

На правах рукописи



Матвеевко Екатерина Юрьевна

**ВИДОВОЙ СОСТАВ, РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ ФАУНЫ ПИЯВОК СЕМЕЙСТВА
PISCICOLIDAE JOHNSTON, 1865 (CLITELLATA, HIRUDINEA)
БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА**

Специальность: 1.5.12. – Зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Владивосток – 2023

Работа выполнена в лаборатории аналитической и биоорганической химии
ФГБУН «Лимнологический институт Сибирского отделения РАН», г. Иркутск

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Кайгородова Ирина Александровна

Официальные оппоненты: **Болотов Иван Николаевич**
доктор биологических наук, чл.-корр. РАН, ФГБУН
Федеральный исследовательский центр комплексного
изучения Арктики имени академика Н. П. Лаверова УрО
РАН, директор центра.

Буторина Тамара Евгеньевна

доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО
«Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет», профессор кафедры
«Экологии и природопользования»

Ведущая организация: ФГБУН «Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения РАН», г. Сыктывкар

Защита состоится «28» ноября 2023 г. в 10 часов на заседании диссертационного
совета 24.1.253.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения
науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии»
ДВО РАН по адресу: 690022 г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостока, 159.

Факс: (423) 2310-193. E-mail: info@biosoil.ru

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с заверенными подписями просим
направлять по адресу: 690022 г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостока, 159, учёному
секретарю диссертационного совета.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке ДВО РАН
и на сайте «Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной
Азии» ДВО РАН: <http://www.biosoil.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Саенко
Елена Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень её разработанности. Современный уровень познания природы и одновременно высокая скорость утраты биоразнообразия требуют детальной проработки классификации и таксономии живых организмов (Bond, Grasby 2017, Ceballos *et al.* 2015). Проблема вида была и остаётся одним из востребованных направлений исследования, имеющих фундаментальное значение, так как всестороннее изучение видовой дифференциации, существующей в природе, служит необходимой основой, на которой строятся все другие исследования биологической направленности (Aldhebiani 2018, Hey 2021). Особенно сложной задача точного разграничения видов представляется для водных беспозвоночных (Dudgeon 2006).

Пиявки (Annelida, Hirudinea), будучи неотъемлемой частью фауны водных экосистем, являются важным элементом трофических сетей (Лукин 1976, Эпштейн 1987) и перспективной группой для оценки качества и биологического мониторинга водных сред (Магомедов, Алиев 2011, Романова, Климина 2009, 2010, Черная, Ковальчук 2010, Koperski 2005, Kubova, Schenkova 2014, Федорова *и др.* 2017). Рыбы пиявки (сем. Piscicolidae), как и любые другие кровососущие паразиты, регулируют численность популяции хозяина и посредством естественного отбора поддерживают её в здоровом состоянии, с одной стороны, элиминируя нежизнеспособных особей, с другой стороны, способствуя усовершенствованию иммунитета уцелевших особей (Faisal, Schulz 2009, Pyrka *et al.* 2021, Suyanti *et al.* 2021).

На современном этапе аспекты систематики, биологического разнообразия, эволюционной истории и биогеографии пресноводных Piscicolidae остаются слабо изученными, поскольку рыбы пиявки характеризуются чрезвычайно высокой фенотипической пластичностью и дизъюктивным пространственным распределением морфологических форм, что зачастую приводит к противоречивым оценкам и затрудняет однозначное определение таксономического статуса образцов. Тем не менее изучение видового разнообразия важно для понимания текущего и исторического состояния сообществ и сохранения окружающей среды (Barley, Thomson 2016, Bickford *et al.* 2007, Butlin *et al.* 2009, Lajus *et al.* 2015). Непреходящая ценность биоразнообразия была признана на саммите Генеральной Ассамблеи ООН по проблемам Земли (Межд. конвенция о биоразнообразии, 1993), где мировое сообщество взяло обязательство по снижению темпов утраты биоты, полагаясь на комплексную оценку функциональных и филогенетических измерений биологического разнообразия.

Молекулярная таксономия, бурно развивающаяся сегодня, показывает, что номинальные виды могут насчитывать десятки морфологически идентичных, но генетически различных видов (Болбат *и др.* 2017, Шнеер, Коцербуба 2014, Bugarski-Stanojevic *et al.* 2022, Cerca *et al.* 2020, Jörger *et al.* 2012, Kon *et al.* 2007, Novo *et al.* 2010). Это явление широко распространено среди всех типов животных (Poulin *et al.* 2017). Криптические виды вносят существенный вклад в глобальное видовое богатство (Trontelj, Fišer 2009), однако они редко получают официальный статус, оставаясь неописанными, и потому недоступными для природоохранной практики (Pante *et al.* 2015). Следовательно,

формальное наименование морфологически скрытых видов имеет решающее значение для их учёта (Delić *et al.* 2017, Jörger, Schrödl 2013).

Для повышения эффективности таксономической идентификации образцов востребованы методики, универсальные для всех организмов, не требующие углублённого изучения морфологии видов, позволяющие сохранить редкие образцы коллекции в целостности. Такой подход, сокращая время анализа, расширяет его возможности и делает изучение биоразнообразия более доступным для широкого круга специалистов. Современный уровень развития молекулярно-генетических методов исследования и биоинформационного анализа позволяет получить недостижимый ранее объём данных о филогенетическом разнообразии фауны и значительно повысить достоверность зоологических исследований.

Цели и задачи. Целью данной работы является выявление общих закономерностей формирования и распределения современного биоразнообразия рыбных пиявок в пресных водоёмах Байкальского региона.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить таксономический состав фауны пресноводных рыбных пиявок Байкальского региона.
2. Реконструировать эволюционную историю фауны пресноводных рыбных пиявок и её отдельных таксонов на основе анализа молекулярных данных по разным участкам генома.
3. Используя современные методы молекулярной делимитации видов, определить филогенетическое разнообразие фауны рыбных пиявок Байкальского региона.
4. Изучить экологические особенности и уточнить трофические связи исследуемых видов.
5. Провести реконструкцию пространственного распределения рыбных пиявок и определить биогеографические границы видов.

Научная новизна. Впервые получен обширный фактический материал о фаунистической структуре пресноводных рыбных пиявок Байкальского региона, проанализированный с применением комплексного подхода, включающего морфологические, молекулярно-генетические и биоинформационные методы. Анализ полученного материала показал присутствие в фауне Байкала и Прибайкалья 15 видов пиявок, 10 из которых найдены впервые и представляют новые для науки виды. Применение техники ДНК-штрихкодирования и биоинформационных методов молекулярной делимитации позволило выявить и диагностировать виды трёх криптических комплексов эндемичных байкальских видов рыбных пиявок. Кроме того, обнаружены новые виды, обитающие в пресных водоёмах европейской части России и антарктических морях. Для всех видов Байкальского региона уточнены паразитологические характеристики, включая распространённость и интенсивность инвазии эктопаразитов, а также особенности экологии и трофических взаимодействий. Впервые паразитические пиявки выявлены на эндемичном байкальском омуле, который

является основным промысловым видом региона. В рамках филогеографического анализа получены новые сведения о пространственном распределении видов, что позволило впервые в истории изучения группы выявить викарирующие виды рода *Piscicola*. По итогам исследования впервые сделаны обобщающие выводы по систематике, эволюции и филогеографии представителей сем. Piscicolidae в пресных водоёмах и водотоках Байкальского региона.

Теоретическая и научно-практическая значимость работы. Результаты комплексного подхода при изучении морфологии, филогении, экологии и биогеографии представителей сем. Piscicolidae, применённого в диссертационном исследовании, вносят ясность в понимание путей и механизмов формирования биоразнообразия фауны и локальных фаунистических комплексов рыбных пиявок. Полученные данные внесли вклад в международный банк зоологических данных, а также существенно дополнили международные базы генетических последовательностей (72% от общего количества данных по Piscicolidae), что послужит основой для конструирования идентификационных систем с использованием молекулярных данных. Приведённые в работе морфологические описания и фотоиллюстрации, данные о биологическом разнообразии и распространении видов могут быть использованы для составления определителей, аннотированных таксономических списков и региональных фаунистических кадастров. Полученные сведения о морфологии видов, их паразитологических и экологических особенностях, включая данные о видовом разнообразии сообществ могут представлять интерес для фаунистов, гидробиологов, экологов и специалистов по аквакультуре, а также могут быть использованы в учебном процессе при подготовке специалистов по зоологии, экологии и охране природы.

Положения, выносимые на защиту:

1. Применение методов молекулярной делимитации видов в комплексе с классическим морфологическим анализом позволяет достоверно определить границы видов и существенно расширить состав фаунистического комплекса рыбных пиявок Байкальского региона.
2. Бóльшая часть биологического разнообразия пресноводных рыбных пиявок Байкальского региона представлена криптическими и эндемичными видами, таксономическое определение которых возможно только с помощью комплексного подхода, включающего морфо-экологические и молекулярно-генетические методы анализа.

Соответствие паспорту специальности. Диссертационная работа соответствует направлениям исследований, указанным в пп. 1,4,5 и 8 Паспорта научной специальности 1.5.12 «Зоология», поскольку посвящена систематике, классификации, морфологии и генетике животных (п. 1); зоогеографии, филогеографии, фаунистике и истории формирования фауны (п. 4); экологии и видовому разнообразию исследуемой группы (п. 5); характеристике заболеваний, вызванных паразитическими животными (п. 8).

Личный вклад соискателя. Автором выполнены основные этапы исследования:

сбор проб рыбьих пиявок (частично), морфологический анализ, экстракция тотальной ДНК, амплификация и очистка фрагментов митохондриального и ядерного геномов, филогенетический анализ, биоинформационный анализ, а также подготовка и публикация полученных результатов. Выводы сделаны на основе собственных данных.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на конференциях: «Развитие физико-химической биологии и биотехнологии на современном этапе», Иркутск, 2013; Международный симпозиум по биологии и менеджменту сиговых рыб, Листвянка-Иркутск, 2014; «Современные вопросы экологического мониторинга водных и наземных экосистем», Ростов-на-Дону, 2015; «Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее», Горно-Алтайск, 2016; «Биоразнообразие: глобальные и региональные процессы», Улан-Удэ, 2016; «Рыбохозяйственные исследования на внутренних водоёмах», Санкт-Петербург, 2016; «Водные ресурсы: изучение и управление» (лимнологическая школа-практика), Петрозаводск, 2016; «Системная биология и Биоинформатика (SBB-2020)», Ялта-Севастополь, 2020; «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии», Улан-Удэ, 2021; «Чтения памяти В. И. Жадина»: к 125-летию со дня рождения, Санкт-Петербург, 2022.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных изданиях, включённых в список ВАК РФ, и приравненных к ним зарубежных и российских журналах систем «Сеть Науки» и «Скопус», 1 статья в журнале, входящем в систему РИНЦ, и 10 статей в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумах.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы и 7 приложений. Работа изложена на 175 страницах, содержит 41 рисунок и 15 таблиц. Список цитируемой литературы включает 247 источников, из которых 191 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает благодарность научному руководителю за чуткое руководство на всех этапах выполнения диссертационной работы. Отдельная признательность к.б.н. Батуриной М. А. (ИБ Коми НЦ, Сыктывкар), к.б.н. Федоровой Л. И. (СГУ, Сургут), д.б.н. Книжину И. Б. (ИГУ); д.б.н. Пронину Н. М. (ИОЭБ, Улан-Удэ), к.б.н. Купчинскому А. Б. (БМ, Листвянка), коллегам из ЛИН СО РАН к.б.н. Перетолчиной Т. Е., д.б.н. Ситниковой Т. Я., к.б.н. Дзюба Е. В., к.б.н. Сухановой Л. В. и Аношко П. Н., а также жителям Иркутска Агееву М. А., Лазареву М. И. и Кирильчик О. Н. за бесценный вклад в коллекцию образцов рыбьих пиявок; к.б.н. Механиковой И. В. за помощь в идентификации амфипод; Сорокиной Н. В. за ценные советы по работе с ДНК. Особая благодарность к.б.н. Болбату А. В. (ЦСП ФМБА, Москва) за консультации по методам биоинформационного анализа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках грантов № 11-04-01394, 12-04-10007, 14-04-00345, 17-2905097 и 20-34-90043.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА

В данной главе содержится основная физико-географическая характеристика Байкальского региона. Приводится информация о географическом положении и рельефе, климатических условиях региона, а также освещены гидрологические и гидрохимические характеристики озёр Байкал, Хубсугул, Гусиное и рек Ангара, Селенга, Баргузин. Отмечены природные изменения и антропогенное влияние на водную экосистему исследуемого региона.

ГЛАВА 2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В разделе 2.1 приведена информация о современном состоянии знаний о фауне пиявок сем. Piscicolidae (Annelida, Clitellata, Hirudinea). Обобщены научные работы, посвящённые изучению семейства Рыбных пиявок на основе описаний как морфологических признаков, так и молекулярно-генетических характеристик. Представлена общая характеристика Piscicolidae в контексте истории изучения представителей семейства. Рассмотрены морфо-анатомические особенности и зоогеография рыбных пиявок. Впервые, обобщив собственные данные и материалы работ других исследователей, раскрыта роль рыбных пиявок в пресноводных экосистемах. Выявлены основные проблемы классификации в пределах семейства рыбных пиявок.

В разделе 2.2 собраны сведения о теоретических основах биологического разнообразия и рассмотрены современные методы делимитации таксонов, основанные на молекулярных данных с применением биоинформационных подходов их анализа. Представлены основные концепции вида. Затронута проблема разграничения криптических комплексов видов, выделены основные моменты современного понимания термина «криптический вид» и «криптический видовой комплекс». В разделе освещены современные представления о биоразнообразии в целом и преимуществах использования критериев филогенетического разнообразия в зоологической науке.

ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сбор материала. В работе использован коллекционный материал, собранный в период 1996-2022 гг. Рыбные пиявки были отобраны в количестве 2502 экз. в различных водоёмах и водотоках Восточной Сибири. Образцы пиявок собраны по всему озеру Байкал (рис. 1): Северный Байкал (м. Слюдянский, Онокочанская губа, Богучанская губа, Дагарская губа); Средний Байкал (в районе Ушканьих островов, Чивыркуйский залив, Баргузинский залив, Селенгинское мелководье, Посольский сор, Горевой Утёс); Южный Байкал (б. Песчаная, б. Листвяничная, б. Варначка, в районе п. Б. Голоустное, п. Выдрино и г. Слюдянка, побережье вдоль Кругобайкальской железной дороги). Наиболее подробно были обследованы пролив Малое Море и Чивыркуйский залив. За пределами Байкала сборы пиявок проведены в бассейне Ангары (р. Ангара, Иркутское и Братское водохранилища, р. Иркут); в бассейне Селенги (р. Селенга, оз. Гусиное, оз. Хубсугул), в бассейне Баргузина (р. Баргузин, р. Ина) (рис. 1). Дополнительный

материал получен из европейской части России (Ростовская область: р. Дон, р. Темерник, Северное вдхр.; Республика Коми: р. Печора, оз. Головка), Восточного Казахстана (р. Иртыш, Бухтарминское вдхр.) и морей, омывающих берега Антарктиды.

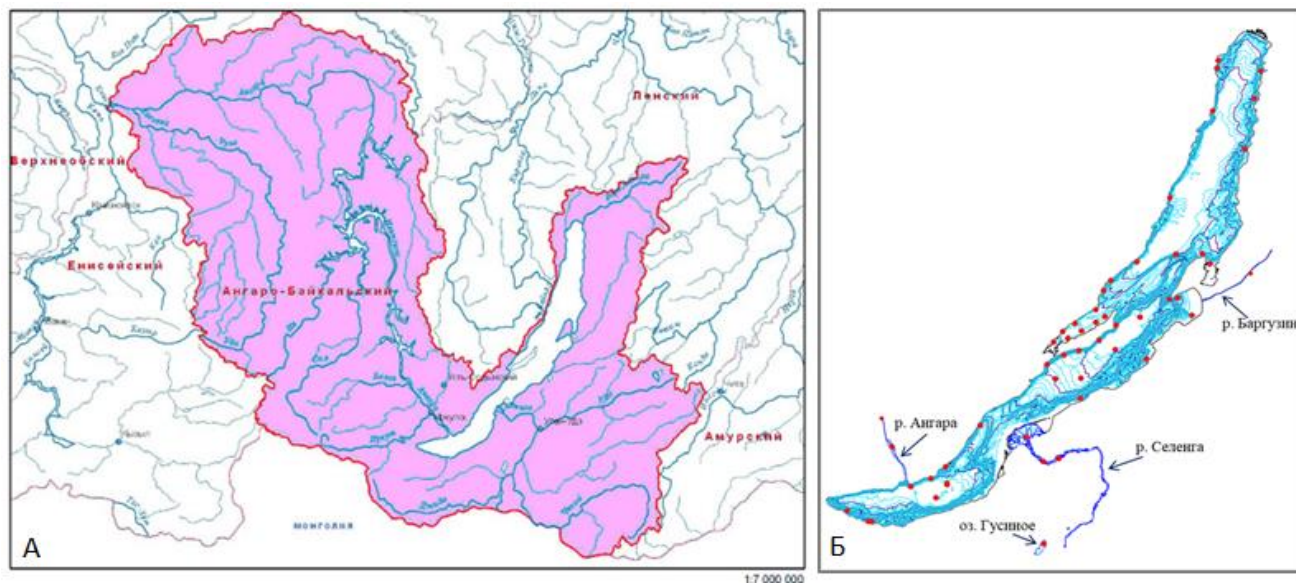


Рисунок 1 – География отбора проб. А) Карта-схема Ангаро-Байкальского бассейнового округа. Б) Карта-схема отбора проб в Байкале и Прибайкалье. Красным отмечены точки сбора материала.

Сбор материала осуществляли с помощью гидробиологического оборудования (трал, драга, скребок, рыболовные сети), а также вручную с грунта и различных подводных объектов у берега (водная растительность, камни, коряги, полиэтилен и др.). В 2009-2010 гг. были использованы возможности глубоководных обитаемых аппаратов «Мир-1» и «Мир-2». Для фотодокументации прижизненной окраски и внешней морфологии пиявок и их хозяев использовали фотокамеру Nikon D700, оснащённую макрообъективом. Весь биологический материал был зафиксирован 80% раствором этанола. Коллекция хранится при температуре $-18-20^{\circ}\text{C}$ в лаборатории аналитической и биоорганической химии ЛИН СО РАН, Иркутск.

Камеральная обработка и морфологический анализ. Учёт количества образцов, описание их морфометрических и морфологических характеристик проводили в лабораторных условиях согласно общепринятым методикам (Абакумов 1992). Для морфологического анализа использовали стереомикроскоп WILD M4C-61, бинокулярный микроскоп Axiostar плюс (Carl Zeiss MicroImaging GMB) и растровый электронный микроскоп Quanta 200 (FEI Company). Видовую принадлежность пиявок и их хозяев определяли согласно существующим таксономическим ключам (Лукин 1976, Решетников и др. 2003, Тахтеев 2000, Эпштейн 1987, Nesemann, Neubert 1999, Sawyer 1986) в соответствии с современной классификацией соответствующей группы.

Выделение и секвенирование ДНК. Геномную ДНК экстрагировали цетавлоном, следуя общепринятой методике (Doyle, Dickson 1987) и с помощью ионообменных колонок (DiaGene) согласно инструкции производителя. Для манипуляций с ДНК использовали мышечную ткань каудальных присосок размером около $0,5\text{ мм}^3$.

Амплификация маркерных фрагментов генома. Фрагменты митохондриального (*cox1* и *12S* рРНК) и ядерного (*18S* рРНК и *28S* рРНК) геномов были выбраны в качестве генетических маркеров для филогенетического анализа. Амплификацию *cox1* проводили с использованием праймеров, универсальных для большинства беспозвоночных (Folmer *et al.* 1994) и набора реактивов на основе таq-полимеразы фирмы «Литех» (Москва). Профиль ПЦР: предварительная денатурация денатурация при 94°C в течении 1 мин.; 30 циклов, включающих денатурацию (30 сек. при 94°C), отжиг праймеров (1 мин. при 43°C) и достройку (1 мин. при 72°C); финальная достройка комплементарной цепи при 72 °C в течении 7 мин. Амплификацию *12S*, *18S* и *28S* проводили аналогично, за исключением используемых праймеров, температуры их отжига и времени финальной достройки. ПЦР проводили в термоциклере «БИС М-120» (ООО "БИС-Н", Новосибирск). Детекцию и очистку ампликонов проводили с помощью агарозного гель-электрофореза. Для элюции искомого ПЦР-продукта использовали метод высокоскоростного центрифугирования. Секвенирование ПЦР-продуктов проводили в ЦКП «Геномика» (Новосибирск) и НПФ «Синтол» (Москва).

Биоинформационный анализ. Редактирование автоматически прочитанных нуклеотидных последовательностей осуществляли в программе BioEdit (Hall 1999). Для подбора группы сравнения использовали поиск базового локального сходства BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) для каждого маркерного фрагмента. На основе результатов поиска сформировали консенсусную базу нуклеотидных последовательностей, включая генетические данные из GenBank. Выравнивание наборов последовательностей проводили с помощью ClustalW (Larkin *et al.* 2007). Реконструкцию эволюционной истории рыбных пиявок Байкальского региона выполняли на основе каскадно сцепленных маркерных фрагментов (*cox1*, *12S*, *18S*, *28S*) с использованием байесовского метода, реализованного в пакете BEAST v.1.8.4. (Bouckaert *et al.* 2014), и эволюционных моделей, предложенных программой jModelTest 2 (Darriba *et al.* 2012). Альтернативный филогенетический анализ на основе *cox1* проводили методом NJ (neighbor-joining) из пакета MEGA11 (Tamura *et al.* 2021).

Молекулярную делимитацию видов проводили на основе нуклеотидных последовательностей *cox1* как стандартного фрагмента генома, применяемого для ДНК-штрихкодирования (ДНК-ШК) многоклеточных животных (Hebert *et al.* 2003a) с использованием разных биоинформационных подходов: стандартизированная техника ДНК-ШК (Hebert *et al.* 2003b, 2005, 2016) и общий смешанный коалесцентный метод Йоля (GMYC) (Pons *et al.* 2006) и сборка видов посредством автоматического разделения (ASAP) (Puillandre *et al.* 2021).

Паразитологический анализ выполняли, используя методику паразитологического осмотра рыб (Барская и др. 2008). Для оценки заболеваемости рыб и амфипод писциколёзом и бделлёзом применяли общепринятые паразитологические показатели, такие как экстенсивность инвазии, интенсивность инвазии, индекс обилия эктопаразитов, которые оценивали с помощью программы QP 3.0 (Reiczigel *et al.* 2019).

ГЛАВА 4. ВИДОВОЙ СОСТАВ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ ФАУНЫ РЫБЬИХ ПИЯВОК БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА

4.1. Морфологическое разнообразие фауны

В данном разделе описаны основные морфологические характеристики рыбьих пиявок исследуемого региона. В результате морфологического анализа в регионе было зарегистрировано 9 видов писциколид, относящихся к пяти родам: *Acipenserobdella* Epstein, 1969, *Baicalobdella* Dogiel, 1957, *Codonobdella* Grube, 1873, *Cystobranchnus* Diesing, 1859 и *Piscicola* de Blainville, 1818 (рис. 2).

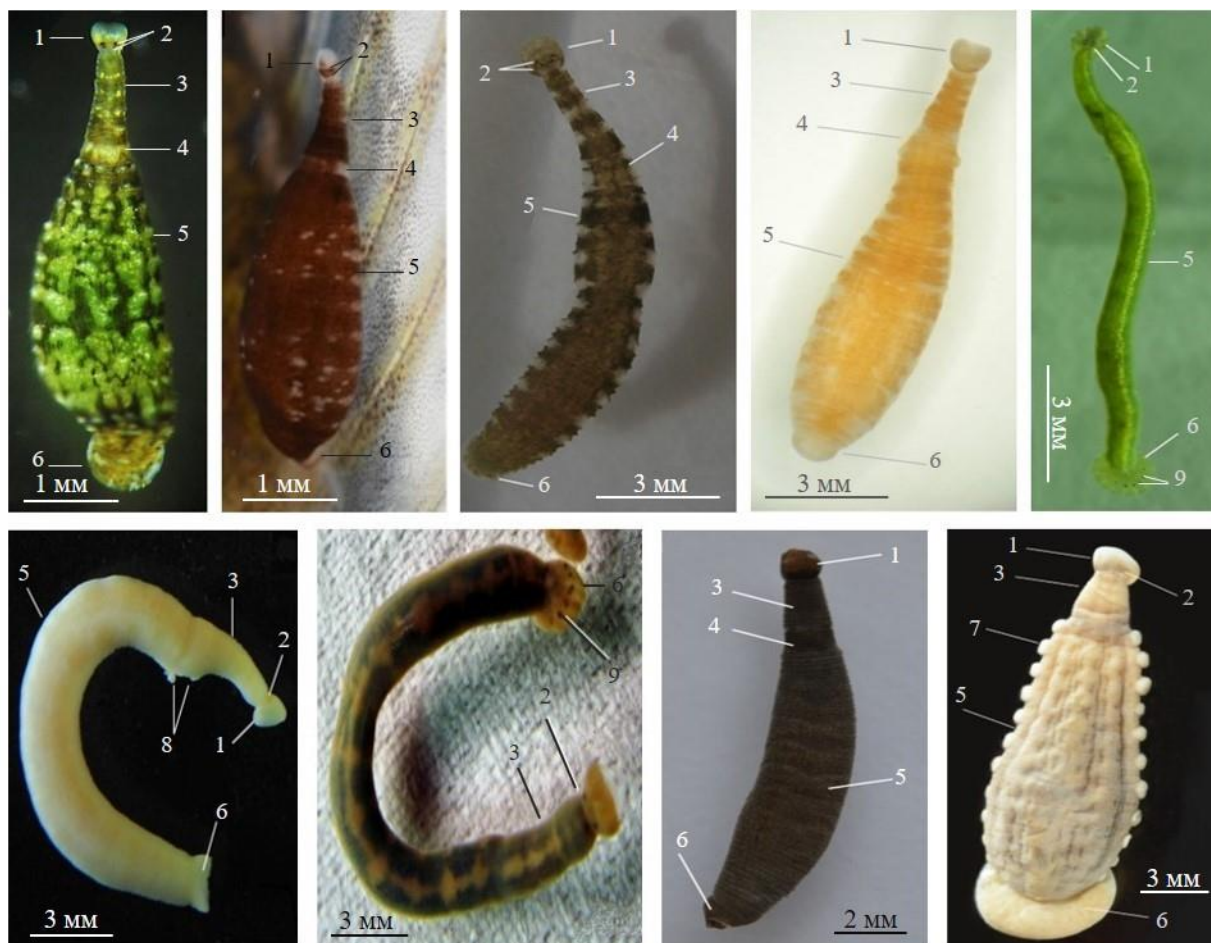


Рисунок 2 – Морфологическое разнообразие фауны пиявок Байкальского региона. Верхний ряд слева направо: *Baicalobdella torquata*, *B. cottidarum*, *Codonobdella tenebris* sp. nov., *C. rufulus* sp. nov. и *Piscicola sibirica*; нижний ряд слева направо: *Codonobdella truncata*, *Piscicola khubsugulensis*, *Acipenserobdella sibirica* sp. nov. и *Cystobranchnus mammilatus*. Числовые обозначения: 1 – передняя присоска; 2 – две пары глаз; 3 – трахелосома; 4 – область пояса; 5 – уросома; 6 – задняя присоска; 7 – боковые пузыри; 8 – мужские и женские половые отверстия; 9 – глазоподобные пятна.

Виды, обитающие в оз. Байкал: *Baicalobdella torquata* (Grube, 1871), *B. cottidarum* Dogiel, 1957, *Codonobdella truncata* (Grube, 1873), *C. rufulus* sp. nov., *C. tenebris* sp. nov. и *Piscicola sibirica* Kaygorodova, 2023.

Виды, обитающие в реках и озёрах Прибайкалья: *Acipenserobdella sibirica* sp. nov., *Cystobranchnus mammilatus* (Malm, 1863), *Piscicola khubsugulensis* Kaygorodova, 2023 и

P. sibirica Kaygorodova, 2023.

Два вида *Codonobdella zelenskiji* (Finogenova, 1991) и *Acipenserobdella volgensis* (Zykoff, 1903), указанные в фаунистических списках Байкала и Прибайкалья, в нашей коллекции отсутствуют. Вид *A. volgensis*, паразитирующий на осетровых рыбах, в нашей коллекции отсутствует, вероятно, по причине недоступности рыбы-хозяина, что не отрицает факта его обитания в водоёмах исследуемого региона. Вид *C. zelenskiji* признан *nomen nudum*, поскольку в его описании отсутствует информация о диагностических признаках вида, что препятствует дифференциации данного таксона, что идёт вразрез со ст. 13 МКЗН.

В ходе морфологического анализа не подтвердилось присутствие в Восточной Сибири пиявок вида *Piscicola geometra* (Linnaeus, 1761), однако этот вид был выявлен в коллекции из Ростовской обл. и Восточного Казахстана. Образец из Харбейских озёр отнесён к новому виду *Piscicola nordica* Kaygorodova, 2023.

4.2. Филогенетическое разнообразие

Для определения эволюционного положения пиявок Байкальского региона реконструированы филогенетические деревья на основе набора, включающего нуклеотидные последовательности четырёх независимых участков генома: фрагменты митохондриальных генов *cox1*, *12S* рРНК и ядерных генов *18S* рРНК и *28S* рРНК. Общая длина конкатенированного набора составила 3324 н.п. Байесовское древо (рис. 3) выведено с использованием эволюционных моделей, оптимальных для каждого фрагмента генома (GTR+G+I для *cox1*, GTR+G для *12S*, K2+G+I для *18S* и *28S*).

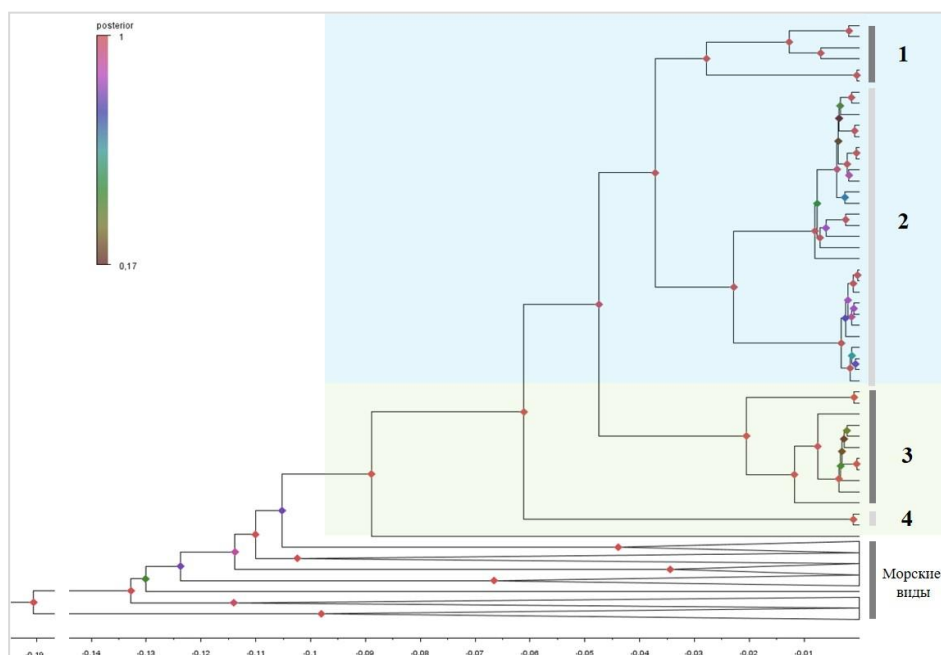


Рисунок 3 – BI-филогения на основе *cox1*, *12S*, *18S* и *28S*: 1 – «*Baicalobdella cottidarum*» и «*Codonobdella* spp.»; 2 – «*Baicalobdella torquata*»; 3 – виды рода *Piscicola*; 4 – *Acipenserobdella sibirica*. Голубым фоном выделены эндемики оз. Байкал, светло-зелёным – образцы из других пресных водоёмов. Апостериорные поддержки узлов древа имеют цвет в соответствии с тепловой картой (слева).

Филогенетические линии рыбных пиявок Байкала и Прибайкалья формируют четыре больших кластера в пределах монофилетической группы пресноводных пиявок, соответствующих, по-видимому, родам *Acipenserobdella*, *Baicalobdella*, *Codonobdella* и *Piscicola*. NJ-древо на основе 316 *cox1* (647 п.н.) рыбных пиявок демонстрирует характер кластеризации байкальских образцов полностью идентичный тому, что получен при анализе конкатенированного набора, состоящего из четырёх генов (3324 п.н.).

Нахождение в GenBank 72 последовательностей в качестве группы сравнения для *cox1* в отличие от данных по *12S* (18), *18S* (43) и *28S* (17) позволило провести более достоверный анализ филогенетических взаимоотношений видов в пределах *Piscicolidae* и, как следствие, предположить таксономический статус пиявок, трудно идентифицируемых морфологически. Подтвердилась принадлежность пиявок, паразитирующих на лососевых рыбах в реках Ангара, Баргузин и Селенга, к роду *Acipenserobdella*, а также показана их близкая филогенетическая связь с образцами *A. volgensis* из Москва-реки (Bolotov *et al.* 2022). Морская пиявка, обитающая в водах Антарктики, наиболее близка к виду *Pterobdella vernadskyi* Utevsky *et al.*, 2021.

4.3. ДНК-штрихкодирование и молекулярные паспорта видов

Разграничение видов на основе молекулярных данных. Стандартизированная техника ДНК-ШК, применяемая для идентификации большинства видов многоклеточных животных, базируется на использовании нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *cox1* длиной 648 п.н. и предполагает 2-3% порог внутривидового полиморфизма в этом фрагменте генома (Hebert *et al.* 2003a,b, 2005, 2016). Анализируя генетические дистанции (p) с учётом постулатов теории ДНК-ШК, выяснили, что в группе пресноводных рыбных пиявок, куда входят все виды Байкальского региона, внутривидовой генетический полиморфизм варьирует в установленных ДНК-ШК пределах и составляет 0,22-2,06%, за исключением четырёх байкальских эндемичных видов. Показатель генетической вариабельности морфовидов *B. torquata* (p=5,01%), *B. cottidarum* (p=4,68%) и *C. truncata* (p=7,58%) превышает уровень, допустимый для внутривидовых значений (p), что свидетельствует о генетической неоднородности этих групп и наличии внутри каждой из них от двух до четырёх криптических (морфологически неразличимых) видов что подтверждает порядок кластеризации образцов на филогенетическом древе (рис. 3 и 4А). Остальные представители фауны пресноводных пиявок образуют генетически однородные видовые группы.

Генетические расстояния между группами рыбных пиявок видового ранга варьируют в пределах 1,6-21,2%. Минимальное значение генетической дистанции выявлено между европейской *A. volgensis* и восточно-сибирскими пиявками *A. sibirica*, паразитирующими на лососевых рыбах в реках Ангара, Баргузин и Селенга. Несмотря на близкое филогенетическое положение и низкий уровень генетических различий, эти пиявки отличаются друг от друга морфологически. Слабая генетическая разделённость этих видов может быть обусловлена эффектом возвратных мутаций при перенасыщении замен нуклеотидов у видов с высокой скоростью эволюции. Виды рода *Acipenserobdella* на 8,7-9,1% генетически отличаются от ближайшего эволюционного соседа *Caspiobdella*

fadejewi (Epstein, 1961) (рис. 4Б).

В монофилетической группе рода *Piscicola* межвидовые генетические дистанции составляют 2,6-6,4%. Пиявки *P. khubsugulensis* из монгольского оз. Хубсугул и *P. sibirica* из разных водоёмов Байкальского региона имеют генетические отличия с типовым видом рода на 5,6 и 6,4% соответственно. В парах *Piscicola sibirica* / *P. milneri* (Verrill, 1871) и *Piscicola khubsugulensis* / *P. milneri* наблюдаются генетические расстояния в пределах 3%, что не позволяет с уверенностью различить эти виды, хотя морфологические признаки свидетельствуют о их независимом видовом статусе.

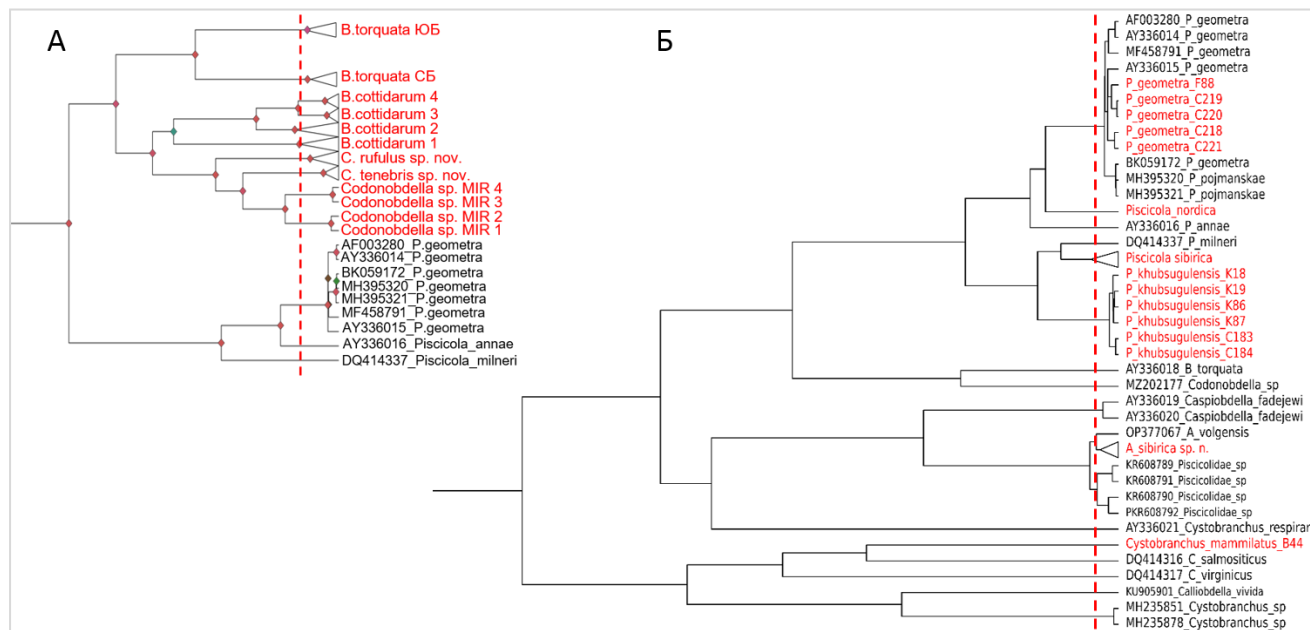


Рисунок 4 – Молекулярная делимитация видов рыбьих пиявок Байкальского региона. А – фрагмент VI-филогении видов-эндемиков оз. Байкал. Б – фрагмент VI-филогении внебайкальских видов. Красным выделены названия образцов, полученных в этом исследовании. Пороговое значение, разграничивающее внутри- и межвидовую вариабельность, вычислено с помощью GMYC (Pons *et al.* 2006) и показано красной пунктирной линией.

Генетические расстояния между 8 филогенетическими линиями эндемичных байкальских видов входящих в состав трёх криптических комплексов, колеблются в пределах 9,5-17,2%, что позволяет идентифицировать каждую из этих линий как истинный вид, не различимый морфологически от других представителей своего комплекса, однако накопивший достаточное количество нуклеотидных замен для признания видового статуса.

Образцы *Piscicola geometra* из бассейнов рек Дон и Иртыш демонстрируют близкое генетическое родство с другими представителями вида ($p=0,39-0,79\%$). Обитающая на Русском Севере мелкая рыба пиявка *Piscicola nordica* генетически отличается от сестринских видов на 3,9-6,1%, что согласно ДНК-ШК подтверждает её видовую аутентичность. Пиявка из Антарктики имеет наименьшие генетические различия с видом *Pterobdellina vernadskyi* ($p=9,18\%$), что может свидетельствовать о её принадлежности к этому роду, но не виду.

Биоинформационное разграничение видов. В настоящее время появились

методики автоматизации поиска пороговых значений и штрих-кодовых разрывов. Наиболее популярными из них являются GMYC (Pons *et al.* 2006) и ASAP (Puillandre *et al.* 2021), использующие разный подход к делимитации видов. Применительно к набору байкальских эндемичных видов рыбных пиявок алгоритмом GMYC выявлено 10 видов в составе филогенетических линий «*Baicalobdella torquata*» (2 вида), «*Baicalobdella cottidarum*» (4 вида), «*Codonobdella truncata*» (2 вида: на рис. 4 указаны как *Codonobdella* sp. MIR 1-2 и *Codonobdella* sp. MIR 3-4), также двух видов *Codonobdella rufulus* и *C. tenebris* (рис. 4). Пороговое значение, разделяющее внутри- и межвидовые процессы, составило 1,89% нуклеотидных замен (табл. 1).

Таблица 1 – Сравнение результатов делимитации видов рыбных пиявок Байкальского региона, полученных разными методами

Параметр	Морфология	p-дистанция	GMYC	ASAP
Байкальские эндемичные писциколиды				
Пороговое значение	-	0,020	0,0189	0,0304
Количество видов	5	10	10	9-10
Внебайкальские писциколиды				
Пороговое значение	-	0,020	0,0210	0,0169
Количество видов	16 (4*)	16 (5*)	16 (5*)	16 (5*)
Всего видов	21 (9*)	26 (15*)	26 (15*)	25-26 (14-15*)

*виды Байкальского региона

Анализ набора небайкальских образцов обнаружил 16 групп видового ранга, в том числе 5 видов из Байкальского региона, что согласуется с результатами как морфологического анализа, так и классического ДНК-ШК на основе генетических дистанций. Пороговое значение, разделяющее внутривидовые и межвидовые процессы, составило 2,10% (рис. 4, табл. 1). Следовательно, подтверждается морфологическая идентификация и таксономический статус видов *P. sibirica*, *P. khubsugulensis* и *P. milneri*, имеющих небольшие межвидовые дистанции (не более 3%), а также независимая видовая принадлежность прибайкальских пиявок *A. sibirica* sp. nov.

Альтернативный подход к молекулярному разграничению видов с использованием алгоритма ASAP (Puillandre 2021) при анализе набора нуклеотидных последовательностей *cox1* рыбных пиявок, обитающих вне оз. Байкал, показал полное совпадение с результатами, полученными другими методами на основе морфологических и молекулярных признаков, включая ДНК-ШК и GMYC. Порог между внутри- и межвидовой вариабельностью составил 1,69% (табл. 1, рис. 5), что подтверждает статус пяти новых для науки видов, обнаруженных в ходе диссертационного исследования: *Acipenserobdella sibirica* sp. nov., *Piscicola sibirica*, *P. khubsugulensis*, *P. nordica* и *Pterobdellina* sp. Кроме того, подтверждена видовая принадлежность рыбных пиявок из Европы (бассейн Дона) и Западной Сибири (бассейн Иртыша) к виду *Piscicola geometra*, а пиявки из Печоры – к *Cystobranchnus mammilatus*.

Что касается байкальской фауны сем. Piscicolidae, ASAP анализ подтвердил

наличие в оз. Байкал трёх криптических комплексов: «*Baicalobdella torquata*», «*Baicalobdella cottidarum*» и «*Codonobdella truncata*», а также двух новых видов рода *Codonobdella* (*C. rufulus* и *C. tenebris*), различающихся морфологически.

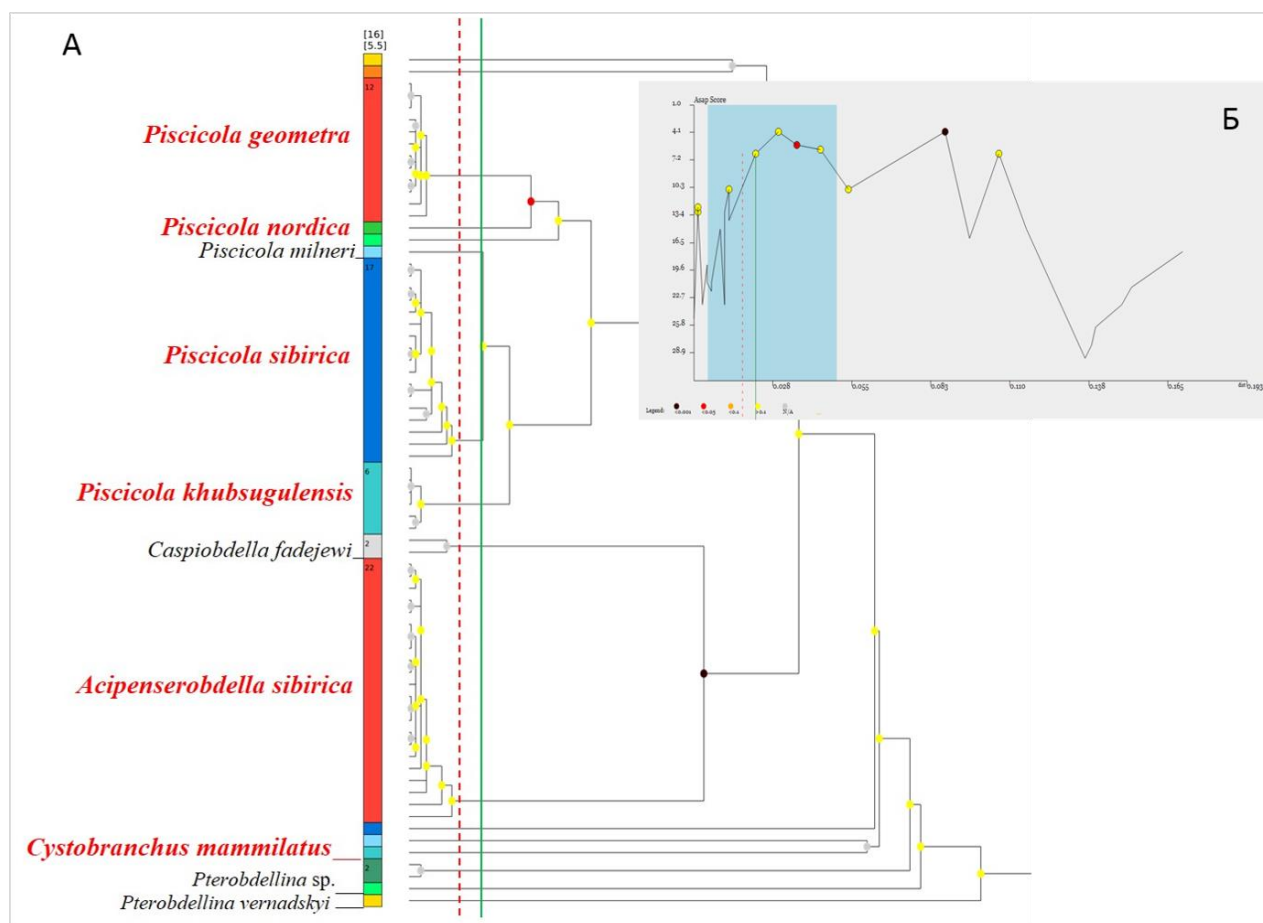


Рисунок 5 – Разграничение видов в группе пресноводных рыбных пиявок с помощью алгоритма ASAP (Puillandre *et al.* 2021). А – Схема кластеризации последовательностей. Зелёная линия показывает пороговое значение, пунктирная красная – доверительный интервал. Б – Пороговое значение для набора данных внебайкальских пиявок.

Алгоритм программы ASAP предоставил на выбор исследователя два варианта – 3 или 4 вида в составе криптической группы «*Baicalobdella cottidarum*» (см. Приложение 6 в тексте диссертации). Приняв во внимание результаты двух других методов молекулярной делимитации, однозначно определивших 4 вида в пределах этой группы, мы склонны согласиться с результатами классического ДНК-ШК и GMYC и остановиться на том варианте ASAP, который указывает на 4 вида. Таким образом, показано, что байкальские образцы формируют 10 групп видового ранга. Пороговое значение, разделяющее внутри- и межвидовые генетические дистанции, составило 3,04%, что несколько выше, полученного методом GMYC (табл. 1).

Полученные результаты, свидетельствуют в пользу молекулярного подхода к видовой делимитации, позволившего выявить в фауне рыбных пиявок Байкальского региона на 5 видов больше по сравнению с классическим морфологическим подходом.

Молекулярные паспорта видов представляют собой уникальные ДНК-

штрихкоды, используемые в качестве идентификатора. В этой работе получены такие паспорта для всех видов фауны Байкальского региона, за исключением *Codonobdella zelenskiji* nom. nud. Дополнительно сформированы молекулярные паспорта для *Piscicola geometra* (типовой вид рода) и нового палеарктического вида *P. nordica*.

На основе полученных ДНК-штрихкодов выявлены диагностические признаки номинальных видов и даны описания 5 фенотипически не различимых видов: *Baicalobdella izhimeica* sp. nov. (8 уникальных признаков), *Baicalobdella barguzinica* sp. nov. (13 уникальных признаков), *Baicalobdella jakshakanensis* sp. nov. (16 уникальных признаков), *Baicalobdella torquatoides* sp. nov. (46 уникальных признаков) и *Codonobdella abyssalis* sp. nov. (60 уникальных признаков). Молекулярно-генетические различия байкальских эндемичных видов варьируют в пределах 4-60, тогда как номинальных видов, обитающих вне озера, базируются на 7-28 диагностических признаках. Следовательно, морфология генома может использоваться в качестве критерия идентификации видов сем. Piscicolidae. Более широкий диапазон генетических отличий у видов-эндемиков Байкала может свидетельствовать о их недавней и, вероятно, продолжающейся в современный период радиации.

ГЛАВА 5. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ТРОФИЧЕСКИЕ СВЯЗИ РЫБЬИХ ПИЯВОК

5.1. Экология и питание

Экологические особенности и трофические взаимоотношения видов криптоической группы «*Baicalobdella torquata*». Виды этой группы являются эндемиками оз. Байкал и обитают по всей литорали озера, многочисленны на глубинах 0,2-130 м. В ходе паразитологического осмотра установлено, что все пиявки «*Baicalobdella torquata*» питаются исключительно за счёт байкальских эндемичных ракообразных, что опровергает ранее бытовавшие представления об их паразитировании на рыбах (Лукин 1976). Таксономический анализ выявил пищевую зависимость двух генетически разнородных, но морфологически неразличимых видов пиявок от разных видов амфипод (рис. 6).

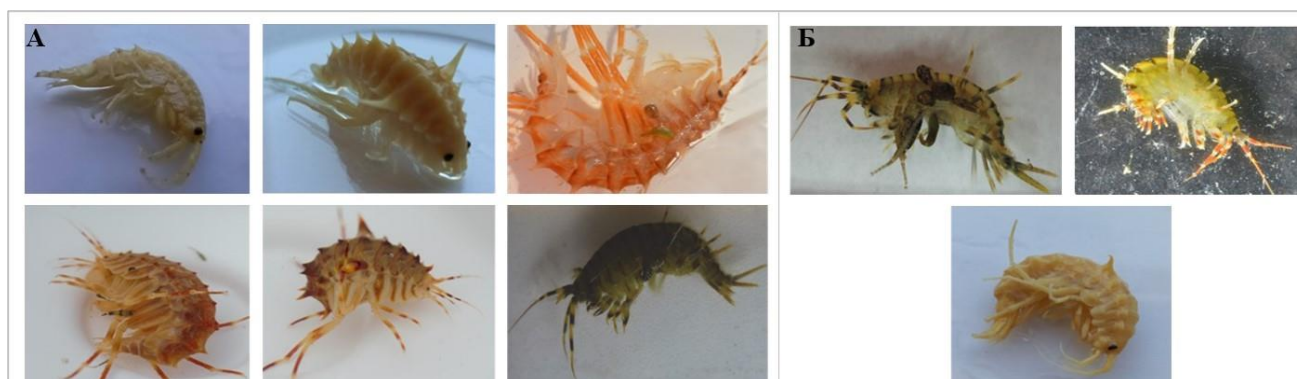


Рисунок 6 – Байкальские амфиподы, хозяева паразитических пиявок рода *Baicalobdella*. А – трофические связи *B. torquatoides*: верхний ряд – *Pallasea kesslerii*, *Acanthogammarus lappaceus*, *A. godlewskii*; нижний ряд – *A. maculosus*, *Propachygammarus maximus*, *Eulimnogammarus verrucosus*. Б – трофические связи *B. torquata*: верхний ряд – *E. verrucosus*, *E. maackii*; нижний ряд – *Pallasea cancelloides*.

Пиявки *B. torquatooides* обитают на глубине 3-65 м в северной части Байкала и найдены на амфиподах: *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858), *Pallasea kesslerii* (Dybowsky, 1874), *Acanthogammarus lappaceus* (Tachteew, 2000), *A. godlewskii* (Dybowsky, 1874), *A. maculosus* (Dorogostaisky, 1930) и *Propachygammarus maximus* (Garjajew, 1901) (рис. 6А). Другой филогенетический вид пиявок этой группы, образцы которого собраны на глубине 0,2-15 м в южной части Байкала, предпочитает в качестве хозяев амфипод других видов: *Eulimnogammarus maackii* (Gerstfeldt, 1858), *E. verrucosus* и *Pallasea cancelloides* (Gerstfeldt, 1858) (рис. 6Б).

Экологические особенности и трофические взаимоотношения видов криптоической группы «*Baicalobdella cottidarum*». Все виды этой группы являются эндемиками оз. Байкал и широко распространены в литоральной и сублиторальной зонах (от уреза воды до 146 м) по всему озеру. Пиявки паразитируют на бычках-подкаменщиках, встречаются на их кладках и в свободном состоянии на грунте (песок, камни). Автор, описавший вид *Baicalobdella cottidarum* (Dogiel, 1957) указывал, что эти пиявки паразитируют исключительно на желтопёром бычке-подкаменщике. Наши данные свидетельствуют о более разнообразном таксономическом составе рыб-хозяев *B. cottidarum* (рис. 7).

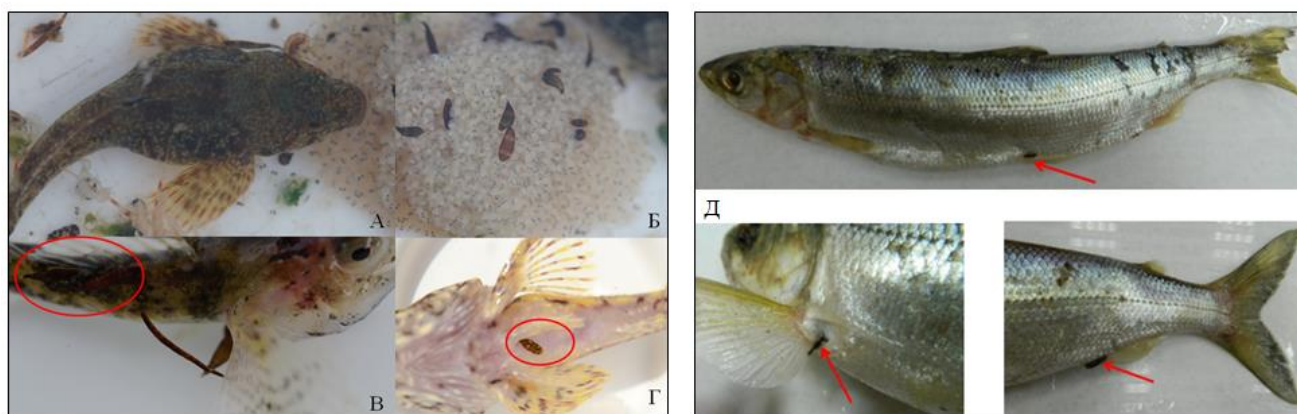


Рисунок 7 – Хозяева рыбных паразитов. А – внешний вид каменной широколобки; Б – кладка яиц каменной широколобки (место массового скопления пиявок); В и Г – области локализации пиявок *Baicalobdella cottidarum*; Д – байкальский омуль из р. Селенга: стрелками указаны области прикрепления эктопаразита *Acipenserobdella sibirica* sp. nov.

Два вида бычков-подкаменщиков Байкала желтокрылка и каменная широколобка наиболее склонны к заболеванию бделлёзом (рис. 7А-Г). Как показывает анализ, в период 2011-2015 гг. заражённость пиявками каменной широколобки в среднем составляла 60% при интенсивности инвазии до 13 экз. пиявок на рыбу. Эктопаразиты располагались на плавниках рыбы-хозяина, преимущественно у основания спинного (рис. 7В) и грудного плавников (рис. 7Г). Обнаружено, что многочисленная молодь пиявок *B. cottidarum* питается на кладках каменной широколобки (рис. 7Б). Уровень заболеваемости желтокрылки составлял в среднем 45% с интенсивностью инвазии (ИИ) до 10 экз. пиявок на рыбу. Другие виды Cottosomorphorinae Taliev, 1955 (большеголовая и пёстрокрылая широколобки) менее подвержены заболеванию бделлёзом. В их популяциях ЭИ пиявок составляла 38 и 18% соответственно. Интенсивность инвазии у

них тоже была ниже (1-4 экз.), чем у других бычков-подкаменщиков.

Представители Abyssocottinae Berg, 1907, большинство из которых живут на глубинах ниже 200 м (Решетников и др. 2013) так же подвержены заболеваемости бделлёзом. Анализ 481 экз. рыб выявил эктопаразитов у 5 видов: малоглазая, плоскоголовая, горбатая, тёмная и большая широколобки. Наибольшая распространённость бделлёза (ЭИ=23%) среди глубоководных рогатковых рыб отмечена у плоскоголовой широколобки при ИИ 3-8 экз. пиявок на одну особь рыб. Высокие показатели заражённости выявлены у тёмной и большой широколобок – 59 и 75% соответственно. Распространённость заражённости пиявками у малоглазой и горбатой широколобок была в пределах 17-18% с интенсивностью 2-4 у обоих видов.

Пищевые предпочтения четырёх видов группы «*Baicalobdella cottidarum*», в целом, различаются. Пиявки вида *B. cottidarum* паразитируют на каменной широколобке и желтокрылке, тогда как в рацион видов *B. izhemeica* и *B. barguzinica* дополнительно входят большеголовая и пёстрокрылая широколобки. Кроме того, *B. barguzinica* питается кровью большой, тёмной, малоглазой, плоскоголовой и горбатой широколобок. Рацион *B. jakshakanensis* полностью совпадает с таковым *B. barguzinica*.

Экологическая характеристика и трофические связи видов рода *Codonobdella*.

Виды *Codonobdella rufulus* sp. nov. и *Codonobdella tenebris* sp. nov. являются эндемиками Байкала и чётко расходятся по морфологическим признакам, тогда как их экологические предпочтения практически совпадают. Оба вида обитают на глубоководных участках озера и питаются гемолимфой амфипод.

Пиявки *Codonobdella rufulus* sp. nov. обнаружены на глубинах от 40 до 1100 м, тогда как вид *Codonobdella tenebris* sp. nov. освоил глубины от 11 до 700 м. Оба вида пиявок паразитируют на амфиподах *Acanthogammarus maculosus*, *A. lappaceus* и *Parapallasea puzyllii* Dorogostaisky, 1922. Пиявки вида *C. rufulus* кроме того были найдены на амфиподах *Acanthogammarus grewingkii* (Dybowsky, 1874). Два морфологически выраженных вида кодонобделл конкурируют между собой за экологическую нишу; и вероятно, представляют собой молодые виды, один из которых освоил глубины более 700 м.

Истинно абиссальные виды-двойники «*Codonobdella truncata*» тоже относятся к байкальским эндемикам. По литературным данным *C. truncata* является паразитом глубоководных амфипод и рогатковых рыб (Эпштейн 1987). Однако такое совмещение пищевых стратегий представляется маловероятным. Мы не обнаружили бычков-подкаменщиков в качестве её хозяина. Наша коллекция свидетельствует о питании *C. truncata* за счёт четырёх видов глубоководных амфипод: *Acanthogammarus grewingkii*, *Parapallasea lagowskii* (Dybowsky, 1874), *Garjajewia sarsi* Sowinsky, 1915, и *Paragarjajewia petersi* (Dybowsky, 1874). Вид *C. truncata* обитает в диапазоне глубин от 870 до 910 м.

Codonobdella abyssalis sp. nov. найдена на глубинах 677-1290 м. В рацион этой пиявки входят те же четыре вида амфипод, что у сестринского вида *C. truncata*, и дополнительно *Ommatogammarus albinus* (Dybowsky, 1874).

Виды группы «*Codonobdella truncata*» преобладают в Средней котловине Байкала,

где паразитируют в основном на амфиподах вида *A. grewingkii*, интенсивность заражения которых достигает 5-7 экз. пиявок на одну особь бокоплава.

Экология и трофические связи *Acipenserobdella sibirica* sp. nov. Пиявки *A. sibirica* sp. nov. в отличие от своего сородича *A. volgensis* паразитируют на лососевых рыбах Байкальского региона: байкальский омуль, сиг-пыжьян, острорылый ленок и чёрный байкальский хариус. При паразитологическом обследовании 663 экз. байкальского омуля, нерестящегося в Селенге, впервые было выявлено 27 экз. пиявок *A. sibirica* sp. nov. (рис. 7Д). Распространённость паразитемии пиявок у селенгинской популяции омуля в 2013 г. составляла не менее 4,07% с интенсивностью заражения один паразит на особь рыбы. Паразиты располагались на плавниках, в основном анальном, брюшном и грудном (рис. 7Д).

В 2016-2017 гг. средний показатель распространённости бделлёза у чёрного байкальского хариуса в р. Ангара составлял 5%. Несмотря на близкий уровень ЭИ к таковому у байкальского омуля из Селенги, интенсивность инвазии чёрного байкальского хариуса в Ангаре была значительно выше (ИИ=3-16 экз.), что отразилось в высоком значении индекса обилия (ИО=0,41).

Находки пиявок вида *A. sibirica* sp. nov. на сиге-пыжьяне, байкальском омуле, острорылом ленке и чёрном байкальском хариусе из р. Баргузин носили случайный характер, поэтому паразитологические показатели имеют низкую достоверность (ЭИ=25%, ИИ=3-8, ИО=0,31).

Экологические особенности пиявок родов *Piscicola* и *Cystobranhus*. Пиявки этих родов являются факультативными эктопаразитами рыб.

Piscicola geometra – транспалеарктический вид, распространён в пресных водоёмах с благоприятным кислородным режимом от Западной Европы до Западной Сибири (Kaygorodova, Matveenko 2023). Вид не проявляет специфичности к хозяину и питается кровью разных видов преимущественно соровых рыб.

В Байкальском регионе обитает вид *Piscicola sibirica*. Его хозяевами являются различные виды соровых рыб (обыкновенная щука, речной окунь и др.). При обследовании 234 экз. окуня из Чивыркуйского залива оз. Байкал было снято 123 экз. пиявок (ЭИ=25%, ИИ=1-3). В оз. Гусиное (Бурятия) в 2015 г. распространённость писциколёза окуня составляла 16% (ИИ=1-4, ИО=0,76).

Сестринский вид *Piscicola khubsugulensis* является эндемиком оз. Хубсугул (Монголия) и паразитирует на хубсугульском хариусе (ЭИ=27%, ИИ=1-2, ИО=0,29).

5.2. Пространственное распределение видов рыбных пиявок

Биогеография байкальских эндемичных видов рыбных пиявок. Обобщение и анализ географических данных собранного биологического материала подтвердили эндемичный характер видов, входящих в состав трёх криптических комплексов, выявленных в составе фауны оз. Байкал («*Baicalobdella torquata*», «*Baicalobdella cottidarum*» и «*Codonobdella truncata*»), а также отдельных видов рода *Codonobdella* (*C. rufulus* и *C. tenebris*). Распространение этих писциколид ограничено олиготрофным

оз. Байкал, поскольку все они являются строгими оксифилами и чувствительны к незначительному загрязнению водной среды. Исключение составляет вид *Baicalobdella torquata*, биогеография которого свидетельствует о его проникновении в верхнее течение р. Ангара, единственной реки, вытекающей из Байкала (рис. 8).

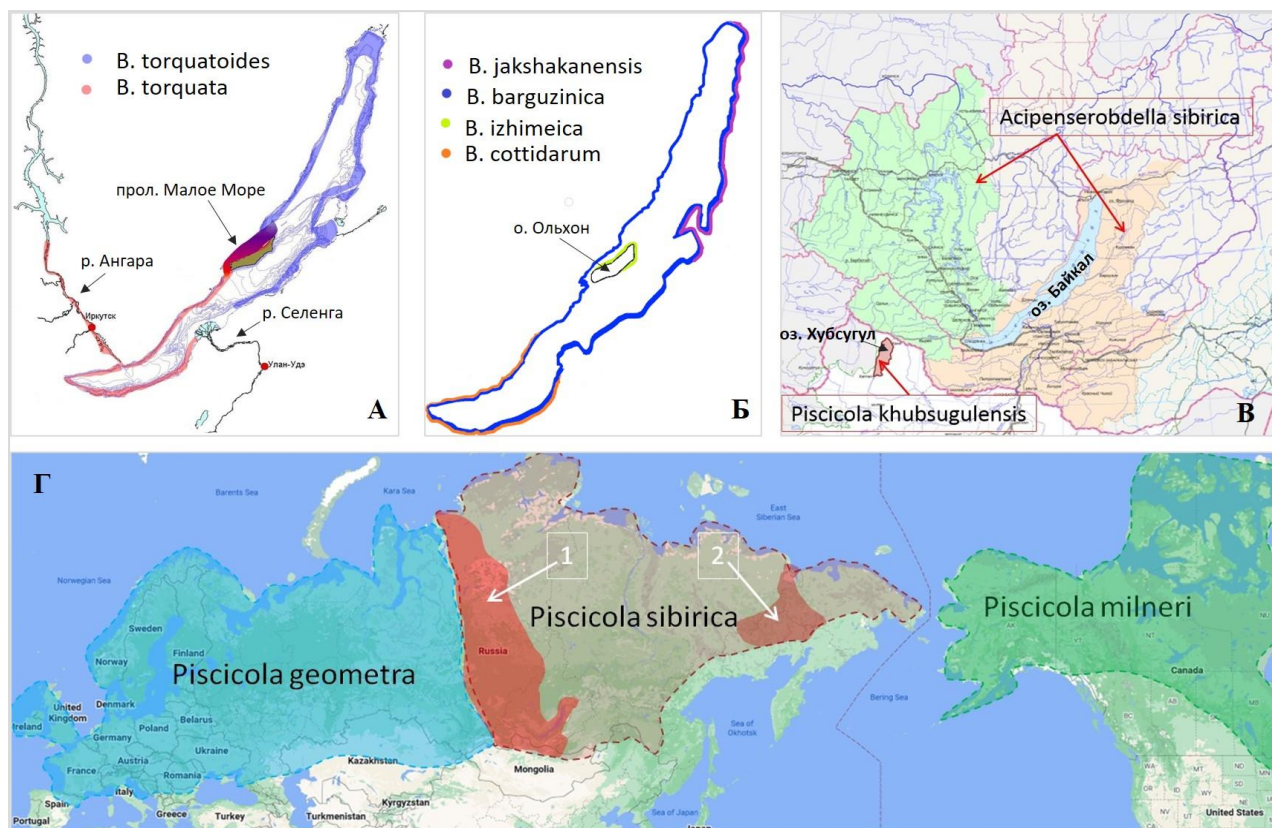


Рисунок 8 – Биогеография рыбных пиявок. А и Б – ареалы видов рода *Baicalobdella*. В – ареалы новых видов рыбных пиявок Прибайкалья. Цветом выделены бассейны рек: зелёным – Ангары, коричневым – Селенги. Г – распространение пиявок рода *Piscicola*, викарирующих в Северном полушарии: ареал *P. geometra* выделен светло-голубым, *P. milneri* – светло-зелёным и *P. sibirica* – бледно-красным. Водные бассейны, где найдена *P. sibirica*, выделены красным цветом и отмечены цифрами 1 (Байкало-Ангарский бассейн) и 2 (бассейн р. Яны).

Филогеографический анализ выявил чёткую приуроченность байкальских эндемичных пиявок, паразитирующих на амфиподах литоральной зоны озера: *B. torquata* обитает в южной части Байкала, тогда как *B. torquatooides* sp. nov. – в северной (рис. 8А). Такому расхождению по котловинам озера способствуют трофические связи пиявок с хозяевами, которые проявляются в привязанности эктопаразита к определённой группе амфипод (рис. 6). Виды группы «*Baicalobdella torquata*» распределены по всей литорали озера в диапазоне глубин от 0,2 до 140 м. Ареалы видов *B. torquata* и *B. torquatooides* sp. nov. пересекаются в проливе Малое Море, где оба вида встречаются совместно (Matveenko, Kaygorodova 2020). Возможно, в геологическом прошлом эти виды населяли два разных водоёма, предшественника Байкала, объединённых в результате кайнозойских преобразований в единую впадину современного озера. Таким образом, биоэкологическая обеспеченность новообразованного озера восполнялась в результате медленной пространственной дисперсии фауны водоёмов-предшественников: виды

B. torquata и *B. torquatoides* sp. nov. постепенно заселяли свободные ниши, продвигаясь навстречу друг другу, пока не встретились в проливе Малое Море (Средний Байкал). Взаимопроникновению ареалов двух видов вдоль восточного побережья Байкала по каким-то причинам препятствует обширное Селенгинское мелководье. Вероятно, лимитирующим фактором служит качество воды в мелководной зоне напротив устья Селенги. Однако амфиподы вида *E. verrucosus*, на которых эти пиявки паразитируют, ещё недавнего массово развивались в дельте Селенги, пока не разразилась экологическая угроза их существованию (Полканов 2022).

Анализ биогеографии криптического комплекса эндемичных байкальских видов группы «*Baicalobdella cottidarum*», состоящего из четырёх морфологически неразличимых видов (*B. cottidarum*, *B. izhemeica* sp. nov., *B. barguzinica* sp. nov. и *B. jakshakanensis* sp. nov.), показал, что они обитают на глубинах от 0 до 146 м, однако имеют отличия в географическом распределении: *B. cottidarum* встречается только в южной котловине Байкала от уреза воды до 30 м; *B. izhemeica* sp. nov. обнаружена на глубинах 10-30 м в проливе Малое Море и с восточной стороны от острова Ольхон (средняя котловина озера); *B. jakshakanensis* sp. nov. обитает в диапазоне глубин 11-146 м на восточном побережье Среднего и Северного Байкала; *B. barguzinica* sp. nov. равномерно распределена по всему периметру Байкала на глубинах от 3 до 65 м (рис. 8Б). Такому распределению, вероятно, так же как у «*Baicalobdella torquata*», способствовал процесс геодисперсии после эрозии барьеров при формировании единой котловины Байкала. В случае с *B. barguzinica* sp. nov. дисперсия была более успешной предположительно из-за того, что этот вид мог изначально присутствовать во всех трёх водоёмах-предшественниках Байкала.

Эктопаразиты криптического комплекса «*Codonobdella truncata*» и другие представители рода *Codonobdella* освоили глубоководные части трёх котловин Байкала, где им практически нет конкуренции. Морфологически выраженные виды рода обитают по всему озеру: *C. rufulus* sp. nov. найден на глубинах до 700 м, а *C. tenebris* sp. nov. – до 1100 м. Виды-двойники *C. truncata* и *C. abyssalis* sp. nov., паразитируя на крупных видах глубоководных амфипод, успешно распространились на максимальных глубинах по всему Байкалу, экологически не пересекаясь с представителями других групп амфиподзависимых пиявок.

Биогеография новых видов рыбных пиявок Байкальского региона. Впервые обнаруженный нами на нерестовой популяции селенгинского омуля новый морфовид *Acipenserobdella sibirica* sp. nov., как показали результаты анализа его географии, широко распространён в бассейнах оз. Байкал и р. Ангара (рис. 8В) (Kaygorodova *et al.* 2022). Несмотря на то, что южная часть водосборного бассейна р. Лена имеет обширную зону контакта с Ангарским и Байкальским бассейнами и богата лососевыми рыбами, потенциальными хозяевами *A. sibirica* sp. nov., тем не менее, эта пиявка в Ленском бассейне не найдена. Особенности биогеографии *A. sibirica* sp. nov. предположительно связаны с межвидовой конкуренцией за общий пищевой ресурс с широко распространённым в Ленском бассейне реликтовым пиявкоподобным паразитом

Acanthobdella peledina Grube, 1850 (Kaygorodova et al. 2012).

Другой новый вид *Piscicola khubsugulensis*, обнаруженный в ходе данного исследования, является эндемиком оз. Хубсугул (рис. 8В). Фактором, лимитирующим распространение этого уникального эктопаразита, является ареал рыбы-хозяина – эндемичного хубсугульского хариуса (Kaygorodova, Matveenko 2023).

Биогеография видов рода *Piscicola*, обитающих в Евразии. Разнообразие рода *Piscicola* насчитывает 28 видов, обитающих в Северном полушарии, за исключением *P. platensis* Cordero, 1933 из Южной Америки. Только два вида *P. milneri* и *P. punctata* (Verrill, 1871) были зарегистрированы в Северной Америке (Klemm 1982).

Piscicola geometra по литературным данным известна как широко распространённый по всей палеарктической зоогеографической области вид, однако ещё Е. И. Лукин (1976) отмечал, что этот вид не встречается в оз. Байкал. Филогеографический анализ обширного материала пиявок, полученного из разных частей Палеарктики, подтвердил отсутствие *P. geometra* не только в Байкале, но и в водоёмах Прибайкалья и Забайкалья. Несмотря на целенаправленный поиск в бассейнах рек Ангара и Селенга пиявки вида *P. geometra* не обнаружены.

Реки Ангара и Енисей представляют единый гидрологический комплекс; в Енисее *P. geometra* тоже отсутствует, хотя экологические условия её существования и в Енисее, и в Ангаре мало отличаются, например, от Оби, где *P. geometra*, несомненно, присутствует (Лукин 1976). В природе, как известно, свободная ниша долго не пустует. Действительно, нами обнаружено, что пиявки вида *Piscicola sibirica* широко распространены в реках и озёрах Байкальского региона, выполняя ту же экологическую функцию, что и *P. geometra* и, следовательно, является его географическим викариатом (Kaygorodova, Matveenko 2023). Географическая граница, разделяющая ареалы этих рыбьих пиявок, совпадает с руслом реки Енисей (рис. 8Г). Таким образом, ареал вида *P. geometra* на востоке не выходит за пределы Западно-Сибирской равнины, а его географический викариат *P. sibirica* распространён в Восточной Сибири, наиболее древней (докембрийской) части континента (рис. 8Г).

Piscicola milneri, ещё один филогенетически родственный вид, который в прошлом часто путали с *P. geometra*, обитает в районе Великих озёр, расположенном в восточной части США, на Аляске и по всей Канаде (Klemm 1982). По нашим данным, североамериканская *P. milneri* и восточносибирская *P. sibirica* являются генетически наиболее близкими видами рода *Piscicola* (генетическая дистанция 2,56%), несмотря на то, что они в настоящее время обитают на разных континентах (рис. 8Г).

Недавно исследователи, изучающие земную кору, доказали существование единого докембрийского континента (от 1,8 до 700 млн лет назад), объединявшего современную Северную Америку и Восточную Сибирь (Ernst et al. 2016), что может объяснить сходство фаун Неарктики и Восточной Палеарктики. Формирование Беренгового пролива, разделившего континенты Евразию и Северную Америку приблизительно 5,5 млн лет назад (Marincovich, Gladenkov 1999), окончательно прервало поток генов, что способствовало дивергенции и образованию североамериканского вида *P. milneri*. Этот

молодой североамериканский вид продолжил ту же экологическую миссию, что и его предшественник *P. sibirica* (Kaygorodova, Matveenko 2023).

Таким образом, вид *Piscicola sibirica*, обитающий в Восточной Сибири, является викариатом как палеарктической *P. geometra*, так и неарктической *P. milneri*, поскольку все три вида занимают одинаковую экологическую нишу на разных территориях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексное исследование фауны рыбьих пиявок (Hirudinea: Piscicolidae) достоверно доказывает существование 15 видов в водоёмах Байкальского региона, включая 10 новых видов, что расширяет видовой список более чем в два раза от известного до настоящего времени.

Морфологический анализ позволил выявить 9 хорошо идентифицируемых видов, обитающих в оз. Байкал и других водоёмах Прибайкалья, из них 5 представляют собой новые для науки виды (*Acipenserobdella sibirica*, *Codonobdella rufulus*, *C. tenebris*, *Piscicola khubsugulensis* и *P. sibirica*), ранее описанные виды (*Baicalobdella cottidarum* Dogiel, 1957, *B. torquata* (Grube, 1871), *Codonobdella truncata* (Grube, 1873) и *Cystobranchus mammilatus* (Malm, 1863)). Образцы *Acipenserobdella volgensis* (Zykoff, 1903) отсутствуют в нашей коллекции. Кроме того, дополнено описание типового вида рода *Piscicola* (*P. geometra*) и описан новый вид *P. nordica* из Харбейских озёр (Республика Коми).

Применение молекулярных методов вкупе с современными биоинформационными подходами к видовой делимитации позволило подтвердить таксономический статус морфологически идентифицированных видов и дополнительно выявить три комплекса криптических видов: «*Baicalobdella torquata*» (2 вида), «*Baicalobdella cottidarum*» (4 вида) и «*Codonobdella truncata*» (2 вида). Криптические виды морфологически схожи. Распознаванию таких видов способствует привлечение дополнительной информации о их генетических и экологических отличиях.

В ходе молекулярно-генетической паспортизации видов на основе полученных с помощью биоинформационного анализа ДНК-штрих-кодов выявлены новые таксономические признаки, позволяющие надёжно дифференцировать 15 видов фауны Байкальского региона, включая фенотипически скрытые виды: *Baicalobdella izhemeica* sp. nov., *B. barguzinica* sp. nov., *B. jakshakanensis* sp. nov., *B. torquatoides* sp. nov. и *Codonobdella abyssalis* sp. nov.

Исследование трофических связей и географического распространения показало, что криптические виды *Baicalobdella torquata* и *Baicalobdella torquatoides* sp. nov. занимают разные ареалы и отличаются по пищевым предпочтениям, тогда как виды в криптических группах «*Baicalobdella cottidarum*» (*B. cottidarum*, *B. izhemeica* sp. nov., *B. barguzinica* sp. nov., *B. jakshakanensis* sp. nov.) и «*Codonobdella truncata*» (*C. truncata* и *C. abyssalis* sp. nov.) экологически близки, а их межвидовые отличия заключаются в разном сочетании экологических признаков.

Следует отметить, что вид *Codonobdella zelenskiji* в соответствии Международным Кодексом Зоологической номенклатуры признан *nominum nudum* (недействительным) и

поэтому исключён из списка байкальских видов. Вид *Piscicola geometra* был исключён из фаунистического списка Байкальского региона после тщательной ревизии собственных и литературных данных о его распространении. Оказалось, ареал *Piscicola geometra* ограничен с востока руслом реки Енисей. Восточнее Енисея из представителей рода *Piscicola* обнаружены только эндемик оз. Хубсугул *P. khubsugulensis* и широко распространённая в Восточной Сибири *P. sibirica*, являющаяся к тому же викариатом палеарктической *P. geometra* и неарктической *P. milneri*.

ВЫВОДЫ

1. На основе оригинальных молекулярных, экологических и морфологических данных определено видовое разнообразие фауны сем. Piscicolidae Байкальского региона, включающее 15 видов, 10 из которых являются новыми для науки (четыре *Baicalobdella* spp., три *Codonobdella* spp., *Piscicola sibirica*, *Piscicola khubsugulensis* и *Acipenserobdella sibirica*). Следовательно, видовой состав фауны исследуемой территории увеличен в 2,14 раза. Представленность мировой фауны пресноводных рыбных пиявок в регионе составляет 7,01%.
2. Показано, что эндемичные рыбы пиявки озера Байкал представлены криптическими комплексами, включающими от двух («*Baicalobdella torquata*», «*Codonobdella truncata*») до четырёх («*Baicalobdella cottidarum*») морфологически неразличимых видов, таксономическое определение которых невозможно без привлечения молекулярно-генетических данных.
3. Реконструкция эволюционной истории с использованием как мультигенного подхода (*cox1*, *12S*, *18S*, *28S*), так и с использованием одного локуса *cox1* позволила установить положение образцов из Байкальского региона в пределах кластера пресноводных рыбных пиявок с идентичной кластеризацией ветвей внутри кластера.
4. Показано, что генетические расстояния между видами в пределах 1,7-21,1% подтверждают статус каждого вида, идентифицированного морфологически или филогенетически. Молекулярно-генетическая диагностируемость видов Байкальского региона базируется на уникальных сайтах ДНК-штрихкода, количество которых варьирует от 4 до 60.
5. Выявлено, что фенотипически сходные виды *Baicalobdella torquata* и *B. torquatoides* sp. nov. имеют не только молекулярно-генетические отличия, но и географически разобщены, а также обнаруживают зависимость от разных видов-хозяев, тогда как дифференциация криптических видов *B. cottidarum*, *B. izhemeica* sp. nov., *B. barguzinica* sp. nov. и *B. jakshakanensis* sp. nov. базируется на различиях в морфологии геномов и дополняется различным сочетанием экологических признаков. Виды группы «*Codonobdella truncata*» экологически не различимы.
6. Установлено, что распространённая в водоёмах Восточной Сибири *Piscicola sibirica* является географическим викариатом палеарктической *P. geometra* и неарктической *P. milneri*.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах из списка ВАК РФ:

1. Кайгородова И.А., **Петряева (Матвеенко) Е.Ю.** Молекулярная идентификация байкальских рыбьих пиявок. Известия Иркутского Государственного Университета. Серия «Биология. Экология» 2014, Т. 7: 27-31. (РИНЦ, ВАК)
2. Kaygorodova I.A., N. Mandzyak, **Petryaeva (Matveenko) E.**, Pronin N.M. Genetic diversity of leeches in Lake Gusinoe (Eastern Siberia, Russia). The Scientific World Journal 2014, vol. 2014, Article ID 619127, 11 p. (Scopus, ВАК)
3. Bolbat A., **Matveenko E.**, Dzyuba E., Kaygorodova I. The first mitochondrial genome of *Codonobdella* sp. (Hirudinea, Piscicolidae), a new endemic leech species from Lake Baikal, Russia and reassembly of the *Piscicola geometra* data from SRA. Mitochondrial DNA Part B: Resources 2021, 6: 3112-3113. (Web of Science, ВАК)
4. Kaygorodova I., **Matveenko E.**, Dzyuba E. Unexpected discovery of an ectoparasitic invasion first detected in the Baikal coregonid fish population. Fishes 2022, 7(5): 298. (Web of Science, ВАК)
5. Kaygorodova I.A., **Matveenko E.** Diversity of the *Piscicola* species (Hirudinea, Piscicolidae) in the Eastern Palaearctic with a description of three new species and notes on their biogeography. Diversity 2023, 15: 98. (Web of Science, ВАК)

В других изданиях:

6. **Matveenko E.**, Kaygorodova I. Ecological zonation of the Baikal endemic piscine leeches of the genus *Baicalobdella* (Hirudinea, Piscicolidae). Limnology and Freshwater Biology 2020, (4): 801-802. (РИНЦ)

Работы, опубликованные в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумах:

7. Kaygorodova I.A., **Petryaeva (Matveenko) E.Yu.**, Sorokovikova N.V. An introduction to piscine leech fauna of the Baikal Region // 12th International Symposium on the Biology and Management of Coregonid Fishes; Listvyanka -Irkutsk, 2014. – С. 12.
8. **Петряева (Матвеенко) Е. Ю.**, Кайгородова И. А. Молекулярная экология рыбьих пиявок (Hirudinea: Piscicolidae) озера Байкал // «Современные вопросы экологического мониторинга водных и наземных экосистем» / Бугаев Л.А., Войкина А.В. (ред.), Материалы международной научной конференции молодых учёных, 26-29 октября 2015, Ростов-на-Дону: ФГБНУ «АзНИИРХ», 2015. – С. 183-188.
9. Мандзяк Н.Б., **Петряева (Матвеенко) Е.Ю.**, Сорокикова Н.В. Молекулярная верификация таксономической принадлежности хирудиниид Чивыркуйского залива (оз. Байкал) // Биоразнообразие: глобальные и региональные процессы. / Убугунов Л. Л., Бадмаев Н. Б., Балданова Д. Р., Моролдоев И. В. (ред.) / Материалы IV Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием (Улан-Удэ, 23-27 июня 2016 г.). – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2016. – С. 30-31.
10. Мандзяк Н.Б., Кайгородова И.А., **Петряева (Матвеенко) Е.Ю.**, Сорокикова Н.В. Генетическое разнообразие гирудофауны Чивыркуйского залива озера Байкал //

- Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее / Материалы IV Международной конференции. 26-30 сентября 2016, г. Горно-Алтайск. – Горно-Алтайск: РИО ГАГУ, 2016. – С. 130-133.
11. **Матвеев Е.Ю.**, Кайгородова И.А. Молекулярная идентификация эктопаразитов (Hirudinea: Piscicolidae) коттоидных рыб озера Байкал // Рыбохозяйственные исследования на внутренних водоёмах / Лукин А.А. (гл. ред.), Материалы II Всероссийской молодежной конференции. 19-21 апреля 2016 г., Санкт-Петербург, Россия. – Санкт-Петербург: ФГБНУ «ГосНИОРХ», 2016. – С. 236-241.
12. **Матвеев Е.Ю.**, Кайгородова И.А. Видовая диверсификация байкальских эндемичных пиявок семейства Piscicolidae // «Водные ресурсы: изучение и управление» (лимнологическая школа-практика). Материалы V международной конференции молодых учёных (5-8 сентября 2016 г.) / Отв. ред. Д. А. Субетто, Н. Н. Филатов, Т. И. Регеранд, Л. А. Беличева. Т. 2., Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2016. – С. 71-77.
13. **Матвеев Е.Ю.**, Кайгородова И.А. Применение генетических и биоинформационных подходов к познанию биоразнообразия на примере эндемичных рыбных пиявок *Baicalobdella* (Hirudinea, Piscicolidae) из озера Байкал // 12-я Международная школа молодых ученых «Системная биология и биоинформатика», SBB-2020, Ялта-Севастополь, 2020. – С. 65.
14. Болбат А.В., Болбат Н.Б., Васильев Г.В., Богданова В.С. **Матвеев Е.Ю.**, Кайгородова И.А. Эффект использования полных митохондриальных геномов и их 13 отдельных фрагментов для делимитации видов // Материалы 12-ой международной школы молодых учёных «Systems Biology and Bioinformatics (SBB-2020)»; Ялта-Севастополь, 2020. – С. 65.
15. **Матвеев Е.Ю.**, Кайгородова И.А. Генетическое разнообразие рыбных пиявок (Hirudinea: Piscicolidae) Байкальского региона // Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии: мат-лы IV Всерос. науч. конф. с междунар. участием (Улан-Удэ, 15–18 июня 2021 г.): электронный вариант. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2021. – С. 303-304.
16. **Матвеев Е.Ю.**, Кайгородова И.А. Молекулярная делимитация эндемичных рыбных пиявок в пределах вида *Baicalobdella cottidarum* (Hirudinea, Piscicolidae) из озера Байкал // I Всероссийская научная конференция (с межд. участием) «Чтения памяти В. И. Жадина»: к 125-летию со дня рождения, Санкт-Петербург, 18-22 апреля 2022 г.: тезисы докладов. – Санкт-Петербург: СПбФ ИИЕТ РАН; Ярославль: Филигрань, 2022. – С. 51-53.

МАТВЕЕНКО Екатерина Юрьевна

**ВИДОВОЙ СОСТАВ, РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ПАСПОРТИЗАЦИЯ ФАУНЫ ПИЯВОК СЕМЕЙСТВА PISCICOLIDAE
JOHNSTON, 1865 (CLITELLATA, HIRUDINEA) БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА**

Автореф. дис. на соискание учёной степени кандидата биологических наук