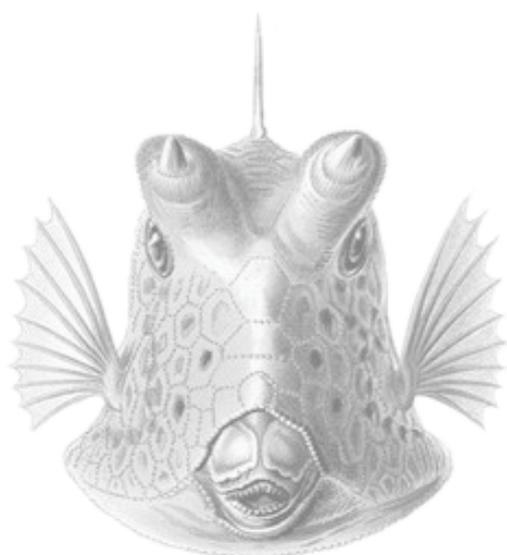


Современные проблемы теоретической и морской паразитологии



Севастополь, Севастополь, 2016

УДК 576.8
ББК 28.083
С 56

Ответственные редакторы

д.б.н., проф. К.В. Галактионов, д.б.н., проф. А.В. Гаевская

Рецензенты

д.б.н., проф. А.Н. Пельгунов, д.б.н., проф. Е.П. Иешко

Современные проблемы теоретической и морской паразитологии :
С 56 сборник научных статей / ред.: К. В. Галактионов, А. В. Гаевская. – Севастополь :
Изд-ль Бондаренко Н. Ю., 2016. – 242 с.
ISBN 978-5-9908633-2-3

Сборник включает серию оригинальных статей, раскрывающих различные аспекты современной проблематики морской и теоретической паразитологии. В публикациях авторов из разных стран (Азербайджана, Белоруссии, Вьетнама, Германии, Италии, России, Турции и Японии) освещаются история и перспективы развития морской паразитологии, вопросы теоретической и экологической паразитологии, частные и общие вопросы функциональной морфологии, систематики, генетики, фаунистики и биогеографии паразитов морских, пресноводных и наземных животных и растений, рассматриваются теоретические аспекты реализации их жизненных циклов. В ряде статей описываются важные с практической и теоретической точек зрения аспекты популяционной биологии паразитов и использования паразитов в качестве биологических меток для исследования различных сторон экологии хозяев, а также возможности применения современных генетических и математических методов и для оптимизации паразитологических исследований.

Сборник составлен по материалам научных докладов на VI Всероссийской конференции с международным участием «Школа по теоретической и морской паразитологии» (5–10 сентября 2016 г., г. Севастополь).

Сборник рассчитан на паразитологов, зоологов, экологов, ветеринарных врачей, работников рыбной промышленности и аквакультуры, студентов вузов.

Издание сборника поддержано Российским фондом фундаментальных исследований, грант № 16-04-20519.

УДК 576.8
ББК 28.083

Contemporary problems of theoretical and marine parasitology : collection of
scientific papers / Eds.: K.V. Galaktionov, A.V. Gaevskaya. – Sevastopol: Bondarenko
Publishing, 2016. – 242 p.

This book includes original papers on different contemporary problems facing marine and theoretical parasitology. The articles, which are written by authors from various countries (Azerbaijan, Belarus, Germany, Italy, Japan, Russia, Turkey and Vietnam), cover a range of diverse topics, including: the history of and prospects for the development of marine parasitology, questions on theoretical and ecological parasitology, specialized and general aspects of functional morphology, systematics, genetics, faunal and biogeographical studies on the parasites of marine, freshwater and terrestrial animals and plants, and the theoretical studies on life cycles. Some papers are devoted to the important, more practical aspects of the population biology of parasites, the use of parasites as biological tags for investigating of host ecology, and also the possibility utilizing advanced genetic and mathematical methods to optimize parasitological studies.

The book was prepared on the basis of the scientific reports presented at the VIth All-Russian Conference, with international participation, entitled “School for Theoretical and Marine Parasitology”, which took place at Sevastopol, September 5–10, 2016.

This collection of papers will be of interest to parasitologists, zoologists, ecologists, veterinarians, those involved in the fishing industry and aquaculture, and students.

The publication is supported by Russian Foundation for Basic Research, Grant No 16-04-20519.

Печатается по решению ученого совета
Института морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН
(протокол № 8 от 12.07.2016)

ISBN 978-5-9908633-2-3

© Авторы статей, 2016

© Паразитологическое общество при РАН, 2016

© Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, 2016

© Зоологический институт РАН, 2016

**АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
COX I ИЗОЛЯТОВ *TRICHINELLA NATIVA*
ОТ МОРСКИХ И СУХОПУТНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ
ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ**

С.Э.Спиридонов¹, Л.А. Букина², И.М. Одоевская³, И.В. Середкин⁴

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
г. Москва, Россия; s_e_spiridonov@rambler.ru

² Вятская Государственная сельскохозяйственная академия,
г. Киров, Россия; l.bukina5@gmail.com

³ Всероссийский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина,
г. Москва, Россия; odoevskayaim@rambler.ru

⁴ Тихоокеанский институт географии Дальневосточного отделения РАН,
г. Владивосток, Россия; seryodkinivan@inbox.ru

Род *Trichinella* Railliet, 1895 включает несколько видов опасных паразитов человека и животных. Представления о видовом составе этого рода существенно изменились за последние годы, и к настоящему времени выявлено более десяти видов трихинелл (Pozio, Murrell, 2006). На территории Российской Федерации наряду с космополитно распространенным видом *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) весьма обычен и вид *Trichinella nativa* Britov et Boev, 1972. Этот вид особенно характерен для бореальных и арктических районов страны. Было показано участие различных морских животных в жизненном цикле трихинелл в качестве хозяев или организмов, обеспечивающих накопление их жизнеспособных личинок (Букина, 2011). Возможность заражения сухопутных млекопитающих и человека трихинеллезом при потреблении мяса морских млекопитающих сама по себе указывает на постоянно существующую экологическую связь между трихинеллами моря и суши. На наш взгляд, сравнительное изучение нуклеотидных последовательностей изолятов вида *Trichinella nativa* от морских и сухопутных млекопитающих в прибрежных районах Дальнего Востока России является одним из путей оценки степени обособленности паразитирующих в них трихинелл.

Методы молекулярно-филогенетического изучения трихинелл и определения их видов постоянно совершенствуются. Если еще несколько лет назад наиболее распространенным был подход, основанный на применении т.н. «мультиплексной» ПЦР (Zarlenga et al., 1999), то к настоящему времени для подавляющего большинства видов трихинелл известны полные митохондриальные геномы (Mohandas et al., 2014), что открывает почти безграничные возможности для поиска все новых молекулярных маркеров.

Нами для молекулярно-филогенетического изучения трихинелл были использованы праймеры оригинального дизайна для амплификации части последовательности митохондриального гена *coxI* (37F_Tri GCA GTA AAT TTA GAA TTT AAA C 42R_Tri CCT AAT ATT CAT GGT GTT CAT A). При их создании мы использовали хорошо известные праймеры 37F и 42R (Hu et al., 2002), но модифицировали их таким образом, чтобы учесть характерные нуклеотидные замены в комплементарных праймерам участках митохондриального генома, отличающих трихинелл от т.н. «сецерментных» нематод. На первоначальном этапе также были использованы праймеры для амплификации митохондриального гена *cytB* (Dunams-Morel et al., 2012). Полученные последовательности подтвердили принадлежность всех выявленных нами в прибрежной зоне Дальнего Востока России изолятов трихинелл виду *Trichinella nativa*. Поскольку внутривидовые различия по гену *cytB* между полученными изолятами трихинелл оказались малы, то в дальнейшей работе мы сосредоточились на изучении гена *coxI*. Личинок трихинелл извлекали из мышечной ткани добытых животных с помощью двойного переваривания в искусственном желудочном соке.

ДНК извлекали из суспензии личинок трихинелл с помощью наборов Promega® Wizard. Размер ампликона, получаемого с предложенными праймерами, составлял около 1300 п.н. ПЦР-продукт очищали с помощью гель-электрофореза в 0.8% агарозном геле и секвенировали в ЦКП «Генотех», Москва. Полученные последовательности выравнивали с помощью Clustal X. Филогенетический анализ проводили с использованием программ RAUP 4.0b.10 и MEGA5.

Часть проб собрана в окрестностях поселка Лорино Чукотского Автономного округа. Здесь в 2010 г. личинки трихинелл были выделены из мышц одного тюленя-лахтака *Erignathus barbatus* из 23 исследованных и из одной кольчатой нерпы *Pusa hispida* из 62 исследованных. Обследование песцов клеточного содержания с фермы им. Ю.С. Русецкого показало значительно более высокую их зараженность трихинеллами (72,3% обследованных животных). Также в окрестностях Лорино трихинеллы были отмечены в мышечной ткани 4 бурых медведей *Ursus arctos* из 5 обследованных и у двух лисиц *Vulpes vulpes beringiana* из трех обследованных.

Трихинеллы собраны также вблизи поселка Терней Приморского края. В 2012-2015 годах личинки трихинелл были выделены из мышечной ткани соболей (44 из 392 изученных), двух лисиц (*Vulpes vulpes*) из 4 обследованных, трех бурых медведей (*Ursus arctos*) из семи изученных и одного погибшего от естественных причин гималайского медведя (*U. tibetanus*) из четырех изученных. Также две добытые рыси из трех обследованных содержали личинок трихинелл. Из части добытых изолятов была выделена ДНК для последующих молекулярно-филогенетических исследований. Были изучены изоляты *T. nativa* из Приморского края от бурого медведя и соболей (три изолята), из Чукотского Автономного округа – от ляхтака, песка клеточного содержания, бродячей кошки. В сравнительных целях были использованы полученные нами последовательности этого же участка митохондриального гена *coxI* для *T. nativa* от бурого медведя из Томской области, лисицы и бродячей кошки из Воронежской области, рыси из Ярославской области, волка из Кировской области и погибшего на шоссе ежа из Курской области.

Как уже было сказано, частичные последовательности *cytB* mtDNA изученных изолятов оказались идентичными друг другу и депонированной в Генбанке последовательности *T. nativa* из Канады (JQ430663). Последовательности *coxI* mtDNA оказались более изменчивыми, и по результатам их анализа удалось выявить несколько гаплотипов. Интересно, что некоторые гаплотипы присутствовали как в Приморском крае, так и в Чукотском Автономном округе. Так, один из гаплотипов был отмечен у соболя, добытого близ пос. Терней Приморского края, а также у ляхтака, песка клеточного содержания и бродячей кошки из Лорино (Чукотский Автономный округ). Неожиданным оказалось полное соответствие изученной нуклеотидной последовательности у одного из соболей Приморского края и волка из Кировской области. При этом данный гаплотип был идентичен гаплотипу, полученному от белого медведя в Норвегии (депонированная последовательность KM357415). Другой гаплотип, отмеченный нами для двух других соболей Приморского края, оказался идентичным по последовательности *coxI* mtDNA ранее изученному изоляту от белого медведя (AF129489).

Сравнение нуклеотидных последовательностей фрагмента митохондриального гена *coxI* показало наличие нескольких гаплотипов по данному фрагменту. Важно отметить, что некоторые гаплотипы, выявленные в нашем материале с Дальнего Востока и других регионов России, идентичны последовательностям от изолятов из других регионов Голарктики (например, из Норвегии). В пределах нашего собственного материала один и тот же гаплотип был обнаружен у морских и сухопутных млекопитающих Чукотки и он же у соболя в Приморском крае. Такие совпадения, как можно предположить, есть результат обмена личинками *T. nativa* между удаленными популяциями их хозяев или видами водных и сухопутных млекопитающих. Вероятно, мигрирующие морские млекопитающие способны разносить трихинеллезную инвазию на большие расстояния вдоль всего побережья Палеарктики.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 14-04-01064а.

Список литературы

Букина Л.А. Распространение трихинеллеза на морских побережьях Чукотки // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – № 4 (16). – С. 80–84.

Dunams-Morel D.B., Reichard M.V., Torretti L., Zarlenga D.S., Rosenthal B.M. Discernible but limited introgression has occurred where *Trichinella nativa* and the T6 genotype occur in sympatry // Infection, Genetics & Evolution. – 2012. – Vol. 12, iss. 3. – P. 530–538.

Hu M., Chilton N.B., Gasser R.B. Long PCR-based amplification of the entire mitochondrial genome from single parasitic nematodes // Molecular & Cell Probes. – 2002. – Vol. 16, iss. 4. – P. 261–267.

Mohandas N., Pozio E., La Rosa G., Korhonen P.K., Young N.D., Koehler A.V., Hall R.S., Sternberg P.W., Boag P.R., Jex A.R., Chang B., Gasser R.B. Mitochondrial genomes of *Trichinella* species and genotypes – a basis for diagnosis, and systematic and epidemiological explorations // International Journal for Parasitology. – 2014. – Vol. 44, iss. 14. – P. 1073–1080.

Pozio E., Murrell K.D. Systematics and epidemiology of *Trichinella* // Advances in Parasitology. – 2006. – Vol. 63. – P. 367–439.

Zarlenga D.S., Chute M.B., Martin A., Kapel C.M. A multiplex PCR for unequivocal differentiation of all encapsulated and non-encapsulated genotypes of *Trichinella* // International Journal for Parasitology. – 1999. – Vol. 29, iss. 11. – P. 1859–1867.

AN ANALYSIS OF COX I NUCLEOTIDE MITOCHONDRIAL SEQUENCES OF *TRICHINELLA NATIVA* ISOLATES FROM MARINE AND TERRESTRIAL MAMMALS OF THE RUSSIAN FAR EAST

S.E. Spiridonov¹, L.A. Bukina², I.M. Odoevskaya³, I.V. Seredkin⁴

¹A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Moscow, Russia; s_e_spiridonov@rambler.ru

²Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russia; l.bukina5@gmail.com

³All-Russian K.I. Skrjabin Institute of Helminthology, Moscow, Russia; odoevskayaim@rambler.ru

⁴Pacific Institute of Geography Far-Eastern Branch of RAS, Vladivostok, Russia;
seryodkinivan@inbox.ru

Genetic variation of the sequence of mitochondrial gene *coxI* was revealed between the isolates of *Trichinella nativa* obtained from different terrestrial and marine mammals in two region of the Russian Far East. The same haplotype is reported for marine and terrestrial mammals. Some haplotypes found during this survey are identical to those reported for *T. nativa* from hosts in European part of Palearctic.