А. Тимошкин, Г. Ф. Мазепова, Н. Г. Мельник и др. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 1995. – 694 с.
5. Атлас пресноводных рыб России. В 2 т.: Т.2 / Под ред. Ю. С. Решетникова. – М.: Наука, 2002. – 253 с.
6. Атлас пресноводных рыб России: В 2 т. Т.1. / Под ред. Ю.С. Решетникова. – М.: Наука, 2002. – 379 с.
7. Бауер, О. Н. Ихтиопатология / О. Н. Бауер, В. А. Мусселиус, В. М. Николаева, Ю. А. Стрелков. – М.: 1977. – 429 с.
8. Белькова, Н. Л. Молекулярно-генетическая детекция непатогенного генотипа *Spironucleus barkhanus* (Diplomonadida: Hexamitidae) в черном байкальском хариусе (*Thymallus arcticus baicalensis* Dybowski, 1874) / Н. Л. Белькова, Е. В. Дзюба, Е. В. Суханова // Известия РАН. Сер. «Б». – 2008. – Т. 35, №2. – С. 253–256.
9. Белькова, Н. Л. Молекулярно-генетическая идентификация кишечной микрофлоры и протистов байкальских рыб / Н. Л. Белькова, Е. В. Дзюба, Е. В. Суханова // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 томах. – Новосибирск: Наука, 2009. – Т. II: Водоемы и водотоки юга Восточной Сибири и Северной Монголии / Ред. : О. А. Тимошкин, В. И.

Провиз, Т. Я. Ситникова и др. – Справочники и определители по фауне и флоре озера Байкал. – С. 957–980.

10. Берг, Л. С. Рыбы пресных вод СССР / Л. С. Берг – М.–Л.: Наука, 1948. – ч. I. – 466 с.

11. Богданов, В. Д. Экология тугуна бассейна Оби / В. Д. Богданов, Т. В. Следь // Ресурсы животного мира Сибири. Рыбы. – Новосибирск, 1990. – С. 49-51.

12. Венглинский, Д. Л. Приспособления сиговых рыб к условиям существования в заморных водоемах Приобского Севера / Д. Л. Венглинский // Зоологические исследования Сибири и Дальнего Востока. – Владивосток, 1974. – С. 159–163.

13. Венглинский, Д. Л. Экологические черты адаптации сиговых к условиям существования в водоемах Субарктики / Д. Л. Венглинский // Эколого-физиологические адаптации животных и человека к условиям Севера. – Якутск, 1977. – С. 96–121.

14. Волерман, И. Б. Биологические сообщества рыб и нерпы в Байкале / И. Б. Волерман, В. В. Конторин; ред. А. Г. Егоров. – Новосибирск: Наука, 1983. – 248 с.

15. Гидроакустический учет ресурсов байкальского омуля / Н. Г. Мельник [и др.]; ред.: В. И. Кудрявцев, Е. В. Дзюба // Справочники и определители по фауне и флоре озера Байкал. – Новосибирск : Наука, 2009. – 244 с.

16. Гундризер, А. Н. К систематике тугунов Сибири / А. Н. Гундризер // Рыбное хозяйство водоемов южной зоны Зап. Сибири. – Новосибирск, 1969. – С. 16–29.

17. Гурова, Л. А. Питание и пищевые взаимоотношения пелагических рыб и нерпы Байкала / Гурова Л. А., Пастухов В. Д. – Новосибирск: Наука, 1974. – 186 с.

18. Дзюба, Е. В. Анализ соотношений изотопов углерода и азота у байкальского омуля *Coregonus autumnalis migratorius* (Georgi) в Баргузинском

заливе озера Байкал / Е. В. Дзюба, Н. С. Смирнова, Н. Г. Мельник, Н. О. Огава, Е. Вада // Сибирский экологический журнал. – 1999. – Т. 6. – С. 659–662.

19. Егоров, А. Г. Рыбы водоемов юга Восточной Сибири / А. Г. Егоров – Иркутск: Изд-во Иркутского университета, 1985. – 362 с.

20. Заика, В. Е. Паразитофауна рыб озера Байкал / В. Е. Заика – М.: Наука, 1965. – 107 с.

21. Зуев, И. В. Питание хариуса *Thymallus* sp. в среднем течении р. Енисей / И. В. Зуев, Е. М. Семенова, С. П. Шулепина, К. А. Резник, Е. А. Трофимова, Е. Н. Шадрина, Т. А. Зотина // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2011. – Т. 3. – № 4. – С. 281–292.

22. Каплина, Г. С. Макрозообентос каменистых грунтов литорали оз. Байкал и его сезонная динамика (данные 1963-1968 гг., район Больших Котов) / Г. С. Каплина // Продуктивность Байкала и антропогенные изменения его природы. – Иркутск: Изд-во БГНИИ при ИГУ, 1974. – С. 126–137.

23. Кириллов, А. Ф. Стратегия экологической адаптации сига в экстремальных условиях / Кириллов А. Ф. – Новосибирск: Наука, 1983. – 106 с.

24. Кириллов, Ф. Н. Ихтиофауна бассейна р. Вилюя / Ф. Н. Кириллов // Тр. ин-та биол. ЯФ СО АН СССР, 1962. – Вып. 8. – С. 5–71.

25. Кириллов, Ф. Н. Рыбы Якутии / Ф. Н. Кириллов – М.: Наука, 1972. – 360 с.

26. Книжин, И. Б. Биологическая разнокачественность популяция тугуна бассейна реки Киренга (верхнее течение реки Лена) / И. Б. Книжин // Биология и биотехника разведения сиговых рыб. – СПб, 1994. – С. 70–73.

27. Книжин, И. Б. Биология сига-пыжьяна бассейна верхнего течения реки Лена / И. Б. Книжин // Ихтиологические исследования озера Байкал и водоемов его бассейна в конце XX столетия. – Иркутск, 1996. – С. 77–85.

28. Книжин, И. Б. К вопросу о систематическом положении хариусов бассейна озера Байкал / И. Б. Книжин, С. Дж. Вайс, С. В. Кирильчик, Л. В. Суханова // Тр. каф. зоол. позвоноч. – 2001. – Т. 1. – С. 147–151.

29. Книжин, И. Б. Хариусы бассейна озера Байкал (*Thymallus*, Thymallidae): разнообразие форм и их таксономический статус / И. Б. Книжин, С. Дж. Вайс, С. Сушник // Вопросы ихтиологии. – 2006. – Т. 46. – № 4. – С. 442–459.
30. Кожов, М. М. К вопросу о питании промысловых рыб на Байкале / М. М. Кожов // Известия Биол.-геогр. НИИ при Иркутском ун-те. – 1931. – Т. 5. – № 1. – С. 1–171.
31. Кожов, М. М. Очерки по Байкаловедению / М. М. Кожов – Иркутск : Вост.-Сиб. кн. изд-во, 1972. – 253 с.
32. Коряков, Е. А. Пелагические бычковые Байкала / Е. А. Коряков – М., 1972. – 155 с.
33. Лакин, Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. Вузов – 4-е изд., перераб. и доп. / Г. Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
34. Леванидов, В. Я. К вопросу о питании ленка в предгорных притоках Амура / В. Я. Леванидов // Зоологический журнал, 1951. – Т. 30, Вып. 1. – С. 291–293.
35. Мастицкий, С. Э. Статистический анализ и визуализация данных с помощью R / С. Э. Мастицкий, В. К. Шитиков. – Электронная книга (2014), адрес доступа: <http://r-analytics.blogspot.com>.
36. Матвеев, А. Н. Новый подвид сибирского хариуса *Thymallus arcticus baicalolenensis* ssp. nova (Salmoniformes, Thymallidae) / А. Н. Матвеев, В. П. Самусенок, А. Н. Тельпуховский, А. И. Вокин, К. А. Просекин, А. Л. Юрьев // Вестник БГУ. – Улан-Удэ : изд-во БГУ, 2005. – Сер. 2 : «Биология», Вып. 7. – С. 69–82.
37. Матвеев, А. Н. Круглоротые (Cyclostomata) и рыбы (Pisces) водоемов бассейна реки Ангара / А. Н. Матвеев, В. П. Самусенок // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 т. – Новосибирск : Наука, 2009. – Т. 2: Озеро Байкал, кн. 1 – С. 396–416.
38. Матвеев, А. Н. Круглоротые (Cyclostomata) и рыбы (Pisces) водоемов бассейна верхнего течения реки Лены / А. Н. Матвеев, В. П.

Самусенок, С. С. Алексеев, А. Л. Юрьев, А. И. Вокин // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 т. – Новосибирск : Наука, 2009. – Т. 2: Озеро Байкал, кн. 1 – С. 448–469.

39. Мельниченко, И. П. Динамика структуры нерестового стада тугуна р. Северная Сосьва / И. П. Мельниченко, В. Д. Богданов // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство, 2012. – № 2. – С. 77–82.

40. Мина, М. В. Микроэволюция рыб / М. В. Мина. – М.: Наука, 1986. – С 207.

41. Митрофанов, В. П. К систематике ленка из оз. Марка-Куль / В. П. Митрофанов // Сб. работ по ихтиологии и гидробиологии Ин-та зоологии АН КазССР. – 1959. – Вып. 2. – С. 267–275.

42. Москаленко, Б. К. Сиговые рыбы Сибири / Б. К. Москаленко. – М., 1971. – 182 с.

43. Никольский, Г. В. Рыбы бассейна Амура / Г. В. Никольский – М., 1956. – 551 с.

44. Никонов, Г. И. Тугун бассейна Оби / Г. И. Никонов // Известия ВНИОРХ. – 1958. – Вып. 44. – С. 66–73.

45. Попов, П. А. Рыбы Сибири: распространение, экология, вылов / П. А. Попов – Новосибирск : Новосиб. гос. ун-т., 2007. – 526 с.

46. Правдин, И. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных) / И. Ф. Правдин – М. : Пищевая промышленность, 1966. – 376 с.

47. Правдин, И. Ф. Сиги водоемов Карельской АССР / И. Ф. Правдин – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1954. – 324 с.

48. Пронин, Н. М. Паразитофауна рыб водоемов Чарской котловины (Забайкальский Север) / Н. М. Пронин // Вопросы географии и биологии. – Чита, 1966. – С. 120–159.

49. Пронин, Н. М. Паразиты и болезни омуля. Экология, болезни и разведение байкальского омуля / Н. М. Пронин, Г. А. Афанасьев, И. Г. Топорков и др. – Новосибирск: Наука, 1981. – С. 114–159.

50. Пронин, Н. М. Полимастиготы (Mastigophora: Polymastigota) / Н. М. Пронин // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 т. – Новосибирск: Наука, 2001. – Т.1: Озеро Байкал, кн. 1 / Ред.: О. А. Тимошкин, Т. Я. Ситникова, О. Т. Русинек и др. – Справочники и определители по фауне и флоре озера Байкал. – С. 129.
51. Пугачев, О. Н. Каталог паразитов пресноводных рыб Северной Азии. Простейшие / О. Н. Пугачев – СПб. : ЗИН РАН, 2001. – 242 с.
52. Пэрэнлэйжамц, Ж. Гельминты и другие группы паразитов рыб Монголии (фауна, эколого-фаунистическая характеристика, зоогеография): автореф. дис. ... канд. биол. наук: Ж. Пэрэнлэйжамц – М., 1993. – 33 с.
53. Решетников, Ю. С. О периодичности размножения у сигов / Ю. С. Решетников // Вопросы ихтиологии. – 1967. – Т. 7. – вып. 6. – С. 1019–1031.
54. Решетников, Ю. С. О связи сиговых рыб Сибири и Северной Америки / Ю. С. Решетников // Изменчивость рыб пресноводных экосистем. – М.: Наука, 1979. – С. 48–73.
55. Решетников, Ю. С. Особенности роста и созревания сигов в водоемах Севера / Ю. С. Решетников // Закономерности роста и динамики численности рыб Белого моря и его бассейна. – М.: Наука, 1966. – С. 93–155.
56. Решетников, Ю. С. Питание разных внутривидовых форм сига из ряда озер Лапландского заповедника / Ю. С. Решетников // Вопросы ихтиологии. – 1964. – Т. 4. – вып. 4. – С. 679–694.
57. Решетников, Ю. С. Современные проблемы изучения сиговых рыб / Ю. С. Решетников // Вопросы ихтиологии. – 1995. – Т. 35. – вып. 2. – С. 156–174.
58. Решетников, Ю. С. Список рыбообразных и рыб пресных вод России / Ю. С. Решетников, Н. Г. Богуцкая, Е. Д. Васильева и др. // Вопросы ихтиологии. – 1997. – Т. 37. – Вып. 6. – С. 723–771.
59. Решетников, Ю. С. Экология и систематика сиговых рыб / Ю. С. Решетников – М.: Наука, 1980. – 301 с.

60. Руководство по изучению питания рыб в естественных условиях. – М.: Изд-во АН СССР, 1961. – 262 с.
61. Русинек, О. Т. Паразиты рыб озера Байкал (фауна, сообщества, зоогеография, история формирования) / О. Т. Русинек. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2007. – 571 с.
62. Скрыбин, А. Г. Сиговые рыбы юга Сибири / А. Г. Скрыбин – Новосибирск: Наука, 1979. – 229 с.
63. Смирнов, В. В. Динамика продуцирования рыб Байкала / В. В. Смирнов – Новосибирск: Наука, 1983. – С. 201-223.
64. Смирнов, В. В. Микроэволюция байкальского омуля *Coregonus autumnalis migratorius* (Georgi) / В. В. Смирнов, Н. С. Смирнова-Залуми, Л. В. Суханова // Ред. В.Н. Большаков. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2009. – 246 с.
65. Смирнов, В. В. Омули Байкала / В. В. Смирнов, И. П. Шумилов – Новосибирск: Наука, 1984. – 160 с.
66. Сорокин, В. Н. Биология молоди промысловых рыб Байкала / В. Н. Сорокин, А. А. Сорокина. – Новосибирск, 1988. – 212 с.
67. Сытина, Л. А. Экология молоди ленка / Л. А. Сытина // Вопросы ихтиологии, 1965. – Т. 5. – вып. 1. – С. 58–69.
68. Талиев, Д. Н. Бычки-подкаменщики Байкала (Cottoidei) / Д. Н. Талиев – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1955. – 603 с.
69. Тугарина, П. Я. К экологии ленка водоемов Центральной Азии / П. Я. Тугарина, Л. И. Тютрина, Л. Н. Рыжова // Задачи и проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах Сибири. – Томск, 1996. – С. 99.
70. Тугарина, П. Я. Питание и пищевые взаимоотношения рыб Байкало-Ангарского бассейна / П. Я. Тугарина, Е. С. Купчинская. – Новосибирск: Наука, 1977. – 103 с.
71. Тугарина, П. Я. Хариусы Байкала / П. Я. Тугарина. – Новосибирск: Наука, 1981. – 280 с.

72. Тэн, В. А. Материалы по питанию ленка озера Марка-Куль / В. А. Тэн // Сб. работ каф. Ихтиологии и гидробиологии Ин-та зоологии АН КазССР, 1959. – Вып. 2. – С. 256–261.
73. Тяптиргянов, М. М. О внутривидовой структуре сига-пыжьяна водоемов Якутии / М. М. Тяптиргянов // Биология сиговых рыб. – М., 1988. – С. 57–63.
74. Хайбулаев, К. Х. Тип Жгутиконосцы - *Mastigophora* Diesing, 1866 / К. Х. Хайбулаев, С. С. Шульман // Паразитические простейшие. – Л., 1984. – Т. 1. – С. 13–42.
75. Черешнев, И. А. Круглоротые и рыбы / И. А. Черешнев // Позвоночные животные Северо-Востока России. – Владивосток: Дальнаука, 1996. – Раздел 1. – С. 21–61.
76. Чугунова, Н. И. Руководство по изучению возраста и роста рыб / Н. И. Чугунова. – М., 1939. – 164 с.
77. Шестаков, А. В. Современное состояние популяции валька *Prosopium cylindraceum* Анадырского бассейна / А. В. Шестаков // Чтения памяти В. Я. Леванидова, 2003. – Владивосток: Дальнаука. – Вып. 2. – С. 377–381.
78. Шорыгин, А. А. Питание и пищевые взаимоотношения рыб Каспийского моря / А. А. Шорыгин - М.: Пищепромиздат, 1952. – 268 с.
79. Adam, R. D. Biology of *Giardia lamblia* / R. D. Adam // Clin. Microbiol. Rev. – 2001. – V. 14. – P. 447–475.
80. Adams, P. J. Cyst morphology and sequence analysis of the small subunit rDNA and *ef1 α* identifies a novel *Giardia* genotype in a quenda (*Isoodon obesulus*) from Western Australia / P. J. Adams, P. T. Monis, A. D. Elliot, R. C. A. Thompson // Infect. Genet. Evol. – 2004. – V. 4. – P. 365–370.
81. Adl, S. M. Diversity, nomenclature, and taxonomy of protists / S. M. Adl, B. S. Leander, A. G. B. Simpson, J. M. Archibald, O. R. Anderson, D. Bass, S. S. Bowser, G. Brugerolle, M. A. Farmer, S. Karpov, M. Kolisko, C. E. Lane, D. J.

Lodge, D. G. Mann, F. Meisterfeld, L. Mendoza, Ø. Moestrup, S. E. Mozley-Standridge, A. V. Smirnov, F. Spiegel // *Syst. Biol.* – 2007. – V. 56. – P. 684–689.

82. Adl, S. M. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists / S. M. Adl, A. G. Simpson, M. A. Farmer, R. A. Andersen, O. R. Anderson, J. R. Barta, S. S. Bowser, G. Brugerolle, R. A. Fensome, S. Fredericq, T. Y. James, S. Karpov, P. Kugrens, J. Krug, C. E. Lane, L. A. Lewis, J. Lodge, D. H. Lynn, D. G. Mann, R. M. McCourt, L. Mendoza, O. Moestrup, S. E. Mozley-Standridge, T. A. Nerad, C. A. Shearer, A. V. Smirnov, F. W. Spiegel, M. F. Taylor // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 2005. – V. 52. – P. 399–451.

83. Adl, S. M. The Revised Classification of Eukaryotes / S. M. Adl, A. G. B. Simpson, C. E. Lane, J. Lukes, D. Bass, S. S. Bowser, M. W. Brown, F. Burki, M. Dunthorn, V. Hampl, A. Heiss, M. Hoppenrath, E. Lara, L. Le Gall, D. H. Lynn, H. Mcmanus, E. A. D. Mitchell, S. E. Mozley-Stanridge, L. W. Parfrey, J. Pawlowski, S. Rueckert, L. Shadwick, C. L. Schoch, A. Smirnov, F. W. Spiegel // *J. Eukaryot. Microbiol.*, 2012. – V. 59. – № 5. – P. 429–493.

84. Andersson, J. O. A genomic survey of the fish parasite *Spironucleus salmonicida* indicates genomic plasticity among diplomonads and significant lateral gene transfer in eukaryote genome evolution / J. O. Andersson, A. M. Sjogren, D. S. Horner, C. A. Murphy, P. L. Dyal, S. G. Svard, J. M. Logsdon Jr, M. A. Ragan, R. P. Hirt, A. J. Roger // *BMC Genomics.* – 2007. – V. 8. – № 51. – P. 1–25.

85. Baldauf, S. L. The deep roots of eukaryotes / S. L. Baldauf // *Science.* – 2003. – V. 300. – P. 1703–1706.

86. Barnes, H. J. Poulter enteritis-mortality syndrome / H. J. Barnes, J. S. Guy // In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadley, L. R. McDougald, D. E. Swayne (eds). – *Diseases of Poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA, 2003. – P. 1171–1179.

87. Bassleer, G. Disease prevention and control. *Spironucleus* / *Hexamita* infection, hole-in-the-head disease / G. Bassleer // *Freshwater and Marine Aquaculture.* – 1983. – V. 6. – P. 38–60.

88. Berger, J. D. Putting protozoa in their place / J. D. Berger // *BioScience*. – 2002. – V. 52. – P. 943–944.
89. Biagini, G. A. Carbohydrate and amino acid fermentation in the freeliving primitive protozoon *Hexamita* sp. / G. A. Biagini, P. S. McIntyre, B. J. Finlay, D. Lloyd // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1998. – V. 64. – P. 203–207.
90. Biagini, G. A. Oxygen uptake and antioxidant responses of the free-living diplomonad *Hexamita* sp. / G. A. Biagini, M. T. E. Suller, B. J. Finlay, D. Lloyd // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 1997. – V. 44. – P. 447–453.
91. Brugerolle, G. Contribution a l'étude cytologique et phylétique des diplozoaires (Zoomastigophorea, Diplozoa; Dangeard 1910). II. Étude ultrastructurale du genre *Spironucleus* (Lavier 1936) / G. Brugerolle, L. Joyon, N. Oktem // *Protistologica*. – 1973. – V. 9. – P. 495–502.
92. Brugerolle, G. Fine structure of trophozoites and cysts of the pathogenic diplomonad *Spironucleus muris* / G. Brugerolle, I. Kunštyř, J. Senaud, K. T. Friedhof // *Zeitschrift für Parasitenkunde*. – 1980. – V. 62. – P. 47–61.
93. Brugerolle, G. Order Diplomonadida / G. Brugerolle, J. J. Lee // In: J. J. Lee, G. F. Leedale, P. Bradbury (eds). – *An Illustrated Guide to the Protozoa*. 2nd ed. Society of Protozoologists, Lawrence, KS, 2002. – P. 1125–1135.
94. Buchmann, K. An introduction to parasitic diseases of freshwater trout / K. Buchmann, J. Bresciani // DSR, Frederiksberg C. 2001.
95. Cavalier-Smith, T. A six kingdom classification and a unified phylogeny / T. Cavalier-Smith // In W. Schwemmler, H. E. A. Schenk (eds). – *Endocytobiology II*. De Gruyter, Berlin, 1983. – P. 1027–1034.
96. Cavalier-Smith, T. Kingdom protozoa and its 18 phyla / T. Cavalier-Smith // *Microbiol. Rev.* – 1993. – V. 57. – P. 953–994.
97. Cooper, G. L. *Hexamita meleagridis* (*Spironucleus meleagridis*) infection in Chukar partridges associated with high mortality and intracellular trophozoites / G. L. Cooper, B. R. Charlton, A. A. Bickford, R. Nordhausen // *Avian Diseases*. – 2004. – V. 48. – P. 706–710.

98. Davis, H. S. *Octomitus salmonis*, a parasitic flagellate of trout / H. S. Davis // Bulletin of the Bureau of Fisheries Washington. – 1926. – V. 42. – P. 9–26.
99. Embley, T. M. Eukaryotic evolution, changes and challenges / T. M. Embley, W. Martin // Nature. – 2006. – V. 440. – P. 623–630.
100. Embley, T. M. Mitochondria and hydrogenosomes are two forms of the same fundamental organelle / T. M. Embley, M. Van der Giezen, D. S. Horner, P. L. Dyal, P. Foster // Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, 2003. – V. 358. – P. 191–201.
101. Fard, M. R. S. Characterisation and host-parasite interaction of the piscine diplomonad *Spironucleus salmonis* / M. R. S. Fard // Dissertation, 2008. – 190 p.
102. Faubert, G. M. Immune response to *Giardia duodenalis* / G. M. Faubert // Clin. Microbiol. Rev. – 2000. – V. 13. – P. 35–54.
103. Fenchel, T. Microbial diversity and activity in a Danish fjord with anoxic deep water / T. Fenchel, C. Bernard, G. Esteban, B. J. Finlay, P. J. Hansen, N. Iversen // Ophelia. – 1995. – V. 43. – P. 45–100.
104. Ferguson, A. Pathology and pathogenesis of the intestinal mucosal damage in giardiasis / A. Ferguson, J. Gillon, G. Munro // In: Meyer EA (ed). Giardiasis. Elsevier Publishing Co., New York, 1990. – P. 155–173.
105. Ferguson, H. W. Scanning and transmission electron microscopical observation on *Hexamita salmonis* (Moore, 1922) related to mortalities in rainbow trout fry *Salmo gairdneri* Richardson / H. W. Ferguson // J. Fish Dis. – 1979. – V. 2. – P. 57–67.
106. Gallani, S. U. Pathogenesis of mixed infection by *Spironucleus* sp. and *Citrobacter freundii* in freshwater angelfish *Pterophyllum scalare* / S. U. Gallani, F. de A Sebastião, G. M. R. Valladão, A. Z. Boaratti, F. Pilarski // Microb. Pathog. – 2016. – V. 100. – P. 119–123.
107. Goldberg, J. *Enteromonas hominis* incidence and diarrhea / J. Goldberg // A. J. G. – 1990. – V. 84. – P. 480.

108. Gratzek, J. B. Parasites associated with ornamental fish. *Veterinary clinics of North America, small animal practice* / J. B. Gratzek // *Tropical Fish Medicine*. – 1988. – V. 18. – P. 375–399.

109. Guo, F. C. Experimental infections of Atlantic salmon *Salmo salar* with *Spironucleus barkhanus* / F. C. Guo, P. T. K. Woo // *Dis. Aquat. Organ.* – 2004. – V. 61. – P. 59–66.

110. Guz, L. First molecular identification of *Spironucleus salmonis* (Diplomonadida) from diseased rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Poland / L. Guz, K. Puk // *Med. Weter.* – 2015. – V. 71. – № 8. – 497–499.

111. Hampl, V. Phylogenomic analyses support the monophyly of Excavata and resolve relationships among eukaryotic «supergroups» / V. Hampl, L. Hug, J. W. Leigh, J. B. Dacks, B. F. Lang, A. G. Simpson, A. J. Roger // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2009. – V. 106. – № 10. – P. 3859–3864.

112. Harper, J. T. On the monophyly of chromalveolates using a six-protein phylogeny of eukaryotes / J. T. Harper, E. Waanders, P. J. Keeling // *Syst. Evol. Microbiol.* – 2005. – V. 55. – P. 487–496.

113. Illies, J. Problèmes et méthodes de la zonation écologique des eaux courantes, considérées surtout du point de vue faunistique / J. Illies, L. Botosaneanu // *Mitteilungen Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie*, 1963. – V. 12. – P. 1–57.

114. Jerlstrom-Hultqvist, J. Hydrogenosomes in the diplomonad *Spironucleus salmonicida* / J. Jerlstrom-Hultqvist, E. Einarsson, F. Xu, K. Hjort, B. Ek, D. Steinhilber, K. Hultenby, J. Bergquist, J. O. Andersson, S. G. Svard // *Nature communications*, 2013 | 4:2493 | DOI: 10.1038/ncomms3493 | www.nature.com/naturecommunications.

115. Jorgensen, A. SSU rRNA gene sequence reveals two genotypes of *Spironucleus barkhanus* (Diplomonadida) from farmed and wild Arctic charr *Salvelinus alpinus* / A. Jorgensen, E. Sterud // *Dis. Aquat. Organ.* – 2004. – V. 62. – P. 93–96.

116. Jorgensen, A. The marine pathogenic genotype of *Spironucleus barkhanus* from farmed salmonids redescribed as *Spironucleus salmonicida* n. sp. / A. Jorgensen, E. Sterud // J. Eukaryot. Microbiol. – 2006. – V. 53. – № 6. – P. 531–541.
117. Jorgensen, A. Wild Arctic char *Salvelinus alpinus* and trout *Salmo trutta*: hosts and reservoir of the salmonid pathogen *Spironucleus salmonicida* (Diplomonadida; Hexamitidae) / A. Jorgensen, K. Torp, M. A. Bjorland, T. T. Poppe // Dis. Aquat. Org. – 2011. – V. 97. – P. 57–63.
118. Katoh K. Improved accuracy of multiple ncRNA alignment by incorporating structural information into a MAFFT-based framework / K. Katoh, H. Toh // BMC Bioinformatics. – 2008. – V. 9. – P. 212.
119. Keeling, P. J. A non-canonical genetic code in the early diverging eukaryotic lineage / P. J. Keeling, W. F. Doolittle // The European Molecular Biology Organization. – 1996. – V. 15. – P. 2285–2290.
120. Keeling, P. J. Widespread and ancient distribution of a noncanonical genetic code in Diplomonads / P. J. Keeling, W. F. Doolittle // Mol. Biol. Evol. – 1997. – V. 14. – № 9. – P. 895–901.
121. Kent, M. L. Systemic hexamitid (Protozoa: Diplomonadida) infection in seawater pen-reared Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* / M. L. Kent, J. Ellis, J. W. Fournie, S. C. Dawe, J. W. Bagshaw, D. J. Whitaker // Dis. Aquat. Org. – 1992. – V. 14. – P. 81–89.
122. Kolisko, M. Molecular phylogeny of diplomonads and enteromonads based on SSU rRNA, alpha-tubulin and HSP90 genes: implications for the evolutionary history of the double karyomastigont of diplomonads / M. Kolisko, I. Cepicka, V. Hampl, J. Leigh, A. J. Roger, J. Kulda, A. G. Simpson, J. Flegr // BMC Evol. Biol. – 2008. – V. 8. – 205 p.
123. Kulda, J. Flagellates of human intestine and of intestines of other species. / J. Kulda, E. Nohýnková // In: J. P. Kreier (ed). – Parasitic Protozoa. V. 2. Academic Press, New York, 1978. – P. 2–138.
124. Kulda, J. Remarks on the diplomastigine flagellates from the intestine of fishes / J. Kulda, J. Lom // Parasitology. – 1964. – V. 54. – P. 753–762.

125. Lavier, G. Sur quelques flagellés intestinaux de poissons marins / G. Lavier // *Ann. Parasitol.*, 1936. – V. 14. – P. 278–289.
126. Leipe, D. D. Small subunit ribosomal RNA of *Hexamita inflata* and the quest for the first branch in the eukaryotic tree / D. D. Leipe, J. H. Gunderson, T. A. Nerad, M. L. Sogin // *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1993. – V. 59. – P. 41–48.
127. Li, L. X. Ultrastructural observation on the *Hexamita nobilis* / L. X. Li // *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1995. – V. 19. – P. 263–268.
128. Lloyd, S. Fluid absorption in the small intestine of healthy game birds and those infected with *Spironucleus* spp. / S. Lloyd, K. L. Irvine, S. M. Eves, J. S. Gibson // *Avian Pathology*, 2005. – V. 34. – P. 252–257.
129. Mankhaket, S. Diplomonad flagellates of some ornamental fish cultured in Thailand / S. Mankhaket, N. Suanyuk, C. Tantikitti, W. Phromkunthong, S. Kiriratnikom, T. Lerssutthichawal, B. Viriyapongsutee // *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 2012. – V. 34, № 5. – P. 487–494.
130. Meseck, E. K. Gross and microscopic pathology associated with large cavernous lesions in muscle of Chinook salmon from Lake Ontario / E. K. Meseck, T. W. French, S. G. Grimmett, S. L. Bartlett, G. A. Wooster, R. G. Getchell, J. H. Schachte, P. R. Bowser // *Journal of Wildlife Diseases*, 2007. – V. 43. – P. 111–115.
131. Mo, T. A. Systematic hexamitosis in saltwater reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) / T. A. Mo, T. T. Poppe, L. Iversen // *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 1990. – V. 10. – P. 69.
132. Monis, P. T. Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis* / P. T. Monis, R. H. Andrews, G. Mayrhofer, P. L. Ey // *Molecular Biology and Evolution*, 1999. – V. 16. – P. 1135–1144.
133. Moore, E. Description of *Octomitus salmonis* / E. Moore // In: Annual Report of the New York State Conservation Department, Albany, NY, 1922a. – P. 69–76.

134. Moore, E. *Octomitus salmonis*, a new species of intestinal parasite in trout / E. Moore // Transactions of the American Fisheries Society, 1922b. – V. 52. – P. 74–97.
135. Moroff, T. Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten / T. Moroff // Archiv für Protistenkunde, 1903. – V. 3. – P. 92–94.
136. Morrison, H. G. Genomic minimalism in the early diverging intestinal parasite *Giardia lamblia* / H. G. Morrison, A. G. McArthur, F. D. Gillin, S. B. Aley, R. D. Adam, G. J. Olsen, A. A. Best, W. Z. Cande, F. Chen, M. J. Cipriano, B. J. Davids, S. C. Dawson, H. G. Elmendorf, A. B. Hehl, M. E. Holder, S. M. Huse, U. U. Kim, E. Lasek-Nesselquist, G. Manning, A. Nigam, J. E. J. Nixon, D. Palm, N. E. Passamaneck, A. Prabhu, C. I. Reich, D. S. Reiner, J. Samuelson, S. G. Svard, M. L. Sogin // Science, 2007. – V. 317. – P. 1921–1926.
137. Naich, M. Effect of *Hexamita salmonis* Moore (1922) on the length and weight of *Salmo gairdneri* (Richardson) / M. Naich, F. M. Bilgees // Proceedings of Parasitology, 1992. – V. 13. – P. 23–28.
138. National Research Council Infectious Diseases of Mice and Rats: A Report of the Institute of Laboratory Animal Resources Committee on Infectious Diseases of Mice and Rats. National Academy Press, Washington DC. – 1991.
139. Paull, R. A. *Spironucleus vortens*, a possible cause of hole-in-the-head disease in cichlids / R. A. Paull, G. C. Matthews // Dis. Aquat. Organ. – 2001. – V. 45. – P. 197–202.
140. Peyghan, R. Case report and treatment of Hole in the Head in Oscar, *Astronotus ocellatus* / R. Peyghan, A. Boloki, M. Ghorbanpour // Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, 2010. – V. 2, No. 1. – P. 39–44.
141. Poppe, T. T. Disseminated hexamitosis in sea-caged Atlantic salmon *Salmo salar* / T. T. Poppe, T. A. Mo, L. Iversen // Dis. Aquat. Organ. – 1992. – V. 14. – P. 91–97.
142. Poynton, S. L. Guidelines for species descriptions of diplomonad flagellates from fish / S. L. Poynton, E. Sterud // J. Fish Dis. – 2002. – V. 25. – P. 15–31.

143. Poynton, S. L. Morphology of diplomonad flagellates: *Spiroucleus torosa* n. sp. from Atlantic Cod *Gadus morhua* L., and Haddock *Melanogrammus aeglefinus* (L.) and *Hexamita salmonis* Moore from Brook Trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill) / S. L. Poynton, C. M. Morrison // J. Eukar. Microbiol. – 1990. – V. 37, No. 5. – P. 369–383.

144. Poynton, S. L. *Spiroucleus vortens* n. sp. from freshwater angel fish *Pterophyllum scalare*: morphology and culture / S. L. Poynton, W. Fraser, R. Francis-Floyd, P. Rutledge, P. Reed, T. A. Nerad // J. Eukaryot. Microbiol. – 1995. – V. 42. – P. 731–742.

145. Poynton, S. L. Ultrastructure of *Spiroucleus salmonis* n. comb. (formerly *Octomitus salmonis* sensu Moore 1922, Davis 1926, and *Hexamita salmonis* sensu Ferguson 1979), with a guide to *Spiroucleus* species / S. L. Poynton, M. R. Saghari Fard, J. Jenkins, H. W. Ferguson // Dis. Aquat. Organ. – 2004. – V. 60. – P. 49–64.

146. Roger, A. J. Evolution: revisiting the root of the eukaryote tree / A. J. Roger, A. G. B. Simpson // Current Biology. – 2009. – V. 19, Iss. 4. – R165–R167.

147. Ronquist, F. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models / F. Ronquist, J. P. Huelsenbeck // Bioinformatics. – 2003. – V. 12. – P. 1572–1574.

148. Roxstrom-Lindquist, K. Large genomic differences between the morphologically indistinguishable diplomonads *Spiroucleus barkhanus* and *Spiroucleus salmonicida* / K. Roxstrom-Lindquist, J. Jerlström-Hultqvist, A. Jorgensen, K. Troell, S. G. Svärd, J. O. Andersson // BMC Genomics. – 2010. – V. 11. – № 258. – P. 1–14.

149. Sambrook, J. Molecular Cloning. A laboratory Manual / J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis. – Cold Spring Harbor : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. – V. 2. – 345 p.

150. Schmidt, W. Untersuchung über *Octomitus intestinalis truttae* / W. Schmidt // Archiv für Protistenkunde. – 1919. – V. 40. – P. 253–289.

151. Seligo, A. Untersuchungen über Flagellaten / A. Seligo // Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1887. – V. 4. – P. 145–180.
152. Siddall, M. E. Phylogenetic analysis of the Diplomonadida (Wenyon, 1926) Brugerolle, 1975: evidence for heterochrony in protozoa and against *Giardia lamblia* as a «missing link» / M. E. Siddall, H. Hong, S. S. Desser // J. Protozool. – 1992. – V. 39. – P. 361–367.
153. Sideleva, V. G. The endemic fishes of lake Baikal. Leiden: Backhuys Publishers, 2003 – 270 p.
154. Simpson, A. G. B. Cytoskeletal organization, phylogenetic affinities and systematics in the contentious taxon Excavata (Eukaryota) / A. G. B. Simpson // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2003. – V. 53. – P. 1759–1777.
155. Simpson, A. G. B. Eukaryotic evolution: getting to the root of the problem / A. G. B. Simpson, A. J. Roger // Current Biology. – 2002. – V. 12. – P. 691–695.
156. Simpson, A. G. B. The real «kingdoms» of eukaryotes / A. G. B. Simpson, A. J. Roger // Current Biology. – 2004. – V. 14. – P. 693–696.
157. Smirnov, V. V. Intraspecific structure of Baikal omul *Coregonus autumnalis migratorius* (Georgi) / V. V. Smirnov // Pol. Arch. Hydrobiol. – 1992. – V. 39. – P. 325–333.
158. Sogin, M. L. Phylogenetic significance of the kingdom concept: an unusual eukaryotic 16S-like ribosomal RNA from *Giardia lamblia* / M. L. Sogin, J. H. Gunderson, H. J. Elwood, R. A. Alonso, D. A. Peattie // Science. – 1989. – V. 243. – P. 75–77.
159. Spriegel, J. R. Infectious diarrhea secondary to *Enteromonas hominis* / J. R. Spriegel, K. G. Saag, T. K. Tsang // American Journal of Gastroenterology, 1989. – V. 84. – P. 1313–1314.
160. Sterud, E. Electron microscopical identification of the flagellate *Spironucleus torosa* (Hexamitidae) from burbot *Lota lota* (Gadidae) with comments upon its probable introduction to this freshwater host / E. Sterud // Journal of Parasitology, 1998a. – V. 84. – P. 947–953.

161. Sterud, E. Intracellular infection with *Spiroucleus barkhanus* (Diplomonadida: Hexamitidae) in farmed Arctic charr *Salvelinus alpinus* / E. Sterud, T. Poppe, G. Bornø // Dis. Aquat. Organ., 2003. – V. 56. – P. 155–161.
162. Sterud, E. *Spiroucleus vortens* (Diplomonadida) in the ide, *Leuciscus leuciscus* (L.): a warm water hexamitid flagellate found in Northern Europe / E. Sterud, S. L. Poynton // J. Eukaryot. Microbiol., 2002. – V. 49. – P. 137–145.
163. Sterud, E. Systematic spironucleosis in seafarmed Atlantic salmon *Salmo salar*, caused by *Spiroucleus barkhanus* transmitted from feral Arctic char *Salvelinus alpinus* / E. Sterud, T. A. Mo, T. T. Poppe // Dis. Aquat. Org. – 1998. – V. 33. – P. 63–66.
164. Sterud, E. Ultrastructure of *Spiroucleus barkhanus* n. sp. (Diplomonadida: Hexamitidae) from Grayling *Thymallus thymallus* (L.) (Salmonidae) and Atlantic Salmon *Salmo salar* L. (Salmonidae) / E. Sterud, T. A. Mo, T. T. Poppe // Euk. Microbiol. – 1997. – V. 44. – P. 399–407.
165. Sterud, E. Ultrastructure of *Spiroucleus torosa* Poynton & Morrison, 1990 (Diplomonadida: Hexamitidae), in cod *Gadus morhua* (L.) and saithe *Pollachius virens* (L.) from south-eastern Norway / E. Sterud // European J. Protozool., 1998b. – V. 34. – P. 69–77.
166. Sukhanova, L. V. Molecular Phylogeography of Lake Baikal Coregonid Fishes / L. V. Sukhanova, V. V. Smirnov, N. S. Smirnova-Zalumi, T. V. Belomestnykh, S. V. Kirilchik // Advances in Limnology, 2012. – V. 63. – P. 261–283.
167. Thompson, R. C. A. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology / R. C. A. Thompson, P. T. Monis // Adv. Parasitol., 2004. – V. 58. – P. 69–137.
168. Tomova, C. Protozoa parasite of amphibians (Amphibia: Anura) and reptiles (Reptilia: Squamata) from Bulgaria / C. Tomova, V. Golemansky // Acta Zoologica Bulgarica, 2001. – V. 53. – P. 41–46.
169. Tovar, J. Mitochondrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur protein maturation / J. Tovar, G. Leon-Avila, L. B. Sanchez, R. Sutak, J.

Tachezy, M. Van der Giezen, M. Hernandez, M. Müller, J. M. Lucocq // Nature, 2003. – V. 426. – P. 172–176.

170. Uldal, A. Life cycle observations on *Hexamita salmonis* from rainbow trout intestine. In vitro studies / A. Uldal // Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. – 1996. – V.16. – № 4. – P. 112–114.

171. Van Keulen, H. Unique phylogenetic position of Diplomonadida based on the complete small subunit ribosomal RNA sequence of *Giardia ardea*, *G. muris*, *G. duodenalis* and *Hexamita* sp. / H. Van Keulen, R. R. Gutell, M. A. Gates, S. R. Campbell, S. L. Erlandsen, E. L. Jarroll, J. Kulda, E. A. Meyer // The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 1992. – V. 7. – P. 223–231.

172. Venkatesan, P. A comparison of mucosal inflammatory responses to *Giardia muris* in resistant B10 and susceptible BALB/c mice / P. Venkatesan, R. G. Finch, D. Wakelin // Parasite Immunology, 1997. – V. 19. – P. 137–143.

173. Wenyon, C. M. Protozoology / C. M. Wenyon // A manual for medical men, veterinarians and zoologists, 1926. – Vol. I. Bailliere, Tindall and Cox, London.

174. Whitehouse, A. *Spironucleus muris* in laboratory mice / A. Whitehouse, M. P. France, S. E. Pope, J. E. Lloyd, R. C. Ratcliffe // The Australian Veterinary Journal, 1993. – V. 70. – P. 193.

175. Woese, C. R. The concept of cellular evolution / C. R. Woese, G. E. Fox // J. Mol. Evol., 1977. – V. 10, No 1. – P. 1–6.

176. Woese, C. R. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya / C. R. Woese, O. Kandler, M. L. Wheelis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990. – V. 87, No 12. – P. 4576–4579.

177. Woo, P. T. K. Diplomonadida (Phylum Parabasalia) and Kinetoplastea (Phylum Euglenozoa) / In: P. T. K. Woo (ed). // Fish Diseases and Disorders. Vol 1. 2nd edn. CAB International, 2006. – P. 46–115.

178. Wood, A. M. Spironucleosis (Hexamitiasis, Hexamitosis) in the ring-necked pheasant (*Phasianus colchicus*): detection of cysts and description of

Spiroucleus meleagridis in stained smears / A. M. Wood, H. V. Smith // Avian Diseases, 2005. – V. 49. – P. 138–143.

179. Xiao, W. A light and transmission electron microscopic study of *Hexamita capsularis* sp. nov. (Diplomonadida: Hexamita) in fish (*Xenocypris divide*) / W. Xiao, L. Li // Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 1994. – V. 12. – P. 208–212.

180. Yoshii, K. Stable isotope analyses of benthic organisms in Lake Baikal / K. Yoshii // Hydrobiologia, 1999. – V. 411. – P. 145–159.

181. Yoshii, K. Stable isotope analyses of the pelagic food web in Lake Baikal / K. Yoshii, N. G. Melnik, O. A. Timoshkin, N. A. Bondarenko, P. N. Anoshko, T. Yoshioka, E. Wada // Limnol. Oceanogr. – 1999. – V. 44. – No. 3. – P. 502–511.

Лососевидные рыбы, использованные для оценки зараженности *S. barkhanus*

№п/п	АВ	АС	AD	Q, гр	пол	Маркировка
1	2	3	4	5	6	7
<i>Brachymystax lenok</i>, р. Чечуй, 23.08.2010 г.						
1	300	285	270	248	♀	Л-1
2	281	266	256	186	♂	Л-2
3	322	311	294	300	♂	Л-3
4	316	301	286	299	♀	Л-4
5	269	252	238	153	♂	Л-5
6	315	301	285	281	♀	Л-6
7	249	236	220	143	♂	Л-7
8	254	241	226	143	♂	Л-8
<i>Brachymystax lenok</i>, р. Чечуй, 24.08.2010 г.						
9	359	340	321	467	♂	Л-9
10	340	323	305	362	♀	Л-10
11	262	250	234	176	♂	Л-11
12	295	280	266	203	♀	Л-12
13	312	296	276	287	♀	Л-13
14	268	258	242	161	♀	Л-14
15	256	243	228	144	♂	Л-15
16	288	275	258	221	♀	Л-16
17	261	249	233	159	♂	Л-17
18	323	308	290	266	♀	Л-18
<i>Brachymystax lenok</i>, р. Чечуй, 25.08.2010 г.						
19	305	294	278	284	♂	Л-19
20	300	287	270	265	♂	Л-20
21	322	306	290	331	♂	Л-21
22	258	247	235	163	♂	Л-22
23	270	260	245	152	♂	Л-23
24	245	235	220	136	♀	Л-24
<i>Thymallus baicalolenensis</i>, р. Чечуй, 09.09.2009 г.						
1	235	221	209	-	♂	X 56-4
2	229	216	205	-	♀	X 57-4
3	249	238	228	-	♂	X 58-4
4	263	255	240	-	♂	X 59-4
5	250	236	224	-	♂	X 60-4
6	224	215	202	-	♀	X 61-4
7	248	234	220	-	♂	X 62-4
8	238	224	210	-	♂	X 63-4

1	2	3	4	5	6	7
9	243	230	218	-	♂	X 64-4
<i>Thymallus baicalolenensis</i>, р. Чечуй, 11.09.2009 г.						
10	111	120	97	-	♀	X 88-4
11	118	108	100	-	♀	X 89-4
12	121	112	105	-	♂	X 90-4
13	159	145	136	-	♂	X 91-4
14	150	135	130	-	♀	X 92-4
15	265	255	244	-	♂	X 93-4
16	267	257	242	-	♂	X 94-4
17	255	245	235	-	♀	X 95-4
18	279	264	250	-	♂	X 96-4
19	235	223	210	-	♂	X 97-4
20	252	244	230	-	♂	X 98-4
21	252	245	233	-	♂	X 99-4
22	236	224	212	-	♀	X 100-4
23	138	129	121	-	♀	X-82
<i>Thymallus baicalolenensis</i>, р. Чечуй, 24.08.2010 г.						
24	283	272	257	193	♂	X-1
25	250	246	233	153	♂	X-2
26	282	268	252	225	♂	X-3
27	265	254	240	157	♂	X-4
28	245	231	218	124	♂	X-5
29	240	226	214	119	♂	X-6
30	280	270	258	213	♀	X-7
31	251	241	226	147	♂	X-8
32	236	220	210	118	♂	X-9
33	230	220	208	108	♂	X-10
34	246	240	227	139	♂	X-11
35	250	240	226	137	♀	X-12
36	255	244	230	167	♂	X-13
37	245	235	223	132	♂	X-14
38	250	236	223	139	♀	X-15
39	209	200	190	91	♀	X-16
40	225	214	200	104	♂	X-17
<i>Thymallus baicalolenensis</i>, р. Чечуй, 25.08.2010 г.						
41	260	249	234	159	♂	X-18
42	275	260	247	203	♀	X-19
43	245	235	220	139	♂	X-20
44	255	243	230	148	♂	X-21

1	2	3	4	5	6	7
45	260	245	230	152	♂	X-22
46	250	236	224	146	♂	X-23
47	246	235	220	149	♀	X-24
48	288	275	260	226	♂	X-25
49	262	248	238	177	♀	X-26
50	243	230	219	137	♀	X-27
51	245	233	220	143	♀	X-28
52	302	285	270	227	♂	X-29
53	363	250	237	158	♂	X-30
54	250	238	225	148	♂	X-31
55	234	222	210	121	♀	X-32
56	278	265	250	201	♂	X-33
57	240	228	217	232	♂	X-34
58	120	112	105	13	♂	X-35
<i>Thymallus baicalolenensis</i>, р. Чечуй, 26.08.2010 г.						
59	288	272	259	217	♂	X-51
60	233	221	210	113	♀	X-52
61	245	232	220	136	♂	X-53
62	190	178	169	57	♂	X-54
63	183	173	163	51	♀	X-55
64	164	154	145	35	♂	X-56
65	221	210	200	94	♂	X-57
66	206	193	183	77	♀	X-58
67	162	151	143	34	♀	X-59
68	242	230	220	126	♂	X-60
69	248	235	223	142	♀	X-61
70	245	235	220	136	♂	X-62
71	255	244	230	157	♂	X-63
72	255	246	234	150	♂	X-64
73	254	244	226	147	♂	X-65
74	255	245	230	157	♂	X-66
75	280	270	254	206	♂	X-67
76	258	244	230	144	♂	X-68
77	208	195	186	75	♀	X-69
78	248	234	222	136	♂	X-70
79	248	233	220	134	♀	X-71
80	245	236	221	134	♂	X-72
81	258	246	232	145	♂	X-73
82	223	210	200	91	♀	X-74

1	2	3	4	5	6	7
83	212	200	188	79	♀	X-75
84	220	207	197	98	♀	X-76
85	262	244	230	148	♀	X-77
86	160	151	145	37	♂	X-78
87	191	179	170	57	♂	X-79
88	166	158	149	78	♂	X-80
89	148	140	134	25	♀	X-81
<i>Coregonus lavaretus pidschian</i>, р. Чечуй, 23.08.2010 г.						
1	336	306	294	333	♂	сиг-1
2	255	235	223	149	♂	сиг-2
3	254	233	223	133	♀	сиг-3
<i>Coregonus lavaretus pidschian</i>, р. Чечуй, 24.08.2010 г.						
4	345	324	310	375	♂	сиг-4
5	297	278	262	246	♀	сиг-5
6	255	234	221	147	♂	сиг-6
<i>Coregonus lavaretus pidschian</i>, р. Чечуй, 25.08.2010 г.						
7	308	285	270	271	♂	сиг-7
8	270	252	238	185	♂	сиг-8
9	315	296	284	256	♂	сиг-9
10	310	284	215	143	♂	сиг-10
11	248	227	212	133	♂	сиг-11
12	244	222	185	75	♂	сиг-12
<i>Coregonus lavaretus pidschian</i>, р. Чечуй, 26.08.2010 г.						
13	290	266	253	206	♂	сиг-13
14	275	254	240	172	♂	сиг-14
15	305	280	265	241	♀	сиг-15
16	264	246	233	171	♀	сиг-16
17	330	303	290	278	♂	сиг-17
18	256	236	222	146	♀	сиг-18
19	285	261	250	219	♀	сиг-19
<i>Coregonus lavaretus pidschian</i>, р. Баргузин, 24.10.2010 г.						
1	303	274	265	-	♂	сп14
2	243	223	218	-	♀	сп22
3	410	385	370	-	♂	сп23
4	490	454	440	-	♂	сп25
5	460	428	416	-	♀	сп28
6	415	386	373	-	♀	сп36
7	440	406	392	-	♀	сп39
8	425	392	376	-	♀	сп43

1	2	3	4	5	6	7
<i>Coregonus lavaretus pidschian</i>, р. Непа, 26.08.2010 г.						
1	342	315	296	376	♂	спн1
<i>Coregonus lavaretus pidschian</i>, р. Киренга, 28.08.2012 г.						
1	451	416	392	895	♀	спк1
2	477	435	409	1077	♀	спк2
<i>Coregonus lavaretus baicalensis</i>, Баргузинский з-в (оз. Байкал), 26.10.2010 г.						
1	462	417	103	900	♀	сб1
2	550	507	491	1480	♀	сб2
3	471	430	445	860	♂	сб3
4	570	533	523	1930	♂	сб4
5	470	430	415	790	♂	сб5
6	520	477	462	1240	♂	сб6
7	525	488	472	1230	♂	сб7
8	514	479	465	1290	♀	сб8
9	-	355	325	355	♂	сб9
10	430	400	385	730	♂	сб10
<i>Coregonus lavaretus baicalensis</i>, Малое Море (оз. Байкал), 28.10.2011 г.						
1	465	430	420	-	♀	см1
2	505	472	454	-	♂	см2
3	443	410	396	-	♂	см3
4	465	428	414	-	♂	см4
5	490	450	433	-	♀	см5
6	475	439	421	-	♀	см6
7	460	425	410	-	♀	см7
8	387	375	322	-	♂	см8
9	390	360	345	-	♂	см9
10	493	460	440	-	♂	см10
11	470	435	420	-	♀	см11
12	505	460	440	-	♀	см12
13	239	220	210	-	♀	см13
14	257	233	225	-	♂	см14
15	235	214	207	-	♂	см15
<i>Prosopium culindruseum</i>, р. Чечуй, 23.08.2010 г.						
1	307	302	288	290	♀	ВЛ-1
2	298	286	274	223	♀	ВЛ-2
3	292	282	268	212	♀	ВЛ-3
4	311	296	285	251	♀	ВЛ-4
5	312	295	285	254	♀	ВЛ-5
6	288	276	260	200	♂	ВЛ-6

1	2	3	4	5	6	7
7	297	284	269	201	♂	ВЛ-7
8	291	279	269	199	♀	ВЛ-8
9	299	284	270	217	♀	ВЛ-9
10	256	245	234	136	♀	ВЛ-10
11	223	210	200	86	♂	ВЛ-11
<i>Coregonus tugun</i>, р. Чечуй, 27.08.2010 г.						
1	145	135	130	28	♂	ТН1-10
2	164	153	145	43	♀	ТН2-10
3	170	159	150	47	♀	ТН3-10
4	150	136	125	30	♀	ТН4-10
5	137	122	115	26	♂	ТН5-10
6	175	160	150	45	♀	ТН6-10
7	182	165	155	55	♂	ТН7-10
8	143	130	122	31	♀	ТН8-10
9	142	131	124	28	♂	ТН9-10
10	155	145	134	36	♀	ТН10-10
11	150	140	127	35	♀	ТН11-10
12	138	126	117	28	♀	ТН12-10
13	160	142	131	33	♀	ТН13-10
14	172	160	150	48	♂	ТН14-10
15	132	120	112	22	♂	ТН15-10
<i>Coregonus tugun</i>, р. Киренга, 08.08.2011 г.						
1	180	170	150	36	♂	ТН1-11
2	210	180	150	33	♀	ТН2-11
3	230	180	150	35	♀	ТН3-11
4	158	145	135	25	♂	ТН4-11
5	132	120	115	15	♀	ТН5-11
6	168	155	146	38	♂	ТН6-11
7	152	138	128	30	♀	ТН7-11
<i>Coregonus tugun</i>, р. Непа, 12.07.2012 г.						
1	132	120	115	15	♀	ТН1-12
2	145	135	130	26	♀	ТН2-12
3	131	119	114	14	♀	ТН3-12
<i>Thymallus nigrescens</i>, оз. Хубсугул, 13.11.2009 г.						
1	310	290	275	272	♂	МХ-1
2	305	230	275	269	♀	МХ-47
3	325	310	292	284	♀	МХ-20
4	293	287	265	224	♂	МХ-24
5	260	245	236	166	♂	МХ-28

1	2	3	4	5	6	7
6	268	255	239	162	♀	МХ-32
7	260	245	235	130	♂	МХ-36
8	249	238	223	124	♂	МХ-40
9	192	182	172	57	♀	МХ-44
10	268	255	238	160	♂	МХ-50
11	305	230	275	266	♂	МХ-54
12	191	181	171	55	♀	МХ-58
13	292	286	264	222	♀	МХ-62
<i>Thymallus baicalensis</i>, оз. Тухурен-Нур, 14.08.2010 г.						
1	220	200	188	77	♀	X4
2	186	175	162	49	♂	X8
3	190	180	164	50	♀	X12
4	188	174	160	49	♂	X16
5	232	207	191	108	♀	X20
6	200	188	177	62	♀	X21
7	193	180	166	60	♂	X22
8	173	160	149	42	♂	X23
9	290	260	240	225	♂	X24
10	204	187	170	68	♀	X25
11	275	250	240	195	♀	Объединенная проба
12	260	240	220	125	♂	
13	248	227	210	131	♂	
14	240	219	205	117	♀	
15	213	200	175	73	♂	
16	200	187	170	66	♀	
<i>Thymallus baicalensis</i>, оз. Загасатай-Нур, 18.08.2010 г.						
1	175	160	152	32	♂	XB1
2	135	127	115	18	♀	XB2
3	167	158	142	32	♂	XB3
4	210	190	171	61	♂	XB4
5	148	132	124	20	♂	XB5
6	169	150	140	28	♀	XB6
7	195	180	169	45	♂	XB7
8	147	132	121	23	♂	XB8
9	210	190	172	63	♀	XB9
10	162	150	139	31	♀	XB10
11	180	165	153	39	♀	XB11
12	162	148	137	31	♀	XB12
13	177	165	150	39	♀	XB13

1	2	3	4	5	6	7
14	190	173	15,8	44	♀	XB14
15	165	150	140	37	♀	XB15
16	153	140	127	23	♀	XB16
17	198	184	170	58	♀	XB17
18	156	143	130	44	♂	XB18
19	187	175	162	54	♂	XB19
20	155	140	128	38	♀	XB20
21	145	133	120	31	♀	XB21
22	147	134	122	35	♂	XB22
23	186	170	158	41	♂	XB23
24	182	168	156	40	♂	XB24
25	174	160	148	38	♀	XB25
26	159	145	135	31	♀	XB26
27	164	150	138	35	♂	XB27
28	201	187	175	62	♂	XB28
29	203	190	179	66	♂	XB29
30	158	144	133	38	♀	XB30
31	144	131	119	34	♀	XB31
32	185	170	158	53	♂	XB32
33	187	175	161	56	♀	XB33
34	169	155	145	47	♂	XB34
35	154	140	128	36	♂	XB35
36	138	124	113	28	♀	XB36
37	148	132	119	34	♀	XB37
38	169	155	141	43	♀	XB38
39	160	146	132	37	♂	XB39
40	175	160	142	41	♀	XB40
41	172	158	144	45	♀	XB41
42	185	171	159	56	♂	XB42
<i>Thymallus baicalensis</i>, оз. Аршантай-Нур, 19.08.2010 г.						
1	254	230	218	129	♂	XX1
2	237	216	203	96	♂	XX2
3	163	150	142	32	♂	XX3
4	244	221	210	103	♂	XX4
5	220	20	190	83	♂	XX5
6	226	210	198	91	♀	XX6
7	217	200	186	81	♀	XX7
8	256	234	222	142	♂	XX8
9	210	192	181	81	♀	XX9

1	2	3	4	5	6	7
10	204	187	180	72	♀	XX10
11	220	205	192	94	♀	XX11
12	225	210	194	97	♀	XX12
13	160	145	134	33	♂	XX13
14	210	190	181	78	♂	XX14
15	250	230	217	114	♂	XX15
16	236	217	208	110	♂	XX16
17	218	205	193	100	♀	XX17
18	284	262	231	154	♂	XX18
<i>Thymallus baicalensis</i>, Малое Море (оз. Байкал), 16.05.2012 г.						
1	430	400	380	619	♂	1-1; 1-2
2	226	209	197	92	♀	2-1; 2-2
3	241	224	212	112	♂	3-1; 3-2
4	250	233	220	125	♀	4-1; 4-2
5	223	205	193	82	♂	5-1; 5-2
6	253	232	220	129	♀	6-1; 6-2
7	338	320	304	336	♀	7-1; 7-2
8	295	277	260	163	♂	8-1; 8-2
9	370	350	322	302	♂	9-1; 9-2
10	240	224	212	105	♀	10-1; 10-2
11	260	245	230	143	♂	11-1; 11-2
<i>Thymallus baicalensis</i>, Малое Море (оз. Байкал), 17.05.2012 г.						
12	331	310	294	349	♂	12-1; 12-2
13	293	274	259	234	♂	13-1; 13-2
14	335	310	292	349	♂	14-1; 14-2
15	287	266	250	188	♂	15-1; 15-2
16	339	315	300	397	♂	16-1; 16-2
17	200	186	175	55	♂	17-1; 17-2
18	247	230	216	123	♀	18-1; 18-2
19	370	345	330	472	♂	19-1; 19-2
20	349	321	308	422	♂	20-1; 20-2
21	305	280	268	239	♀	21-1; 21-2
22	220	206	194	82	♂	22-1; 22-2
23	310	288	272	240	♂	23-1; 23-2
24	227	210	199	96	♀	24-1; 24-2
25	224	210	200	92	♂	25-1; 25-2
<i>Thymallus baicalensis</i>, Малое Море (оз. Байкал), 18.05.2012 г.						
26	340	315	300	330	♂	26-1; 26-2
27	340	316	297	310	♀	27-1; 27-2

1	2	3	4	5	6	7
28	272	255	245	181	♂	28-1; 28-2
29	275	260	245	175	♀	29-1; 29-2
30	264	245	232	158	♂	30-1; 30-2
31	277	259	245	152	♀	31-1; 31-2
32	297	278	260	215	♀	32-1; 32-2
33	240	252	265	-	♀	33-1; 33-2
34	285	299	316	-	♂	34-1; 34-2
35	259	269	284	-	♂	35-1; 35-2
36	285	296	314	-	♂	36-1; 36-2
37	275	286	305	-	♀	37-1; 37-2
38	246	256	269	-	♂	38-1; 38-2
39	294	305	320	-	♂	39-1; 39-2
40	250	262	275	-	♀	40-1; 40-2
<i>Thymallus baicalensis</i>, р. Ангара, 02.05.2012 г.						
1	333	310	294	327,3	♂	XA1
2	285	267	252	230,4	♀	XA2
3	326	300	285	318,4	♀	XA3
4	300	283	270	260,8	♂	XA4
5	341	318	300	390,4	♂	XA5
6	328	305	290	333,7	♀	XA6
7	330	300	288	315,9	♀	XA7
8	267	254	239	180,8	♂	XA8
9	327	300	285	306,6	♀	XA9
10	249	230	219	135,2	♂	XA10
11	295	271	255	312,1	♂	XA11
12	370	343	323	489,7	♂	XA12
13	380	351	332	441,4	♂	XA13
14	446	424	400	1104,2	♂	XA14
15	382	365	345	613,8	♀	XA15
16	355	336	318	472,9	♀	XA16
17	360	343	326	512,8	♀	XA17
18	377	360	340	597	♀	XA18
19	352	340	231	512	♀	XA19
20	313	297	280	288	♀	XA20
21	338	325	310	384,7	♂	XA21
22	320	304	292	315,4	♀	XA22
23	319	304	289	297	♀	XA23
24	307	290	277	252,7	♂	XA24
25	280	269	250	222,7	♂	XA25

1	2	3	4	5	6	7
26	295	280	265	236,5	♂	XA26
27	321	301	289	301,9	♀	XA27
28	260	249	235	172,9	♂	XA28
29	305	290	274	266,8	♂	XA29
30	255	243	230	126,4	♀	XA30
31	405	373	352	696,3	♀	XA31
32	282	258	245	166,9	♂	XA32
33	390	364	345	557,3	♀	XA33
34	360	340	322	472,5	♀	XA34
35	300	280	264	227,2	♂	XA35
36	421	390	365	653,3	♀	XA36
37	370	346	329	472,6	♀	XA37
38	282	260	245	202	♂	XA38
39	254	236	222	141,4	♀	XA39
40	274	-	245	196	♂	XA40
41	224	-	200	105	♀	XA41
42	213	-	193	89	♂	XA42
43	215	-	190	82	♂	XA43
44	213	-	190	88	♂	XA44
45	227	-	200	102	♂	XA45
46	212	-	187	82	♀	XA46
47	235	-	209	116	♀	XA47
48	235	-	210	108	♀	XA48
49	216	-	192	94	♀	XA49
50	222	-	198	100	♂	XA50
51	225	-	200	94	♀	XA51
52	205	-	185	79	♂	XA52
53	215	-	193	78	♂	XA53
54	201	-	180	71	♀	XA54
55	242	-	217	118	♀	XA55
56	202	-	181	65	♂	XA56
57	187	-	165	57	♀	XA57
58	195	-	174	63	♂	XA58
59	215	-	191	85	♀	XA59
60	194	-	175	63	♀	XA60
<i>Thymallus baicalensis</i>, Большие Коты (оз. Байкал), 18-19.08.2009 г.						
1	175	165	152	41	♂	XC1
2	190	180	165	51	♀	XC2
3	178	162	152	42	♀	XC3

1	2	3	4	5	6	7
4	185	175	160	55	♂	XC4
5	205	192	175	69	♂	XC5
6	205	190	181	73	♀	XC6
7	181	170	160	45	♀	XC7
8	206	198	182	71	♀	XC8
9	180	165	153	41	♀	XC9
10	194	180	170	60	♂	XC10
11	215	205	187	74	♂	XC11
12	215	200	185	74	♀	XC12
13	231	218	202	91	♀	XC13
14	215	200	190	74	♂	XC14
15	200	186	174	58	♂	XC15
16	211	196	185	72	♂	XC16
17	190	180	163	45	♂	XC17
18	220	205	195	87	♀	XC18
19	270	250	240	161	♀	XC19
20	273	251	239	167	♀	XC20
21	270	250	241	154	♀	XC21
22	267	250	234	157	♀	XC22
23	254	236	225	128	♂	XC23
24	209	193	182	67	♀	XC24
25	243	230	218	103	♀	XC25
26	188	170	160	53	♀	XC26
27	228	210	201	85	♂	XC27
28	270	-	256	260	♀	XC28
29	310	-	297	385	♂	XC29
30	278	-	264	235	♀	XC30
31	248	-	326	450	♀	XC31
32	270	-	258	230	♀	XC32
33	263	-	243	210	♀	XC33
34	285	-	274	300	♀	XC34
35	268	-	249	225	♀	XC35
36	295	-	280	310	♀	XC36
37	216	-	195	83	♂	XC37
38	263	-	237	173	♀	XC38
39	271	-	240	172	♀	XC39
40	250	-	223	137	♀	XC40
41	255	-	227	131	♀	XC41
42	235	-	207	107	♀	XC42
43	220	-	192	93	♂	XC43

1	2	3	4	5	6	7
44	247	-	218	132	♀	XC44
45	256	-	230	146	♀	XC45
46	260	-	234	157	♂	XC46
47	275	-	245	202	♀	XC47
48	233	-	205	104	♀	XC48
49	271	-	240	176	♀	XC49
50	145	-	114	57	♂	XC50
51	203	-	178	78	♂	XC51
52	216	-	188	90	♂	XC52
53	208	-	180	77	♂	XC53
54	218	-	196	90	♂	XC54
<i>Thymallus baicalensis</i>, Баргузинский з-в (оз. Байкал), 14-16.04.2011 г.						
1	270	-	256	260	♀	X61
2	310	-	297	385	♂	X62
3	278	-	264	235	♀	X63
4	248	-	326	450	♀	X64
5	270	-	258	230	♀	X65
6	263	-	243	210	♀	X66
7	285	-	274	300	♀	X67
8	268	-	249	225	♀	X68
9	295	-	280	310	♀	X69
10	247	-	218	132	♀	X610
<i>Thymallus arcticus brevipinnis</i>, Селенгинское мелководье (оз. Байкал), 01.06.2011 г.						
1	400	370	350	720	♀	1BX1
2	360	335	310	600	♂	1BX2
3	340	320	305	400	♂	1BX3
4	260	237	225	210	♀	1BX4
5	275	260	240	220	♀	1BX5
6	340	318	307	334	♂	1BX6
7	269	247	230	200	♀	1BX7
8	260	240	222	150	♀	1BX8
9	285	267	250	235	♀	1BX9
10	306	-	264	260,1	♀	1BX10
11	246	-	215	129,1	♂	1BX11
12	342	-	297	370,5	♂	1BX12
13	320	-	277	198,8	♂	1BX13
14	321	-	276	296,6	♀	1BX14
15	267	-	231	168,5	♂	1BX15
16	337	-	296	370	♀	1BX16

1	2	3	4	5	6	7
17	293	-	258	218,1	♀	1БХ17
18	327	-	285	317,8	♀	1БХ18
19	320	-	277	317,5	♀	1БХ19
20	358	-	314	445,6	♂	1БХ20
21	256	-	222	128,6	♂	1БХ21
22	260	-	227	158,7	♀	1БХ22
23	257	-	223	137,4	♀	1БХ23
24	327	-	285	323,9	♀	1БХ24
25	254	-	308	451,8	♀	1БХ25
26	329	-	287	282,7	♀	1БХ26
27	314	-	270	268,4	♀	1БХ27
28	236	-	206	107,9	♂	1БХ28
<i>Thymallus arcticus</i> р. Непа, 26.08.2010 г.						
1	230	210	198	96	♀	ХН1
2	190	178	167	62	♂	ХН2
3	190	176	164	54	♂	ХН3
4	159	148	139	35	♂	ХН4
5	187	174	161	53	♀	ХН5
<i>Coregonus migratorius</i> – придонно-глубоководная МЭГ, пос. Большая Речка (оз. Байкал), 30.10.2009 г.						
1	425	377	360	547	♀	О-4
2	359	328	312	367	♂	О-16
3	405	368	350	428	♀	О-29
4	418	379	361	494	♀	О-43
5	381	352	335	462	♂	О-56
6	355	325	310	353	♂	О-60
7	390	358	342	544	♀	О-64
8	420	385	370	569	♀	О-67
9	405	368	350	538	♀	О-71
<i>Coregonus migratorius</i> – придонно-глубоководная МЭГ, Посольская банка (оз. Байкал), 30.05.2011 г.						
1	-	294	280	278	♀	33
2	-	275	262	196	♂	34
3	-	254	242	153	♂	35
4	-	246	232	139	♂	36
5	-	272	260	190	♂	37
6	-	265	255	182	♂	38
7	-	260	250	166	♀	39
8	-	260	250	166	♀	40
9	-	270	260	193	♂	41

1	2	3	4	5	6	7
10	-	296	281	260	♂	42
12	-	267	256	166	♂	43
13	-	282	270	201	♀	44
14	-	225	215	89	♂	45
15	-	308	296	300	♂	46
16	-	297	284	258	♀	47
17	-	252	240	149	♂	48
18	-	275	255	140	♀	49
19	-	195	188	63	♀	50
20	-	208	198	78	♀	51
<i>Coregonus migratorius</i> – пелагическая МЭГ, Усть-Харауз (оз. Байкал), 31.05.2011 г.						
1	318	298	285	228	♂	53
2	308	287	275	230	♂	54
3	298	275	262	167	♂	55
4	334	310	297	269	♀	56
5	295	271	258	177	♀	57
6	270	253	243	137	♂	58
7	271	257	242	129	♂	59
8	276	257	246	142	♀	60
9	287	270	255	165	♂	61
10	287	270	255	163	♀	62
<i>Coregonus migratorius</i> – пелагическая МЭГ, з-в Провал (оз. Байкал), 1.06.2011 г.						
1	-	139	132	23	juvenilis	73
2	-	147	140	28	juvenilis	74
3	-	142	135	26	juvenilis	75
4	-	115	109	13	juvenilis	76
5	-	113	107	13	juvenilis	77
6	-	100	95	8	juvenilis	78
7	-	125	118	18	juvenilis	79
8	-	105	98	11	juvenilis	80
9	-	106	100	10	juvenilis	81
10	-	87	81	5	juvenilis	82
<i>Coregonus migratorius</i> – прибрежно-пелагическая МЭГ, мыс Хребтовский (оз. Байкал), 1.06.2011 г.						
1	256	241	-	155	♂	98
2	290	278	-	220	♂	99
3	267	256	-	186	♀	101

1	2	3	4	5	6	7
<i>Coregonus migratorius</i> – придонно-глубоководная МЭГ, мыс Хребтовский (оз. Байкал), 1.06.2011 г.						
1	341	326	-	450	♂	100
2	307	295	-	293	♂	102
<i>Coregonus migratorius</i> – придонно-глубоководная МЭГ, Селенгинское мелководье (оз. Байкал), 1.06.2011 г.						
1	278	259	248	158	♂	103
2	335	312	299	264	♂	104
3	272	250	240	180	♂	105
4	361	336	325	355	♀	106
5	252	235	226	114	♂	107
6	354	330	318	316	♀	108
7	300	277	268	277	♀	109
8	279	258	246	188	♂	110
<i>Coregonus migratorius</i> – придонно-глубоководная МЭГ, Баргузинский залив (оз. Байкал), 4.06.2011 г.						
1	435	445	480	965	♀	121
<i>Coregonus migratorius</i> – прибрежно-пелагическая МЭГ, р-н г. Северобайкальск (оз. Байкал), 7.06.2011 г.						
1	362	338	324	390	♂	147
2	314	294	284	250	♀	148
3	272	252	242	154	♀	149
4	244	227	218	118	♀	150
5	256	242	234	136	♂	151
6	285	261	250	166	♀	152
7	269	246	239	130	♂	153
8	265	245	240	152	♀	154
9	333	316	305	307	♀	155
10	331	312	300	300	♀	156
11	290	265	255	182	♂	157
12	302	286	275	207	♀	158
13	305	280	270	188	♂	159
14	284	265	256	163	♂	160
15	310	290	280	235	♀	161
16	303	283	270	193	♂	162
17	268	246	240	131	♂	163
18	270	250	240	136	♀	164
19	270	250	242	154	♀	165
20	221	203	195	74	♂	166

1	2	3	4	5	6	7
<i>Coregonus migratorius</i> – прибрежно-пелагическая МЭГ, р-н г. Нижнеангарск (оз. Байкал), 7.06.2011 г.						
1	-	258	246	177	♀	167
2	-	228	216	121	♂	168
3	-	282	270	254	♀	169
4	-	316	300	307	♀	170
5	-	302	290	310	♂	171
6	-	293	280	278	♀	172
7	-	298	286	287	♂	173
8	-	279	266	229	♂	174
9	-	284	270	236	♂	175
10	-	314	300	300	♀	176
11	-	186	178	61	♀	177
12	-	228	220	118	♀	178
13	-	246	234	136	♂	179
14	-	227	214	107	♀	180
15	-	282	270	207	♀	181
16	-	273	260	223	♀	182
17	-	262	252	172	♀	183
18	-	222	212	96	♂	184
19	-	297	286	249	♀	185
20	-	302	290	288	♀	186
21	-	264	254	190	♂	187
22	-	292	280	256	♀	188
23	-	270	260	152	♂	189
24	-	230	220	113	♂	190
25	-	300	286	282	♀	191
26	-	241	230	141	♀	192
27	-	200	192	74	♂	193
28	-	243	234	137	♀	194
29	-	250	240	137	♂	195
30	-	201	193	81	♀	196
31	-	252	244	156	♂	197
32	-	251	240	139	♂	198
33	-	223	214	122	♀	199
34	-	250	240	129	♂	200
35	-	210	200	89	♀	201
36	-	111	106	9	juvenilis	202
37	-	114	107	10	juvenilis	203

1	2	3	4	5	6	7
38	-	113	107	11	juvenilis	204
39	-	112	108	10	juvenilis	205
40	-	113	108	11	juvenilis	206
41	-	115	109	13	juvenilis	207
42	-	114	110	11	juvenilis	208
43	-	116	110	12	juvenilis	209
44	-	120	111	13	juvenilis	210
45	-	116	111	11	juvenilis	211
<i>Coregonus migratorius</i> – придонно-глубоководная МЭГ, м. Средний (оз. Байкал), 12.06.2011 г.						
1	-	117	112	11	juvenilis	368
2	-	117	114	12	juvenilis	369
3	-	120	116	13	juvenilis	370
4	-	120	116	15	juvenilis	371
5	-	123	117	14	juvenilis	372
6	-	120	117	13	juvenilis	373
7	-	125	118	18	juvenilis	374
8	-	126	120	16	juvenilis	375
9	-	131	126	17	juvenilis	376
10	-	141	133	19	juvenilis	377
11	-	323	310	373	♀	418
12	-	324	310	376	♂	419
13	-	325	314	375	♂	420
14	-	306	297	300	♂	421
15	-	302	290	281	♂	422
16	-	318	306	382	♀	423
17	-	290	280	233	♀	424
18	-	200	195	67	♀	425
19	-	448	435	965	♀	426
20	-	305	293	269	♀	427
21	-	272	260	195	♀	428
22	-	308	295	300	♀	429
23	-	217	208	96	♀	430
24	-	262	250	168	♂	431
25	-	297	285	298	♂	432
26	-	334	320	409	♂	433
27	-	276	262	256	♀	434
28	-	273	260	209	♀	435
29	-	276	262	206	♂	435
30	-	274	260	205	♂	437

Коттоидные рыбы, использованные для оценки зараженности *S. barkhanus*

<i>Comephorus dybowski</i>, р-он Муринской банки (оз. Байкал), 28.05.2011 г.					
№п\п	AB	AD	Q, гр.	пол	маркировка
1	2	3	4	5	6
1	112	97	9,5	♂	1
2	100	86	8,8	♂	2
3	90	78	7,0	♀	3
4	93	80	7,1	♂	4
5	88	76	7,0	♀	5
<i>Comephorus baicalensis</i>, р-он Муринской банки (оз. Байкал), 28.05.2011					
1	54	46	2,0	♂	6
2	52	44	1,9	♀	7
3	111	97	5,2	♀	10
<i>Comephorus dybowski</i>, р-он Посольский сор (оз. Байкал), 30.05.2011 г.					
1	120	105	10,2	♂	11
2	105	91	9,7	♀	12
3	93	80	8,4	♀	13
4	94	83	8,5	♂	14
5	96	85	8,5	♂	15
<i>Comephorus baicalensis</i>, р-он Посольской банки (оз. Байкал), 30.05.2011 г.					
1	141	123	20,2	♀	29
2	124	106	15,5	♀	30
<i>Cottocomephorus alexandrae</i>, р-он Посольской банки (оз. Байкал), 30.05.2011 г.					
1	145	125	23,4	♀	16
2	147	126	22,9	♀	18
3	150	130	24,0	♂	21
4	145	128	22,1	♂	22
5	150	130	25,2	♀	23
6	150	135	25,6	♀	24
7	145	126	22,9	♂	25
8	131	115	21,3	♀	26
9	141	122	22,8	♂	27
10	135	119	21,8	♂	28
<i>Cottocomephorus inermis</i>, р-он Посольской банки (оз. Байкал), 30.05.2011 г.					
1	158	135	33,8	♀	17
2	165	139	38,2	♀	19
3	152	132	32,2	♂	20

1	2	3	4	5	6
<i>Cottocomephorus grewingkii</i>, р-он протоки Шумиха (оз. Байкал), 31.05.2011 г.					
1	105	92	9,4	♀	63
2	107	92	9,6	♀	64
3	102	89	9,2	♀	65
4	91	78	8,4	♂	66
5	111	96	9,6	♂	67
6	96	85	8,5	♀	68
7	95	82	8,4	♀	69
8	101	89	9,0	♂	70
9	97	85	8,8	♂	71
10	92	80	8,1	♂	72
<i>Cotephorus dybowski</i>, р-он залив Провал (оз. Байкал), 01.06.2011 г.					
1	134	117	11,1	♀	83
2	121	116	10,4	♀	84
3	116	103	10,5	♂	85
4	132	115	11,0	♂	86
5	142	122	11,5	♂	87
<i>Cottocomephorus inermis</i>, р-он Баргузинский залив (оз. Байкал), 04.06.2011 г.					
1	157	133	32,7	♀	115
<i>Cottocomephorus inermis</i>, р-он губа Ширильда (оз. Байкал), 06.06.2011 г.					
1	135	118	21,3	♂	133
2	130	112	20,1	♀	134
3	115	98	12,3	♂	135
<i>Cottocomephorus inermis</i>, р-он Малое море (оз. Байкал), 10.06.2011 г.					
1	145	122	27,0	♂	292
2	135	117	19,8	♂	332
3	142	119	26,3	♂	333
<i>Cottocomephorus alexandrae</i>, р-он мыс Средний (оз. Байкал), 12.06.2011 г.					
1	145	125	31,3	♀	378
2	152	133	32,2	♀	379
3	137	118	27,3	♀	380
4	150	130	34,5	♂	381
5	146	125	33,0	♀	382
6	155	136	36,3	♂	383
7	145	126	31,2	♂	384
8	142	125	30,2	♀	385
9	138	122	28,9	♂	386
10	147	126	32,3	♂	387
11	140	122	31,8	♀	439

1	2	3	4	5	6
12	148	126	33,2	♂	440
13	133	116	24,5	♀	441
14	137	119	26,6	♀	442
15	142	124	30,4	♀	443
16	150	135	34,1	♀	444
17	141	121	32,3	♂	445
18	145	127	33,3	♂	446
19	134	118	29,1	♀	447
20	140	121	31,5	♂	448
21	132	118	24,3	♂	449
22	131	115	25,5	♀	450
23	144	126	32,6	♀	451
24	150	130	38,0	♀	452
25	145	127	34,6	♂	453
26	141	122	32,7	♂	454
27	150	131	37,7	♂	455
28	145	128	34,3	♀	456
29	152	135	36,6	♂	457
30	135	119	27,4	♀	458
<i>Cottocomphorus grewingkii</i>, р-он мыс Средний (оз. Байкал), 12.06.2011 г.					
1	100	86	8,8	♂	389
2	66	57	2,4	♀	390
3	66	56	1,8	♀	391
4	80	67	3,3	♂	392
5	80	67	3,0	♀	393
6	76	65	2,9	♀	459
7	78	66	3,0	♀	460
8	78	68	3,2	♀	461
9	72	61	2,4	♀	462
10	70	61	2,6	♂	463
11	81	70	3,4	♂	464
12	85	73	3,7	♀	465
13	71	60	2,4	♀	466
14	73	62	2,7	♂	467
15	70	60	2,1	♀	468
16	67	57	1,9	♀	469
17	87	74	5,3	♂	470
18	90	78	5,7	♀	471
19	103	88	7,0	♂	472
20	100	86	4,6	♂	473

1	2	3	4	5	6
<i>Cottocomorphus inermis</i>, оз. Байкал р-он мыс Средний (оз. Байкал), 12.06.2011 г.					
1	140	119	35,9		438
<i>Cottocomorphus grewingkii</i>, р-он Селенгинское мелководье (оз. Байкал), 13.06.2011 г.					
1	87	74	4,6	♀	570
2	70	61	2,6	♀	571
3	85	72	4,6	♂	572
4	90	78	5,7	♂	573
5	70	60	2,3	♀	574
6	76	65	2,9	♂	575
7	81	70	4,0	♂	576
8	66	56	1,7	♂	577
9	83	72	3,8	♀	611
10	85	72	4,5	♀	612
11	85	73	3,7	♂	613
12	91	80	5,3	♂	614
13	66	57	2,3	♀	615
14	70	60	2,2	♂	616
15	85	74	4,4	♀	617
16	71	60	2,5	♂	618
17	85	73	3,6	♀	619
18	75	65	3,1	♀	620
19	103	89	7,1	♀	621
20	76	66	2,8	♂	622
21	85	73	3,9	♂	623
22	87	75	4,6	♂	624
23	71	60	2,4	♀	625
24	99	86	6,7	♂	626
25	66	57	2,5	♀	627
26	66	56	1,9	♂	628
27	85	72	4,7	♂	629
28	87	75	4,6	♀	630
<i>Cottocomorphus alexandrae</i>, р-он Селенгинское мелководье (оз. Байкал), 13.06.2011 г.					
1	170	145	40,5	♀	579
2	165	142	35,9	♂	580
3	143	121	23,6	♂	581
4	137	118	18,3	♀	582
5	113	95	10,3	♀	583

6	106	90	9,2	♂	584
7	104	90	8,2	♀	585
8	78	67	2,6	♀	586
9	100	88	4,9	♂	587
10	77	66	2,4	♂	588
11	75	64	2,0	♂	589
12	105	88	6,6	♀	590
13	76	64	2,5	♀	591
14	76	65	2,2	♂	592
15	95	82	5,5	♂	593
16	85	71	3,0	♀	594
17	97	88	5,8	♀	595
18	83	71	2,8	♂	596
19	82	70	2,8	♀	597
20	76	66	2,4	♂	598
<i>Comephorus dybowski</i>, р-он Селенгинское мелководье (оз. Байкал), 13.06.2011 г.					
1	136	115	9,4	♀	599
2	134	115	10,2	♂	600
3	112	96	5,4	♂	601
4	118	102	6,1	♂	602
5	105	90	4,3	♀	603
6	125	107	7,2	♀	604
7	92	79	2,8	♂	605
8	93	81	3,0	♀	606
9	87	74	2,2	♂	607
10	92	80	2,8	♀	608
11	55	47	1,7	♂	609
12	57	49	1,6	♀	610

Последовательности, использованные в филогенетическом анализе

Вид	GenBank №	Длина п.н.	Хозяин	Место сбора
1	2	3	4	5
<i>S. barkhanus</i>	AM492686	1400	<i>Th. baicalensis</i>	р. Ангара
<i>S. barkhanus</i>	AM492687	1400	<i>Th. baicalensis</i>	р. Ангара
<i>S. barkhanus</i>	AM492688	1400	<i>Th. baicalensis</i>	оз. Байкал
<i>S. barkhanus</i>	FM897198	1400	<i>Th. baicalensis</i>	оз. Байкал
<i>S. barkhanus</i>	FM897199	1400	<i>Th. baicalensis</i>	оз. Байкал
<i>S. barkhanus</i>	DQ186573	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Glomma)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186574	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия: (Glomma)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186575	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Glomma)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186576	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Glomma)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186577	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Glomma)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186578	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Alta)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186579	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Alta)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186581	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия: (Fjellfrosk)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186583	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Tana)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186584	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Alta)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186587	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Glomma)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186588	1400	<i>Th. thymallus</i>	Норвегия (Glomma)
<i>S. barkhanus</i>	DQ273887	1400	<i>Th. arcticus</i>	Канада (Enadai L., Kazan River)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186580	1400	<i>Salvelinus alpinus</i>	Норвегия (Fiskfjord)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186582	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Sordal)

1	2	3	4	5
<i>S. barkhanus</i>	DQ186589	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Fiskfjord)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186590	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Fiskfjord)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186591	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Koifjordvatnet)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186592	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Carajavrret)
<i>S. barkhanus</i>	DQ186593	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Bikkajavrret)
<i>S. barkhanus</i>	JF750350	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. barkhanus</i>	AY646679	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. barkhanus</i>	JF750361	450	<i>Salmo trutta</i>	Норвегия
<i>S. barkhanus</i>	JF750359	450	<i>S. trutta</i>	Норвегия
<i>S. barkhanus</i>	JF750362	450	<i>S. trutta</i>	Норвегия
<i>S. barkhanus</i>	JF750356	450	<i>S. trutta</i>	Норвегия
<i>S. barkhanus</i>	JF750357	450	<i>S. trutta</i>	Норвегия
<i>S. barkhanus</i>	JF750351	450	<i>S. trutta</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	JF750365	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	JF750358	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	JF750355	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	JF750354	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	JF750348	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	JF750347	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	DQ186597	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Fiskfjord)
<i>S. salmonicida</i>	AY677181	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	DQ186596	450	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Fiskfjord)
<i>S. salmonicida</i>	DQ186595	1400	<i>S. alpinus</i>	Норвегия (Fiskfjord)
<i>S. salmonicida</i>	DQ186594	1400	<i>Salmo salar</i>	Норвегия (Alta)
<i>S. salmonicida</i>	DQ186586	450	<i>S. salar</i>	Норвегия (Alta)
<i>S. salmonicida</i>	DQ186585	1400	<i>S. salar</i>	Норвегия (Alta)
<i>S. salmonicida</i>	AY677182	1400	<i>S. salar</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	JF750352	450	<i>S. trutta</i>	Норвегия
<i>S. salmonicida</i>	DQ812526	1400	Штамм ATCC 50380	

1	2	3	4	5
<i>S. torosa</i>	EF050055	1275	<i>Gadus morhua</i>	Норвегия
<i>S. salmonis</i>	DQ394703	1405	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Норвегия
<i>S. salmonis</i>	DQ394704	1405	<i>O. mykiss</i>	Германия
<i>S. vortens</i>	EF050056	450	<i>Leuciscus idus</i>	Норвегия
<i>S. vortens</i>	U93085	450	Штамм ATCC 50386	
<i>S. vortens</i>	U93086	450	Штамм ATCC 50386	