



Первая находка нематод *Hysterothylacium auctum* (Rudolphi, 1802) Deardorff & Overstreet, 1981 у *Ophidion rochei* Müller, 1845 в Черном море

Пронькина Н.В. ¹ Спиридонов С.Э. ²

¹Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, ²Институт проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова

Род паразитических нематод *Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917 насчитывает около 100 видов, распространенных у морских рыб на большей части Мирового океана. Наиболее изученный вид *Hysterothylacium aduncum sensu lato* рассматривался как видовой комплекс, включающий три сестринских вида: *H. aduncum aduncum*, *H. aduncum gadi* и *H. auctum*. Согласно новым морфологическим и молекулярно-генетическим исследованиям *H. aduncum* и *H. auctum* являются самостоятельными видами, имеющими определенную специфику распространения. Так, *H. aduncum* является космополитом, а *H. auctum* встречается у рыб Северной Атлантики. Анализ морфологических особенностей *Hysterothylacium* spp. у рыб в Черном море у побережья Крыма выявлено наличие трех видов: *H. aduncum sensu stricto*, *H. bidentatum* и *H. fabri*.

В 2016 году у двух самцов ошибней (длина 16-18 см) в бухте Карантинная г. Севастополя найдены личинки нематод рода *Hysterothylacium*. Для их видовой идентификации был проведен молекулярно-генетический анализ.

Для получения нуклеотидной последовательности обнаруженных нематод ДНК получали с помощью колонок Wizard SV Genomic DNA Purification System (компании Promega®). Для выделения ДНК брали среднюю часть тела, отрезая головной и хвостовой концы для морфологического изучения. Приблизительно 1.2 мкл полученного раствора экстрагированной ДНК использовали для амплификации участка большой субъединицы рибосомы (28S rDNA или LSU rDNA) с помощью предложенных С. Надлером праймеров LSU391 (5'-AGC GGA GGA AAA GAA ACT AA-3') и LSU501 (5'-TCG GAA GGA ACC AGC TAC TA-3'). Полимеразная цепная реакция 35 циклов со следующими шагами: 94°C - 30 сек; 56°C - 30 сек; 72°C - 1 минута. После очистки в геле и преципитацией этанолом в присутствии ацетата аммония проводилось прямое (с праймерами использованными при постановке ПЦР) секвенирование в ЦКП «Генотех».

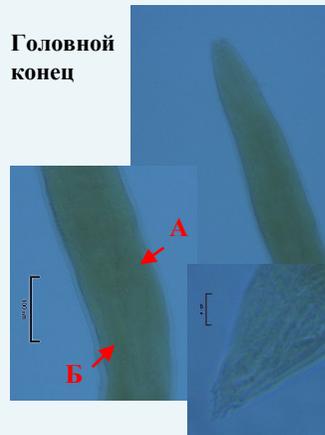
Полученные хроматограммы дали последовательность около тысячи пар нуклеотидов (п.н.), для которой находили наиболее сходные по составу при помощи алгоритма BLAST в NCBI GenBank (Altshul et al., 1990).

На основе полученного выравнивания длиной около 400 п.н. (многие последовательности из NCBI GenBank были значительно короче нашей) был проведен филогенетический анализ методом максимального правдоподобия. На кладограмме можно видеть, что исследованный образец попадает в единую группу, состоящую в основном из последовательностей *Hysterothylacium auctum* и одной последовательности *H. aduncum*. Двум депонированным последовательностям наша последовательность полностью идентична (*H. auctum* - KT767133 и AF226591). Можно также отметить высокий уровень статистической (bootstrap) поддержки для клады состоящей из нескольких видов рода *Hysterothylacium*: *H. aduncum*, *H. auctum*, *H. fabri* и *H. reliquens*. Монофилия всех видов рода *Hysterothylacium* не получает достаточной статистической поддержки.

Нами впервые в Черном море на основе генетических и морфологических данных определен *Hysterothylacium auctum* у ошибня *Ophidion rochei* - четвертого представителя данного рода в Черном море.

Ваучерные (hologenophore) препараты личинок нематод помещены в Коллекцию морских паразитов (<http://marineparasites.org>)

Работа выполнена в рамках государственного задания № 121030100028-0. Исследования нуклеотидных последовательностей выполнены при поддержке РНФ (№ 19-74-20147)

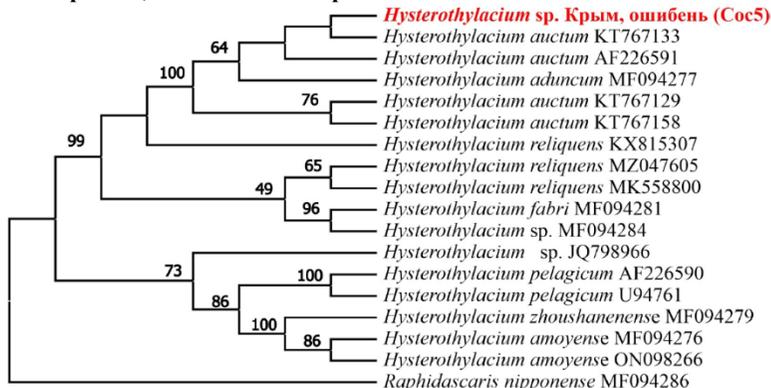


Hysterothylacium auctum
(личинка IV стадии развития)

Хвостовой конец

Желудочный отросток	1
Кишечный вырост	1

Передний отдел пищеварительной системы
: А желудочный отросток, Б кишечный вырост



Древо по LSU rDNA