

© О. Н. Жигилева,
Д. В. Зеновкина,
Т. А. Замятина

Тюменский государственный
университет, Тюмень

✳ **Генетическая изменчивость *Opisthorchis felineus* из 6 рек Западной Сибири изучена с использованием аллозимных и мультилокусных ДНК-маркеров. Характер генетической подразделенности популяций и пространственная динамика показателей генетической изменчивости мари́т *O. felineus* одинаковы при использовании разных методов анализа и отличаются от этих показателей метацеркарий. Метацеркарии из язя, ельца и плотвы генетически не отличаются, что свидетельствует об отсутствии гостальных субпопуляций паразита. Низкий уровень генетической изменчивости *O. felineus* не согласуется с выраженной популяционной структурой промежуточных хозяев — карповых рыб.**

✳ **Ключевые слова:** *Opisthorchis felineus*; генетическая изменчивость; дифференциация популяций; Сибирь; изоферменты; ISSR.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ПОПУЛЯЦИОННАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ *OPISTHORCHIS FELINEUS* (TREMATODA) ИЗ РЕК ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Семейство Opisthorchiidae включает паразитов почти всех классов позвоночных, главным образом млекопитающих и птиц. Тремя представителями этого семейства — *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884, *Clonorchis sinensis* McConnell, 1874 и *Opisthorchis viverrini* Stiles et Hassal, 1896 — заражены около 30 млн. человек в мире и примерно 300 млн. человек находится в группе риска (King, Scholz, 2001). В Западной Сибири на территории Обь-Иртышского речного бассейна существует гиперэндемичный очаг описторхоза с возбудителем *O. felineus* (Степанова, 2002; Беэр, 2005). В силу большого медико-социального значения проблемы описторхоза геном возбудителя является предметом интенсивных исследований (Shekhovtsov et al., 2010; Поляков и др., 2010). В работах с использованием методов секвенирования участков ядерного и митохондриального генома (Катохин и др., 2008; Shekhovtsov et al., 2009) показан низкий уровень генетического полиморфизма западно-сибирских популяций *O. felineus*, хотя у родственного вида — *O. viverrini* в Юго-Восточной Азии выявлена широкая генетическая изменчивость по аллозимным (Saijuntha et al., 2006; 2007; 2008) и RAPD-маркерам (Sithithaworn et al., 2007), влияющая на эпидемиологическую ситуацию (Andrews et al., 2008).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение генетической изменчивости и популяционной дифференциации *O. felineus* в реках Обь-Иртышского бассейна с применением аллозимных и ISSR маркеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Генетическую изменчивость *O. felineus* изучали на двух стадиях — метацеркариев и мари́т. Методом ISSR-PCR (ПЦР последовательностей, ограниченных простыми повторами (Williams et al., 1990; Zietjiewicz et al., 1994) изучено 12 выборок метацеркарий *O. felineus* общей численностью 93 образца и 5 выборок мари́т общей численностью 32 образца, методом аллозимного анализа исследовано 8 выборок, включающих 192 образца мари́т. Метацеркарии *O. felineus* были собраны от трех видов карповых рыб (Cypriniformes: Cyprinidae): сибирской плотвы *Rutilus rutilus lacustris* Pallas, 1811, язя *Leuciscus idus* Linnaeus, 1758 и ельца *Leuciscus leuciscus baikalensis* Dybowski, 1874, отловленных в ноябре-январе 2008–2010 гг. в 6 реках Обь-Иртышского бассейна (рис. 1). Всего использовано 316 особей плотвы, 331 — язя и 70 — ельца.

Мари́ты *O. felineus* были выращены в золотистых (сирийских) хомяках *Mesocricetus auratus* в стандартных условиях вивария (Лоскутова, 1980). Всего в экспериментах по заражению участвовало 30 хомяков. При проведении экспериментов соблюдались правила работы с лабораторными животными (Приказ МЗ РФ № 755 от 12.08.77). В качестве инвазионного материала использовали мышцы язей, зараженных метацеркариями описторхисов, отловленных в реках Тура, Тобол, Обь, Конда. Выловленная рыба доставлялась в лабораторию в холодильниках с температурой $0 \pm 4^\circ\text{C}$. Образцы мышц рыб просматривали под микроскопом для оценки степени за-

Поступила в редакцию 29.06.2012
Принята к публикации 03.09.2012

раженности, видовой идентификации личинок трематод и определения их жизнеспособности. Мышцы, содержащие жизнеспособных личинок *O. felinus*, скармливали животным экспериментальных групп в количестве 5–10 г ткани в расчете на 1 животное ежедневно утром натощак в течение 5 дней. Во время заражения хомяков содержали индивидуально для равномерного распределения инвазионного материала, затем в клетках по 2–5 особей. Через 3 месяца после заражения животных усыпляли при помощи хлороформа и препарировали. Червей извлекали из печени, отмывали несколько раз в физиологическом растворе, в нем же выдерживали до гибели, затем фиксировали в 70%-м этаноле для последующего определения или замораживали в микропробирках по 1–5 особей для последующего электрофоретического исследования. Принадлежность червей к виду *O. felinus* подтверждена при морфологическом исследовании.

Для изоферментного анализа мариты описторхисов брали целиком. Поскольку у тканевых паразитов на зимограммах могут проявляться ферменты хозяина (Rannala, 1991), также брали образцы ткани печени хомяков, которые использовали в качестве контроля. Образцы тканей хранились в замороженном состоя-

нии при -40°C . Белки экстрагировали стандартным способом с использованием Трис- HCl буфера (pH 8.0) следующим способом: образец гомогенизировали стеклянной палочкой на льду в равном объеме буфера, замораживали, размораживали, выдерживали в течение получаса при -4°C , затем гомогенат центрифугировали при 3000 об/минуту 30 минут при 4°C . Супернатант смешивали с раствором для нанесения белков на гель (40%-й раствор сахарозы, смешанный с раствором красителя бромфенолового синего). Разделение смеси белков проводили методом вертикального электрофореза в 7,5%-м полиакриламидном геле (Маурер, 1971) в непрерывной Трис-ЭДТА-боратной системе буферов (Peacock, Dingman, 1967). Электрофорез проводили в электрофоретической камере «Helicon» при силе тока 80 мА, напряжении 10–12 В/см в течение 2,5 часов. Гистохимическое выявление белков проводили в соответствии с методическими рекомендациями (Корочкин и др., 1977; Richardson, 1986). Изучено 5 ферментных систем: малик-энзим (ME, 1.1.1.40), лактатдегидрогеназа (LDH, 1.1.1.27), аспартатаминотрансфераза (GOT, 2.6.1.1), супероксиддисмутаза (SOD, 1.15.1.1), неспецифические эстеразы (EST, 3.1.1.1, 3.1.1.2) и миогеины.

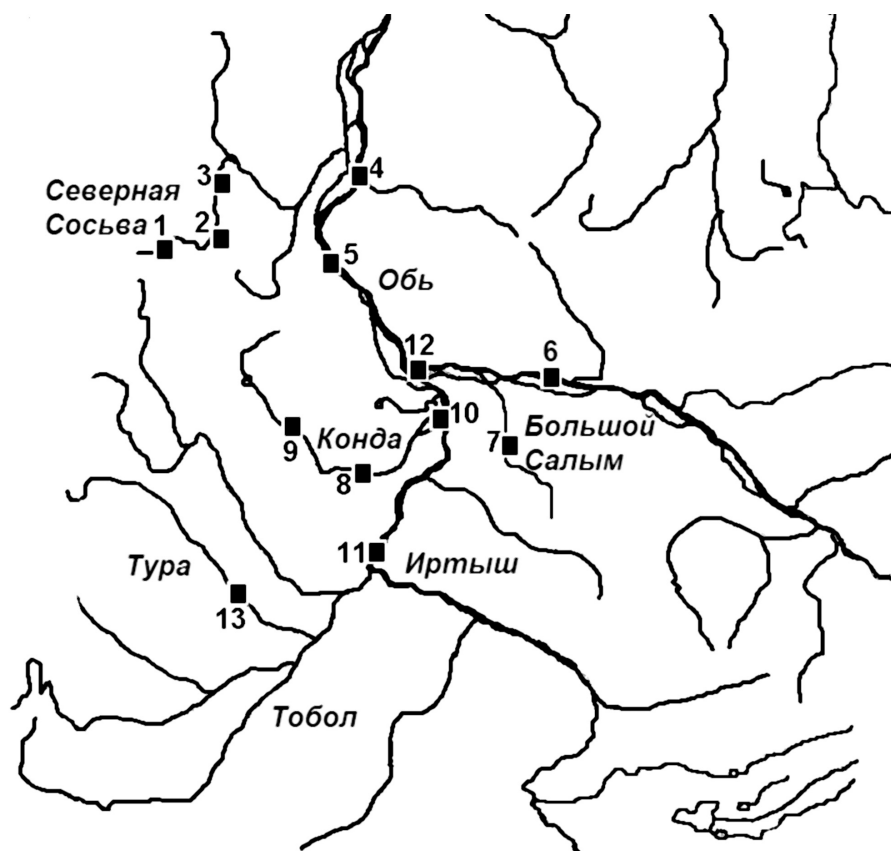


Рис. 1. Места сбора материала: 1 — р. Северная Сосьва, п. Пугоры, 2 — п. Сосьва, 3 — п. Хулимсунт, 4 — р. Обь, п. Казым Мыс, 5 — Белогорье, 6 — г. Сургут, 7 — р. Большой Салым, Лемпино, 8 — р. Конда, п. Кондинское, 9 — п. Междуреченск, 10 — р. Иртыш, устье р. Конды, 11 — г. Тобольск, 12 — г. Ханты-Мансийск, 13 — р. Тура, п. Сазоново

ДНК метацеркарий экстрагировали методом щелочного лизиса, предложенного для тканей беспозвоночных животных (Bender et al., 1983), модифицированного для микроскопических объектов, и методом, предложенным Р. Петкевич с соавторами (Petkeviciute et al., 2010) для личинок трематод. Амплификацию последовательностей, ограниченных простыми повторами, проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей ПЦР-буфер (0,01 М Трис-НCl, 0,05 М KCl, 0,1 % тритон 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») на амплификаторе Chromo-4 («Bio-Rad») 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. Для ISSR-PCR анализа использовали 3 праймера состава: (AG)₈G, (AG)₈T и (CA)₈G. Анализ ISSR-PCR-фрагментов осуществляли в 2%-м агарозном геле в 1X Трис-ЭДТА-боратном буфере. Длины фрагментов определяли с помощью маркера молекулярных масс ДНК 100bp («Fermentas»). Гели документировали с помощью системы VersaDoc (Bio-Rad). По электрофореграммам составляли бинарные матрицы, где присутствие полосы обозначалось «1» и рассматривалось как доминантный аллель, отсутствие — «0» и рассматривалось как рецессивный аллель. По результатам электрофоретического анализа с использо-

ванием программы PopGen32 (Yeh et al., 1999) рассчитаны частоты аллелей, доля полиморфных локусов (P), показатели средней наблюдаемой (H_o) и ожидаемой гетерозиготности (H_e), генного разнообразия (h) (Nei, 1973), эффективное число аллелей (n_e), индексы генетического сходства Нея (I_N) и генетическая дистанция Нея (D_N) (Nei, 1978), F-статистики. Частоты аллелей сравнивали с использованием критерия χ^2 . Дендрограмму строили на основании индексов Нея (1978) методом UPGMA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ISSR-PCR данные. Генетическую изменчивость мари и метацеркарий анализировали отдельно в силу наличия стадий-специфических отличий ISSR-паттернов. На электрофореграммах ПЦР-продуктов метацеркарий *O. felineus* с использованием трех праймеров получено 29 бэндов, из которых 25 (86,2 %) — полиморфны. Доля полиморфных бэндов варьирует в широких пределах — от 6,9 до 69 % в разных выборках и составляет в среднем 0,34, показатель генного разнообразия — 0,061. У мари *O. felineus* полиморфно 17 (58,6 %) ISSR-бэндов, показатель генного разнообразия равен 0,162. Наиболее полиморфны центральные выборки из р. Обь и р. Иртыш, к верховьям притоков показатели изменчивости снижаются (табл. 1).

Таблица 1

Показатели генетической изменчивости *O. felineus* по данным разных методов

Выборка	Хозяин	Данные ISSR-PCR		Аллозимные данные	
		метацеркарии	мариты	мариты	
		$P, \%$	$P, \%$	$P, \%$	H_e/H_o
р. Северная Сосьва, п. Пугоры	язь	31,0			
р. Северная Сосьва, п. Пугоры	плотва	20,7			
р. Северная Сосьва, п. Сосьва	язь	6,9	20,7	5,3	0/0,027
р. Северная Сосьва, п. Сосьва	елец	6,9			
р. Северная Сосьва, п. Хулимсунт	язь	48,3			
р. Обь, п. Казым Мыс	язь	55,2			
р. Обь, Белогорье	язь	48,3	27,6	15,8	0,014/0,026
р. Обь, г. Сургут	язь	51,7			
р. Большой Салым, Лемпино	язь	34,5			
р. Конда, п. Кондинское	язь	37,9	17,2	5,3	0,007/0,04
р. Конда, п. Междуреченск	плотва			10,5	0,014/0,077
р. Иртыш, устье р. Конды	язь	69,0			
р. Иртыш, г. Тобольск	язь	34,5		10,5	0,007/0,032
р. Иртыш, г. Ханты-Мансийск	язь		20,7	10,5	0,004/0,017
р. Тура, п. Сазоново	язь		44,8	10,5	0,015/0,033
Всего		86,2	58,6	21,1	0,008/0,052

Сравнение метацеркарий, собранных от разных видов рыб, показало, что выборка личинок из плотвы достоверно отличается от личинок из ельца частотами 7 бэндов, а от личинок из язя — 5. Достоверные различия между выборками личинок из язя и ельца наблюдались по частотам 6 бэндов. Меньшие показатели генетической изменчивости были у личинок из ельца, наибольшие — у личинок из язя (табл. 2). Генетические дистанции варьировали в пределах от 0,02 (между личинками из язя и плотвы) до 0,07 (между личинками из плотвы и ельца). Показатели генетического сходства выборок *O. felineus* из язя из разных мест Обь-Иртышского бассейна составили 0,74–0,96 (табл. 3). Кластерный анализ показал наличие двух групп: в одну вошли выборки из р. Северная Сосьва, во вторую — из рек Обь, Конда, Большой Салым и Иртыш (устье Конды). Тобольская выборка также вошла в этот кластер, хотя характеризуется более высокими значениями генетических дистанций (рис. 2). Метацеркарии, собранные из разных видов рыб (язя, ельца и плотвы) реки Северная Сосьва, формируют на дендрограмме общий кластер, что свидетельствует в пользу отсутствия гостальных субпопуляций у паразита.

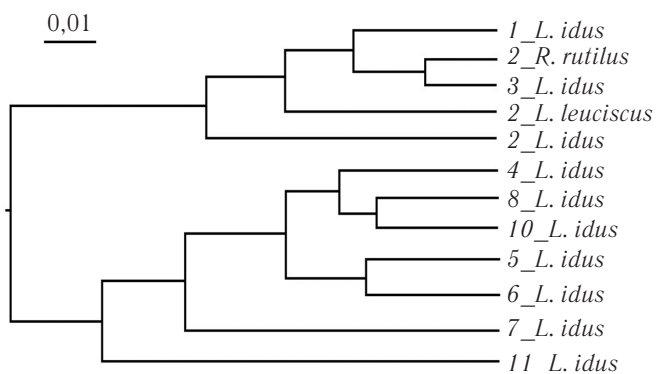


Рис. 2. UPGMA-дендрограмма генетических дистанций Нея (1978) *O. felineus* (метацеркарии) из разных рек Обь-Иртышского бассейна по данным ISSR. Обозначения образцов соответствуют номерам пунктов на рисунке 1

Аллозимные данные. У марит *O. felineus* идентифицировано 19 аллозимных локусов, из них 15 (*EST-1*, *EST-3*, *EST-4*, *EST-6*, *EST-7*, *EST-8*, *AAT*, *LDH*, *ME*, *MY-1-6*) мономорфны. У *O. felineus* локусы *LDH*, *ME* и *AAT* мономорфны, в то время как у *O. viverrini* они по-

Таблица 2

Частоты ISSR бэндов и показатели изменчивости метациркрий из разных видов рыб р. Северная Сосьва

Обозначение бэнда	<i>L. idus</i>	<i>R. rutilus</i>	<i>L. l. baikalensis</i>
Pr2_2	0,764 ± 0,03	1,0–0,25*	0,646 ± 0,15
Pr2_3	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr2_4	0,028 ± 0,01	1,0–0,25**	1,0–0,30**
Pr2_5	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr2_6	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr2_7	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr3_1	0,183 ± 0,03	0,183 ± 0,09*	0,388 ± 0,15**
Pr3_2	0,118 ± 0,03	1,0–0,25* **	0,293 ± 0,14**
Pr3_3	0,150 ± 0,02	0,183 ± 0,09	0,134 ± 0,11
Pr3_4	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr3_5	0,667 ± 0,03	0,423 ± 0,12* **	1,0–0,30**
Pr3_6	0,087 ± 0,02	1,0–0,25* **	0,134 ± 0,11
Pr3_7	0,592 ± 0,04	0,423 ± 0,12*	0,646 ± 0,15
Pr4_1	0,150 ± 0,03	0,183 ± 0,09	0,134 ± 0,11
Pr4_2	0,667 ± 0,03	1,0–0,25**	1,0–0,30**
Pr4_3	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr4_4	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr4_5	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr4_6	0,118 ± 0,03	0,183 ± 0,02*	1,0–0,30**
Pr4_7	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
Pr4_8	1,0–0,08	1,0–0,25	1,0–0,30
<i>P</i> , %	54,6	31,8	13,6
<i>n</i> _е	1,3	1,2	1,1
<i>h</i>	0,083	0,049	0,099

* — различия достоверны по сравнению с выборкой из ельца, ** — из язя ($P < 0,05$)

Таблица 3

Индексы генетического сходства (над диагональю) и генетические дистанции (под диагональю) *O. felineus* по данным ISSR

Выборка	р. Северная Сосьва					р. Обь			р. Большо- шой Салым	р. Конда язь, плотва	р. Иртыш устье Конды	Тобольск
	Пугоры, язь	Пугоры, плотва	Сосьва, язь	Сосьва, елец	Хулим- сунт, язь	Казым Мыс	Бело- горье	Сургут				
Пугоры, язь	****	0,9455	0,9238	0,9326	0,9670	0,8195	0,8917	0,8457	0,8658	0,8335	0,8682	0,7658
Пугоры, плотва	0,0560	****	0,8818	0,9271	0,9834	0,8237	0,8901	0,8383	0,8405	0,8547	0,8738	0,8101
Сосьва, язь	0,0793	0,1258	****	0,8922	0,9136	0,7630	0,7921	0,7610	0,7385	0,7571	0,7977	0,7444
Сосьва, елец	0,0698	0,0757	0,1141	****	0,9407	0,7820	0,8356	0,8154	0,7790	0,7899	0,8474	0,7995
Хулимсунт, язь	0,0336	0,0168	0,0903	0,0611	****	0,8508	0,9158	0,8595	0,8731	0,8648	0,8973	0,8256
р. Обь, Казым Мыс	0,1991	0,1939	0,2705	0,2459	0,1616	****	0,9200	0,9174	0,8474	0,9501	0,9485	0,8289
р. Обь, Белогорье	0,1146	0,1164	0,2330	0,1796	0,0880	0,0834	****	0,9639	0,9366	0,9573	0,9394	0,8647
р. Обь, Сургут	0,1676	0,1763	0,2731	0,2041	0,1514	0,0862	0,0368	****	0,9099	0,9438	0,9280	0,8984
р. Большой Салым	0,1440	0,1738	0,3032	0,2497	0,1357	0,1656	0,0655	0,0944	****	0,8865	0,9016	0,8480
р. Конда	0,1821	0,1569	0,2783	0,2358	0,1453	0,0512	0,0436	0,0579	0,1204	****	0,9648	0,8565
устье Конды	0,1414	0,1349	0,2260	0,1655	0,1083	0,0529	0,0626	0,0747	0,1036	0,0358	****	0,8939
р. Иртыш, Тобольск	0,2669	0,2106	0,2952	0,2238	0,1916	0,1876	0,1454	0,1072	0,1649	0,1549	0,1121	****

лиморфны (Saijuntha et al., 2007). Доля полиморфных локусов у *O. felineus* составила 21 %, что в 3 раза ниже, чем у *O. viverrini* (табл. 4).

На обширной части ареала *O. felineus* характеризуется незначительной генетической изменчивостью по изоферментным локусам. В разных выборках марит доля полиморфных локусов варьирует от 5,3 до 15,8 %, средняя наблюдаемая гетерозиготность (H_o) — 0,008, ожидаемая гетерозиготность (H_e) — 0,052 (табл. 1). Помимо этого, по большинству локусов у *O. felineus* наблюдается низкая частота гетерозиготных генотипов и дефицит гетерозигот ($F_{is} = 0,742$). Это может быть обусловлено

Таблица 4

Характеристика белкового полиморфизма двух видов описторхисов

Белковая система	Локусы	<i>O. felineus</i>	<i>O. viverrini</i> (Saijuntha et al., 2007)
Лактатдегидрогеназа (LDH 1.1.1.27)	LDH	М	П (2)
Маликэнзим (ME 1.1.1.40)	ME	М	П (2)
Аспаратамино-трансфераза (AAT 2.6.1.1)	AAT	М	П (3)
Неспецифические эстеразы (EST 3.1.1.n)	EST-1-8	2 П (2, 3), 6 М	П (2)
Супероксиддисмутаза (SOD 1.15.1.1)	SOD-1,2	М, П (2)	—
Миогены	MY-1-6	6 М	—
Количество изученных локусов		19	32*
Из них полиморфных локусов		4 (21 %)	19 (60 %)

* — включая другие ферментные системы,
М — мономорфный локус, П — полиморфный локус,
в скобках указано количество аллелей

эффектом Валунда, связанным со смешением генетически разнородных группировок паразита при заражении рыбы, а также особенностями систем размножения трематод (Беэр, 2005). Низкий уровень генетической изменчивости *O. felineus* находится в противоречии с его полигостальностью и широким ареалом.

Выборки *O. felineus* из географически удаленных районов имеют низкие значения генетических дистанций. Удаленные на сотни километров выборки — Казым Мыс (р. Обь) и Ханты-Мансийск (р. Иртыш), генетически практически идентичны, индекс генетического сходства (I_N) равен 0,9995. Генетическая дистанция между крайними исследованными точками — Казым Мыс (р. Обь) и Тюмень (р. Тура), составляет 0,07. Северная популяционная группировка *O. felineus* включает низовья Оби до слияния с Иртышом и Северную Сосьву и характеризуется наименьшими значениями генетических дистанций

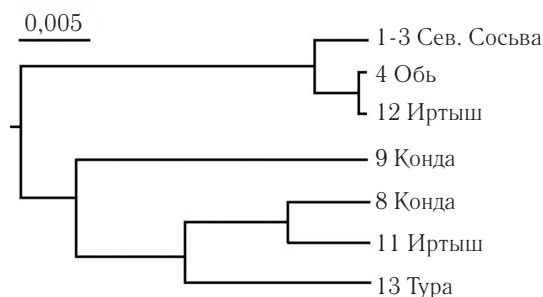


Рис. 3. UPGMA-дендрограмма генетических дистанций Нея (1978) *O. felineus* (мариты) из разных рек Обь-Иртышского бассейна: а — по данным ISSR, б — по аллозимным данным. Обозначения образцов соответствуют номерам пунктов на рисунке 1

между выборками, несмотря на значительные расстояния (рис. 3).

Низкий уровень генетического полиморфизма и дифференциации по другим генетическим маркерам у *O. felineus* отмечают и другие авторы (Катохин и др., 2008; Shekhovtsov et al., 2009). Это может быть обусловлено либо филогеографическими причинами (относительно недавним и быстрым распространением описторхиса на исследованной территории из одного источника), либо экологическими причинами — интенсивным потоком генов. Однако фактор, способствующий такой быстрой экспансии или перемещиванию популяции, остается не выясненным. Учитывая малую подвижность первых промежуточных хозяев — моллюсков р. *Codiella*, можно предположить, что роль такого фактора могут играть миграции и история расселения вторых промежуточных или окончательных хозяев. Для многих видов рыб Обь-Иртышского бассейна характерны массовые регулярные миграции в связи с заморными явлениями (Экология..., 2006). Высокая частота миграции хозяина может свести на нет локальную адаптацию паразита (Gandon, Michalakis, 2002). Генетическая структура западно-сибирских популяций карповых рыб была изучена нами ранее с использованием тех же видов маркеров. Показано, что три вида карповых рыб, играющих ведущую роль в поддержании жизненного цикла паразита в Обь-Иртышском очаге — язь, плотва и елец, имеют высокие уровни генетической дифференциации популяций (Zhigileva et al., 2010). При этом смешения стад рыб на местах зимовок, по-видимому, не происходит и они сохраняют выраженную популяционную структуру. Поскольку популяционно-генетическая структура паразита не совпадает с генетической структурой популяций ни одного из этих видов рыб, можно заключить, что миграции и популяционная структура вторых промежуточных хозяев (рыб) не играют определяющей роли в формировании популяционно-генетической структуры *O. felineus*. Возможной причиной низкой дифференциации популяций *O. felineus* может быть влияние на его генетическую структуру окончательного хозяина — человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Характер генетической подразделенности популяций и пространственная динамика показателей генетической изменчивости *O. felineus* на стадии мариит одинаковы при использовании разных методов анализа и отличаются от этих показателей на стадии метацеркарий. Показатели генетической изменчивости *O. felineus* независимо от стадии жизненного цикла и метода исследования наименьшие в верховьях р. Северная Сосьва и верховьях Конды, увеличиваются в направлении к руслу Оби и Иртыша, достигая наибольших значений в р. Обь в районе п. Казым Мыс и в р. Иртыш в устье р. Конды. Южные выборки *O. felineus* (из рек Тобол, Тура) имеют более высокий уровень полиморфизма по сравнению с северными. Наибольшие показатели генетической изменчивости наблюдаются

у личинок *O. felineus* из язя. Выборки описторхиса из разных видов рыб генетически не отличаются.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (госконтракт № П1712) и Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии. Выражаем признательность В. В. Ожирельеву, предоставившему образцы для исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бээр С. А., 2005. Биология возбудителя описторхоза. М.: Товарищество научных изданий КМК. 336 с.
2. Катохин А. В., Шеховцов С. В., Конков С. и др., 2008. Оценка генетических отличий *Opisthorchis felineus* от *Opisthorchis viverrini* и *Clonorchis sinensis* по ITS2-и CO1-последовательностям // Доклады академии наук. Т. 421, № 4. С. 549–552.
3. Корочкин Л. И., Серов О. А., Пудовкин А. И. и др., 1977. Генетика изоферментов. М.: Наука. 278 с.
4. Лоскутова З. Ф., 1980. Виварий. М.: Медицина. 96 с.
5. Маурер Г., 1971. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в ПААГ. М.: Мир. 243 с.
6. Поляков А. В., Катохин А. В., Бочарова Т. А. и др., 2010. Сравнительный анализ кариотипов *Opisthorchis felineus* из Западной Сибири // Сибирский экологический журнал. Т. 17, № 1. С. 3–6.
7. Степанова Т. Ф., 2002. Описторхоз. Тюмень: издательство ТюмГУ. 196 с.
8. Экология рыб Обь-Иртышского бассейна, 2006 / под ред. Д. С. Павлова, А. Д. Мочка. М.: Товарищество научных изданий КМК. 596 с.
9. Andrews R. H., Sithithaworn P., Petney T. N., 2008. *Opisthorchis viverrini*: an underestimated parasite in world health // Trends Parasitol. Vol. 24, N 11. P. 497–501.
10. Bender W., Pierre S., Hognes D. S., 1983. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from Ace and rosy loci of bithorax complex in *Drosophila melanogaster* // Journal Mol. Biol. Vol. 168. P. 17–33.
11. Gandon S., Michalakis Y., 2002. Local adaptation, evolutionary potential and host-parasite coevolution: interactions between migration, mutation, population size and generation time // Journal of Evolutionary Biology. Vol. 15. P. 451–462.
12. King S., Scholz T., 2001. Trematodes of the family Opisthorchiidae: a minireview // Korean J. Parasitol. Vol. 39(3). P. 209–221.
13. Nei M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 70. P. 3321–3323.
14. Nei M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. Vol. 89. P. 583–590.

15. Peacock A. C., Dingman C. W., 1967. Resolution of multiple ribonucleic acid species by polyacrylamide gel electrophoresis // Biochemistry. Vol. 6. P. 1818–1827.
16. Petkeviciūtė R., Stunzenas V., Staneviciūtė G., Sokolov S. G., 2010. Comparison of the developmental stages of some European allocreadiid trematode species and a clarification of their life cycles based on ITS2 and 28S sequences // Syst Parasitol. Vol. 76, N 3. P. 169–178.
17. Rannala B., 1991. Evidence for host allozymes on electrophoretic gels of trematode parasites (Digenea, Plagiorchiiformes) // Journal of Parasitology. Vol. 77. P. 805–808.
18. Richardson B. J., 1986. Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and Population Studies. London: Academic Press. 410 pp.
19. Saijuntha W., Sithithaworn P., Wongkham S. et al., 2006. Enzyme markers to identify and characterize *Opisthorchis viverrini* in Thailand and Laos // South-east Asian J. Trop. Med. Public Health. Vol. 37 (Suppl. 3). P. 43–47.
20. Saijuntha W., Sithithaworn P., Wongkham S. et al., 2007. Evidence of a species complex within the food-borne trematode *Opisthorchis viverrini* and possible co-evolution with their first intermediate hosts // Int. J. Parasitol. Vol. 37. P. 695–703.
21. Saijuntha W., Sithithaworn P., Wongkham S. et al., 2008. Genetic variation at three enzyme loci within a Thailand population of *Opisthorchis viverrini* // Parasitol. Res. Vol. 103. P. 1283–1287.
22. Shekhovtsov S. V., Katokhin A. V., Romanov K. V. et al., 2009. A novel nuclear marker, Pm-int9, for phylogenetic studies of *Opisthorchis felineus*, *Opisthorchis viverrini* and *Clonorchis sinensis* (Opisthorchiidae, Trematoda) // Parasitol. Res. Vol. 106. P. 293–297.
23. Shekhovtsov S. V., Katokhin A. V., Kolchanov N. A., Mordvinov V. A., 2010. The complete mitochondrial genomes of the liver flukes *Opisthorchis felineus* and *Clonorchis sinensis* (Trematoda) // Parasitology International. Vol. 59, N 1. P. 100–103.
24. Sithithaworn P., Nuchjungreed C., Srisawangwong T. et al., 2007. Genetic variation in *Opisthorchis viverrini* (Trematoda: Opisthorchiidae) from northeast Thailand and Laos PDR based on random amplified polymorphic DNA analyses // Parasitol. Res. Vol. 100(3). P. 613–617.
25. Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J. et al., 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // Nucl. Acids Res. Vol. 18. P. 6531–6535.
26. Yeh F. C., Yang R., Boyle T., 1999. POPGENE. Version 1.31. University of Alberta and Centre for International Forestry Research.
27. Zhigileva O. N., Ozhirel'ev V. V., Brol I. S., Pozhidaev V. V., 2010. Population structure of three fish species (Cypriniformes: Cyprinidae) living in rivers of the Ob-Irtysh basin, by the data of isoenzyme analysis // J. of Ichthyology. Vol. 50, N 9. P. 778–787.
28. Zietiewicz E., Rafalski A., Labuda D., 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. Vol. 20. P. 176–183.

GENETIC VARIABILITY AND POPULATION DIFFERENTIATION OF *OPISTHORCHIS FELINEUS* (TREMATODA) FROM WEST SIBERIA RIVERS

Zhigileva O. N., Zenovkina D. V., Zamyatina T. A.

✿ **SUMMARY:** Genetic variability in *Opisthorchis felineus* from 6 Western Siberia rivers was studied using allozyme and multilocus DNA markers. Genetic subdivision of populations and the spatial genetic variability in *O. felineus* maritans were found to be the same when using two methods of analysis, but differed from these indices in metacercariae. Metacercariae from ide, dace and roach were not genetically different, indicating the absence of hostal subpopulations of the parasite. Low level of *O. felineus* genetic variability is not consistent with a pronounced population structure of intermediate hosts — Cyprinid fish.

✿ **KEY WORDS:** *Opisthorchis felineus*; genetic variability; population differentiation; Siberia; allozymes; ISSR

✿ Информация об авторах

Жигилева Оксана Николаевна — к.б.н., доцент, кафедра экологии и генетики. ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет». 625043, г. Тюмень, ул. Пирогова, д 3. E-mail: zhigileva@mail.ru.

Зеновкина Дарья Васильевна — магистрант, кафедра экологии и генетики. ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет». 625043, г. Тюмень, ул. Пирогова, д 3. E-mail: agricola1313@gmail.com.

Замятина Татьяна Александровна — аспирант, кафедра экологии и генетики. ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет». 625043, г. Тюмень, ул. Пирогова, д 3. E-mail: uslamina.tatyana@mail.ru.

Zhigileva Oksana Nikolayevna — associate professor Ph.D., Department of Ecology and Genetics, Tyumen State University. Pirogova St., 3, Tyumen, 625043, Russia. E-mail: zhigileva@mail.ru.

Zenovkina Darya Vasilyevna — graduate, Department of Ecology and Genetics, Tyumen State University. Pirogova St., 3, Tyumen, 625043, Russia. E-mail: agricola1313@gmail.com.

Zamyatina Tatyana Aleksandrovna — postgraduate, Department of Ecology and Genetics, Tyumen State University. Pirogova St., 3, Tyumen, 625043, Russia. E-mail: uslamina.tatyana@mail.ru.