

**ТРЕМАТОДА *SKRJABINOLECITHUM SPASSKII* BELOUS,
1954 (DIGENEA: HAPLOPORIDAE) – ПАРАЗИТ КЕФАЛЕЙ
(MUGILIDAE) ИЗ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО
МОРЯ И ИЗ ВЬЕТНАМСКИХ ВОД ТОНКИНСКОГО ЗАЛИВА:
МОРФОЛОГИЯ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ДАННЫЕ¹**

© 2015 г. В. В. Беспрозванных¹, Д. М. Атопкин^{1,2}, Х. З. Нго³,
А. Ю. Белодед¹, А. В. Ермоленко¹, Н. В. Ха³, Н. В. Танг³

¹Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток 690000;

²Кафедра клеточной биологии и генетики Школы естественных наук Дальневосточного федерального университета, Владивосток 690091;

³Институт экологии и биоресурсов Вьетнамской академии наук и технологий, Ханой 10000
e-mail: ermolenko@ibss.dvo.ru

Статья принята к печати 05.02.2015 г.

Трематода *Skrjabinolecithum spasskii* была описана Белоус (1954) от пиленгаса *Mugil soiyu* (= *Liza haematocheila*) из р. Раздольная (Суйфун) (юг Дальнего Востока России). При описании вида автор указала на то, что у половозрелых *S. spasskii* нет пигментных глазков, имеются сферический семенник и короткие кишечные ветви, а матка содержит яйца с мирацидиями без глазка. Нами обнаружены половозрелые черви этого вида в кишечнике пиленгаса *Liza haematocheila* и лобана *Mugil cephalus* из зал. Петра Великого Японского моря, а также лобана *M. cephalus* из вьетнамских вод Тонкинском залива. Изучение морфологии *S. spasskii* показало, что черви имеют диффузные глазные пятна, V-образный семенник, длинные кишечные ветви, достигающие уровня середины задней трети тела, а в матке находятся эмбрионально неразвитые яйца с крышечкой на одном полюсе и штифтиком на другом. Мирацидий развивается после попадания яиц в воду и имеет пигментный глазок. В результате анализа нуклеотидных последовательностей гена 28S рРНК и фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 выявлена внутривидовая дифференциация *S. spasskii* на три генотипа, два из которых обнаружены у трематод из Приморского края и один генотип – у трематод из Вьетнама.

Ключевые слова: *Skrjabinolecithum spasskii*, ДНК, ген 28S рРНК, Haploporidae, Mugilidae, трематоды.

The trematode *Skrjabinolecithum spasskii* Belous, 1954 (Digenea: Haploporidae), a parasite of mullets (Mugilidae) from Peter the Great Bay of the Sea of Japan and from Vietnam waters of the Gulf of Tonkin: morphology and molecular data. V. V. Besprozvannykh¹, D. M. Atopkin^{1,2}, H. D. Ngo³, A. Yu. Beloded¹, A. V. Ermolenko¹, N. V. Ha³, N. V. Tang³ (¹Institute of Biology and Soil Science, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690000; ²Department of Cell Biology and Genetics, Far Eastern Federal University, Vladivostok 690091; ³Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnamese Academy of Sciences and Technology, Hanoi, Vietnam 10000)

The trematode *Skrjabinolecithum spasskii* was described by Belous, from the redlip mullet *Mugil soiyu* (= *Liza haematocheila*) from the Razdolnaya (Suifun) River (southern Far East of Russia). In the description of the species the author noted that adult *S. spasskii* had no pigment eye-spots, but had a spherical testis and short caeca; the uterus contained eggs with miracidia devoid of an eye-spot. We found adult worms of this species in the intestine of the redlip mullet *Liza haematocheila* and the striped mullet *Mugil cephalus* from Peter the Great Bay of the Sea of Japan and in the striped mullet *M. cephalus* from Vietnam waters of the Gulf of Tonkin. Our study of the morphology of *S. spasskii* showed that the worms had diffuse eyes-spots, V-shaped testis, long caeca reaching the level of the middle of the last third of the body, and the uterus with unembryonated underdeveloped eggs with an operculum on one pole and a knob on the other pole. The miracidium develops on eggs hatched in water and has an eye-spot. An analysis of the nucleotide sequences of the 28S rRNA gene and the fragment ITS1-5.8S-ITS2 revealed intraspecific differentiation of the three genotypes of *S. spasskii*, two of them were detected in the trematodes from Primorye Region and one genotype in the trematodes 256–263).

Keywords: *Skrjabinolecithum spasskii*, DNA, 28S rRNA gene, Haploporidae, Mugilidae, trematodes.

Род *Skrjabinolecithum* (Haploporidae Nicoll, 1914) был основан Белоус (1954) для трематоды, обнаруженной у пиленгаса *Mugil soiyu* (= *Liza haematocheila*) из р. Раздольная (Суйфун) Приморского края России. Этой

трематоды было присвоено видовое название *S. spasskii*. В 2005 г. в результате ревизии семейства Haploporidae в состав рода кроме типового вида *S. spasskii* Belous, 1954 были включены *S. indicum* (Zhukov, 1972), *S. vitellosum*

¹ Работа поддержана грантом Президента РФ (№ 394.2014.4) и частично грантом Вьетнамского национального фонда развития науки и технологий (№ 106.15-2012.08).

(Martin, 1973) и *S. lobolectithum* (Martin, 1973) – паразиты морских и эстуарных рыб Восточного полушария (Overstreet, Curran, 2005). Нами половозрелые черви *S. spasskii* были найдены у *Liza haematocheila* и *Mugil cephalus*, отловленных в р. Раздольная [типичное место обнаружения (Белоус, 1954)] и в эстуариях рек, расположенных южнее и севернее этой реки, а также у *M. cephalus*, отловленных у о-ва Кат Ба в северной части Вьетнама. При изучении обнаруженных червей на большом материале выявлен ряд неточностей в описании *S. spasskii*.

К сожалению, Белоус (1954) не обозначила голотип и не указала депозитарий, куда она поместила описанных ею червей. Наши попытки найти типовой экземпляр были безуспешными. В 1954 г. Е.В. Белоус работала в Лаборатории паразитологии Дальневосточного филиала Сибирского отделения АН СССР [в настоящее время Биолого-почвенный институт (БПИ) ДВО РАН], но в фондах Зоологического музея БПИ ДВО РАН типовые экземпляры *S. spasskii* отсутствуют. По-видимому, эти черви были утеряны или автор вида действительно не поместила их в музей. Мы переописали *S. spasskii*, выделили неотип и привели результаты анализа нуклеотидных последовательностей гена 28S рРНК и фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 рибосомной ДНК ядерного генома.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Половозрелые трематоды вида *Skrjabinolecithum spasskii* были собраны в ходе паразитологического обследования рыб из эстуариев рек Раздольная (43°20' N, 131°47' E), Карасик (42°32' N, 130°38' E) и Киевка (42°52' N, 133°38' E) в Приморском крае, а также из Тонкинском залива (о-в Кат Ба, Вьетнам, 20°81' N, 106°59' E). Всего в Приморье было просмотрено 16 экз. пиленгаса *Liza haematocheila* и 6 экз. лобана *Mugil cephalus*. Зараженными трематодой оказались 11 пиленгасов и все 6 лобанов. Интенсивность инвазии пиленгаса и лобана составляла соответственно 7–112 и 5–40 червей на рыбу. Единственный вскрытый во Вьетнаме лобан был заражен 13 червями.

Извлеченных из рыб червей промывали дистиллированной водой, прижизненно изготавливали временные препараты,

под микроскопом определяли идентичность особей, после этого их убивали горячей дистиллированной водой и фиксировали в 70% спирте. При изготовлении постоянных препаратов половозрелых червей окрашивали в квасцовом кармине, обезвоживали в растворах этанола повышающейся концентрации, просветляли в гвоздичном масле и заключали в канадский бальзам. Чтобы определить сроки развития мирацидиев, из половозрелых особей трематод, найденных у рыб из рек Приморского края, извлекали яйца, которые помещали в дистиллированную воду и содержали при температуре воды 21–22°C.

Все размеры приведены в микрометрах.

Для молекулярного анализа использовали 25 половозрелых особей *S. spasskii*, найденных в просмотренных рыбах и зафиксированных в 96% этиловом спирте (табл. 1). Тотальную ДНК экстрагировали с помощью метода щелочного лизиса (Truett, 2006). Амплификацию фрагмента гена 28S рРНК выполняли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием специфических праймеров: прямого DIGL2 (5'-AAGCATATCACTAAGCGG-3') и обратного 1500R (5'-GCTATCCTGAGGGAACTTCG-3'). Оптимальная температура отжига праймеров, использованная для ПЦР, составляла 55°C (Tkach et al., 2003). Фрагмент рибосомной ДНК, включающий два внутренних транскрибируемых спейсера, и ген 5.8S рРНК (ITS1-5.8S-ITS2) амплифицировали с использованием специфических праймеров BD1 (5'-GTCGTAACAAGGTTTCCGTA-3') и BD2 (5'-TATGCTTAAATTCAGCGGT-3'), оптимальная температура отжига – 54°C (Luton et al., 1992). Контроль эффективности и контаминации ПЦР осуществляли с помощью постановки позитивных и негативных проб соответственно. Продукты ПЦР секвенировали методом терминирующего синтеза с использованием набора BigDye Terminator Cycle Sequencing kit фирмы Life Technologies, США. Нуклеотидные последовательности определяли с помощью генетического анализатора GA 3130 на базе БПИ ДВО РАН. Для секвенирования гена 28S рРНК использовали внутренние праймеры 300F, ECD2, 900F и 1200R (Tkach et al., 2003), а также праймеры для амплификации. Для секвенирования фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 использовали внутренние праймеры 3S (Nap et al., 2013) и NapIRv2 (5'-CGTTCAAGATGTCGAT-3'), разработанный нами. Последовательности зарегистрированы в Европейской базе данных (European Nucleotide Archive, ENA) (табл. 1).

Таблица 1. Список видов, использованных для молекулярного анализа

Вид	n	Окончательный хозяин	Источник	Регистрационные номера в базе данных ENA	
				28S рДНК	ITS-5.8S-ITS2 рДНК
<i>Skrjabinolecithum spasskii</i> , р. Раздольная, Приморский край, Россия	4	<i>Liza haematocheila</i>	Наши данные	LK022754-LK022757	LK022759-LK022762
<i>S. spasskii</i> , р. Раздольная, Приморский край, Россия	1	<i>Mugil cephalus</i>	–//–	LK022758	LK022763
<i>S. spasskii</i> , р. Киевка, Приморский край, Россия	9	<i>Liza haematocheila</i>	–//–	HE806363-HE806376	HG530210- HG530219
<i>S. spasskii</i> , р. Карасик, Приморский край, Россия	4	<i>L. haematocheila</i>	–//–	HE806377-HE806380	HG530220- HG530223
<i>S. spasskii</i> , Тонкинский залив, о-в Кат Ба, Вьетнам	7	<i>Mugil cephalus</i>	–//–	HG530224-HG530230	HG530203- HG530209
<i>Intromugil mugilicolus</i>	1	<i>M. cephalus</i>	Pulis et al., 2013	KC430096	KC430096
<i>Spiritestis herveyensis</i>	1	<i>Moolgarda seheli</i>	–//–	KC206500	KC206500

Примечание. ENA – Европейский нуклеотидный архив; n – количество образцов.

Сборку и выравнивание консенсусных последовательностей осуществляли в программах SeqScape v.2.6 и MEGA 6.06 (Tamura et al., 2013). Оценка количества переменных сайтов и дифференциации последовательностей выполнена в программе MEGA 6.06. Филогенетические связи реконструировали с помощью алгоритмов максимального правдоподобия в программе MEGA 6.06 и алгоритма Байеса в программе MrBayes v.3.1.2 (Huelsenbeck et al., 2001) с использованием модели обратимой эволюции с коррекцией на гетерогенность позиций по скорости эволюции, учитывая долю инвариантных позиций GTR+G+I (Tavare, 1986). Данная модель была выбрана в качестве оптимальной в программе jModeltest 2 (Darrriba et al., 2012). Алгоритм Байеса выполнял два параллельных анализа 10 млн. поколений по четырем Марковским цепям. Для реконструкции консенсусного дерева отбрасывали деревья первого 1 млн. поколений. Статистическую значимость филогенетических связей оценивали с помощью метода бутстрэп (Felsenstein, 1985) для алгоритма максимального правдоподобия и метода постериорных вероятностей для алгоритма Байеса (Huelsenbeck et al., 2001).

Реконструкцию филогенетических связей выполняли с использованием данных секвенирования рДНК *S. spasskii* и других видов трематод, представленных в Международном геномном банке (табл. 1) (Pulis, Overstreet, 2013; Pulis et al., 2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Skrjabinolecithum spasskii Belous, 1954

Типовой хозяин: *Liza haematocheila* (Temminck and Schlegel).

Другой хозяин: *Mugil cephalus* Linne.

Типовое место обнаружения: р. Раздольная (43°20' N, 131°47' E), Приморский край (юг Дальнего Востока, Россия).

Другие места находок: реки Карасик (42°32' N, 130°38' E) и Киевка (42°52' N, 133°38' E) (Приморский край, юг Дальнего Востока, Россия), Тонкинский залив (20°81' N, 106°59' E, северная часть Вьетнама).

Локализация: кишечник.

Интенсивность инвазии: *L. haematocheila* – 7–112, *M. cephalus* – 5–40 червей на рыбу.

Исследованный материал: 50 трематод из России и 6 трематод из Вьетнама.

Размещение типового материала: неотип № 62-Тг. Помещен в коллекцию Зоологического музея Биолого-почвенного института ДВО РАН, Владивосток, Россия; e-mail: petrova@ibss.dvo.ru. Дата: 29.07.2010.

Тело половозрелых червей (табл. 2; рис. 1, 2А–В) удлинненное, веретенообразное, покрыто шипиками от переднего конца до последней трети. Глазные пятна диффузные, локализуются в передней трети тела. Ротовая присоска субтерминальная. Префаринкс короткий, фаринкс округлый или поперечно-овальный. Пищевод у большинства червей в 2–4 раза длиннее префаринкса и может достигать уровня середины брюшной присоски. Ветви кишечника широкие, оканчиваются на

Таблица 2. Размеры (мкм) *Skrjabinolecithum spasskii* по нашим данным и данным Белоус (1954)

Признак	Приморский край			Северная часть Вьетнама		По: Белоус, 1954
	неотип	пределы изменчивости, n = 13	среднее значение	пределы изменчивости, n = 6	среднее значение	
Длина тела	1510	939–1510	1086	800–1120	980	1300
Ширина тела	430	292–430	316	293–354	334	440
Длина ротовой присоски	131	65–131	85	96–116	106	135
Ширина ротовой присоски	146	80–146	100	104–116	111	140
Дистанция от переднего конца тела до брюшной присоски	447	270–447	334	270–381	313	–
Длина брюшной присоски	177	104–177	117	104–123	114	165
Ширина брюшной присоски	177	108–177	118	104–123	115	165
Соотношение длины присосок	1 : 1.35	1 : 1.13–1.64	1 : 1.38	1 : 1.04–1.24	1 : 1.08	1 : 1.22*
Соотношение ширины присосок	1 : 1.21	1 : 1.03–1.33	1 : 1.18	1 : 1.03–1 : 1.24	1 : 1 : 0.4	1 : 1.22*
Длина префаринкса	46	35–58	46	19–39	21	–
Длина фаринкса	96	39–96	58	54–65	59	80
Ширина фаринкса	96	42–96	65	62–89	77	80
Длина пищевода	244	50–244	84	139–223	193	–
Длина кишечных ветвей	678	539–801	795	370–554	416	–
Длина яичника	73	54–100	78	50–81	67	100
Ширина яичника	85	54–85	59	46–65	57	100
Длина семенника	231	112–231	165	100–135	116	140
Ширина семенника	223	92–239	164	104–212	132	140
Длина гермафродитной сумки	262	154–285	210	135–177	161	250
Ширина гермафродитной сумки	177	100–177	125	96–135	116	110
От заднего конца тела до семенника	500	270–500	353	258–420	331	–
Длина яиц	61–65	50–65	–	54–62	–	62
Ширина яиц	31	31–42	–	31–39	–	43

* Наши дополнения, исходя из размеров присосок по данным Белоус (1954).

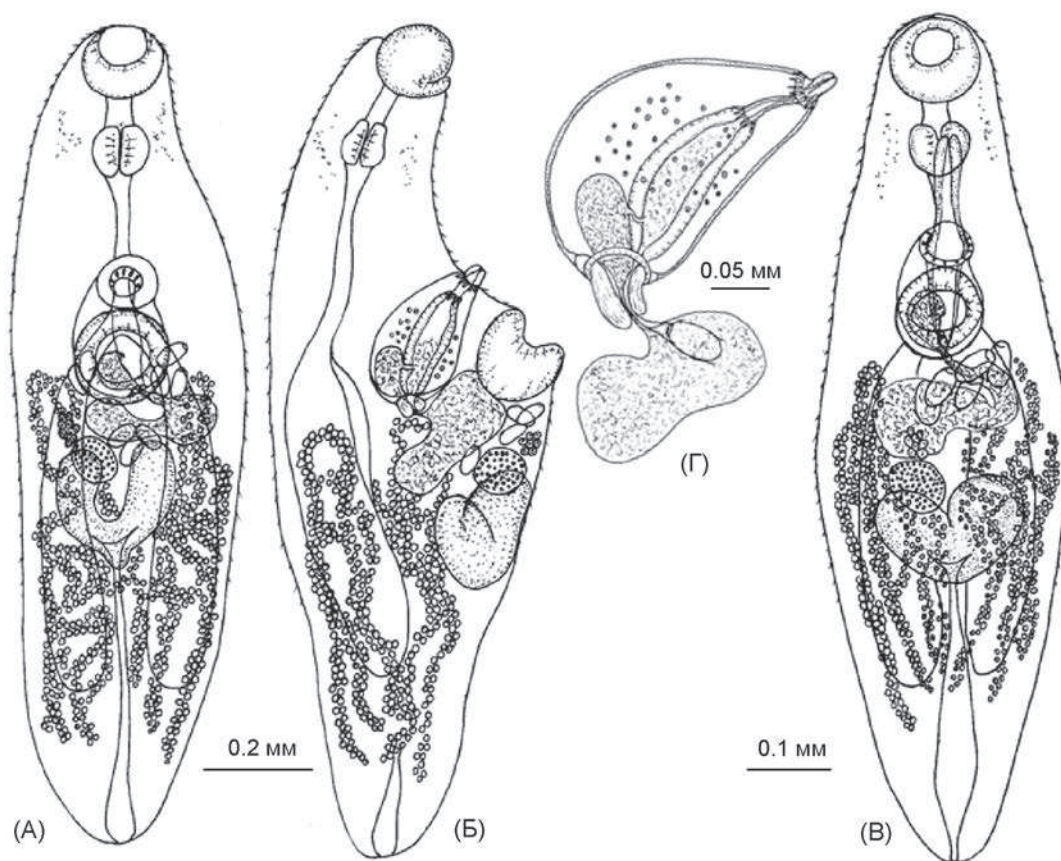


Рис. 1. *Skrjabinolecithum spasskii*. А, Б – половозрелые особи из России; В – из Вьетнама; Г – гермафродитная сумка.

уровне середины задней трети тела. Брюшная присоска больше ротовой, лежит на границе передней и средней трети тела. Семенник один, V-образный, обычно находится в конце средней трети тела. Левая лопасть семенника размером $154\text{--}231 \times 81\text{--}135$, правая – $154\text{--}193 \times 81\text{--}135$. Наружный семенной пузырек в зависимости от наполненности половыми продуктами мешковидный или иной формы. У большинства червей он достигает уровня яичника или переднего края семенника. Гермафродитная сумка лежит дорсально от брюшной присоски; при дорсо-вентральном положении червя выглядит овальной, при латеральном – мешковидной. Задний конец гермафродитной сумки не пересекает границу заднего края брюшной присоски. Проксимальный и дистальный концы гермафродитной сумки снабжены мышечными сфинктерами. Внутренний семенной пузырек меньше наружного, его размеры зависят от наполненности половыми продуктами. Проток внутреннего семенного пузырька впадает в гермафродитный канал на участке задней трети его длины. Простатические клетки окружают среднюю часть гермафродитного канала. Гермафродитный канал почти на $3/4$ длины (196) имеет мышечную стенку толщиной 12–15. Эта часть канала отделена от его конечной части мышечным сфинктером. Длина тонкостенной конечной части гермафродитного канала 58. Дистальная часть гермафродитного канала

может выворачиваться наружу. Половое отверстие находится на средней линии тела непосредственно перед брюшной присоской. Метратерм короткий, тонкостенный. Тельце Мелиса состоит из 8–9 клеток среднего размера. Яичник округлый или продольно-овальный, примыкает к переднему краю семенника слева от средней линии тела. Матка короткая, находится между гермафродитной сумкой и передним краем семенника, содержит 3–33 эмбрионально неразвитых яйца. Желточники шнуровидные, располагаются от уровня середины брюшной присоски до середины задней трети тела, состоят из мелких округлых фолликул, тесно примыкающих друг к другу. Левое и правое поля желточников соприкасаются на медианной линии и прикрывают яичник, семенник и кишечные ветви. Яйца светло-желтые, с крышечкой и штифтиком. Экскреторный пузырь I-образный.

Мирацидий. Развитие мирацидиев (рис. 2Г, Д) происходит после попадания яиц в воду и завершается на 9-е сут их выходом из яиц. Продолжительность жизни мирацидиев в воде – 11 ч. Мирацидии имеют пигментный глазок.

Молекулярные данные

Выравнивание и филогенетический анализ. В результате амплификации, секвенирования и последующего выравнивания для *S. spasskii* были получены нуклео-

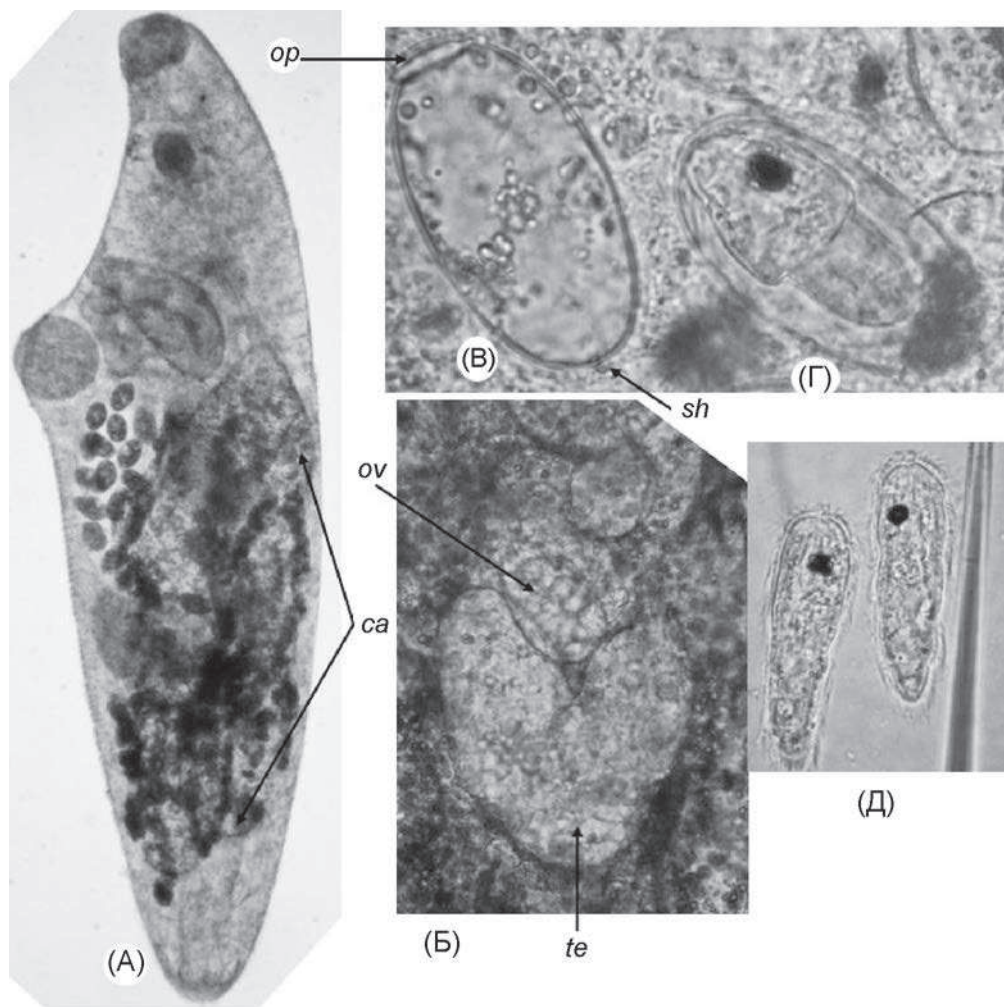


Рис. 2. *Skrjabinolecithum spasskii*. А – взрослый червь, Б – яичник и семенник, В – яйцо без мирацидия, Г – яйцо на 9-е сут после начала его развития, Д – мирацидии после выхода из яйца. Условные обозначения: *ca* – кишечные ветви, *ov* – яичник, *te* – семенник, *op* – крышечка, *sh* – штифтик.

тидные последовательности участка гена 28S рРНК и фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 рДНК длиной 1047 и 1511 пар нуклеотидов (п.н.) соответственно. Из них 1041 (99.4%) и 1494 (98.8%) оказались консервативными, а 5 (0.5%) и 14 (0.9%) – парсимоний-информативными для гена 28S рРНК и фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 рДНК соответственно.

Была обнаружена внутривидовая изменчивость последовательностей рДНК *S. spasskii*. Выявлено три варианта нуклеотидных последовательностей рДНК *S. spasskii*, представляющих три разных генотипа, разли-

Таблица 3. Результаты сравнительного анализа генетической дифференциации (%) трех генотипов (Г) *Skrjabinolecithum spasskii* по данным секвенирования участка гена 28S рРНК (под диагональю) и полноразмерного фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 рДНК (над диагональю)

Вид	<i>S. spasskii</i> ГI	<i>S. spasskii</i> ГIII	<i>S. spasskii</i> ГII
<i>S. spasskii</i> ГI	–	0.90	0.65
<i>S. spasskii</i> ГIII	0.50	–	0.33
<i>S. spasskii</i> ГII	0.40	0.10	–

чающихся фиксированными нуклеотидными заменами. Генотип I обнаружен у 14 трематод, найденных в основном у пиленгасов, пойманных в реках Приморья, и у одной трематоды из лобана, пойманного в р. Раздольная. Генотип II обнаружен у семи трематод из лобана, пойманного в Тонкинском заливе у о-ва Кат Ба. Генотип III выявлен у трех трематод из пиленгасов, пойманных в р. Киевка. Дифференциация между приморскими генотипами I и III составила 0.4 и 0.65% по данным секвенирования 28S и ITS соответственно (табл. 3). Наибольшее сходство установлено между генотипами II (Вьетнам) и III (Приморье): 0.1 и 0.33% по данным секвенирования 28S и ITS соответственно. Нуклеотидные последовательности наиболее дифференцированных генотипов I и II (0.5 и 0.9% по данным секвенирования 28S и ITS соответственно) содержали 5 сайтов с фиксированными точечными заменами по 28S рДНК. Генотипы I и II по фрагменту ITS1-5.8S-ITS2 отличались по 12 сайтам с фиксированными заменами.

Топологии филогенетических деревьев, реконструированных с помощью алгоритмов максимального

правдоподобия и Байеса на основе объединенных данных секвенирования участка гена 28S рРНК и фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 *S. spasskii*, указывали на внутривидовую дифференциацию этого вида на три группы с высокой статистической поддержкой (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

В 1954 г. Е.В. Белоус в кишечнике пиленгаса *Liza haematocheila* (старое название – *Mugil soiyu*) из р. Раздольная обнаружила трематод семейства Harporidae. На основании изучения морфологии трематод ею был обоснован новый род *Skrjabinolecithum* с типовым видом *S. spasskii*. Нами трематоды этого вида также были обнаружены у пиленгасов из р. Раздольная. По метрическим показателям эти черви не отличаются от червей, описанных Е.В. Белоус (размеры червей в ее работе, вероятно, приведены по одному экземпляру) (табл. 2), однако они отличаются по ряду морфологических признаков. Согласно Е.В. Белоус, у особей *S.*

spasskii отсутствуют глазные пятна, кишечные ветви достигают середины длины тела, а семенник шарообразный. В родовом диагнозе указано на то, что у червей яйца без крышечки и мирацидий без пигментных глазков (Белоус, 1954; Overstreet, Curran 2005). Кроме того, в 2005 г. Оверстрит и Курран (Overstreet, Curran, 2005) внесли изменения в диагноз рода *Skrjabinolecithum*, указав на то, что желточники состоят из удлинённых или трубковидных фолликул. В описании Белоус (1954) желточники у трематод шнуровидные.

В нашем материале половозрелые особи *S. spasskii* имеют диффузный глазной пигмент в передней трети тела, кишечные ветви оканчиваются в районе середины задней трети тела (рис. 2А). В некоторых случаях протяженность кишечных ветвей трудно определить, так как они прикрыты желточниками. Наиболее хорошо кишечные ветви просматриваются у живых особей или у молодых червей со слабо развитыми желточниками. Черви имеют V-образный семенник (рис. 2Б); при изменении

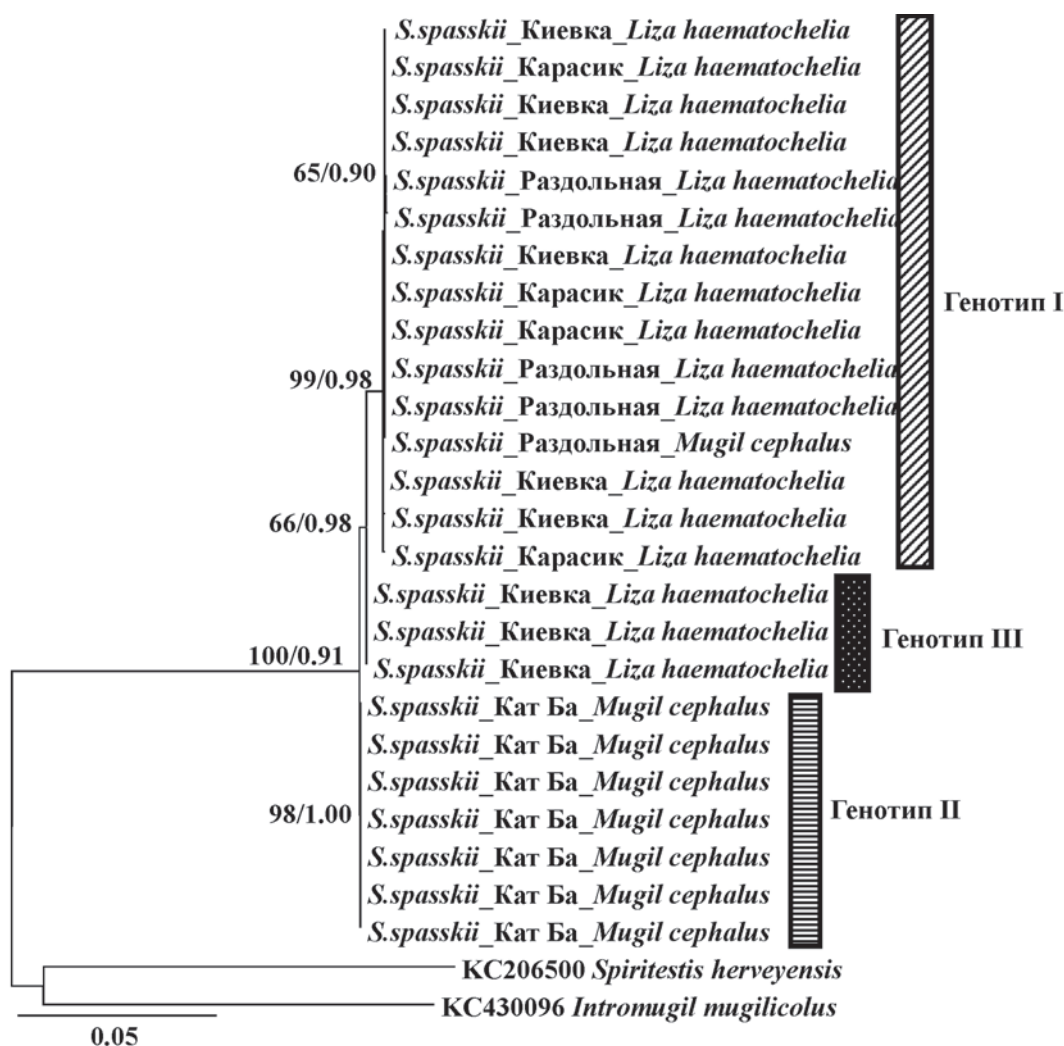


Рис. 3. Филогенетическое дерево *Skrjabinolecithum spasskii*, реконструированное на основе анализа объединенных данных секвенирования фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 рДНК и участка гена 28S рРНК. Цифры в узлах указывают значения бутстреп-поддержки/постериорных вероятностей для алгоритмов максимального правдоподобия/Байеса.

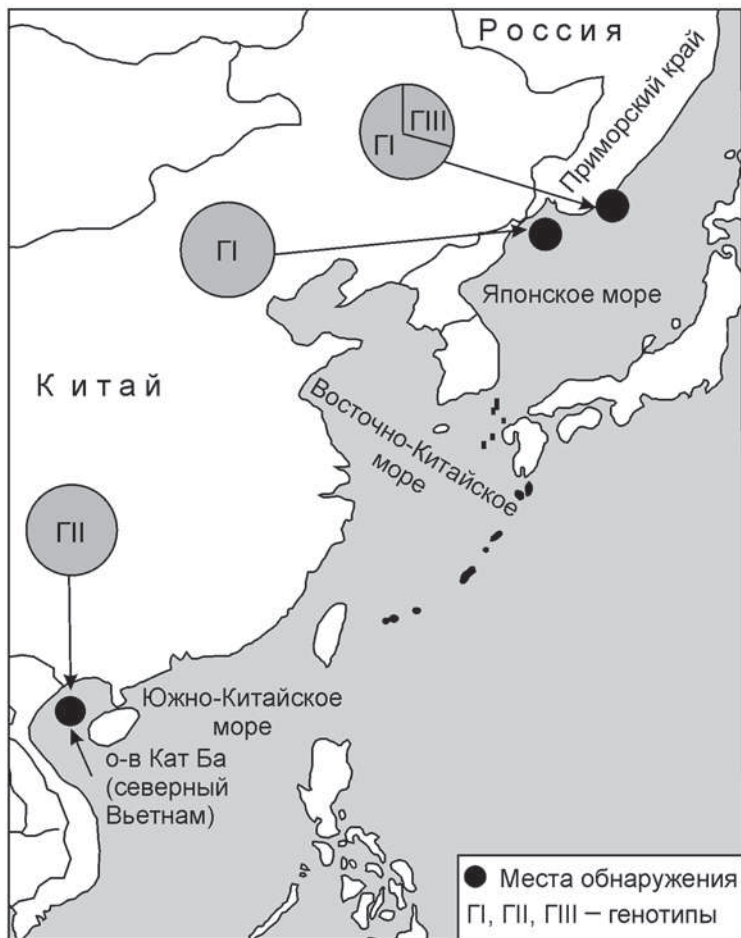


Рис. 4. Географическая локализация трематод *Skrjabinolecithum spasskii* с разными генотипами.

положения тела относительно продольной оси доли семенника могут налегать друг на друга и он выглядит круглым или овальным. Яйца имеют крышечку; находясь в матке, они еще не развиты. Развитие мирацидия происходит только после попадания яиц в воду. Мирацидии имеют пигментный глазок (рис. 2Г, Д). В то же время в нашем материале у червей имеются шнуровидные желточники, что соответствует описанию Белоус (1954).

Собранные нами в России и во Вьетнаме трематоды морфометрически идентичны (рис. 1, табл. 2). Тем не менее, у червей из разных мест выявлена внутривидовая изменчивость нуклеотидных последовательностей гена 28S рРНК и фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 рДНК. Более того, изменчивость наблюдалась у червей, собранных у одних и тех же экземпляров рыб. В результате у *S. spasskii* было выявлено три генотипа (рис. 3, 4). При этом наивысшие значения генетической дифференциации между генотипами *S. spasskii* по данным 28S рРНК (0.5%) и ITS рДНК (0.9%) были значительно ниже по сравнению с минимальными межвидовыми значениями дифференциации, полученными для трематод семейства Harpororidae (см.: Blasco-Costa et al., 2009).

В течение последних лет нами на наличие трематод было обследовано 150 рыб разных видов мугилид

из прибрежных вод северной части Вьетнама, но только один экземпляр *Mugil cephalus* (*L. haematocheila* не найден) был обнаружен в уловах рыбаков. Северное побережье Вьетнама может быть южной границей ареала макропопуляции этого вида рыб, населяющего шельфовые зоны Южно-Китайского, Восточно-Китайского, Желтого и Японского морей. Макропопуляции *M. cephalus* и *L. haematocheila* по своему составу полиморфны по структуре генотипов и распадаются на мезопопуляции, что связывают с плейстоценовыми оледенениями (Jamandre et al., 2009; Han et al., 2013). Результаты филогенетического анализа показали, что особи лобана в северо-западной Пацифике принадлежат к двум высоко дивергированным линиям: из Восточно-Китайского моря и Южно-Китайского моря. Особи, принадлежащие к обеим линиям, обнаружены в Японии (Jamandre et al., 2009). Сходные данные получены и для *L. haematocheila* (Han et al., 2013). Для лобана северной Пацифики известны две формы ("оседлая" и "кочевая"), различающиеся репродуктивным поведением (Liu, 1986; Su, Kawasaki, 1995). Наличие в структуре популяций "кочевых" форм не исключает возможность смещения особей из мезопопуляций вдоль континентальной береговой линии в пределах ареала макропопуляции. Результаты исследований (Liu,

1986; Su, Kawasaki, 1995; Jamandre et al., 2009; Han et al., 2013) позволяют предположить, что дифференциация и география генотипов *S. spasskii* (рис. 4) – паразита кишечника *M. cephalus* и *L. haematocheila* – обусловлены особенностями филогении и образа жизни их окончательных хозяев. Причиной неоднородности особей *S. spasskii*, возможно, является участие в циркуляции этого паразита в качестве первых промежуточных хозяев моллюсков разных видов, населяющих прибрежные воды в пределах рассматриваемого макроареала *M. cephalus* и *L. haematocheila*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белоус Е.В. К систематике трематод семейства Haploporidae Nicoll, 1914 // Тр. Гельминтол. лаб. АН СССР. 1954. № 7. С. 277–281.
- Blasco-Costa I., Balbuena J., Kostadinova A., Olson P. Interrelationships of the Haploporinae (Digenea: Haploporidae): a molecular test of the taxonomic framework based on morphology // Parasitol. Int. 2009. Vol. 58. P. 263–269.
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModeltest2: more models, new heuristics and parallel computing // Nat. Methods. 2012. Vol. 9. P. 772.
- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap // Evolution. 1985. Vol. 39. P. 783–791.
- Han Z.-Q., Han G., Gao T.-X. et al. Genetic population structure of *Liza haematocheilus* in north-western Pacific detected by amplified fragment length polymorphism markers // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2013. Vol. 93. P. 373–379.
- Huelsensbeck J., Ronquist F., Nielsen R., Bollback J. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology // Science. 2001. Vol. 294. P. 2310–2314.
- Jamandre B., Durand J.-D., Tzeng W. Phylogeography of the flathead mullet *Mugil cephalus* in the north-west Pacific as inferred from the mtDNA control region // J. Fish Biol. 2009. Vol. 75. P. 393–407.
- Liu C.H. Survey of the spawning grounds of gray mullet // Study on the resource of gray mullet in Taiwan 1983–1985 / Ed. W.C. Su. Kaohsiung: Taiwan Fisheries Research Inst. 1986. P. 63–72.
- Luton K., Walker D., Blair D. Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea) // Mol. Biochem. Parasitol. 1992. Vol. 56. P. 323–327.
- Overstreet R.M., Curran S.S. Family Haploporidae Nicoll, 1914 // Keys to the Trematoda / Eds A. Jones, R.A. Bray, D.I. Gibson. Wallingford, U.K.: CAB International. 2005. Vol. 2. P. 129–165.
- Pulis E., Fayton T., Curran S., Overstreet R. A new species of *Intromugil* (Digenea: Haploporidae) and redescription of *Intromugil mugilicolus* // J. Parasitol. 2013. Vol. 99. P. 501–508.
- Pulis E.E., Overstreet R.M. Review of haploporid (Trematoda) genera with ornate muscularisation in the region of the oral sucker, including four new species and a new genus // Syst. Parasitol. 2013. Vol. 84. P. 167–191.
- Su W., Kawasaki T. Characteristics of the life history of gray mullet from Taiwan waters // Fish. Sci. 1995. Vol. 61. P. 377–381.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. // Mol. Biol. Evol. 2013. Vol. 30. P. 2725–2729.
- Tavaré S. Some probabilistic and statistical problems on the analysis of DNA sequences // Lect. Math. Life Sci. 1986. Vol. 17. P. 57–86.
- Tkach V., Littlewood D., Olson P. et al. Molecular phylogenetic analysis of the Microphalloidea Ward, 1901 (Trematoda: Digenea) // Syst. Parasitol. 2003. Vol. 56. P. 1–15.
- Truett G. Preparation of genomic DNA from animal tissues // The DNA book: Protocols and procedures for the modern molecular biology laboratory / Ed. Kieleczawa J. Sudbury, Mass.: Jones and Bartlett Publ. 2006. P. 33–46.