

На правах рукописи

Жигилева Оксана Николаевна

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ЗАРАЖЕННОСТИ ГЕЛЬМИНТАМИ И
ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЖИВОТНЫХ**

03.02.04 – зоология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Тюмень, 2017

Работа выполнена на кафедре экологии и генетики Института биологии ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет»

Научный консультант: **Жохов Александр Евгеньевич**
доктор биологических наук, Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, заведующий лабораторией экологической паразитологии

Официальные оппоненты: **Гранович Андрей Игоревич**
доктор биологических наук, профессор, Санкт-Петербургский государственный университет, заведующий кафедрой зоологии беспозвоночных

Иешко Евгений Павлович
доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии Карельского научного центра РАН», заведующий лабораторией паразитологии животных и растений

Литвинов Юрий Нарциссович
доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук», заведующий лабораторией экологии сообществ позвоночных животных

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2017 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 002.036.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН по адресу: 152742, Ярославская обл., Некоузский района, п. Борок.

Тел./факс: 8 (48547) 24042; e-mail: dissovet@ibiw.yaroslavl.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (<http://www.ibiw.ru>), с авторефератом – в сети Интернет на сайтах ВАК РФ (<http://vak.ed.gov.ru>) и ИБВВ РАН (<http://www.ibiw.ru>).

Автореферат разослан: «___» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Л.Г. Корнева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последние десятилетия изучению генетической изменчивости популяций животных было посвящено большое количество работ. Это способствовало накоплению данных и выявлению закономерностей ее формирования в разных условиях. Ю.П. Алтуховым с соавторами (1997) была сформулирована концепция оптимального уровня генетического разнообразия популяций как условия их благополучного существования в нормально колеблющейся природной среде.

Одним из важнейших факторов динамики природных популяций животных являются паразиты. Обладая патогенностью, они участвуют в регуляции численности животных, зачастую выступая как фактор естественного отбора устойчивых особей и популяций. Однако, конкретные механизмы взаимодействия популяций паразитов и хозяев остаются слабо изученными. В последние годы получило распространение представление о наличии генетических механизмов регуляции паразитарных систем (Carius et al., 2001; Tellier et al., 2007; Picot et al., 2009; Garrido et al., 2010). Развитие методов генетических исследований открывает широкие возможности для анализа паразитологической ситуации и позволяет по-новому подойти к решению вопроса о дифференциальной зараженности разных популяций, внутривидовых группировок и отдельных особей в пределах одной и той же популяции.

Перспективность применения генетического подхода к оценке паразито-резистентности доказывается практикой сельского хозяйства. Включение в систему управления ресурсами животных генетической оценки предрасположенности к заболеваниям признается одним из наиболее перспективных подходов, имеющих ряд преимуществ и дополнительных возможностей (FAO, 1999; Bishop, Woolliams, 2004; Cheng, 2005). Идентификация генов устойчивости к паразитам или маркирующих их биохимических фенотипов уже давно используется в селекционных программах по созданию пород и сортов, устойчивых к возбудителям (Emery et al., 1984; Roberts et al., 1997; Baker, 1998; Vallejo et al., 1998; Yonash et al., 1999; Permin, Ranvig, 2001; Hassan et al., 2004).

Однако работы, выполненные на сельскохозяйственных животных, не дают представлений о естественных процессах саморегуляции природных популяций животных в условиях инвазии. Сельскохозяйственные животные имеют измененную генетическую природу и находятся под прессом селекционных и ветеринарных мероприятий. Паразитологическая ситуация среди сельскохозяйственных животных характеризуется, скорее, как срыв механизмов саморегуляции и требует постоянного контроля в виде регулярной дегельминтизации, вакцинации и прочих подобных мероприятий. Успехи селекционеров по созданию устойчивых форм дают кратковременный эффект, поскольку эти формы при массовом выращивании быстро теряют свою эффективность в результате преодоления паразитом устойчивости. В силу эмерджентных свойств даже обладающие генетической устойчивостью особи хозяев формируют уязвимые популяционные системы. Паразитизм как естественный регуляторный механизм систем надорганизменного уровня требует более широкого, популяционного подхода. Поэтому именно исследование естественных популяций может помочь в выяснении закономерностей взаимосвязи генетических характеристик животных с их зараженностью паразитами.

Цель работы – изучение взаимосвязи между показателями видового и генетического разнообразия животных и их зараженностью паразитами.

Задачи:

1. Выявление закономерностей варьирования показателей видового разнообразия млекопитающих и их гельминтов в экосистемах Западной Сибири;

2. Описание популяционно-генетической структуры доминирующих видов млекопитающих, амфибий и рыб;
3. Изучение взаимосвязей между показателями инвазированности и генетическими параметрами популяций животных;
4. Анализ сопряженной популяционно-генетической структуры паразитов и хозяев (на примере трематод карповых рыб);
5. Выявление биохимических и генетических маркеров внутривидовых групп животных с разной зараженностью гельминтами.

Научная новизна. Впервые с использованием разных видов генетических маркеров (изоферменты, ISSR, микросателлиты, рестрикционные фрагменты мтДНК) описана популяционно-генетическая структура 15 видов позвоночных животных. Выявлен видовой состав гельминтов лягушек, грызунов, бурозубок, соболя, лесной куницы, и описаны закономерности пространственного варьирования показателей зараженности этих видов в Западной Сибири. Впервые на основе данных комплексного паразитологического и генетического исследования популяций представителей трех групп позвоночных животных – млекопитающих, амфибий и рыб, показана взаимосвязь генетических характеристик популяций и внутривидовых групп животных с параметрами их инвазированности. Впервые выявлены корреляции показателей видового разнообразия мелких млекопитающих и их гельминтов, свидетельствующие о их согласованном изменении в разных условиях среды.

Впервые описана популяционно-генетическая структура сибирской двуустки *Opisthorchis felineus* в Обь-Иртышском очаге описторхоза, показано отсутствие конкордантности популяционных систем паразита и его промежуточных хозяев – карповых рыб. Впервые на модельных системах «млекопитающие – гельминты» и «рыбы – метацеркарии трематод» выявлены и описаны закономерности взаимосвязи биохимических и генетических маркеров с зараженностью гельминтами. Впервые на экспериментальном материале обосновано значение среднепопуляционной и индивидуальной гетерозиготности для контроля паразито-резистентности животных.

Теоретическая значимость работы. Предложен и реализован принципиально новый подход к анализу паразитологической ситуации, основанный на применении генетических маркеров. На примерах из разных групп позвоночных животных (рыб, амфибий и млекопитающих) доказано наличие взаимосвязи между показателями видового разнообразия хозяев и паразитов, а также генетической изменчивости животных и показателями их зараженности. Изложены основные закономерности варьирования показателей видового и генетического разнообразия животных в экосистемах Западной Сибири. Раскрыты закономерности ассоциации разных видов генетических маркеров с инвазией. Выявлены биохимические и генетические маркеры внутривидовых группировок животных с различной восприимчивостью к гельминтам. Предложена гипотеза о повышенной толерантности животных с гетерозиготными генотипами к инвазии. Предложены методические подходы к использованию генетических маркеров для анализа и прогноза паразитологической ситуации. Усовершенствованы теоретические подходы к оценке и управлению паразито-резистентностью популяций животных.

Практическая значимость работы. Данные о состоянии генетической структуры популяций животных и показателях их зараженности гельминтами могут быть использованы для регионального экологического и санитарно-эпидемиологического мониторинга, инвентаризации биологических ресурсов Западно-Сибирского региона, генетической паспортизации и комплексной оценки состояния популяций ценных промысловых видов животных (пушных зверей и рыб семейства Карповых) с целью их охраны и рациональной организации промысла. Выявленные биохимические и генетические маркеры карповых рыб с разной предрасположенностью к трематодной

инвазии могут быть использованы в целях санитарно-эпизоотологического мониторинга для прогнозирования зараженности локальных популяций рыб и тенденций ее изменения в Обь-Иртышском бассейне.

Описанные на модельных группах мелких млекопитающих закономерности взаимосвязи показателей индивидуальной и среднепопуляционной гетерозиготности с показателями зараженности, а также принципы подбора и применения генетических маркеров предрасположенности к инвазии могут применяться для эффективного управления паразито-резистентностью популяций хозяйственно-ценных животных.

Результаты работы использованы при составлении методических рекомендаций по организации мониторинга и проведения комплексной оценки состояния экосистем на основе паразитологических критериев. А также при подготовке учебного пособия (с грифом УМО), массового открытого онлайн-курса (МООС) «Экологическая паразитология», курсов лекций по дисциплинам: «Основы экологии», «Теории эволюции», «Генетика популяций», «Симбиогенетика», «Генетическая и эволюционная роль паразитизма», реализуемым на кафедре экологии и генетики Тюменского государственного университета по направлению 06.03.01 Биология (уровень бакалавриата), а также магистерской программе Экологическая генетика.

Методология исследования. Концептуальной основой работы является применение интегрального подхода к анализу состояния популяций – изучение популяционно-генетической структуры модельных животных при одновременном учете качественных и количественных показателей их зараженности гельминтами. Методологический базис работы составляют эволюционно-генетическая и экологическая концепции паразитизма, концепция оптимального уровня генетического разнообразия акад. Ю.П. Алтухова. В работе использованы классические зоологические, гельминтологические методы, а также традиционные и современные методы генетики популяций – изоферментный анализ, методы ДНК-маркеров, математической статистики.

Положения, выносимые на защиту:

1. В естественных экосистемах наблюдается согласованное изменение показателей видового и генетического разнообразия позвоночных животных и их гельминтов, которое выражается в наличии корреляций между генетическими параметрами популяций и уровнем их инвазированности.
2. На внутривидовом уровне наблюдается дифференциальная зараженность гельминтами животных – обладателей разных генотипов, которые могут быть выявлены с использованием любых полиморфных локусов (изоферментов, мультилокусных ДНК-маркеров, гаплотипов мтДНК).
3. Генетические маркеры, ассоциированные с инвазией, отражают видовую специфику генетической системы хозяина и зависят от ее реакции на условия среды и особенностей взаимоотношений с паразитом.

Апробация работы. Результаты работы прошли апробацию в форме докладов на конференциях: «Biodiversity and Dynamics of ecosystems in North Eurasia» (Novosibirsk, 2000), «Современные проблемы популяционной, исторической и прикладной экологии» (Екатеринбург, 2001), «Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке» (Новосибирск, 2002), «Паразиты рыб: современные аспекты изучения» (Борок, 2003), международной конференции «Проблемы современной паразитологии» и III съезде паразитологического общества (Санкт-Петербург, 2003), «Основные достижения и перспективы развития паразитологии» (Москва, 2004), Сибирской зоологической конференции (Новосибирск, 2004), II Межрегиональной научной конференции паразитологов Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, 2005), международной научной конференции «Фауна, биология, морфология и систематики паразитов» (Москва, 2006), III Всероссийской научной конференции по биологии насекомыхных млекопитающих

(Новосибирск, 2007), международной конференции «Биоразнообразие и роль животных в экосистемах» (Днепропетровск, 2007), международной конференции «Паразитология в XXI веке – проблемы, методы, решения» и IV Съезде Паразитологического общества при РАН (Санкт-Петербург, 2008), Международной научной конференции, посвященной 130-летию со дня рождения акад. К.И. Скрябина (Москва, 2008), III Межрегиональной научной конференции паразитологов Сибири и Дальнего Востока, посвященной 80-летию профессора К.П. Федорова (Новосибирск, 2009), конференции «Эволюционная и популяционная экология: назад в будущее» (Екатеринбург, 2009), the International Conference «Advances in the biology of shrews – III» (Moscow, 2010), International symposium «Parasites of the Holarctic Region» (Petrozavodsk, 2010), Международной научно-практической конференции «Иртышский бассейн: современное состояние и проблемы устойчивого развития» (Павлодар, 2011), международной конференции «Проблемы популяционной и общей генетики», посвященной 75-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (Москва, 2011), V Всероссийской конференции с международным участием по теоретической и морской паразитологии (Светлогорск, 2012), V Съезде Паразитологического общества при РАН: Всероссийской конференции с международным участием (Новосибирск, 2013), а также межкафедральных научных семинарах и заседаниях научно-технической секции ТюмГУ.

Личный вклад автора. Гельминтологические исследования млекопитающих, амфибий и рыб, определение гельминтов, генетические исследования, математическая обработка данных, интерпретация результатов, подготовка материалов публикаций, формулировка гипотез, закономерностей и выводов, написание диссертации.

Публикации. Список публикаций по теме диссертации включает 150 работ, в том числе 30 статей в научных журналах из списка, рекомендованного ВАК РФ; 4 – главы в коллективных монографиях; учебное пособие, рекомендованное учебно-методическим объединением по классическому образованию для студентов биологических специальностей вузов.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 415 страницах текста, состоит из введения, семи глав и выводов, проиллюстрирована 85 таблицами, 56 рисунками и 3 приложениями. Список литературы включает 626 источников, в том числе 296 – на иностранных языках.

Благодарности. Исследования выполнены при поддержке грантов губернатора Тюменской области (№ 106-01, 2001 г.), Министерства образования (PD02-1.4-8, 2002-2004 гг.), ФЦП «Интеграция науки и высшего образования России на 2002-2006 годы» (33031, 2003 г.), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 гг.» (№ П712, 2009-2011 гг., № 14.740.12.0826, 2011 г.).

Автор выражает благодарность за помощь в отлове мелких млекопитающих к.б.н. А.Ю. Левых, Н.А. Сазоновой, О.А. Хританько, Е.В. Сергеевой, С.Р. Хабировой, П.В. Тимошенко, З.В. Шейкиной, Н.А. Ивановой, Е.В. Горбачевой, Р.З. Ахметшиной; за помощь в отлове амфибий – к.б.н. Бураковой А.В., Сурель О.В., Кириной И.Ю., за помощь в сборе и обработке материала по куньим – И.М. Усламиной, С.В. Петровичевой, Д.В. Андриенко, А.Д. Парфенову, к.б.н. С.Н. Каштанову; за организацию сбора и предоставление материала по карповым рыбам – к.м.н. В.В. Ожирельеву; за помощь в проведении генетического и паразитологического анализа рыб – Зеновкиной Д.В., Пожидаеву В.В., Бролю И.С., Барановой О.Г., Усламиной Т.А., Куликовой А.А.; за помощь в определении гельминтов млекопитающих – д.б.н. В.Д. Гуляеву; за методическую помощь – д.б.н. Д.В. Политову, к.б.н. Н.Ю. Гордон, к.б.н. С.Н. Балдиной и к.б.н. Е.А. Мудрик; за всестороннюю поддержку и помощь в организации исследований – д.б.н. И.В. Пак; за ценные наставления при подготовке диссертации – член-корр. РАН, д.б.н. Т.И. Моисеенко.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ПОПУЛЯЦИОННО- И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЖИВОТНЫХ К ПАРАЗИТАМ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе описаны основные положения эволюционно-генетической концепции паразитизма, молекулярно-генетические взаимоотношения паразитов и хозяев, генетические основы паразито-хозяйинной специфичности, особенности популяционно-генетической структуры паразитических организмов, популяционно-генетические механизмы саморегуляции паразитарных систем, значение молекулярно-генетических маркеров в создании и управлении паразито-резистентными популяциями животных.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Места сбора и количество исследованного материала. В качестве материала использовали данные паразитологического и генетического исследования популяций млекопитающих, амфибий и рыб. Грызуны и насекомоядные отловлены стандартными методами канавок и ловушколиний в 20 пунктах Западной Сибири. В период 1997–2015 гг. отловлено 2735 особей 12 видов грызунов и 9 видов насекомоядных. Соболь *Martes zibellina* L., 1758 и лесная куница *Martes martes* L., 1758 и их гибриды (кидусы) добыты охотниками в промысловые сезоны 2008–2014 гг. в Тюменской области. Для сравнения использовали фрагменты шкур соболя из Восточной Сибири (Якутия, Саяны) и Дальнего Востока (бассейн р. Амур, Сахалин, Камчатка), лесной куницы и кидуса из Омской области, которые были предоставлены С.Н. Каштановым. Всего исследована 241 особь.

Амфибии отловлены в летние полевые сезоны 1995–2012 гг. в 8 районах юго-западной части Западной Сибири. Всего исследовано 1082 особи остромордой лягушки *Rana arvalis* Nilsson, 1842 и 33 – сибирской *Rana amurensis* Boulenger, 1886.

Плотва *Rutilus rutilus* Pallas, 1811, язь *Leuciscus idus* Linnaeus, 1758 и елец *Leuciscus leuciscus* Dybowski, 1874 отловлены в ноябре–январе 2008–2010 гг. в 20 пунктах, расположенных на 9 реках Обь-Иртышского бассейна: Северная Сосьва, Обь, Большой Салым, Иртыш, Конда, Тобол, Тура, Ик и Уй. Исследовано 12 выборок плотвы, 16 – язя, 4 – ельца, общей численностью 717 особей. Ротан-головешка *Perccottus glenii* Dydowski, 1877 отловлен в 2007–2014 гг. в озерах Андреевское, Сингуль, Теренкуль, реках Иртыш, Тавда и Исеть. Изучено 495 особей этого вида.

2.2. Методы исследования. Гельминтологические исследования млекопитающих проводили по руководству В.М. Ивашкина с соавторами (1971), рыб – по И.Е. Быховской-Павловской (1985). Для оценки обилия описторхид в тканях рыб использовали компрессионный метод и метод переваривания искусственным желудочным соком в модификации В.В. Звягиной (1995). Для видовой идентификации гельминтов пользовались определителями (Рыжиков и др., 1978, 1979; Генов, 1984; Определитель..., 1987; Метацеркарии..., 2002 и др.). Рассчитывали показатели зараженности: экстенсивность инвазии (ЭИ), в %; интенсивность инвазии (ИИ), индекс обилия (ИО); индексы видового разнообразия Шеннона-Винера (H) паразитов и хозяев. Достоверность различий по показателям зараженности оценивали с использованием компьютерной программы Quantitative Parasitology 3.0 (Rozsa et al., 2000). Экстенсивность инвазии сравнивали по критерию Хи-квадрат (χ^2) и точному критерию Фишера (F), интенсивность инвазии – с использованием медианного теста.

Генетические характеристики популяций изучены у 15 видов животных (табл. 1). Изоферментный анализ проводили методом электрофореза в 7.5% полиакриламидном

геле (ПААГ) (Маурер, 1971). У разных видов изучено от 11 до 32 локусов, кодирующих от 6 до 16 ферментных систем, белки крови, мышц (Корочкин и др., 1977; Richardson, 1986).

Таблица 1. Материалы генетических исследований

Вид	Количество		Места сбора материала	Период сбора
	особей	выборок		
Млекопитающие				
<i>Sorex araneus</i> – обыкновенная бурозубка	510	11	Таежные, подтаежные и лесостепные районы Западной Сибири (территория Тюменской, Свердловской, Омской, Курганской областей)	2001-2015
<i>Myodes rutilus</i> – красная полевка	706	30		1997-2015
<i>Myodes glareolus</i> – рыжая полевка	332	16		1997-2015
<i>Microtus gregalis</i> – узкочерепная полевка	250	7		1998-2013
<i>Apodemus agrarius</i> – полевая мышь	518	14		1998-2015
<i>Mus musculus</i> – домовая мышь	116	5		1998-2015
<i>Sylvaemus uralensis</i> – малая лесная мышь	45	1		2004
<i>Martes zibellina</i> – соболь	209	8		2008-2014
<i>Martes martes</i> – лесная куница	32	2		2008-2014
Всего	2718	94		1997-2015
Амфибии				
<i>Rana arvalis</i> – остромордая лягушка	718	9		1995-2015
<i>Rana amurensis</i> – сибирская лягушка	33	1		2010-2012
Всего	751	10		1995-2015
Рыбы				
<i>Rutilus rutilus</i> – плотва	316	12	Реки и озера Обь-Иртышского бассейна	2008-2010
<i>Leuciscus idus</i> – язь	331	16		2008-2010
<i>Leuciscus leuciscus</i> – елец	70	4		2008-2010
<i>Perccottus glenii</i> – ротан-головешка	110	2		2007-2014
Всего	827	34		

Для изучения полиморфизма ДНК использовали три типа маркеров – рестрикционные фрагменты гена цитохрома *b* мтДНК; последовательности, ограниченные простыми повторами – ISSR (Williams et al., 1990; Zietjiewicz et al., 1994) и микросателлиты. ДНК экстрагировали из сердечной мышечной ткани, фиксированной в 70% этаноле, с использованием набора для выделения ДНК Diatom® DNA Prep100 (Isogene Lab Ltd) и методом щелочного лизиса (Bender et al., 1983).

Для рестрикционного анализа гена цитохрома *b* мтДНК куньих использовали последовательности праймеров и режимы реакций из работы (Балмышева, Соловенчук, 1999), с модификациями, и эндонуклеазы: *Hae*III, *Bst*NI, *Taq*I. Подбор рестриктаз обусловлен наличием соответствующих сайтов рестрикции в анализируемом участке митохондриального генома как соболя, так и лесной куницы (Коефли et al., 2008). Электрофоретическое разделение рестрикционных фрагментов проводили в 2.5% агарозном геле. Длины фрагментов определяли с помощью маркера молекулярных масс ДНК GeneRuler™ DNA Ladder mix («Fermentas»). Для ПЦР микросателлитов куньих применяли праймеры для локуса *Elu1* и режим амплификации, описанные в работе (Kretschmer et al., 2009). Фракции микросателлитов анализировали в 6% ПААГ. Для определения размеров аллелей применяли маркер молекулярных масс ДНК – плазмиду pBR322, обработанную рестриктазой *Hpa*II («Fermentas»).

Для выявления линии рыжих полевок с митотипом красных использовали методику ПЦР-типирования, основанную на различиях последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК изучаемых видов (Абрамсон и др., 2009).

Для изучения полиморфизма ISSR млекопитающих и амфибий использовали пять праймеров: (AG)₈C, (GT)₈C, (TC)₈C, (AC)₈T и (TG)₈A, рыб – три праймера (AG)₈G, (AG)₈T, (CA)₈G. Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей ПЦР буфер (0.01 М трис-HCl, 0.05 М KCl, 0.1 % Triton X-100), 4 mM MgCl₂, 0.2 mM каждого из dNTPs, 1 мкл раствора тотальной ДНК, 2.5 mM праймера и 0.2 ед/мкл *Tag*-полимеразы («Fermentas»), в следующем режиме: 94°C – 7 мин; затем 94 °C – 30 с, 52(56) °C – 45 с, 72 °C – 2 мин (40 циклов); 72 °C – 7 мин. ISSR-фрагменты разделяли методом электрофореза в 2% агарозном геле. Длины фрагментов определяли с помощью маркера молекулярных масс ДНК 100bp. Визуализацию продуктов ПЦР и рестрикции производили путем окрашивания гелей в растворе этидиума бромида.

По результатам исследований с использованием программы POPGEN (Yeh et al., 1999) рассчитывали частоты аллелей, генотипов, долю полиморфных локусов (P_{95}), наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_e) гетерозиготность, генетическое разнообразие Нея (h), индексы генетического сходства (I_N) и генетические дистанции Нея (D_N), F-статистики (F_{ST} , G_{ST}). Сравнение частот аллелей и оценку соответствия генотипических частот равновесию Харди–Вайнберга проводили с использованием критерия Хи-квадрат (χ^2). Дендрограммы строили на основе генетических дистанций (Nei, 1972) методом UPGMA.

Статистические сравнения зараженности животных с разными генотипами проводили по *t*-критерию Стьюдента и *F*-критерию Фишера в рамках дисперсионного анализа (ANOVA). Зараженность нематодами кунных с разными гаплотипами мтДНК сравнивали методом регрессионного анализа с использованием скорректированного коэффициента детерминации (adjusted R^2). Для оценки взаимосвязи генетических и паразитологических показателей популяций применяли коэффициенты корреляции (r) и ранговой корреляции Спирмена (R_s). Для статистической обработки данных использовали компьютерную программу STATISTICA 6.0 (1998).

ГЛАВА 3. ГЕЛЬМИНТОФАУНА МОДЕЛЬНЫХ ГРУПП ЖИВОТНЫХ

3.1. Зараженность гельминтами млекопитающих Западной Сибири.

3.1.1. Бурозубки р. *Sorex*. Исследовано 608 особей 8 видов бурозубок, в том числе: 510 – обыкновенной *Sorex araneus* Linnaeus, 1758, 19 – средней *S. caecutiens* Laxmann, 1788, 31 – малой *S. minutus* Linnaeus, 1766, 41 – тундряной *S. tundrensis* Merriam, 1900, 2 – крошечной *S. minutissimus* Zimmermann, 1780, 2 – равнозубой *S. isodon* Turov, 1924, 2 – бурой *S. roboratus* Hollister, 1913, 1 – крупнозубой *S. daphaenodon* Thomas, 1907 (Жигилева, Сергеева, 2003; Жигилева и др., 2003; 2006; Кутаева, Жигилева, 2009). Фауна гельминтов бурозубок изученных районов включает 30 видов: 16 – цестод, 6 – трематод и 8 – нематод (табл. 2). Повсеместно с высокими показателями инвазии встречаются цестоды *Ditestolepis diaphana* Colodkowsky, 1906, *Staphylocystis furcata* Stieda, 1962, *Monocercus arionis* Siebold, 1850 Villot, 1882. Из нематод наиболее распространены *Capillaria incrassata* Diesing, 1851 и *L. pseudodidas* Vaucher, Durette-Desset, 1973. Трематодофауна беднее, даже специфичные для бурозубок виды – *Neoglyphe locellus* Kossack, 1910, *Rubenstrema exasperatum* Rudolphi, 1819 и *Rubenstrema opisthovitellinus* Soltys, 1954, регистрируются относительно редко. Зараженность гельминтами обыкновенной бурозубки в таежных районах достигает 100%, в подтаежных – 98%, в лесостепных – 75%. На одно животное приходится в среднем 20 гельминтов. Показатели инвазии бурозубок уменьшаются в направлении от таежных к лесостепным районам.

3.1.2. Мыши рр. *Mus*, *Apodemus*. Исследовано 596 особей мышей, в том числе 111 – *Mus musculus* Linnaeus, 1758 и 485 – *Apodemus agrarius* Pallas, 1771 (Жигилева и др., 2006; 2016). У мышей выявлено 15 видов гельминтов: 8 видов нематод, 4 – цестод, 2 – трематод и 1 вид скребней. Домовая мышь инвазирована 7 видами, полевая – 13 (табл. 3).

Таблица 2. Видовой состав и встречаемость гельминтов насекомоядных

Вид гельминта	Хозяева	Место обитания	Встречаемость
Цестоды: <i>Neoskrjabinolepis singularis</i>	<i>S. araneus, S. caecutiens, S. minutus, S. tundrensis</i>	повсеместно	**
<i>N. schaldibini</i>	<i>S. araneus</i>	подтайга, тайга	***
<i>Ditestolepis diaphana</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis, S. minutus, S. isodon, S. minutissimus</i>	повсеместно	***
<i>Lineolepis scutigera</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis, S. isodon, S. caecutiens</i>	повсеместно	**
<i>L. borealis</i>	<i>S. araneus</i>	тайга	**
<i>Mathevolepis skrjabini</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis</i>	повсеместно	**
<i>Brachylepis sorextscherskii</i>	<i>S. araneus, S. minutus</i>	тайга	**
<i>Spasskilepis ovaluteri</i>	<i>S. araneus</i>	подтайга, тайга	**
<i>Staphylocystis furcata</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis, S. minutus, S. caecutiens</i>	повсеместно	***
<i>S. sibirica</i>	<i>S. araneus, S. minutus</i>	подтайга, тайга	**
<i>Urocystis prolifer</i>	<i>S. araneus, S. caecutiens</i>	тайга	**
<i>Skrjabinacanthus diplocoronatus</i>	<i>S. araneus</i>	лесостепь, подтайга	**
<i>Monocercus arionis</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis, S. minutus, S. minutissimus</i>	повсеместно	***
<i>Hepatocestes hepaticus</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis</i>	лесостепь, тайга	**
<i>Mesocestoides lineatus</i> (larv.)	<i>S. araneus</i>	тайга	*
<i>Dilepis undula</i>	<i>S. araneus</i>	подтайга	**
Трематоды: <i>Rubinstrema exasperatum</i>	<i>S. araneus, S. isodon, S. tundrensis</i>	повсеместно	**
<i>R. opisthovitellinus</i>	<i>S. araneus</i>	лесостепь, подтайга	***
<i>Skrjabinophyetus soricis</i>	<i>S. araneus</i>	подтайга	*
<i>Plagiorchis elegans</i>	<i>S. araneus</i>	подтайга	*
<i>Neoglyphe locellus</i>	<i>S. araneus, S. minutus</i>	подтайга, тайга	**
<i>Alaria alata</i> (larv.)	<i>S. araneus</i>	подтайга	**
Нематоды: <i>Hepaticola soricicola</i>	<i>S. araneus, S. minutus</i>	подтайга, тайга	**
<i>Skrjabinoclava soricis</i>	<i>S. araneus</i>	подтайга	*
<i>Longistriata pseudodidas</i>	<i>S. araneus, S. minutus, S. minutissimus</i>	повсеместно	***
<i>L. depressa</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis, S. minutus</i>	повсеместно	**
<i>Parastrongyloides winchesi</i>	<i>S. araneus, S. tundrensis, S. isodon</i>	лесостепь, подтайга	**
<i>Capillaria sp.</i>	<i>S. araneus, S. minutus</i>	повсеместно	**
<i>Porrocaecum sp.</i> (larv.)	<i>S. araneus</i>	лесостепь	*
<i>Soboliphyme sp.</i> (larv.)	<i>S. araneus</i>	тайга	**

Примечание: *** часто встречается (ЭИ > 30%), ** редко встречается (ЭИ < 30%), * единичные находки.

Таблица 3. Видовой состав и встречаемость гельминтов грызунов

Вид гельминта	Хозяева	Место обитания	Встречаемость
Цестоды:			
<i>Paranoplocephala dentata</i>	<i>Microtus gregalis</i>	лесостепь	**
<i>P. omphalodes</i>	<i>Myodes, Microtus</i>	повсеместно	***
<i>P. blanchardi</i>	<i>Microtus gregalis</i>	лесостепь, подтайга	**
<i>Catenotaenia cricetorum</i>	<i>Myodes</i>	повсеместно	***
<i>Arostrilepis horrida</i>	<i>Myodes</i>	повсеместно	***
<i>Hymenolepis sp.1</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	подтайга	***
<i>Hymenolepis sp.2</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	подтайга	***
<i>Rodentolepis microstoma</i>	<i>Apodemus agrarius</i> <i>Cricetus cricetus</i>	повсеместно лесостепь	** **
<i>Rodentolepis straminea</i>	<i>Mus musculus</i>	подтайга, тайга	**
<i>Hydatigera taeniaeformis</i> (larv.)	<i>M. glareolus, A. agrarius</i>	подтайга	**
<i>Taenia mustelae</i> (larv.)	<i>Myodes, Microtus gregalis</i>	лесостепь, подтайга	**
Трематоды:			
<i>Plagiorchis eutamiatis</i>	<i>M. rutilus, A. agrarius</i> <i>Microtus gregalis</i>	лесостепь, подтайга	** *
<i>P. elegans</i>	<i>Apodemus agrarius</i> <i>Microtus gregalis</i>	лесостепь, подтайга подтайга	** *
<i>P. vespertilionis</i>	<i>Rattus norvegicus</i>	лесостепь	*
<i>Psiloptostomum sp.</i>	<i>Cricetus cricetus</i>	подтайга	*
<i>Euparyphium sp.</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	лесостепь	*
Нематоды:			
<i>Heligmosomoides polygyrus</i>	<i>Apodemus agrarius</i> <i>Microtus gregalis</i>	лесостепь, подтайга	** **
<i>H. laevis</i>	<i>Myodes</i> <i>Mus musculus</i>	подтайга, тайга	*** **
<i>H. longispiculus</i>	<i>Microtus gregalis</i>	лесостепь	**
<i>H. orientalis</i>	<i>Microtus gregalis</i> <i>Apodemus agrarius</i>	лесостепь подтайга	** **
<i>Heligmosomum mixtum</i>	<i>Myodes</i> <i>Microtus arvalis</i> <i>Apodemus agrarius</i>	повсеместно подтайга лесостепь	*** ** *
<i>Trichocephalus muris</i>	<i>Microtus</i>	лесостепь	**
<i>Syphacia obvelata</i>	<i>Myodes rutilus</i> <i>Apodemus agrarius</i>	лесостепь	** ***
<i>S. microtus</i>	<i>Microtus gregalis</i>	лесостепь	***
<i>S. stroma</i>	<i>Apodemus agrarius</i> <i>Mus musculus</i> <i>Microtus gregalis</i>	подтайга лесостепь	** * ***
<i>S. montana</i>	<i>Mus musculus</i>	тайга	*
Скребни:			
<i>Moniliformis moniliformis</i>	<i>Myodes glareolus</i> <i>Apodemus agrarius</i>	подтайга	* *

Примечание: *** часто встречается (ЭИ > 20%), ** редко встречается (ЭИ < 20%), * единичные находки.

В гельминтофауне мышей обычны нематоды pp. *Syphacia* и *Heligmosomoides*. Половозрелые и личиночные формы цестод встречаются редко, трематоды *Plagiorchis*

eutamiatis Schulze, 1932, *Plagiorchis elegans* Rudolphi, 1802, скребни *Moniliformis moniliformis* Bremser, 1811 регистрируются спорадически. Показатели зараженности гельминтами городских популяций мышей выше, чем в сельской местности и в естественных биогеоценозах. Экстенсивность инвазии нематодами полевых мышей г. Тюмени в отдельные годы достигает 67% при индексах обилия до 19 на одно животное. В загородных популяциях эти показатели равны 2–17% и не более 4 гельминтов на особь. Трематоды и скребни в городских популяциях мышей не обнаружены. Наибольшее видовое богатство и разнообразие гельминтов наблюдается в условиях экологического оптимума вида хозяина: у полевой мыши – в трансформированных местообитаниях (лесопарковая зона города), у домового – собственно антропогенных (частный сектор, дачи, зернохранилища).

3.1.3. Полевки р. *Myodes*. Исследовано 1037 особей лесных полевок, в том числе 692 – *Myodes (Clethrionomys) rutilus* Pallas, 1779 и 345 – *M. (C.) glareolus* Schreber, 1780 (Хританько, Жигилева, 2003; Жигилева и др., 2006; 2008; 2016). У лесных полевок выявлено 10 видов гельминтов, из них повсеместно встречаются *Arostrilepis horrida* Linstow, 1901, *Catenotaenia cricetorum* Kirschenblatt, 1949, *Paranoplocephala omphalodes* Hermann, 1783, нематоды *Heligmosomum mixtum* Schulz, 1954 и *Heligmosomoides laevis* Dujardin, 1845. Находки других видов: цестод *Taenia mustelae* Gmelin, 1790, трематод *P. eutamiatis*, нематод *Syphacia obvelata* Rudolphi, 1802, *Heligmosomoides polygyrus* Dujardin, 1845, скребней *M. moniliformis*, – единичны. В условиях симпатрии красная и рыжая полевки заражаются одинаковыми видами гельминтов со сходными показателями инвазии. Экстенсивность инвазии значительно варьирует в зависимости от года и места отлова: у красной полевки в пределах 9–82%, у рыжей – 4–88%. Оба вида наиболее заражены гельминтами в подтаежной зоне, в лесостепных районах наблюдается уменьшение показателей их зараженности специфичными паразитами, обеднение видового разнообразия паразитов у рыжей полевки и включение красной полевки в циркуляцию неспецифичных видов гельминтов (*S. obvelata*, трематоды, скребни).

3.1.4. Куны р. *Martes*. Исследовано 187 особей, включая 93 соболя, 18 куниц и 76 атипичных особей этих видов, которые представляют собой результат древней и современной интрогрессивной гибридизации. В 8 районах Западной Сибири у кунных выявлено 4 вида нематод: в кишечнике паразитируют *Capillaria putorii* Rudolphi, 1819, *Strongyloides martis* Petrov, 1940, в легких – *Crenosoma petrovi* Morosov, 1939, *Filaroides martis* Werner, 1782 (Жигилева, Чебоксарова, 2012; Жигилева, Усламина, 2016а). Зараженность нематодами *F. martis* и *S. martis* лесной куницы статистически значимо больше, чем соболя. У гибридов соболя и куницы (кидусов) показатели инвазии статистически значимо не отличались от таковых родительских видов (табл. 4). Показатели экстенсивности инвазии нарастают в направлении с севера (таежные районы) на юг (подтаежные районы). В зоне лесостепи у лесной куницы инвазия не выявлена.

Таблица 4. Показатели зараженности гельминтами ($\bar{x} \pm SE$)

Вид гельминта	Соболь		Лесная куница		Гибриды	
	ЭИ, %	ИО*	ЭИ, %	ИО*	ЭИ, %	ИО*
<i>C. putorii</i>	25.6 ± 4.4	1.59	30.8 ± 10.3	1.69	23.7 ± 6.3	2.37
<i>S. martis</i>	9.1 ± 2.9	1.18	42.8 ± 11.1**	8.29	25.0 ± 6.4	6.19
<i>C. petrovi</i>	23.1 ± 4.2	4.08	38.5 ± 10.9	6.23	28.8 ± 6.7	5.66
<i>F. martis</i>	26.5 ± 4.4	2.36	53.3 ± 11.2***	2.41	34.8 ± 7.0	3.20

Примечание: * индекс обилия (ИО) легочных гельминтов указан в пересчете на 1 г легочной ткани, ** статистически значимо по сравнению с соболем (p-value = 0.0002), *** (p-value = 0.0196).

3.2. Зараженность гельминтами амфибий Западной Сибири. У остромордой лягушки в исследованных районах Западной Сибири обнаружено 9 видов гельминтов, из них наиболее часто встречаются нематоды *Rhabdias bufonis* Schrank, 1788, *Oswaldocruzia filiformis* Goeze, 1782, *Cosmocerca ornata* Dujardin, 1845 и трематоды *Haplometra cylindracea* Zeder, 1800, *Dolichosaccus rastellus* Olsson, 1876, *Opisthioglyphe ranae* Froelich, 1791. Видовой состав гельминтов остромордой и сибирской лягушек при обитании в одном биотопе не различается и представлен четырьмя наиболее распространенными видами. Это связано с полигостальностью гельминтов, а также указывает на перекрывание экологических ниш сибирской и остромордой лягушек.

3.3. Зараженность трематодами рыб семейства Карповых Обь-Иртышского бассейна. Определены показатели инвазированности метацеркариями трематод плотвы, ельца и язя, обитающих в 9 реках Обь-Иртышского бассейна (Жигилева и др., 2010б; Жигилева и др., 2014г). Из трех изученных видов наиболее заражен язь. Его заражение метацеркариями *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884 и *Metorchis bilis* Braun, 1790 из рек Обь, Северная Сосьва, Иртыш и Конда достигало 100%. Показатели инвазии язя описторхидами стабильно высокие на всей исследованной части Обь-Иртышского бассейна, не зависимо от места отлова, пола и весо-размерных характеристик. Трематофауна ельца сходна с таковой язя, но показатели инвазии в два раза ниже. Плотва служит хозяином описторхид не во всех реках. Ее инвазированность описторхидами на 1–2 порядка ниже, чем ельцов. Значимым источником инвазии описторхидами может служить только наиболее крупная плотва, отловленная в центре очага – реках Обь (район Нефтеюганска) и Большой Салым. Зараженность плотвы метацеркариями *Ichthyocotylurus* sp. достигает 73% и варьирует в широких пределах в зависимости от мест отлова. Доля метацеркарий прочих видов трематод (*Paracoenogonimus ovatus* Katsurada, 1914, *Rhytidocotyle campanula* Dujardin, 1845, *Methorchis xanthosomus* Creplin, 1846, *Posthodiplostomum cuticola* Nordmann, 1832) в общей структуре инвазированности рыб – незначительна. Наиболее неблагоприятной рекой, характеризующейся максимальными суммарными показателями зараженности рыб трематодами, является река Обь в среднем течении.

ГЛАВА 4. ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МОДЕЛЬНЫХ ГРУПП ЖИВОТНЫХ

4.1. Генетическая изменчивость в популяциях млекопитающих.

4.1.1. Бурозубка *S. araneus*. Методом аллозимного анализа по 18 изоферментным локусам была изучена изменчивость 510 особей обыкновенной бурозубки из 11 районов (Жигилева, Сергеева, 2003; Жигилева и др., 2013). Показатели аллозимного полиморфизма обыкновенной бурозубки низкие: P_{95} составляет в среднем 0.27 ± 0.02 , H_O – 0.043 ± 0.004 , H_E – 0.083 ± 0.006 . Уровень генетической дифференциации популяций бурозубок высокий ($F_{ST} = 0.3$). Значения генетических дистанций Нея варьируют от 0.002 до 0.07 в пределах хромосомной расы Новосибирск, и увеличиваются до 0.06–0.13 между расами Серов и Новосибирск. Дистанции по аллозимным маркерам между хромосомными расами в два раза превышают уровень межпопуляционных различий. Распределение частот генотипов указывает на равновесное состояние генетической структуры популяций бурозубки в исследованных районах Западной Сибири.

4.1.2. Мыши pp. *Mus*, *Apodemus*, *Sylvaemus*. Изучен аллозимный полиморфизм пяти выборок *M. musculus*, обитающих в городах Тюмень, Ишим и Сургут; *S. uralensis* в окрестностях заказника «Рафайловский»; 14 выборок *A. agrarius*, обитающих в городах и районах юга Тюменской области. Из трех изученных видов наименьший уровень аллозимного полиморфизма был у *S. uralensis* ($P_{95} = 0.222$, H_O (H_E) = 0.028 (0.082)),

наибольший – *A. agrarius* ($P_{95} = 0.444$, $H_O (H_E) = 0.067 (0.149)$). У домашней мыши эти показатели составили: $P_{95} = 0.353$, $H_O (H_E) = 0.037 (0.086)$. Полевая мышь, заселяющая селитебные и межселенные территории, и имеющая больше возможностей для межпопуляционного обмена, характеризуется более высокими значениями потока генов, более низкими значениями генетических дистанций и более равномерным распределением параметров полиморфизма. Вследствие чего генетические дистанции между локальными популяциями этого вида соответствуют географическим расстояниям между пунктами. Популяции домашней мыши имеют «скачкообразные» изменения параметров белкового полиморфизма в разных населенных пунктах, которые могут быть связаны с формированием генетически неоднородных популяций в результате одновременных инвазий, а также ограниченным потоком генов между городами Сибири.

4.1.3. Полевки р. *Myodes*. Методом изоферментного анализа исследовано 30 выборки красной полевки и 16 – рыжей, общей численностью 706 и 332, соответственно (Левых, Жигилева, 2006; Жигилева и др., 2008; Левых, Жигилева, 2012). Наблюдается сходство по генетическим параметрам двух видов полевок при обитании в подтаежных районах. Показатели аллозимного полиморфизма красной полевки в таежных и лесостепных районах не различаются и составляют: $P_{95} = 0.426$; $H_O = 0.084$; $H_E = 0.168$ и $P_{95} = 0.506$; $H_O = 0.126$; $H_E = 0.181$, соответственно. Уровень аллозимного полиморфизма рыжей полевки в подтаежных районах сопоставим с красной ($P_{95} = 0.338$; $H_O = 0.093$; $H_E = 0.122$); в лесостепных – генетическая изменчивость рыжей полевки меньше в 3–4 раза: $P_{95} = 0.196$; $H_O = 0.036$; $H_E = 0.103$. В этих условиях у красной полевки наблюдается перестройка генетической структуры популяций, которая выражается в преобладании альтернативных аллелей по сравнению с северными районами.

4.1.4. Куны р. *Martes*. Данные о генетической изменчивости соболя и лесной куницы, полученные с использованием ядерных и митохондриальных маркеров, указывают на высокое сходство и низкую дифференциацию западносибирских популяций этих видов (Жигилева и др., 2014а; Zhigileva et al., 2014в). Это сходство, вероятно, обусловлено интрогрессивной гибридизацией в зоне симпатрии, которая носит симметричный характер. Гибриды имеют повышенный уровень гетерозиготности и генетически ближе к соболю, чем к кунице.

4.2. Генетическая изменчивость в популяциях амфибий. Уровень генетической изменчивости западносибирских популяций остромордой лягушки высокий (по аллозимным маркерам $P_{95} = 0.562$; $H_E = 0.167$; по ISSR-маркерам $P_{95} = 0.633–0.933$; $h = 0.18–0.20$). Сибирская лягушка также имеет высокий уровень генетической изменчивости (по ISSR-маркерам $P_{95} = 0.900$; $h = 0.31$), противоречащий ее малой численности и ограниченному распространению на изучаемой территории. В Западной Сибири выделяется две группы популяций остромордой лягушки – северные и южные. Генетическая дифференциация между популяциями амфибий хорошо выражена ($F_{ST} = 0.18$).

4.3. Популяционно-генетическая структура карповых рыб и их паразита – *Opisthorchis felineus* в Обь-Иртышском очаге описторхоза. Для изучения популяционной структуры рыб Обь-Иртышского бассейна использовали два метода – изоферментный анализ и ISSR-PCR, которые показали, в целом, сопоставимые результаты (Жигилева и др., 2009; Жигилева и др., 2010а; Zhigileva et al., 2013а).

В результате изучения 8 выборок *O. felineus* из разных рек Обь-Иртышского бассейна показано, что на обширной части ареала этот вид характеризуется низким генетическим разнообразием по изоферментным локусам. Выборки из географически удаленных районов имеют низкие значения генетических дистанций (Zhigileva et al., 2013б; 2014а). Тем не менее, можно выделить три популяционные группировки *O. felineus* на обследованной части ареала (рис. 1).

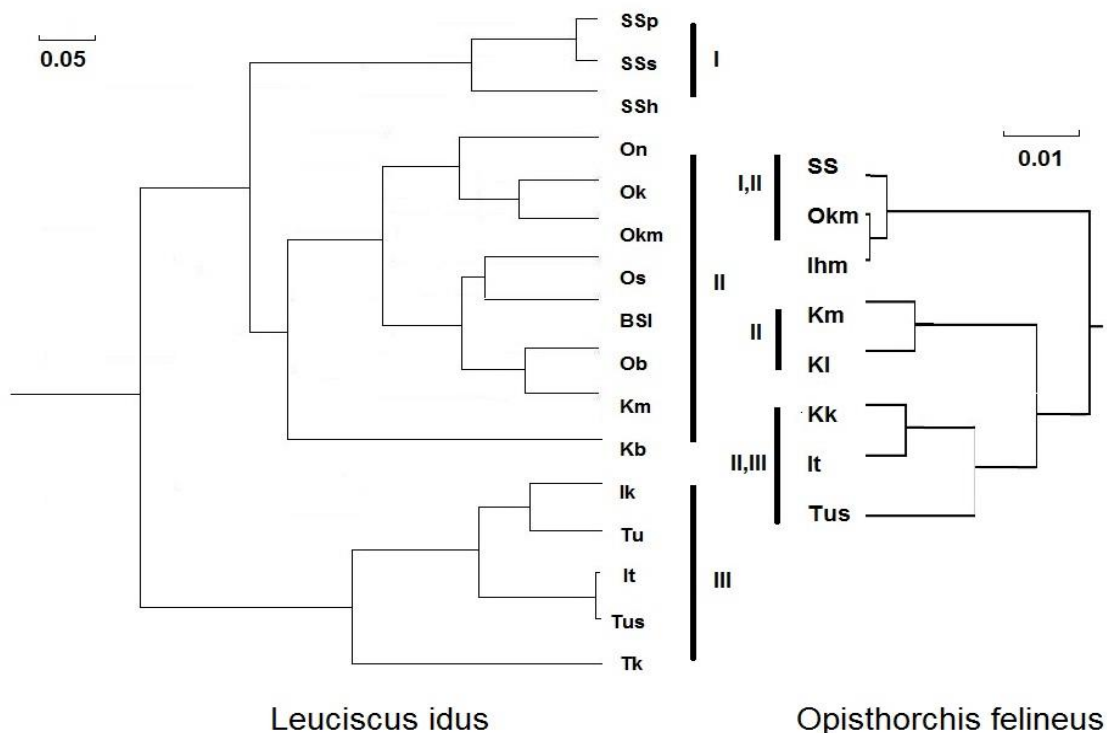


Рис. 1. UPGMA-дендрограмма генетических дистанций Нея (1978) язя и *O. felineus* из разных мест Обь-Иртышского бассейна (Zhigileva et al., 2014a).

Сравнение популяционно-генетической структуры паразита с генетической структурой популяций его промежуточных хозяев – карповых рыб показало, что они не совпадают. Уровень генетической дифференциации паразита ниже, чем у рыб. Значения генетических дистанций у паразита варьировали в пределах 0.001–0.046, у язя – 0.020–0.285, у плотвы – 0.007–0.252. Значение F_{ST} в этих группах составило 0.277, 0.625 и 0.550, соответственно. Можно заключить, что миграции и популяционная структура вторых промежуточных хозяев (рыб) не играет важной роли в формировании популяционно-генетической структуры *O. felineus*.

ГЛАВА 5. ВЗАИМОСВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПОПУЛЯЦИЙ ЖИВОТНЫХ

Паразиты и хозяева формируют биоценотические системы, компоненты которых связаны вещественно-энергетическими и регуляторными взаимодействиями. На видовой состав и численные соотношения компонентов гельминто-гостальных сообществ накладывают отпечаток история их формирования и экологические условия. Приспособление популяций к условиям обитания обеспечивается комплексом генотипических адаптаций. Поэтому можно предположить согласованный характер пространственно-временного варьирования показателей видového и генетического разнообразия паразитов и хозяев на межпопуляционном уровне, а также зависимость паразитарной нагрузки от внутривидовой генотипической неоднородности хозяев.

5.1. Взаимосвязь показателей видového и генетического разнообразия мелких млекопитающих с зараженностью гельминтами. У 9 видов насекомоядных исследованных районов Западной Сибири зарегистрировано 30 видов гельминтов, у 12 видов грызунов найдено 27 видов гельминтов, в том числе 11 видов цестод, 5 – трематод,

10 – нематод и 1 вид скребней (табл. 2–3). Видовое богатство паразитов превышает видовое богатство хозяев в 2.5 раза у грызунов и в 3 раза – у насекомоядных. Значения индексов видового разнообразия грызунов составляют 0.97, насекомоядных – 0.58, их гельминтов – 1.01 и 1.24, соответственно (Жигилева, 2011). Между показателями видового разнообразия сообществ грызунов и их гельминтов наблюдается положительная корреляция ($r = + 0.56$, $P < 0.001$). Паразиты в значительной степени зависят от своих хозяев, что выражается в гостальной специфичности. Более половины изученных видов гельминтов грызунов специфичны к виду или роду хозяина, и меньшая часть способны инвазировать хозяев разных семейств. Поэтому наличие и соотношение определенных видов хозяев в биоценозе определяет встречаемость их специфичных гельминтов. Для насекомоядных зависимость между показателями видового разнообразия хозяев и их гельминтов статистически не значима ($r = - 0.36$, $P = 0.13$), что можно объяснить более низким таксономическим рангом различий видов хозяев (1 род), полигостальностью большинства гельминтов в пределах р. *Sorex* (Корниенко, Гуляев, 2002; Чечулин, Карпенко, 2004) и доминированием во всех районах обыкновенной бурозубки.

Генетическая изменчивость является неотъемлемой характеристикой любой популяции, позволяющей адаптивно реагировать на изменение условий обитания и придающей ей эволюционную пластичность. Высокие уровни изменчивости в генах, ответственных за взаимодействия паразитов и хозяев, обеспечивают им успех в коэволюционном соревновании. У мелких млекопитающих выявлена отрицательная корреляция показателей средней гетерозиготности популяций и индексов видового разнообразия гельминтов (табл. 5). Индекс обилия паразитов положительно коррелирует с гетерозиготностью популяций полевок (табл. 6).

Таблица 5. Корреляция между индексами видового разнообразия гельминтов и средней гетерозиготностью популяций млекопитающих

Вид	Количество выборок	Коэффициент корреляции	<i>p</i> -value
<i>Sorex araneus</i>	11	- 0.89	< 0.01
<i>Myodes rutilus</i>	13	- 0.19	> 0.05
<i>Myodes glareolus</i>	5	- 0.66	< 0.05
<i>Microtus gregalis</i>	7	- 0.44	< 0.05
<i>Apodemus agrarius</i>	12	- 0.25	> 0.05

Таблица 6. Корреляция между индексом обилия гельминтов и средней гетерозиготностью (H_E) популяций млекопитающих

Группа животных	Количество выборок	Коэффициент корреляции	<i>p</i> -value
<i>Myodes</i>	22	+ 0.45	< 0.05
<i>Sorex araneus</i>	14	+ 0.22	> 0.05

Положительная связь может быть опосредована через циклические изменения численности грызунов – при увеличении численности популяции растет гетерозиготность, одновременно как один из механизмов поддержания численности увеличивается и зараженность гельминтами. На фоне роста численности паразитов, происходящего, как правило, за счет некоторых облигатных для данного хозяина видов, показатели разнообразия сообществ паразитов уменьшаются. Это обуславливает разнонаправленный характер связи качественных и количественных показателей инвазии с гетерозиготностью.

Отсутствие корреляции между зараженностью и средней гетерозиготностью популяций насекомоядных может свидетельствовать о меньшей по сравнению с грызунами роли паразитарного фактора в регуляции их численности. Как эволюционно более древняя группа, насекомоядные имеют более коадаптированные паразитарные

системы с гельминтами, характеризуются высокими (до 100%) показателями инвазии и разнообразия паразитов.

5.2. Сравнительная характеристика генетической структуры популяций мелких млекопитающих с разной степенью паразитарной отягощенности. Проанализирована дифференциальная зараженность гельминтами бурозубок с разными генотипами изоферментных локусов (Жигилева, 2010б). Для изучения связи с паразитизмом выбраны полиморфные системы неспецифических эстераз и аспаратаминотрансфераз. Выбор ферментов обусловлен их участием в детоксикации паразитарных метаболитов и стрессовых реакциях животных (Серебров и др., 2001; Воронцова и др., 2006). В четырех из семи изученных выборок обнаружены статистически значимые различия по зараженности обладателей разных генотипов. При объединении выборок бурозубок более инвазированы были обладатели гетерозиготного генотипа по локусу *EST-1* ($F = 10.8$, $P < 0.001$; $t_d = 2.12$, $P < 0.05$). Возможно, гетерозиготы обладают большей способностью выдерживать паразитарную нагрузку, или гетерозиготные генотипы маркируют определенные внутривидовые группировки бурозубок, имеющие повышенную зараженность.

Одним из способов повышения гетерозиготности служит гибридизация, в результате которой образуются новые сочетания признаков и увеличивается гетерозиготность по многим локусам. В связи с этим, мы изучили зараженность гельминтами гибридных особей по сравнению с родительскими видами. В качестве модельной группы использованы близкородственные виды полевков р. *Myodes*.

5.3. Зараженность гельминтами митохондриальных линий лесных полевков. В Европе описана линия рыжей полевки, имеющая митохондриальный гаплотип красной полевки (Tegelström, 1987). Установлено, что она имеет широкое распространение на территории России, особенно в северо-западных регионах (Потапов, Лаврченко, 2009). Молекулярно-генетическими методами показано, что эта линия является следствием древней интрогрессивной гибридизации, происходившей в рефугиумах ледникового периода, обладает пониженным генетическим разнообразием и характеризуется быстрым расселением на обширные территории из одного центра (Абрамсон и др., 2009).

Мы провели сравнительное генетическое и паразитологическое исследование симпатрических популяций красной и рыжей полевки, обитающих в четырех районах Западной Сибири (Жигилева, Горбачева, 2017). В результате генотипирования во всех пунктах были выявлены особи рыжих полевки, имеющих митотип красных. Рыжие полевки с нормальным митотипом имели статистически значимо более низкие показатели экстенсивности инвазии, так как практически не заражались нематодами (табл. 7). Преимущества гибридных особей в отношении инвазии не выявлено.

Таблица 7. Зараженность гельминтами красных, рыжих полевки и их гибридов

Группа животных	n	Цестоды		Нематоды		Всего	
		ЭИ, %	ИИ*	ЭИ, %	ИИ*	ЭИ, %	ИИ*
Красная полевка	76	27.6	3	13.2	7.5	38.2	6.0
Рыжая полевка	39	17.9	10	0	0	17.9	10.0
Рыжая с митотипом красной	22	40.9	5	22.7	8	54.5	8.5
Exact p-value		0.158	0.364	0.006	1.000	0.010	0.711

Примечание: * приведено медианное значение интенсивности инвазии.

5.4. Сравнительная генетическая характеристика группировок рыб, неравнозначных в отношении трематодной инвазии. С целью выяснения генетических особенностей рыб, не равнозначных в отношении трематодной инвазии, мы сравнили

распределения частот аллелей шести полиморфных изоферментных локусов среди зараженных и не зараженных личинками трематод особей в пяти выборках плотвы, четырех – ельца и девяти – язя (Жигилева и др., 2010в).

На межпопуляционном уровне выявлены отрицательные корреляции между ожидаемой гетерозиготностью (H_E) и экстенсивностью инвазии язя метацеркариями *M. bilis* ($r = -0.50$, $P < 0.05$), фактической гетерозиготностью (H_O) и индексом обилия метацеркарий трематод в мышцах ($R_S = -0.65$, $P < 0.05$), полиморфностью (P_{95}) и индексом обилия ($R_S = -0.73$, $P < 0.05$). Это подтверждает гипотезу о большей устойчивости к паразитарной инвазии популяций с высокими показателями генетической изменчивости.

На внутривидовом уровне у плотвы существует слабая положительная корреляция между уровнем индивидуальной полилокусной гетерозиготности (H_O) по изоферментным локусам и зараженностью *O. felineus* ($r = 0.20$, $P < 0.05$), у язя – такая же связь с зараженностью *Ichthyocotylurus sp.* ($r = 0.35$, $P < 0.05$). Возможно, повышенная гетерозиготность среди инвазированных рыб является маркером внутривидовых группировок, имеющих особенности развития, морфологии, экологии, служащих основой для более высокой предрасположенности к трематодной инвазии. Это согласуется с данными, полученными на мелких млекопитающих, и может свидетельствовать о большей толерантности к инвазии гетерозигот.

5.5. Проверка гипотезы толерантности гетерозиготных генотипов в опытах на лабораторных животных. Проверка гипотезы толерантности гетерозиготных генотипов проводилась на модельной системе «золотистые хомяки *Mesocricetus auratus* – *Opisthorchis felineus*». Всего в экспериментах по заражению участвовало 20 гомозиготных (I группа, инбредная линия) и 20 гетерозиготных животных (II группа, аутбредная линия). Группы были выровнены по полу (в каждой участвовало по 10 самок и 10 самцов) и возрасту – брались молодые особи (от 4 до 8 месяцев). Гетерозиготность оценивали методом изоферментного анализа белков крови. Животных содержали в стандартных условиях вивария, при проведении опытов соблюдали все правила работы с лабораторными животными (Приказ МЗ РФ №755 от 12.08.77). В качестве инвазионного материала использовали мышцы язей, зараженных метацеркариями *O. felineus*, из рек Тура, Тобол, Обь, Конда. Мышцы, содержащие жизнеспособных личинок описторхисов, скармливали животным в количестве 5–10 г ткани в расчете на 1 животное ежедневно утром натощак в течение 5 дней. Чтобы нивелировать различия, связанные с разной степенью зараженности рыб, мышцы одной рыбы с правой стороны скармливали животным I группы, с левой – животным II группы. Через 3 месяца с начала постановки биопробы было выявлено, что все животные (100%) оказались инвазированы *O. felineus*. Статистически значимых различий по интенсивности инвазии животных I и II опытных групп не выявлено (табл. 8).

Таблица 8. Результаты биологических проб

Показатель	I группа	II группа
Количество марит <i>O. felineus</i> (min – max)	12 – 236	23 – 266
Количество марит <i>O. felineus</i> (\bar{X} ср. \pm m)	115.40 \pm 19.09	109.27 \pm 18.25
Значение t-критерия Стьюдента (bootstrap p -value)	0.232 ($p = 0.819$)	
Значение критерия Фишера (exact p -value)	0.050 ($p = 0.466$)	

По-видимому, сама по себе гетерозиготность не влияет на результат заражения и не является механизмом защиты от паразитов, по крайней мере, на организменном уровне. Корреляции между гетерозиготностью и зараженностью, обнаруженные при изучении природных популяций животных, имеют опосредованный характер и указывают на

наличие регуляторных популяционных механизмов. Наличие такого механизма является эмерджентным свойством и характерно для сбалансированных (естественных) популяционных систем. Искусственные системы, как, например, сформированные группы лабораторных животных, не обладают такими свойствами.

ГЛАВА 6. АССОЦИАЦИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ С ЗАРАЖЕННОСТЬЮ ЖИВОТНЫХ ГЕЛЬМИНТАМИ

Разные популяции одного и того же вида животных имеют разные уровни инвазированности гельминтами. Показатели экстенсивности инвазии и индексы обилия варьируют в широких пределах и могут различаться в разных популяциях на порядок. Внутри популяций также существуют различия в показателях зараженности разных особей. Практически всегда в популяциях животных можно выявить группы не инвазированных, инвазированных в слабой степени и гиперинвазированных особей. В связи с чем, интерес представляет изучение дифференциальной зараженности гельминтами животных – обладателей разных гаплотипов.

У представителей р. *Martes* установлена дифференциальная зараженность гельминтами обладателей разных гаплотипов мтДНК (Жигилева, Усламина, 2016б). Однофакторный дисперсионный анализ показал статистически значимую зависимость суммарной зараженности нематодами от гаплотипа ($F = 2.90$, $p = 0.048$). Более инвазированными были куньи с гаплотипом Z31. Суммарная зараженность гельминтами особей этой линии превышала зараженность особей линий Z30 и Z5 в 2 раза, а животных линии АК23 – в 4 раза (табл. 9). Различия в зараженности нематодами животных с разными гаплотипами мтДНК свидетельствует о том, что разные филетические линии куньих обладают разной степенью восприимчивости к нематодной инвазии.

Таблица 9. Среднее количество гельминтов у куньих с разными гаплотипами мтДНК ($\bar{x} \pm SE$)

Линия	<i>C. putorii</i>	<i>C. petrovi</i>	<i>F. martis</i>	Всего
Z5	6.43 ± 3.58	10.89 ± 2.80	6.36 ± 2.80	23.89 ± 7.27*
Z30	10.55 ± 3.54	20.12 ± 3.10	6.29 ± 1.22**	27.26 ± 5.37***
Z31	17.14 ± 5.13	19.73 ± 3.57	11.53 ± 2.03	51.0 ± 6.59
АК23	4.33 ± 1.15****	22.18 ± 12.80	2.95 ± 1.85*****	12.85 ± 1.22*****

Примечание: статистически значимо по сравнению с гаплотипом Z31 * ($p = 0.0198$), ** ($p = 0.033$), *** ($p = 0.039$), **** ($p = 0.045$), ***** ($p = 0.011$), ***** ($p = 0.001$).

Выявлена ассоциация зараженности представителями разных классов гельминтов бурозубок (*Sorex*) и полевок (*Myodes*) с ISSR-маркерами. В каждой группе было проанализировано более 40 бэндов, почти половина из которых у бурозубок и 14% у полевок оказались ассоциированы с инвазией (табл. 10).

Таблица 10. Ассоциация ISSR-маркеров млекопитающих с зараженностью гельминтами

Группа животных	n	Количество ISSR-бэндов			Ассоциированы с редким бэндом	Критическая нагрузка		
		Изучено	Полиморфно	Ассоциировано с инвазией		Цестод	Трематод	Нематод
<i>S. araneus</i>	85	48	31	15 (48 %)	14 (93%)	47–55	1	71–82
<i>Myodes</i>	139	42	36	5 (14 %)	5 (100%)	1	-	8–40

Эти бэнды могут маркировать внутривидовые группы, разные по происхождению (например, родственные, семейные группы, или линии потомков мигрантов) и имеющие разную генетически обусловленную восприимчивость к инвазии. Эта связь может быть также опосредована через особенности пространственного распределения особей хозяев с разными генотипами, с одной стороны, и неравномерного распределения паразитов, с другой. Что приведет к разной вероятности заражения особей с разными генотипами.

В подавляющем числе случаев инвазия была ассоциирована с редким бэндом. Низкая частота встречаемости этих бэндов может быть обусловлена избирательной гибелью обладателей данного генотипа в результате патогенного действия гельминтов. Это позволяет установить критическую паразитарную нагрузку на животных, при которой паразиты еще не являются фактором естественного отбора для хозяев (Жигилева, Шейкина, 2012). Ее величина для лесных полевок составляет 8–40 экземпляров нематод и 1 – цестод на особь хозяина, у бурозубок эти показатели выше – 70–80 нематод и 47–55 цестод. Разница может быть обусловлена как особенностями самих гельминтов – они у полевок значительно крупнее, чем у бурозубок, так и особенностями паразито-хозяинных отношений.

Для поиска маркеров популяционных группировок карповых рыб с повышенной зараженностью методами дисперсионного анализа и статистических сравнений изучали зависимость количества метацеркарий трех наиболее массовых видов трематод от генотипов полиморфных изоферментных локусов: неспецифических эстераз *EST-2,3*, малатдегидрогеназы *MDH-2*, супероксиддисмутазы *SOD-1,2* и миогенов. У язя зависимость количества трематод от генотипов была достоверной по 5 из 7 локусов, у плотвы – по 4 из 7 (Жигилева и др., 2010).

Также показана дифференциальная зараженность метацеркариями трематод язя и плотвы с разными ISSR-бэндами (Жигилева, 2010в), при этом подтвердились закономерности, выявленные на млекопитающих (табл. 11).

Таблица 11. Ассоциация ISSR-маркеров рыб с зараженностью трематодами

Вид рыб	n	Количество ISSR-бэндов			Ассоциировано с редким бэндом	Критическая нагрузка / 1 см ² мышц
		Изучено	Полиморфно	Ассоциировано с инвазией		
<i>L. idus</i>	143	20	12	6 (50 %)	6 (100%)	7.7 <i>O. felineus</i>
<i>R. rutilus</i>	111	13	11	1 (9 %)	1 (100%)	0.2 <i>M. bilis</i>

Показано, что некоторые ISSR-бэнды язя (P2-4, P2-7 и P3-7) могут служить маркерами популяционных групп рыб с повышенной зараженностью описторхидами. У плотвы только 1 бэнд (P3-4) ассоциирован с инвазией трематодами. На электрофореграмме ISSR-продуктов, синтезированных с использованием того же праймера, у язя продукты размером 900 п.н., соответствующие этому бэнду плотвы, отсутствуют. Разница генетических систем разных видов ограничивает возможности использования выявленных генетических маркеров для прогнозирования устойчивости к инвазии других, даже филогенетически близких, видов.

Поиск ассоциативных связей генетических маркеров с показателями инвазии позволил выявить аллели и (или) генотипы (гаплотипы), маркирующие группировки животных с повышенной зараженностью гельминтами, практически во всех изученных группах животных с использованием трех видов маркеров – изоферментов, ISSR и гаплотипов мтДНК. Это подтверждает перспективность использования данных генетических

маркеров для поиска ассоциативных связей с паразитарной инвазией с целью управления паразито-резистентностью популяций животных.

ГЛАВА 7. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К УПРАВЛЕНИЮ ПАРАЗИТО-РЕЗИСТЕНТНЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ ЖИВОТНЫХ

7.1. Теоретические основы технологии управления паразито-резистентными популяциями животных. Восприимчивость животных к паразитам и их толерантность к инвазии имеют генетическую природу, однако являются эффектами не отдельных генов, а их коадаптированных комплексов. При гибридизации происходит разрушение генных комплексов, которые сложились в процессе длительной адаптации к конкретным условиям среды и обеспечивают неспецифическую резистентность животных к комплексу факторов. Поэтому использование гибридизации, особенно отдаленной, с целью повышения резистентности к заболеваниям может быть только первым этапом, преследующим задачу привнесения в генофонд хозяйственно-ценного вида желаемых генов. Полигенная природа резистентности затрудняет идентификацию генов устойчивости к паразитам, поэтому возможными подходами к управлению паразито-резистентностью являются контроль уровня гетерозиготности популяций и выявление генетических маркеров устойчивых генотипов животных.

7.2. Значение оценки гетерозиготности для контроля паразито-резистентности. Уровень индивидуальной или среднепопуляционной полилокусной гетерозиготности может служить маркером неспецифической резистентности организмов и популяций. Уровень гетерозиготности часто коррелирует с признаками приспособленности и ее компонентами – плодовитостью, жизнеспособностью, скоростью роста и устойчивостью к заболеваниям, которые также скоррелированы между собой. В группе инвазированных животных нередко регистрируется повышение показателя средней гетерозиготности. Высокая гетерозиготность является механизмом сохранения жизнеспособности при инвазии (гетерозиготные генотипы более толерантны к инвазии) или служит неспецифическим ответом популяции на стресс, связанный с повышенной паразитарной нагрузкой. В связи с этим, поддержание достаточного уровня гетерозиготности популяций является условием успешного сдерживания паразитарной инвазии.

7.3. Принципы подбора и использования генетических маркеров устойчивости животных к паразитозам. Во всех процессах при определении устойчивости к болезням и паразитам, а также эффективности их лечения разными препаратами, существенное место отводится использованию молекулярных маркеров (Picot et al., 2009). С целью поиска маркеров паразито-резистентности могут быть использованы изоферменты и участки ДНК: рестрикционные фрагменты (RFLP), микросателлиты (STR), межмикросателлитные последовательности (ISSR), гаплотипы мтДНК.

Поскольку функции ферментов и биохимические пути, в которых они принимают участие, известны, это облегчает направленный поиск маркеров паразито-резистентности. К преимуществам изоферментных маркеров относится то, что они, как правило, кодоминантны, позволяют различать гомо- и гетерозиготные генотипы, показывают менделевское расщепление, отличаются высокой воспроизводимостью. Недостатком служит ограниченное количество локусов и относительно невысокие показатели полиморфизма, особенно у позвоночных животных.

Микросателлиты высокополиморфны, что объясняется их более высокими темпами мутирования по сравнению с мутабельностью остальной геномной ДНК (Ellegren, 2000; Schlötterer, 2001; Животовский, 2006). Поэтому они зарекомендовали себя как эффективные маркеры для изучения генетических процессов в популяциях животных, происходящих под влиянием антропогенных стрессоров разной природы (Ракитин и др.,

2009). В наших исследованиях статистически значимых различий в зараженности кунных – носителей разных аллелей и генотипов *STR*-локуса не установлено.

ISSR относятся к категории мультилокусных маркеров ДНК. Они отражают изменчивость генома в целом, включая кодирующую и некодирующую его части, в том числе регуляторные последовательности. Поскольку неспецифическая резистентность организма, включающая и устойчивость к паразитарной инвазии, носит полигенный характер, применение мультилокусных маркеров может быть весьма перспективным при поиске ассоциативной связи между генотипами и зараженностью паразитами. В то же время, анонимность ISSR-маркеров, в отличие от структурных генов с известной функцией, не позволяет выяснить механизм устойчивости или восприимчивости к инвазии обладателя данного генотипа, и, по-видимому, не дает индивидуальных преимуществ при инвазии. Однако, легкость применения этого типа маркеров, универсальность праймеров, возможность вовлечения в анализ одновременно большого количества локусов делает их весьма перспективными для массового, популяционного анализа, позволяет проследить влияние зараженности паразитами на генетическую структуру популяций животных.

Во всех случаях, даже будучи селективно нейтральными, генетические маркеры могут быть использованы для выявления популяций и внутривидовых групп животных с повышенной или пониженной восприимчивостью к инвазии. Поэтому все эти виды генетических маркеров можно рекомендовать для поиска ассоциативных связей с паразитарной инвазией с целью более эффективного управления паразито-резистентностью популяций животных. При этом надо учитывать следующие закономерности взаимосвязи генетических маркеров с паразито-резистентностью животных:

1. При анализе зараженности представителями разных групп гельминтов могут быть установлены противоположные ассоциативные связи для носителей разных аллелей. Это свидетельствует об альтернативности механизмов патогенеза разных классов гельминтов.
2. Устойчивые ассоциации «генотип – зараженность» чаще выявляются при зараженности наиболее патогенными видами гельминтов.
3. Повышенная зараженность носителей редких аллелей может быть обусловлена избирательной гибелью носителей данного аллеля в результате патогенного действия гельминтов и свидетельствует об опосредованном паразитами естественном отборе.
4. В неблагоприятных условиях среды формируется и выявляется наибольшее количество ассоциативных связей «генотип – зараженность». Это свидетельствует о возрастании роли паразитов как фактора естественного отбора в стрессовых для хозяина условиях.
5. Разница генетических систем даже относительно близких видов животных ограничивает возможности использования выявленных генетических маркеров для прогнозирования устойчивости к инвазии других, даже филогенетически близких, видов.

ВЫВОДЫ

1. У 21 вида мелких млекопитающих в 20 исследованных районах Западной Сибири зарегистрировано 57 видов гельминтов. Видовое богатство грызунов и их гельминтов увеличивается в направлении от таежных к лесостепным районам, насекомоядных и их гельминтов – уменьшается в этом направлении. Видовое разнообразие паразитов положительно коррелирует с разнообразием сообществ грызунов и не зависит от разнообразия насекомоядных.
2. Средняя гетерозиготность популяций грызунов и насекомоядных отрицательно коррелирует с показателем видового разнообразия гельминтов. При низких уровнях гетерозиготности хозяев, отражающих наиболее стабильные условия среды, формируются наиболее разнообразные, а, следовательно, более сбалансированные гельминтоценозы.
3. Показатели генетического разнообразия позвоночных животных Западной Сибири закономерно изменяются в направлении от таежных к лесостепным районам, при этом у наиболее полно изученных в географическом отношении видов (*Sorex araneus*, *Myodes rutilus*, *Martes zibellina*, *Rana arvalis*, *Rutilus rutilus*, *Leuciscus idus*) четко выделяются «северные» и «южные» группы популяций. Популяции рыб р. Северная Сосьва (язь, елец и плотва) и млекопитающих территории сосьвинского бассейна (соболь, обыкновенная бурозубка) имеют генофонд, отличный от популяций других районов Западной Сибири.
4. Карповые рыбы, обитающие в реках Обь-Иртышского бассейна, имеют высокие показатели полиморфизма и хорошо выраженную популяционно-генетическую структуру, которые не согласуются с низким уровнем генетической изменчивости и дифференциации популяций их паразита – *Opisthorchis felineus*.
5. У карповых рыб установлены отрицательные корреляции между средней гетерозиготностью популяций и зараженностью метацеркариями трематод. Обратная связь может свидетельствовать о преимуществе популяций хозяев с высоким уровнем генетической изменчивости в противостоянии паразитам.
6. На индивидуальном уровне установлены положительные корреляции между уровнем полилокусной гетерозиготности по изоферментным локусам и зараженностью рыб метацеркариями трематод. Положительная корреляция индивидуальной моно- и полилокусной гетерозиготности с зараженностью может указывать на повышенную толерантность гетерозигот к инвазии.
7. Межвидовые гибриды соболя и лесной куницы, а также красной и рыжей полевок не отличаются по показателям инвазии от родительских видов. Однако разные филогенетические линии куньих, выявляемые на основе анализа мтДНК, различаются по зараженности гельминтами.
8. Генетические маркеры паразито-резистентности могут быть выявлены при использовании любых полиморфных систем (изоферментов, мультилокусных ДНК-маркеров, гаплотипов мтДНК), при этом у разных, даже филогенетически близких видов животных, и в разных условиях среды значимость маркера может быть разной.
9. Ассоциативные связи «генотип – зараженность» чаще выявляются в неблагоприятных для хозяина условиях (на антропогенно нарушенных территориях, в зимний период, при высоких уровнях инвазии) и для наиболее патогенных видов гельминтов, что свидетельствует о возрастании роли паразитов как фактора естественного отбора в стрессовых условиях среды.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

СТАТЬИ В РОССИЙСКИХ АКАДЕМИЧЕСКИХ И ЗАРУБЕЖНЫХ ЖУРНАЛАХ,
ИНДЕКСИРУЕМЫХ В SCOPUS, WEB OF SCIENCE

1. Zhigileva O.N. Indices of genetic variability of parasites with different life cycle structure // **Acta Zoologica Lituanica (Zoology and Ecology)**. 2007. V. 17, № 2. P. 129-138.
2. Жигилева О.Н. Особенности генетической структуры популяций паразитов и хозяев (на примере гельминтов остромордой лягушки *Rana arvalis* Nilsson) // **Паразитология**. 2010а. Т. 44, № 5. С. 377–388.
3. Жигилева О.Н., Ожирельев В.В., Броль И.С., Пожидаев В.В. Популяционная структура трех видов рыб (Cypriniformes: Cyprinidae), обитающих в реках Обь-Иртышского бассейна, по данным изоферментного анализа // **Вопросы ихтиологии**. 2010а. Т. 50, № 6. С. 811–820.
4. Жигилева О.Н. Корреляция показателей биоразнообразия мелких млекопитающих и их гельминтов в экосистемах Западной Сибири // **Сибирский экологический журнал**. 2011. № 4. С. 555–562.
5. Zhigileva O.N., Baranova O.G., Pozhidaev V.V., Brol I.S., Moiseenko T.I. Comparative analysis of using isozyme and ISSR-PCR-markers for population differentiation of cyprinid fish // **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 2013а. V. 13, № 1. P. 159–168.
6. Zhigileva O.N., Zenovkina D.V., Zamyatina T.A. Genetic variability and population differentiation of *Opisthorchis felineus* (Trematoda) in Western Siberian rivers // **Russian Journal of Genetics: Applied Research**. 2013б. V. 3, № 5. P. 371–377.
7. Жигилева О.Н., Шейкина З.В., Малкова Н.А. Аллозимная изменчивость обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* Западной Сибири // **Сибирский экологический журнал**. 2013. № 6. С. 795–801.
8. Zhigileva O.N., Ozhirel'ev V.V., Stepanova T.F., Moiseenko T.I. Population structure of *Opisthorchis felineus* (Trematoda) and its second intermediate hosts – Cyprinid fishes in Ob-Irtysh focus of opisthorchiasis, based on allozyme data // **Helminthologia**. 2014а. V. 51, № 4. P. 309–317.
9. Жигилева О.Н., Политов Д.В., Головачева И.М., Петровичева С.В. Генетическая изменчивость соболя *Martes zibellina* L., лесной куницы *M. martes* L. и их гибридов в Западной Сибири: полиморфизм белков и ДНК // **Генетика**. 2014а. Т. 50, № 5. С. 581–590.
10. Жигилева О.Н., Кирина И.Ю. Заражение гельминтами сибирской лягушки (*Rana amurensis* Boulenger, 1886) на западной границе ареала // **Паразитология**. 2014. Т. 48, № 2. С. 165–168.
11. Жигилева О.Н. Аллозимная изменчивость и генетическая структура популяций мышей *Apodemus agrarius*, *Mus musculus* и *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) Западной Сибири // **Генетика**. 2014. Т. 50, № 8. С. 950–958.
12. Zhigileva O.N., Kirina I.Y., Burakova A.V. Genetic diversity and differentiation of the moor frog (*Rana arvalis*) in Western Siberia // **Herpetology Notes**. 2014б. V. 7. P. 569–574.
13. Жигилева О.Н., Кирина И.Ю. Зараженность гельминтами остромордой (*Rana arvalis* Nilsson, 1842) и сибирской (*Rana amurensis* Boulenger, 1886) лягушек в Западной Сибири // **Сибирский экологический журнал**. 2015. № 2. С. 287–292.
14. Жигилева О.Н., Куликова А.А. Особенности биологии и генетическая изменчивость ротана *Perccottus glenii* (Odontobutidae) в водоёмах Тюменской области // **Вопросы ихтиологии**. 2016. Т. 56, № 1. С. 77–85.

15. Жигилева О.Н., Горбачева Е.В. Распространение и параметры генетического полиморфизма красной (*Clethrionomys rutilus*) и рыжей (*Clethrionomys glareolus*) полевков в Западной Сибири // **Сибирский экологический журнал**. 2017. № 1. С. 3–11.

СТАТЬИ В ЖУРНАЛАХ ИЗ СПИСКА, РЕКОМЕНДОВАННОГО ВАК

16. Шаповалов С.И., Жигилева О.Н. Пространственная изменчивость морфологических и биохимических признаков остромордой лягушки (*Rana arvalis*) из трех районов исследования // **Сибирский экологический журнал**. 2002. № 6. С. 729–734.
17. Жигилева О.Н. Уровни генетической изменчивости и зараженности гельминтами в популяциях мелких млекопитающих // **Вестник Тюменского государственного университета**. 2003. № 2. С. 29–32.
18. Хританько О.А., Жигилева О.Н. Эколого-фаунистическая характеристика сообществ грызунов и их гельминто-гостальных сообществ на юге Тюменской области // **Вестник Тюменского государственного университета**. 2003. № 2. С. 22–28.
19. Кутаева З.В., Жигилева О.Н. Сравнительный анализ гельминтофауны бурозубок (*Sorex*) среднетаежных, подтаежных и лесостепных районов Тюменской области // **Вестник Тюменского государственного университета**. 2009. № 3. С. 261–267.
20. Жигилева О.Н. Взаимосвязь аллозимного разнообразия в популяциях трех видов млекопитающих (*Myodes rutilus*, *Myodes glareolus*, *Sorex araneus*) с зараженностью гельминтами // **Информационный вестник ВОГиС (Вавиловский журнал генетики и селекции)**. 2010б. Т. 14, № 2. С. 265–272.
21. Жигилева О.Н., Болотова Т.Б. Вариабельность ряда морфологических и биохимических признаков цестоиды *Arostrilepis horrida* (*Cyclophyllidae*: *Hymenolepididae*) – паразита лесных полёвок Западной Сибири // **Вестник Томского государственного университета**. 2010. № 338. С. 195–199.
22. Жигилева О.Н. ПЦР-маркеры предрасположенности карповых рыб к трематодной инвазии // **Вестник Тюменского государственного университета**. 2010в. № 7. С. 82–87.
23. Жигилева О.Н., Шейкина З.В. Использование генетических маркеров для анализа паразитологической ситуации (на примере гельминтов бурозубок) // **Российский паразитологический журнал**. 2012. № 3. С. 87–92.
24. Левых А.Ю., Жигилева О.Н. Биохимический полиморфизм в популяциях мелких млекопитающих // **Вестник Тюменского государственного университета**. 2012. № 6. С. 97–103.
25. Жигилева О.Н. Гельминтофауна мышей (*Apodemus agrarius*, *Mus musculus*) селитебных и межселенных территорий Западной Сибири // **Поволжский экологический журнал**. 2013. № 2. С. 156–163.
26. Zhigileva O.N., Kirina I.Y. First data on genetic variability of the siberian wood frog *Rana amurensis* in Western Siberia and its differentiation from the moor frog *Rana arvalis* // **Экологическая генетика**. 2015. Т. 13, № 3. С. 23–27.
27. Жигилева О.Н., Усламина И.М. Неблагоприятная эпизоотическая обстановка по нематодозам в популяциях соболя *Martes zibellina* и лесной куницы *M. martes* Западной Сибири // **Российский паразитологический журнал**. 2016а. Т. 37, № 3. С. 325–331.
28. Жигилева О.Н., Усламина И.М. Зараженность гельминтами разных митохондриальных линий соболя *Martes zibellina* и лесной куницы *M. martes* // **Экологическая генетика**. 2016б. Т. 14, № 2. С. 43–49.

29. Больных И.И., Жигилева О.Н. Полиморфизм окраски и генетическая изменчивость прыткой ящерицы (*Lacerta agilis*) (Lacertidae, Sauria) окрестностей городов Тюмень и Стерлитамак // **Современная герпетология**. 2016. Т. 16, № 3-4. С. 107-112.
30. Жигилева О.Н., Култышева М.Е., Сватов А.Ю., Урюпина М.В. Генетическое разнообразие серебряного карася *Carassius auratus gibelio* (Cyprinidae, Cypriniformes) в зависимости от типа размножения и размера водоема // **Поволжский экологический журнал**. 2016. № 4. С. 381-389.

СТАТЬИ В ПРОЧИХ РЕФЕРИРУЕМЫХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ИЗДАНИЯХ

31. Жигилева О.Н., Сурель О.В., Злобина Л.С. Паразитарные сообщества остромордой лягушки на юге Западной Сибири // **Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения**. 2002. № 3. С. 63-68.
32. Жигилева О.Н., Сазонова Н.А., Сергеева Е.В. Гельминтофауна бурозубок (*Sorex L.*) Юга Тюменской области // **Биологические науки Казахстана**. 2003. № 3. С. 84-89.
33. Жигилева О.Н., Сергеева Е.В. Сравнительная генетическая и паразитологическая характеристика популяций бурозубки обыкновенной на юге Тюменской области // **Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения**. 2003. № 4. С. 44-49.
34. Жигилева О.Н., Буракова А.В. Показатели стабильности развития, паразитарной инвазии и генетической изменчивости популяций остромордой лягушки *Rana arvalis* на урбанизированных и фоновых территориях // **Вестник Тюменского государственного университета**. 2005. № 5. С. 178-184.
35. Жигилева О.Н., Злобина Л.С. Устойчивость сообществ гельминтов остромордой лягушки (*Rana arvalis* Nilsson) в условиях экспериментально вызванного стресса // **Вестник Курганского государственного университета. Серия: Естественные науки**. 2006. № 8. С. 14-17.
36. Тимошенко П.В., Жигилева О.Н. Биологическое разнообразие грызунов и их гельминтов в заказнике «Рафайловский» и г. Тюмени // **Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения**. 2006. № 7. С. 78-84.
37. Жигилева О.Н., Левых А.Ю., Сазонова Н.А., Хританько О.А., Сергеева Е.В. Взаимосвязь биоразнообразия паразитов и их хозяев на примере гельминто-гостальных комплексов мелких млекопитающих юга Западной Сибири // **Экологический мониторинг и биоразнообразие**. 2006. Т. 1, № 1. С. 42-45.
38. Жигилева О.Н., Кравченко Д.Н., Болотова Т.Б. Морфологическая и генетическая изменчивость цестод семейства Hymenolepididae – паразитов грызунов // **Вестник Тюменского государственного университета**. 2008б. № 3. С. 90-98.
39. Жигилева О.Н., Зеновкина Д.В., Ожирельев В.В. Зараженность метацеркариями трематод рыб семейства Карповых из рек Обь-Иртышского бассейна // **Вестник Мордовского университета. Серия Биологические науки**. 2010б. № 1. С. 170-174.
40. Жигилева О.Н., Броль И.С., Пожидаев В.В., Зеновкина Д.В. Взаимосвязь генетических и паразитологических характеристик популяций карповых рыб Обь-Иртышского бассейна // **Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология**. 2010в. № 3. С. 62-70.
41. Zhigileva O.N., Kashtanov S.N., Golovacheva I.M. Genetic markers for studying current distribution area and population structure of the sable *Martes zibellina* L. // **Achievements in the Life Sciences**. 2014в. V. 8, № 1. P. 10-15.
42. Жигилева О.Н., Иванова М.А., Маюрова М.В. Динамика паразитологических и генетических показателей популяций карповых рыб рек и озер Западной Сибири // **Труды Центра паразитологии. Т. XLVIII: Систематика и экология паразитов / Отв. ред. С.О. Мовсесян. М.: Центр паразитологии ИПЭЭ РАН, 2014г. С. 92-94.**

43. Жигилева О.Н., Горбачева Е.В., Ахметшина Р.З. Эколого-паразитологический мониторинг популяций мелких млекопитающих городских и пригородных территорий // Экологический мониторинг и биоразнообразие. 2016. №1(11). С. 41-45.

ГЛАВЫ В КОЛЛЕКТИВНЫХ МОНОГРАФИЯХ,
МЕТОДИЧЕСКИЕ РУКОВОДСТВА И ПОСОБИЯ

44. Жигилева О. Н. Глава 7.8.1. Паразитофауна рыб р. Туры // Тюмень начала XXI века: коллективная монография. Тюмень: Изд-во ИПОС СО РАН, 2002. 335 с. ISBN 5-89181-036-0, тир. 750 экз.
45. Жигилева О.Н. Глава 3.2. Гельминтофауна земноводных; Жигилева О.Н., Сергеева Е.В., Хританько О.А. Глава 3.3. Гельминтофауна мелких млекопитающих // Природа биостанции Тюменского государственного университета «Озеро Кучак»: коллективная монография. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2005. 112 с. ISBN 5-88081-468-8, тир. 500 экз.
46. Глава 4.5. Паразиты как возможные индикаторы степени нарушенности биоценозов при мониторинге // Зооиндикаторы в системе регионального экологического мониторинга Тюменской области: методика использования: монография / Гашев С.Н., Жигилева О.Н., Сазонова Н.А. и др. (всего 8 человек). Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2006. 132 с. ISBN 5-88081-600-1, тир. 300 экз.
47. Жигилева О.Н. Экологическая паразитология. Учебное пособие. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2007. 160 с. (Гриф «Рекомендовано Учебно-методическим объединением по классическому образованию для студентов биологических специальностей вузов», 2010 г.).
48. Комплексное гидрохимическое и биологическое исследование качества вод и состояния водных и околводных экосистем: методическое руководство. Ч. 1. Полевые исследования / Алешина О.А., Волкова Л.А., ... Жигилева О.Н. и др. (всего 22 человека) / под ред. Т.И. Моисеенко. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2011. 128 с.
49. Комплексное гидрохимическое и биологическое исследование качества вод и состояния водных и околводных экосистем: методическое руководство. Ч. 2. Камеральные работы / Алешина О.А., Волкова Л.А., ... Жигилева О.Н. и др. (всего 26 человек) / под ред. Т.И. Моисеенко. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2012. 304 с. ISBN 978-5-400-00746-0, тир. 500 экз.
50. Жигилева О.Н., Чебоксарова И.Б. Глава 17. Нематодная инвазия соболя (*Martes zibellina*) и лесной куницы (*M. martes*) в Западной Сибири // Болезни диких животных Сибири и Дальнего Востока России: монография / Под ред. И.В. Середкина и Д.Г. Микелла. Владивосток: Дальнаука, 2012. С. 189-194. ISBN 978-5-8044-1315-7, тир. 500 экз.