

First finding of nematode DNA of the genus *Rhabdochona* (Spiruromorpha: Thelazioidea: Rhabdochonidae) in the metagenome of the digestive tract of a deep-water species: Godlewski's sculpin *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii*

Dzyuba Ye.V.¹, Bukin Yu.S.¹, Khanaev I.V.¹, Bogdanov B.E.¹, Yakhnenko A.S.¹, Sapozhnikova Yu.P.*¹, Denikina N.N.¹

Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Batorskaya st., 3, Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. Nucleotide sequences of the fragment of the *cox1* gene in nematodes with the relative DNA representativeness of 2.6% were identified for the first time by the method of high-throughput sequencing in the digestive tract of Godlewski's sculpin *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii*. The phylogenetic analysis performed allowed to state that the sequences obtained belong to a representative of the family Rhabdochonidae (Spiruromorpha: Thelazioidea). Representatives of Rhabdochonidae have not been found yet in the parasitic fauna of Lake Baikal sculpins. Possible ways of nematode DNA income into the digestive tract of fish are discussed.

Keywords: Nematoda, Rhabdochonidae, *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874), *cox1* gene, Lake Baikal

For citation: Dzyuba Ye.V., Bukin Yu.S., Khanaev I.V., Bogdanov B.E., Yakhnenko A.S., Sapozhnikova Yu.P., Denikina N.N. First finding of nematode DNA of the genus *Rhabdochona* (Spiruromorpha: Thelazioidea: Rhabdochonidae) in the metagenome of the digestive tract of a deep-water species: Godlewski's sculpin *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* // *Limnology and Freshwater Biology*. 2024. - № 6. - P. 1366-1379. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-6-1366

1. Introduction

The use of modern technologies of high-throughput sequencing (metabarcoding) allows a considerable completion of the results obtained by traditional methods of parasitic fauna research (Villsen et al., 2022; Denikina et al., 2023a; b; Dzyuba et al., 2024), which is important for fish ecology. Despite some limitations (Siddall et al., 2012; Kvist, 2013; Sakaguchi et al., 2017), the benefits of the molecular-genetic approach lie in its efficiency due to the high resolution and the possibility of identifying a wide range of species (Harms-Tuohy et al., 2016; Jakubavičiūtė et al., 2017; Yoon et al., 2017). Molecular genetic barcoding methods are widely used in studies of nematode systematics and taxonomy using various (nuclear and mitochondrial) genetic markers, including a gene of the small subunit of ribosomal RNA (18S SSU rRNA), gene of the large subunit of ribosomal RNA (28S LSU rRNA), gene of the first subunit of cytochrome oxidase I (*cox1*) and internal transcription spacer (ITS) regions of a ribosomal RNA locus

(Knot et al., 2020). The use of fragments of the *cox1* gene for barcoding of nematode DNA is efficient for species diversity studies with a likely genetic distance threshold of 5% between conspecific and interspecies sequences, but has some limitations due to significant information gaps on the actual diversity and taxonomy of a group as well as the lack of a sufficient database of *cox1* sequences (Armenteros et al., 2014). The assessment of the efficiency of using the *cox1* gene as a DNA barcode for different nematode genera showed that it is necessary to thoroughly determine the thresholds for the lower taxonomic levels in order to explore their diversity (Gonçalves et al., 2021). Metabarcoding has become a convenient tool for diversity identification and assessment, but its use for nematode research is only at developmental stage (Gonçalves et al., 2021).

The endemic Baikal species Godlewski's sculpin *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874) inhabits the depths from 100 to 900 m (Bogdanov, 2023). The parasitic fauna of this species of lacustrine sculpins has been poorly studied to date. The difficul-

*Corresponding author.

E-mail address: jsap@mail.ru (Yu.P. Sapozhnikova)

Received: September 25, 2024; **Accepted:** October 24, 2024;

Available online: December 25, 2024

© Author(s) 2024. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



ties in studying deep-water fishes are due to the small amount of fish samples resulting from the laborious fishing process. As a result of researching the food spectrum of Godlewski's sculpin using a new generation sequencing method, we obtained sequences of parasitic protozoa of the family Eimeriidae (Dzyuba et al., 2024) and nematodes. The aim of the work was to analyze the sequences of nematodes from the digestive tract of Godlewski's sculpin.

2. Materials and methods

The samples were collected from board of the research vessel "G.Yu. Vereshchagin" in September 2019 in the opening area of Chivyrkuy Bay in Lake Baikal (53°59.674'N, 109°09.086'E) at the depths from 790 to 820 meters. The fish species were identified according to the latest revisions (Bogdanov, 2017; 2023). We used five specimens of Godlewski's sculpin weighing from 8.7 to 28.5 g for the analysis, the total length ranged from 95 to 149 mm.

Under laboratory conditions, the contents of the entire digestive tract (250-700 µL) from each specimen were diluted with water of equal volume mQ, milled and mixed thoroughly. Total DNA was extracted using an extraction kit "AmpliSens DNA-sorb-AM" (Russia) according to the manufacturer's manual. A fragment of the *cox1* gene with a length of approximately 350 base pairs was amplified for each sample in 30 cycles with decrease of annealing temperature by 0.3°C from the initial 55°C with the primers MiSeq: COIntF 5'tcgtcgccagcgtcagatgtgtataagagacagGGWACWGGWT-GAACWGTWTAYCCYCC and dgHCO2198 5'gtctcgtgggctcggagatgtgtataagagacagTAIACYTCIGGRTGIC-CRAARAAYCA (Leray et al., 2013). All amplicons were pooled for the samples prepared for sequencing.

A library from the pool of rectified amplicons was constructed using a Nextera XT kit (Illumina, Hayward, California, USA), and nucleotide sequences were determined using Illumina NextSeq. The resulting data block was assigned a registration number in the GenBank: PRJNA1086215. Initial reads were trimmed for quality using Trimmomatic V 0.39 software (Bolger et al., 2014) with the following options: average read quality 20, minimum read length 140. Initial read data were collected in contigs containing full-size amplification products using metaSPAdes software (Nurk et al., 2017) with k-mer lengths of 21, 33, 55, 77, 99, and 121. The selected k-mer lengths allowed to aggregate in merged contigs only reads, that were specific to the initial fragments of *cox1* of the DNA mixture of different species of a metagenomic sample. A complete set of sequences of the marker *cox1* from the International Barcode of Life Database (iBOL) (<https://ibol.org/>) served as a reference database for the taxonomic analysis. The DNA sequences for the amplicon collection were aligned with a reference database using the local BLASTn application (Altschul et al., 1990). The results of the BLAST analysis were converted into a table of the representativeness of the taxa in the DNA of the digestive tract contents of the fish. Primary editing of the nucleotide sequences of the nematode representatives

and the corresponding data, represented the the NCBI international database (Table 1), was performed using BioEdit software. The data were aligned using ClustalW software. The nematode sequences were registered in GenBank: ## PP567251 and PP567252.

We used a classification based on molecular data (SSU rDNA) considering morphological, ontogenetic and biological characteristics from the World Database of Nematodes (Nemys, 2024) in this work.

The phylogenetic analysis, including the choice of models for the reconstruction of evolutionary history and the determination of genetic diversity within the groups, was performed using the software MEGA7 (Kumar et al., 2016). The estimation of average evolutionary diversity within the genera *Rhabdochona* and *Spinitectus* was performed using the Tamura-Nei model (Tamura and Nei, 1993). The rate change between sites was modeled with a gamma distribution. Phylogenetic reconstruction of evolutionary history based on nucleotide sequences was performed using the maximum likelihood method according to the Tamura-Nei model with gamma correction of differences in replacement accumulation rates at different sites (TN93 + G) (Tamura and Nei, 1993; Kumar et al., 2016). Phylogenetic reconstruction of evolutionary history based on amino acid sequences was performed using the maximum likelihood method according to the Le-Gascuel model with gamma correction of differences in replacement accumulation rates at different sites (LG + G protein evolutionary model) (Nei and Kumar, 2000; Le and Gascuel, 2008). The reliability of the topology of the phylogenetic trees was tested with a non-parametric booster (1000 replicates). The nucleotide sequences of the *cox1* gene of representatives of the Ascaridomorpha (*Contraecum osculatum* (Rudolphi, 1802) Baylis, 1920, *Raphidascaris trichiuri* and *Ichtyobronema hamulatum* (Moulton, 1931) Moravec, 1994) from the NCBI were used as an outgroup for the analysis.

3. Results and discussion

Analysis of the metagenomic sequencing data of the digestive tract DNA of Godlewski's sculpin resulted in the detection of nematode sequences, whose number of nucleotide reads amounted to 2.6% of the total number of reads. The sequences obtained were represented by two haplotypes differing by five silent substitutions and showing maximum homologies (83.2 and 80.8%) with sequences of *Rhabdochona kidderi* Pearse, 1936 from the family Rhabdochonidae Skrjabin, 1946.

In the phylogenetic reconstruction of the evolutionary history based on the nucleotide data (Fig. 1), the sequences are clustered with representatives of the genera *Rhabdochona* (Thelazioidea) and *Spinitectus* (Habronematoidea). The genus *Spinitectus* formed a monophyletic dense group with a low genetic diversity index (0.004), while the genus *Rhabdochona* showed significant genetic heterogeneity (0.019). The nucleotide sequences of the species belonging to the families Gongylonematidae, Habronematidae, Pneumospiruridae, Spirocercidae, Spiruridae and Thelaziidae (Table 1) formed a common cluster. It

Table 1. Nucleotide sequence numbers of the *cox1* gene of representatives of the suborder Spirurina Railliet & Henry, 1915, used in the analysis (GenBank).

Infraorder Spiruromorpha De Ley & Blaxter, 2002			
Hyperfamily	Family	Genus	Species, sequence number
Thelazioidea Skrjabin, 1915	Rhabdochonidae Skrjabin, 1946	<i>Rhabdochona</i> Railliet, 1916	<i>Rhabdochona acuminata</i> , MK341636 <i>Rhabdochona adentata</i> , MN927199 <i>Rhabdochona ahuehuellensis</i> , MK353477 <i>Rhabdochona canadensis</i> , MH778489 <i>Rhabdochona gendrei</i> , OR088887 <i>Rhabdochona ictaluri</i> , MK353482 <i>Rhabdochona guerreroensis</i> , MN592669 <i>Rhabdochona kidderi</i> , MH778490 <i>Rhabdochona lichtenfelsi</i> , DQ990974 <i>Rhabdochona mexicana</i> , MH778491 <i>Rhabdochona osorioi</i> , MK341626 <i>Rhabdochona salgadoi</i> , MH778492 <i>Rhabdochona xiphophori</i> , MH778493
	Thelaziidae Skrjabin, 1915	<i>Thelazia</i> Bosc, 1819	<i>Thelazia californiensis</i> MW055239 <i>Thelazia callipaeda</i> , AB538283 <i>Thelazia gulosa</i> AJ544881 <i>Thelazia rhodesi</i> , MT511659
	Pneumospiruridae Wu & Hu, 1938	<i>Metathelazia</i> Skinker, 1931	<i>Metathelazia capsulata</i> , ON995621
Habronematoidea Ivaschkin, 1961	Cystidicolidae Skrjabin, 1946	<i>Spinitectus</i> Fourment, 1883	<i>Spinitectus humbertoi</i> , MH778494 <i>Spinitectus mexicanus</i> , MK341638 <i>Spinitectus mixtecoensis</i> , MK024432 <i>Spinitectus osorioi</i> , MN592671 <i>Spinitectus petterae</i> , OP800448
	Habronematidae Ivaschkin, 1961	<i>Habronema</i> Diesing, 1861	<i>Habronema majus</i> , KX868084 <i>Habronema microstoma</i> , FJ471581 <i>Habronema muscae</i> , KX868085
		<i>Parabronema</i> Baylis, 1921	<i>Parabronema skrjabini</i> , MT664738
Spiruroidea Oerley, 1885	Gongylonematidae Sobolev, 1949	<i>Gongylonema</i> Molin, 1857	<i>Gongylonema neoplasticum</i> LC331044 <i>Gongylonema nepalensis</i> , LC388892 <i>Gongylonema pulchrum</i> , LC388897
	Spirocercidae Chitwood & Wehr, 1932	<i>Mastophorus</i> Diesing, 1853	<i>Mastophorus muris</i> , MG821081
		<i>Cylicospirura</i> Vevers, 1922	<i>Cylicospirura felineus</i> , GQ342967 <i>Cylicospirura subaequalis</i> , GQ342968 <i>Cylicospirura petrowi</i> , KF719952
		<i>Physocephalus</i> Diesing, 1861	<i>Physocephalus lassancei</i> , KT894799
Spiruridae Oerley, 1885	<i>Protospirura</i> Seurat, 1914	<i>Protospirura numidica</i> , KT894801 <i>Protospirura muricola</i> , KP760207	
Infraorder Ascaridomorpha De Ley & Blaxter, 2002			
Ascaridoidea Baird, 1853	Anisakidae Railliet & Henry, 1912	<i>Contraecum</i> Railliet & Henry, 1912	<i>Contraecum osculatum</i> , HQ268721
	Raphidascarididae Hartwich, 1954	<i>Raphidascaris</i> Railliet & Henry, 1915	<i>Raphidascaris trichiuri</i> , FJ907318
Seuratoidea Hall, 1916	Quimperidae Gendre, 1928	<i>Ichtyobronema</i> Gnedina & Savina, 1930	<i>Ichtyobronema hamulatum</i> , KX3658991

should be noted that the branching order in a phylogenetic reconstruction does not always correspond to a taxonomic position, both at the species level and at the level of the major taxa (Thelazioidea and Habronematoidea). The nucleotide sequences of the *cox1* gene of representatives of Ascaridomorpha (*Contracaecum osculatum* (Rudolphi, 1802) Baylis, 1920, *Raphidascaris trichiuri* (currently – *Ichthyascaris trichiuri* (Yin & Zhang, 1983) Luo & Huang, 2001) and *Ichtyobronema hamulatum* (Moulton, 1931) Moravec, 1994) from the GenBank were used as an outgroup in the analysis (Fig. 1).

For comparison, a phylogenetic reconstruction of the evolutionary history was carried out based on amino acid sequences (Fig. 2). The translated amino acid sequences from the intestines of Godlewski's sculpin, like the nucleotide sequences, cluster with the representatives of the genera *Rhabdochona* (Thelazioidea) and *Spinitectus* (Habronematoidea). In this case, however, the Rhabdochonidae form a unified group, which is a sister branch related to the genus *Spinitectus*. Furthermore, the Rhabdochonidae* sequences obtained in this study occupy a basal position in relation to these two genera, as shown in Figure 1 (Fig. 2).

Overall, despite a generally low level of support, we can suppose with sufficient probability that the nematode sequences obtained from the digestive tracts of fish belong to a representative of the genus *Rhabdochona*.

The family Rhabdochonidae Travassos, Artigas & Pereira, 1928 comprises 12 genera and 198 species (Hodda, 2022). Representatives of the genus *Beaninema* are found in freshwater fishes (Caspeta, Mandujano, Moravec & Salgado Maldonado, 2001 и *Rhabdochona* Railliet, 1916). The genus *Beaninema* includes a species of nematodes that parasitize in the gall bladder of *Cichlasoma beani* (Jordan, 1889) (Caspeta-Mandujano et al., 2001). The cosmopolitan genus *Rhabdochona* comprises 169 species that mainly inhabit the digestive system of fish of the families Cyprinidae, Salmonidae, Cottidae, etc. (Moravec, 1972; 2010; Mejía-Madrid et al., 2007; Moravec and Muzzall, 2007; Moravec and Nagasawa, 2018; 2021; Hodda, 2022). The most important intermediate hosts of nematodes are larvae and imago of mayflies of the order Ephemeroptera (Moravec, 1994; Hirasawa and Urabe, 2003; Hirasawa and Yuma, 2003; Hirasawa et al., 2004). Caddisflies of the genus *Hydropsyche* and stoneflies as intermediate hosts occur less frequently (Moravec, 1995; Saraiva et al., 2002).

We hypothesize that the nematode (or its DNA) could income into the digestive tract of Godlewski's sculpin in two ways: directly (eggs and/or environment DNA) from the external environment and/or indirectly from its food.

It is known that the eggs of many nematode species are resistant to environmental factors (McSorley, 2003; Mkandawire et al., 2022), which enables their detection in water and sediment samples (Rusch et al., 2018; Trujillo-González et al., 2019).

In the parasite fauna of the Lake Baikal sculpins, the nematode species found belonged to two

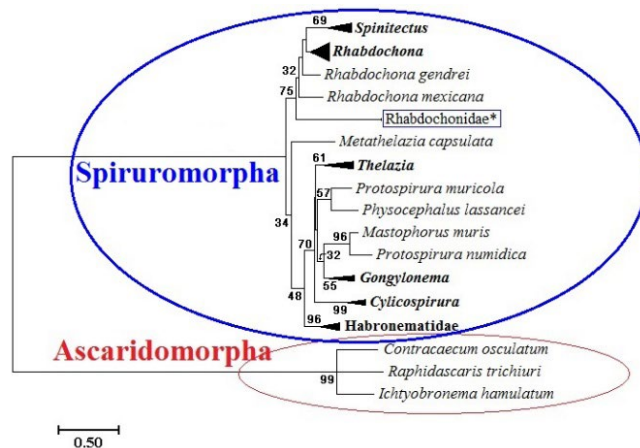


Fig.1. Phylogenetic tree of the representatives of the suborder Spirurina, constructed using the maximum likelihood method on the basis of nucleotide sequences of fragments of the *cox1* gene. **Rhabdochonidae*** – a sequence from Godlewski's sculpin

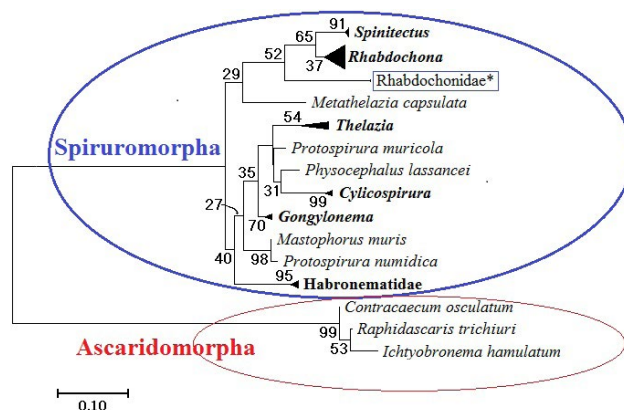


Fig.2. Phylogenetic tree of the representatives of the suborder Spirurina, constructed using the maximum likelihood method based on the translated amino acid sequences of fragments of the protein *Cox1*. **Rhabdochonidae*** – a sequence from Godlewski's sculpin

infraorders: Spiruromorpha (*Comephoronema werestschagini* Layman, 1933) и Ascaridomorpha (*I. hamulatum*, *Contracaecum osculatum baicalensis* Mosgovoi et Ryjnikov, 1950 and *Raphidascaris (Raphidascaris) acus* (Bloch, 1779) Railliet & Henry, 1915). Nematodes of the genus *Rhabdochona* were previously unknown for the deep-water species of Lake Baikal, however, they have been found in the intestines of Baikal graylings and daces (Pugachev, 2004).

The nematodes are one of the least studied fish parasites in the Baikal region (Rinchinov et al., 2017), and information on intermediate hosts for nematodes of the genus *Rhabdochona* is not available. It is known that the most important intermediate hosts for nematodes of the genus *Rhabdochona* are larvae and imago of mayflies Ephemeroptera (Moravec, 1994; Hirasawa and Urabe, 2003; Hirasawa and Yuma, 2003; Hirasawa et al., 2004), including the genera *Heptagenia* and *Ephemer*a, occurring among the fauna in Lake Baikal tributaries (Klyuge, 2009). Representatives of the genus *Hydropsyche* also occur as intermediate hosts for

nematodes of the genus *Rhabdochona* (Moravec, 1995; Moravec and Scholz, 1995; Saraiva et al., 2002) and are part of caddisfly fauna in the Baikal region (Rozhkova et al., 2020).

It has been shown that the peculiarities of fish feeding can favor their contamination with nematodes (Akramova et al., 2019; Nazhmiddinov et al., 2021), whose life cycles are associated with a change of host. The role of intermediate hosts belongs to amphibiotic insects, and of reservoir hosts belongs to fishes (Akramova et al., 2019). For example, North American species of the Cottidae family host *Rhabdochona cotti* Gustafson, 1949 in their intestines (Moravec and Muzzall, 2007). Among the food of these fishes there are representatives of the order Ephemeroptera (Scott and Crossman, 1973; Mason and Machidori, 1976).

The Baikal black grayling, *Thymallus baicalensis* (Dybowski, 1874), is a typical representative of the littoral ichthyofauna of Lake Baikal. The range of organisms it consumes is very broad and includes both benthic species and imago of insects of different species (Tugarina and Kupchinskaya, 1977; Tugarina, 1981; Knizhin et al., 2006). Stoneflies, mayflies and caddisflies, including the genus *Hydropsyche*, are represented in the grayling's food spectrum (Teslenko et al., 2011; Kolesov, 2018).

The Siberian dace, *Leuciscus baicalensis* (Dybowski, 1874) inhabits the near-shore zone of Lake Baikal, its bay and shallow tributaries. Its main food is benthic invertebrates, amphibiotic insect imago, algae and detritus (Popov and Popov, 2015). Considering the peculiarities of the ecology of these species, the presence of nematodes of the genus *Rhabdochona* in them is quite explainable. The food spectrum of Lake Baikal sculpins is dominated by amphipods, juvenile fish and oligochaetes (Bazikalova et al., 1937; Taliev, 1955; Sideleva and Mekhanikova, 1990). Known intermediate hosts of nematodes of the genus *Rhabdochona* – mayflies and caddisflies – are not on the diet of Lake Baikal sculpins. Therefore, the nematode DNA we detected may belong to both the parasites of Godlewski's sculpin and to the parasites of their food objects.

4. Conclusion

Nematodes of the genus *Rhabdochona* were previously unknown for deep-sea fish in Lake Baikal. The results obtained indicate the presence of parasite species that have not yet been described in the endemic species of Baikal sculpins. This fact provides a perspective for the integrated parasitological and molecular genetic research of the parasitic fauna as well as for the revision of the previously described parasite species in the fishes of Lake Baikal.

Funding and Acknowledgements

The authors thank the team of the R/V "G.Yu. Vereshchagin" for their help with the sampling. The work was done within the framework of the state assignments ## 121032300224-8 and 121032300196-8.

Conflict of interest

The authors declare no competing financial or personal interests.

References

- Akramova F.D., Azimov D.A., Shakarboev E.B. et al. 2019. Ecological and faunistic analysis of Spirurida order Nematodes – zooparasites of Uzbekistan. *Rossiiskij parazitologicheskij zhurnal [Russian Journal of Parasitology]* 13(3): 11-24. DOI: [10.31016/1998-8435-2019-13-3-11-24](https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-3-11-24) (in Russian)
- Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. 1990. Basic local alignment searchtool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410. DOI: [10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Armenteros M., Rojas-Corzo A., Ruiz-Abierno A. et al. 2014. Systematics and DNA barcoding of free-living marine nematodes with emphasis on tropical desmodorids using nuclear SSU rDNA and mitochondrial COI sequences. *Nematology* 16(8): 979-989. DOI: [10.1163/15685411-00002824](https://doi.org/10.1163/15685411-00002824)
- Bazikaliova A.Ya., Kalinnikova T.N., Mikhin V.S. 1937. Materialy k poznaniyu bychkov Baykala [Materials to the knowledge of Baikal sculpins]. *Proceedings of Baikal Limnological Station* 7(2): 209-213. (in Russian)
- Bogdanov B.E. 2017. Review of genus *Limnocottus* sculpins (Pisces: Cottidae): nomenclature, phenetic relationships and diagnostic characters. *Bajkal'skij zoologicheskij zhurnal [Baikal Zoological Journal]* 2(21): 46-55. (in Russian)
- Bogdanov B.E. 2023. The Sculpins (Perciformes: Cottidae) of Lake Baikal and Baikal region: updated checklist with the description of new tax. *Limnology and Freshwater Biology* 3: 63-95. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-3-63](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-3-63)
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114-2120. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu170](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170)
- Caspeta-Mandujano J.M., Moravec F., Salgado-Maldonado G. 2001. Two new species of rhabdochoniids (Nematoda: Rhabdochoniidae) from freshwater fishes in Mexico, with a description of a new genus. *Journal of Parasitology* 87(1): 139-43. DOI: [10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0139:TNSORN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0139:TNSORN]2.0.CO;2)
- Denikina N.N., Kulakova N.V., Bukin Yu.S. et al. 2023. The first detection of DNA of *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas, 1781) in sunbleak *Leucaspis delineatus* (Heckel, 1843). *Limnology and Freshwater Biology* 1: 6-10. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-1-1](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-1-1)
- Denikina N.N., Kulakova N.V., Bukin Yu.S. et al. 2023. Phylogenetic analysis of coccidia (Apicomplexa: Eimeriorina) in the belica *Leucaspis delineatus* (Heckel, 1843). *Limnology and Freshwater Biology* 4: 104-118. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-4-104](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-4-104)
- Dzyuba Ye.V., Bukin Yu.S., Khanaev I.V. et al. 2024. The first detection of coccidia (Conoidasida: Eimeriidae) DNA in Godlewski's sculpin *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874). *Limnology and Freshwater Biology* 5: 1206-1218. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-5-1206](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-5-1206)
- Gonçalves L.T., Bianchi F.M., Deprá M. et al. 2021. Barcoding a can of worms: testing *cox1* performance as a DNA barcode of Nematoda. *Genome* 64(7): 705-717. DOI: [10.1139/gen-2020-0140](https://doi.org/10.1139/gen-2020-0140)
- Harms-Tuohy C.A., Schizas N.V., Appeldoorn R.S. 2016. Use of DNA metabarcoding for stomach content analysis in the invasive lionfish *Pterois volitans* in Puerto Rico. *Marine Ecology-Progress Series* 558: 181-191. DOI: [10.3354/meps11738](https://doi.org/10.3354/meps11738)
- Hirasawa R., Urabe M., Yuma M. 2004. Relationship between intermediate host taxon and infection by nematodes

- of the genus *Rhabdochona*. *Parasitology International* 53(1): 89-97. DOI: [10.1016/j.parint.2003.12.001](https://doi.org/10.1016/j.parint.2003.12.001)
- Hirasawa R., Urabe M. 2003. *Ephemera strigata* (Insecta: Ephemeroptera: Ephemeridae) is the intermediate host of the nematodes *Rhabdochona denudata honshuensis* and *Rhabdochona coronacauda* in Japan. *Journal of Parasitology* 89(3): 617-20. DOI: [10.1645/GE-3106RN](https://doi.org/10.1645/GE-3106RN)
- Hirasawa R., Yuma M. 2003. *Ephemera strigata* imagoes are the likely source of a parasitic nematode infection of fish. *Folia parasitologica* 50: 313-314.
- Hodda M. 2022. Phylum Nematoda: a classification, catalogue and index of valid genera, with a census of valid species. *Zootaxa* 5114(1):1-289. DOI: [10.11646/zootaxa.5114.1.1](https://doi.org/10.11646/zootaxa.5114.1.1)
- Jakubavičiūtė E., Bergström U., Eklöf J.S. et al. 2017. DNA metabarcoding reveals diverse diet of the three-spined stickleback in a coastal ecosystem. *PLoS One* 12(10): e0186929. DOI: [10.1371/journal.pone.0186929](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186929)
- Klyuge N.Yu. 2009. Ephemeroptera in the basin of Lake Baikal. In: Timoshkin O.A. (Ed.), *Index of animal species inhabiting Lake Baikal and its catchment area*. Novosibirsk: Nauka. (in Russian)
- Knizhin I.B., Weiss S.J., Sushnik S. 2006. Graylings (*Thymallus*, Thymallidae) of Lake Baikal basin: diversity and taxonomic status of forms. *Voprosy ihtiologii* [Journal of Ichthyology] 46(4): 442-459. (in Russian)
- Knot I.E., Zouganelis G.D., Weedall G.D. et al. 2020. DNA barcoding of Nematodes using the MinION. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8. DOI: [10.3389/fevo.2020.00100](https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00100)
- Kolesov N.A. 2018. Biology of the Siberian grayling *Thymallus arcticus* in the basin of the River Tom'. *Vestnik Kemerovskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologicheskie, tekhnicheskie nauki i nauki o Zemle* [Bulletin of Kemerovo State University. Series: Biological, Engineering and Earth Sciences] 1: 27-31. (in Russian)
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. DOI: [10.1093/molbev/msw054](https://doi.org/10.1093/molbev/msw054)
- Kvist S. 2013. Barcoding in the dark? A critical view of the sufficiency of zoological DNA barcoding databases and a plea for broader integration of taxonomic knowledge. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69(1): 39-45. DOI: [10.1016/j.ympev.2013.05.012](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.05.012)
- Leray M., Yang J.Y., Meyer C.P. et al. 2013. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology* 10(34): 1-13. DOI: [10.1186/1742-9994-10-34](https://doi.org/10.1186/1742-9994-10-34)
- Le S.Q., Gascuel O. 2008. An improved general amino acid replacement matrix. *Molecular Biology and Evolution* 25(7): 1307-1320. DOI: [10.1093/molbev/msn067](https://doi.org/10.1093/molbev/msn067)
- Mason J.C., Machidori S. 1976. Populations of sympatric sculpins, *Cottus aleuticus* and *Cottus asper*, in four adjacent salmon-producing coastal streams on Vancouver Island, B.C. *U.S. Fishery Bulletin* 74 (1): 131-141.
- McSorley R. 2003. Adaptations of nematodes to environmental extremes. *Florida Entomologist* 86(2): 138-142. DOI: [10.1653/0015-4040\(2003\)086\[0138:AONTEE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2003)086[0138:AONTEE]2.0.CO;2)
- Mejía-Madrid H.H., Choudhury A., de León G.P. 2007. Phylogeny and biogeography of *Rhabdochona* Railliet, 1916 (Nematoda: Rhabdochoniidae) species from the Americas. *Systematic Parasitology* 67(1): 1-18. DOI: [10.1007/s11230-006-9065-3](https://doi.org/10.1007/s11230-006-9065-3)
- Mkandawire T.T., Grencis R.K., Berriman M. et al. 2022. Hatching of parasitic nematode eggs: a crucial step determining infection. *Trends in Parasitology* 38(2): 174-187. DOI: [10.1016/j.pt.2021.08.008](https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.08.008)
- Moravec F., Muzzall P. 2007. Redescription of *Rhabdochona cotti* (Nematoda, Rhabdochoniidae) from *Cottus caeruleomen-*
- tum* (Teleostei, Cottidae) in Maryland, USA, with remarks on the taxonomy of North American *Rhabdochona* spp. *Acta Parasitologica* 52: 51-57. DOI: [10.2478/s11686-006-0049-x](https://doi.org/10.2478/s11686-006-0049-x)
- Moravec F., Nagasawa K. 2018. *Rhabdochona angusticaudata* sp. n. (Nematoda: Rhabdochoniidae) from the Japanese eel *Anguilla japonica*, and new records of some other nematodes from inland fishes in Japan. *Folia Parasitologica* 65: 016. DOI: [10.14411/fp.2018.016](https://doi.org/10.14411/fp.2018.016)
- Moravec F., Nagasawa K. 2021. Some spirurid nematodes (Spirurida) from freshwater and brackish-water fishes in Okinawa Prefecture, Japan, with descriptions of two new species. *Acta Parasitologica* 66: 163-177. DOI: [10.1007/s11686-020-00268-1](https://doi.org/10.1007/s11686-020-00268-1)
- Moravec F., Scholz T. 1995. Life history of the nematode *Rhabdochona hellichi*, a parasite of the barbel in the Jihlava River, Czech Republic. *Journal of Helminthology* 69(1): 59-64. DOI: [10.1017/S0022149X00013845](https://doi.org/10.1017/S0022149X00013845)
- Moravec F. 1972. General characterization of the nematode genus *Rhabdochona* with a revision of the South American species. *Acta Societatis Zoologicae Bohemoslovacae* 36: 29-46.
- Moravec F. 1994. Parasitic nematodes of freshwater fish of Europe. Praha: Academia.
- Moravec F. 1995. Trichopteran larvae (Insecta) as the intermediate hosts of *Rhabdochona hellichi* (Nematoda: Rhabdochoniidae), a parasite of *Barbus barbus* (Pisces). *Parasitology Research* 81(3): 268-270. DOI: [10.1007/BF00937122](https://doi.org/10.1007/BF00937122)
- Moravec F. 2010. Some aspects of the taxonomy, biology, possible evolution and biogeography of nematodes of the spirurine genus *Rhabdochona* Railliet, 1916 (Rhabdochoniidae, Thelazioidea). *Acta Parasitologica* 55: 144-160. DOI: [10.2478/s11686-010-0017-3](https://doi.org/10.2478/s11686-010-0017-3)
- Nazhmiddinov E.Kh., Kuchboev A.E., Mukhammadiev M.A. et al. 2021. Ecological and morphological characteristics of nematodes of the genus *Rhabdochona*, parasites of the marinka. *Theory and practice of prevention of parasitic diseases* 22: 387-393. DOI: [10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.387-393](https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.387-393)
- Nei M., Kumar S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. New York: Oxford University Press.
- Nemys eds. 2024. *Nemys: World Database of Nematodes*. Accessed at URL: <https://nemys.ugent.be> on 2024-08-08. DOI: [10.14284/366](https://doi.org/10.14284/366)
- Nurk S., Meleshko D., Korobeynikov A. et al. 2017. metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *Genome research* 27(5): 824-834. DOI: [10.1101/gr.213959.116](https://doi.org/10.1101/gr.213959.116)
- Popov P.A., Popov V.A. 2015. Ecology of the dace (*Leuciscus leuciscus baicalensis*) from reservoirs of the Siberia. *Mir nauki, kul'tury, obrazovaniya* [Science, Culture, Education World] 1(50): 403-406. (in Russian)
- Pugachev O.N. 2004. Checklist of the freshwater fish parasites of the Northern Asia: Nematoda, Acanthocephala, Hirudinea, Mollusca, Crustacea, Acari. Saint-Petersburg: Proceedings of the Zoological Institute of RAS. (in Russian)
- Rinchinov Z.A., Baldanova D.R., Khamnueva T.R. et al. 2017. Infestation with nematodes of the baikal yellowfish and sand sculpin in the Lake Baikal. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya, geografiya* [Bulletin of Buryat State University. Biology, geography] 3: 143-147. (in Russian)
- Rozhkova N.A., Bazova N.V., Bagranina I.O. 2020. New data on the fauna and distribution of caddisflies (Trichoptera) of the tributaries of Lake Baikal, Russia. *Eurasian Entomological Journal* 19(6): 347-355. DOI: [10.15298/euroasentj.19.6.09](https://doi.org/10.15298/euroasentj.19.6.09)
- Rusch J.C., Hansen H., Strand D.A. et al. 2018. Catching the fish with the worm: a case study on eDNA detection of the monogenean parasite *Gyrodactylus salaris* and two of

its hosts, Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Parasites & Vectors* 11: 1-12. DOI: [10.1186/s13071-018-2916-3](https://doi.org/10.1186/s13071-018-2916-3)

Sakaguchi S.O., Shimamura S., Shimizu Y. et al. 2017. Comparison of morphological and DNA-based techniques for stomach content analyses in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*: A case study on diet richness of juvenile fishes. *Fisheries Science* 83: 47-56. DOI: [10.1007/s12562-016-1040-6](https://doi.org/10.1007/s12562-016-1040-6)

Saraiva A.M., Pereira A., Cruz C. 2002. Observations on the occurrence and maturation of *Rhabdochona anguillae* (Nematoda: Rhabdochoniidae) in the Sousa River, Portugal. *Helminthologia* 39: 41-43.

Scott W.B., Crossman E.J. 1973. Freshwater fishes of Canada. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada* 184: 1-966.

Siddall M.E., Kvist S., Phillips A. et al. 2012. DNA barcoding of parasitic Nematodes: is it kosher? *Journal of Parasitology* 98(3): 692-694. DOI: [10.1645/GE-2994.1](https://doi.org/10.1645/GE-2994.1)

Sideleva V.G., Mekhanikova I.V. 1990. Feeding preference and evolution of the Cottoid of the Lake Baikal. *Trudy Zoologicheskogo instituta Akademii nauk SSSR [Proceedings of the Zoological Institute of the USSR AS]* 222: 144-161. (in Russian)

Taliev D.N. 1955. *Bychki-podkamenshchiki Baykala (Cottoidei) [Sculpins of Lake Baikal (Cottoidei)]*. Moscow – Leningrad: Nauka.

Tamura K., Nei M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10: 512-526.

Teslenko V.A., Tiunova T.M., Mikheev P.B. et al. 2011. The feeding pattern of the lower Amur grayling *Thymallus tugarinae* (Thymallidae) in the Limuri R. (the Lower Amur R.) *Vestnik Severo-Vostochnogo nauchnogo centra DVO RAN [Bulletin of North-East Scientific Center of the RAS FEB]* 3: 51-58. (in Russian)

Trujillo-González A., Edmunds R.C., Becker J.A. et al. 2019. Parasite detection in the ornamental fish trade using environmental DNA. *Scientific Reports* 9: 5173. DOI: [10.1038/s41598-019-41517-2](https://doi.org/10.1038/s41598-019-41517-2)

Tugarina P.Ya., Kupchinskaya Ye.S. 1977. *Pitaniye i pishchevye vzaimootnosheniya ryb Baykalo-Angarskogo basseyna [Feeding and food relation between fishes of Baikal-Angara basin]*. Novosibirsk: Nauka. (in Russian)

Tugarina P.Ya. 1981. *Khariusy Baykala [Graylings of Lake Baikal]*. Novosibirsk: Nauka. (in Russian)

Villsen K., Corse E., Archambaud-Suard G. et al. 2022. Diet metabarcoding reveals extensive dietary overlap between two benthic stream fishes (*Zingel asper* and *Cottus gobio*) and provides insights into their coexistence. *Diversity* 14(5): 412. DOI: [10.3390/d14050412](https://doi.org/10.3390/d14050412)

Yoon T.-H., Kang H.-E., Lee S.R. et al. 2017. Metabarcoding analysis of the stomach contents of the Antarctic Toothfish (*Dissostichus mawsoni*) collected in the Antarctic Ocean. *PeerJ* 5: e3977. DOI: [10.7717/peerj.3977](https://doi.org/10.7717/peerj.3977)

Первая находка ДНК нематоды рода *Rhabdochona* (Spiruromorpha: Thelazioidea: Rhabdochonidae) в метагеноме пищеварительного тракта глубоководного вида: широколобки Годлевского *Abyssocottus* (*Limnocottus*) *godlewskii*

Дзюба Е.В.¹, Букин Ю.С.¹, Ханаев И.В.¹, Богданов Б.Э.¹, Яхненко А.С.¹, Сапожникова Ю.П.*¹, Деникина Н.Н.¹

Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Впервые в пищеварительном тракте широколобки Годлевского *Abyssocottus* (*Limnocottus*) *godlewskii* методом высокопроизводительного секвенирования идентифицированы нуклеотидные последовательности фрагмента гена *cox1* нематод с относительной представленностью ДНК 2,6%. Проведенный филогенетический анализ позволяет утверждать, что полученные последовательности принадлежат представителю семейства Rhabdochonidae (Spiruromorpha: Thelazioidea). Ранее в составе фауны паразитов озерных широколобок представители Rhabdochonidae отмечены не были. Обсуждаются возможные пути поступления ДНК нематод в пищеварительный тракт рыб.

Ключевые слова: Nematoda, Rhabdochonidae, *Abyssocottus* (*Limnocottus*) *godlewskii* (Dybowski, 1874), ген *cox1*, Байкал

Для цитирования: Дзюба Е.В., Букин Ю.С., Ханаев И.В., Богданов Б.Э., Яхненко А.С., Сапожникова Ю.П., Деникина Н.Н. Первая находка ДНК нематоды рода *Rhabdochona* (Spiruromorpha: Thelazioidea: Rhabdochonidae) в метагеноме пищеварительного тракта глубоководного вида: широколобки Годлевского *Abyssocottus* (*Limnocottus*) *godlewskii* // *Limnology and Freshwater Biology*. 2024. - № 6. - С. 1366-1379. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-6-1366

1. Введение

Использование современных технологий высокопроизводительного секвенирования (мета-баркодирование) позволяет существенно дополнить результаты, полученные с помощью традиционных методов исследования фауны паразитов (Villsen et al., 2022; Деникина и др., 2023а; b; Дзюба и др., 2024), которая является значимым направлением в экологии рыб. Несмотря на ряд ограничений (Siddall et al., 2012; Kvist, 2013; Sakaguchi et al., 2017), достоинства молекулярно-генетического подхода обусловлены его эффективностью за счет высокого разрешения и возможности идентификации широкого спектра видов (Harms-Tuohy et al., 2016; Jakubavičiūtė et al., 2017; Yoon et al., 2017). В исследованиях, посвященных систематике и таксономии нематод, широко применяются молеку-

лярно-генетические методы штрих-кодирования с использованием разнообразных (ядерных и митохондриальных) генетических маркеров, включая ген малой субъединицы рибосомальной РНК (18S SSU rRNA), ген большой субъединицы рибосомальной РНК (28S LSU rRNA), ген первой субъединицы цитохром оксидазы I (*cox1*) и внутренние транскрибируемые спейсерные области (ITS) локуса рибосомальной РНК (Knot et al., 2020). Использование фрагментов гена *cox1* для штрих-кодирования ДНК нематод эффективно для изучения разнообразия видов с возможным порогом генетического расстояния в 5% между конспецифическими и межвидовыми последовательностями, однако имеет некоторые ограничения, обусловленные существенными пробелами в информации о реальном разнообразии и таксономии группы, а также отсутствием достаточной базы данных последовательностей

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: jsap@mail.ru (Ю.П. Сапожникова)

Поступила: 25 сентября 2024; **Принята:** 24 октября 2024; **Опубликована online:** 25 декабря 2024

© Автор(ы) 2024. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



cox1 (Armenteros et al., 2014). Оценка эффективности использования гена *cox1* в качестве штрих-кода ДНК для разных родов нематод показала, что для изучения их разнообразия необходимо тщательное определение порогов для более низких таксономических уровней (Gonçalves et al., 2021). Метабаркодинг стал удобным инструментом для идентификации и оценки разнообразия, но его применение при изучении нематод находится на этапе становления (Gonçalves et al., 2021).

Эндемичный вид оз. Байкал широколобка Годлевского *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874) обитает на глубинах от 100 до 900 м (Богданов, 2023). Фауна паразитов этого вида озерных широколобок до настоящего времени остается малоизученной. Сложности в исследованиях глубоководных рыб вызваны малым количеством выборок рыб в связи с трудоемким процессом отлова. В результате исследования пищевого спектра широколобки Годлевского с использованием методов секвенирования нового поколения были получены последовательности паразитических простейших сем. Eimeriidae (Дзюба и др., 2024) и нематод. Целью работы являлось проведение анализа последовательностей нематод из пищеварительного тракта широколобки Годлевского.

2. Материалы и методы

Сбор проб осуществляли с борта научно-исследовательского судна «Г.Ю. Верещагин» в сентябре 2019 г. в районе створа Чивыркуйского залива озера Байкал (53°59.674'N, 109°09.086'E) с глубин от 790 до 820 м. Видовую принадлежность рыб идентифицировали в соответствии с последними ревизиями (Богданов, 2017; 2023). Для анализа использовали пять особей широколобки Годлевского массой от 8,7 до 28,5 г, общей длиной от 95 до 149 мм.

В лабораторных условиях содержимое всего пищеварительного тракта (250-700 мкл) от каждого отдельно взятого экземпляра разводили равным объемом воды *mQ*, измельчали и тщательно перемешивали. Суммарную ДНК выделяли с помощью набора для экстракции «АмплиСенс ДНК-сорб-АМ» (Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Фрагмент гена *cox1* длиной приблизительно 350 пар оснований амплифицировали для каждой пробы 30 циклов с понижением температуры отжига на 0,3°C от начальных 55°C с праймерами MiSeq: COIintF 5'tcgtcggcagcgtcagatgtgtataagagacagGGWAC WGGWTGAACWGTWTAУССУСС и dgHCO2198 5'gtctcgtgggctcggagatgtgtataagagacagTAIACYTCIGGRTGIC RAARAAYCA (Leray et al., 2013). Все ампликоны объединяли для подготовки пробы к секвенированию.

Библиотеку из очищенного пула ампликонов конструировали с использованием набора Nextera XT (Illumina, Хейворд, Калифорния, США), нуклеотидные последовательности определяли с помощью Illumina NextSeq. Полученному массиву данных присвоен регистрационный номер GenBank: PRJNA1086215. Исходные данные триммировали по качеству в программе Trimmomatic V 0.39 (Bolger et al., 2014) с опциями: среднее качество прочтения 20,

минимальная длина прочтения 140. Сборку исходных прочтений в контиги, соответствующие полно-размерным продуктам амплификации, проводили в программе metaSPAdes (Nurk et al., 2017) длинами *k-mer* 21, 33, 55, 77, 99 и 121. Выбранные длины *k-mer* позволили привести агрегацию в единые контиги только прочтений, специфичных первоначальным фрагментам *cox1* смеси ДНК различных видов метагеномного образца. Референсной базой данных для таксономического анализа послужил полный набор последовательностей маркера *cox1* из International Barcode of Life Database (iBOL) (<https://ibol.org/>). Последовательности ДНК сборки ампликонов сопоставляли с референсной базой данных с помощью приложения local BLASTn (Altschul et al., 1990). Результаты BLAST анализа преобразовывали в таблицу представленности таксонов в ДНК содержимого пищеварительных трактов рыб. Первичную обработку нуклеотидных последовательностей представителей нематод и соответствующих данных, представленных в международной базе NCBI (Таблица 1), проводили в редакторе BioEdit, выравнивали с помощью программы ClustalW. Последовательности нематод зарегистрированы в GenBank: №№ PP567251 и PP567252.

В работе применяли классификацию на основе молекулярных данных (SSU rDNA), с учетом морфологических, онтогенетических и биологических признаков из World Database of Nematodes (Nemys, 2024).

Филогенетический анализ, включая выбор моделей реконструкции эволюционной истории и определение генетического разнообразия внутри групп, проводили с использованием программы MEGA7 (Kumar et al., 2016). Оценку среднего эволюционного разнообразия внутри родов *Rhabdochona* и *Spinitectus* проводили с использованием модели Тамуры-Нея (Tamura and Nei, 1993). Изменение скорости между сайтами моделировали с помощью гамма-распределения. Филогенетическую реконструкцию эволюционной истории, основанной на нуклеотидных последовательностях, проводили методом максимального правдоподобия по модели Тамуры-Нея с гамма коррекцией различий в скоростях накопления замен в различных сайтах (TN93+G) (Tamura and Nei, 1993; Kumar et al., 2016). Филогенетическую реконструкцию эволюционной истории, основанной на аминокислотных последовательностях, проводили методом максимального правдоподобия по модели Ли-Гаскуэля с гамма коррекцией различий в скоростях накопления замен в различных сайтах (LG + G protein evolutionary model) (Nei and Kumar, 2000; Le and Gascuel, 2008). Тестирование достоверности топологии филогенетических деревьев проводилось непараметрическим бустером (1000 реплик). Нуклеотидные последовательности гена *cox1* представителей *Ascaridomorpha (Contracaecum osculatatum* (Rudolphi, 1802) Baylis, 1920, *Raphidascaris trichiuri* и *Ichtyobronema hamulatum* (Moulton, 1931) Moravec, 1994) из NCBI, использовали в анализе в качестве аут-группы.

Таблица 1. Номера нуклеотидных последовательностей гена *cox1* представителей подотряда Spirurina Railliet & Henry, 1915, использованных в анализе (GenBank).

Инфраотряд Spiruromorpha De Ley & Blaxter, 2002			
Надсемейство	Семейство	Род	Вид, номер последовательности
Thelazioidea Skrjabin, 1915	Rhabdochonidae Skrjabin, 1946	<i>Rhabdochona</i> Railliet, 1916	<i>Rhabdochona acuminata</i> , MK341636 <i>Rhabdochona adentata</i> , MN927199 <i>Rhabdochona ahuehuellensis</i> , MK353477 <i>Rhabdochona canadensis</i> , MH778489 <i>Rhabdochona gendrei</i> , OR088887 <i>Rhabdochona ictaluri</i> , MK353482 <i>Rhabdochona guerreroensis</i> , MN592669 <i>Rhabdochona kidderi</i> , MH778490 <i>Rhabdochona lichtenfelsi</i> , DQ990974 <i>Rhabdochona mexicana</i> , MH778491 <i>Rhabdochona osorioi</i> , MK341626 <i>Rhabdochona salgadoi</i> , MH778492 <i>Rhabdochona xiphophori</i> , MH778493
	Thelaziidae Skrjabin, 1915	<i>Thelazia</i> Bosc, 1819	<i>Thelazia californiensis</i> MW055239 <i>Thelazia callipaeda</i> , AB538283 <i>Thelazia gulosa</i> AJ544881 <i>Thelazia rhodesi</i> , MT511659
	Pneumospiruridae Wu & Hu, 1938	<i>Metathelazia</i> Skinker, 1931	<i>Metathelazia capsulata</i> , ON995621
Habronematoidea Ivaschkin, 1961	Cystidicolidae Skrjabin, 1946	<i>Spinitectus</i> Fourment, 1883	<i>Spinitectus humbertoi</i> , MH778494 <i>Spinitectus mexicanus</i> , MK341638 <i>Spinitectus mixtecoensis</i> , MK024432 <i>Spinitectus osorioi</i> , MN592671 <i>Spinitectus petterae</i> , OP800448
	Habronematidae Ivaschkin, 1961	<i>Habronema</i> Diesing, 1861	<i>Habronema majus</i> , KX868084 <i>Habronema microstoma</i> , FJ471581 <i>Habronema muscae</i> , KX868085
		<i>Parabronema</i> Baylis, 1921	<i>Parabronema skrjabini</i> , MT664738
Spiruroidea Oerley, 1885	Gongylonematidae Sobolev, 1949	<i>Gongylonema</i> Molin, 1857	<i>Gongylonema neoplasticum</i> LC331044 <i>Gongylonema nepalensis</i> , LC388892 <i>Gongylonema pulchrum</i> , LC388897
	Spirocercidae Chitwood & Wehr, 1932	<i>Mastophorus</i> Diesing, 1853	<i>Mastophorus muris</i> , MG821081
		<i>Cylicospirura</i> Vevers, 1922	<i>Cylicospirura felineus</i> , GQ342967 <i>Cylicospirura subaequalis</i> , GQ342968 <i>Cylicospirura petrowi</i> , KF719952
		<i>Physocephalus</i> Diesing, 1861	<i>Physocephalus lassancei</i> , KT894799
Spiruridae Oerley, 1885	<i>Protospirura</i> Seurat, 1914	<i>Protospirura numidica</i> , KT894801 <i>Protospirura muricola</i> , KP760207	
Инфраотряд Ascaridomorpha De Ley & Blaxter, 2002			
Ascaridoidea Baird, 1853	Anisakidae Railliet & Henry, 1912	<i>Contracaecum</i> Railliet & Henry, 1912	<i>Contracaecum osculatum</i> , HQ268721
	Raphidascarididae Hartwich, 1954	<i>Raphidascaris</i> Railliet & Henry, 1915	<i>Raphidascaris trichiuri</i> , FJ907318
Seuratoidea Hall, 1916	Quimperidae Gendre, 1928	<i>Ichtyobronema</i> Gnedina & Savina, 1930	<i>Ichtyobronema hamulatum</i> , KX3658991

3. Результаты и обсуждение

В результате анализа данных метагеномного секвенирования ДНК содержимого пищеварительных трактов широколобки Годлевского детектированы последовательности нематод, количество нуклеотидных прочтений которых составило 2,6% от общего количества ридов. Полученные последовательности были представлены двумя гаплотипами, отличающимися между собой пятью молчащими заменами и имеющими максимальные гомологии (83,2 и 80,8%) с последовательностями *Rhabdochona kidderi* Pearse, 1936 семейства Rhabdochonidae Skrjabin, 1946.

В филогенетической реконструкции эволюционной истории, основанной на нуклеотидных данных (Рис. 1), последовательности кластеризуются с представителями родов *Rhabdochona* (Thelazioidea) и *Spinitectus* (Habronematoidea). При этом род *Spinitectus* сформировал монофилитичную плотную группу с низким показателем генетического разнообразия (0,004), а род *Rhabdochona* продемонстрировал значительную генетическую гетерогенность (0,019). Нуклеотидные последовательности видов, принадлежащих семействам Gongylonematidae, Habronematidae, Pneumospiruridae, Spirocercidae, Spiruridae и Thelaziidae (Таблица 1), сформировали общий кластер. Следует отметить, что порядок ветвления в филогенетической реконструкции не всегда соответствует таксономическому положению как на уровне видов, так и на уровне крупных таксонов (Thelazioidea и Habronematoidea). Нуклеотидные последовательности гена *cox1* представителей Ascaridomorpha (*Contracaecum osculatum* (Rudolphi, 1802) Baylis, 1920, *Raphidascaris trichiuri* (в настоящее время – *Ichthyascaris trichiuri* (Yin & Zhang, 1983) Luo & Huang, 2001) и *Ichtyobronema hamulatum* (Moulton, 1931) Moravec, 1994) из NCBI, использовали в анализе в качестве аут-группы (Рис. 1).

Для сравнения была проведена филогенетическая реконструкция эволюционной истории, основанная на аминокислотных последовательностях (Рис. 2). Транслированные аминокислотные последовательности из кишечника широколобки Годлевского, так же, как и нуклеотидные, кластеризуются с представителями родов *Rhabdochona* (Thelazioidea) и *Spinitectus* (Habronematoidea). Однако рабдохоны в этом случае формируют единую группу, являющуюся сестринской ветвью по отношению к роду *Spinitectus*. При этом последовательности Rhabdochonidae*, полученные в данном исследовании, как и на Рисунке 1, занимают базальное положение по отношению к этим двум родам (Рис. 2).

В целом, несмотря на общий низкий уровень поддержек, с достаточной долей вероятности можно предположить принадлежность полученных из пищеварительного тракта рыб последовательностей нематод представителю рода *Rhabdochona*.

Семейство Rhabdochonidae Travassos, Artigas & Pereira, 1928 включает в себя 12 родов и 198 видов (Hodda, 2022). У пресноводных рыб отмечены представители родов *Beaninema* Caspeta, Mandujano,

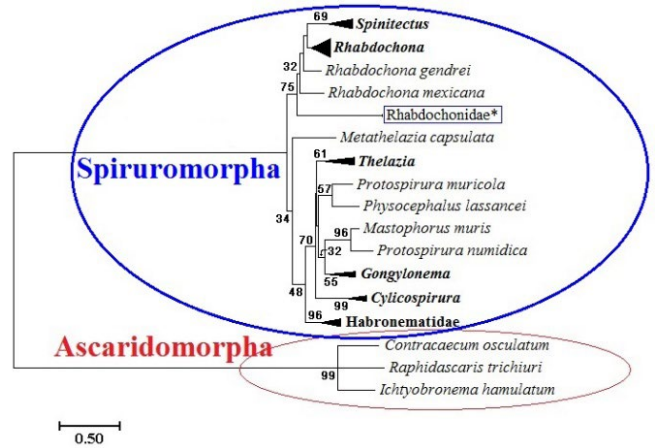


Рис. 1. Филогенетическое древо представителей подотряда Spirurina, построенное методом максимального правдоподобия на основании нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *cox1*. Rhabdochonidae* – последовательности из широколобки Годлевского

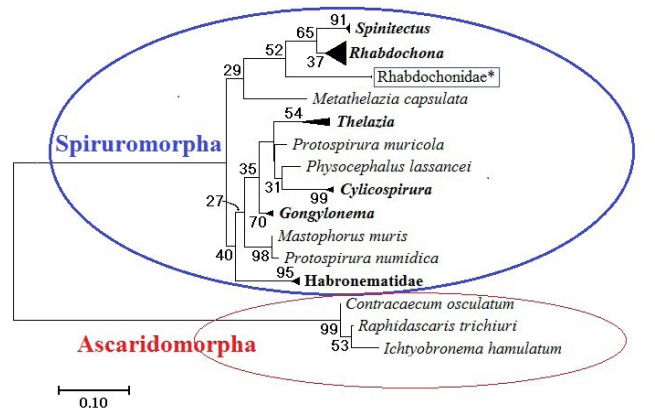


Рис. 2. Филогенетическое древо представителей подотряда Spirurina, построенное методом максимального правдоподобия на основании транслированных аминокислотных последовательностей фрагментов белка *Cox1*. Rhabdochonidae* – последовательности из широколобки Годлевского

Moravec & Salgado Maldonado, 2001 и *Rhabdochona* Railliet, 1916. Род *Beaninema* включает в себя один вид нематод, паразитирующий в желчном пузыре цихлазомы беина *Cichlasoma beani* (Jordan, 1889) (Caspeta-Mandujano et al., 2001). Космополитный род *Rhabdochona* содержит 169 видов, обитающих преимущественно в пищеварительной системе рыб из семейств: Cyprinidae, Salmonidae, Cottidae и др. (Moravec, 1972; 2010; Mejía-Madrid et al., 2007; Moravec and Muzzall, 2007; Moravec and Nagasawa, 2018; 2021; Hodda, 2022). Основными промежуточными хозяевами нематод являются личинки и имаго поденок отряда Ephemeroptera (Moravec, 1994; Hirasawa and Urabe, 2003; Hirasawa and Yuma, 2003; Hirasawa et al., 2004). Ручейники рода *Hydropsyche* и веснянки в качестве промежуточных хозяев отмечаются реже (Moravec, 1995; Saraiva et al., 2002).

Мы предполагаем, что нематода (или её ДНК) могла поступить в пищеварительный тракт широколобки Годлевского двумя путями: прямым (яйца и/или ДНК окружающей среды) из внешней среды и/или непрямой из ее кормовых объектов.

Известно, что яйца многих видов нематод обладают устойчивостью к действию факторов окружающей среды (McSorley, 2003; Mkandawire et al., 2022), что позволяет детектировать их в образцах воды и осадках (Rusch et al., 2018; Trujillo-González et al., 2019).

В составе фауны паразитов озерных широколобок обнаруженные виды нематод принадлежали к двум инфраотрядам: Spiruromorpha (*Comephoronema werestschagini* Layman, 1933) и Ascaridomorpha (*I. hamulatum*, *Contraeacum osculatum baicalensis* Mosgovoi et Ryjikov, 1950 и *Raphidascaris (Raphidascaris) acus* (Bloch, 1779) Railliet & Henry, 1915). Нематоды рода *Rhabdochona* ранее не были известны для глубоководных рыб Байкала, однако они были найдены в кишечниках байкальских хариусов и ельца (Пугачев, 2004).

Нематоды являются одной из наименее изученных групп паразитов рыб в Байкальском регионе (Ринчинов и др., 2017), а сведения о промежуточных хозяевах нематод рода *Rhabdochona* отсутствуют. Известно, что основными промежуточными хозяевами нематод рода *Rhabdochona* являются личинки и имаго поденок Ephemeroptera (Moravec, 1994; Hirasawa and Urabe, 2003; Hirasawa and Yuma, 2003; Hirasawa et al., 2004), в том числе родов *Heptagenia* и *Ephemerella*, встречающиеся в составе фауны притоков Байкала (Клюге, 2009). Представители рода *Hydropsyche* также отмечаются в качестве промежуточных хозяев нематод рода *Rhabdochona* (Moravec, 1995; Moravec and Scholz, 1995; Saraiva et al., 2002) и входят в состав фауны ручейников Байкальского региона (Рожкова и др., 2020).

Показано, что особенности питания рыб могут способствовать их заражению нематодами (Акрамова и др., 2019; Нажмиддинов и др., 2021), жизненные циклы которых протекают со сменой хозяев. Роль промежуточных хозяев играют амфибиотические насекомые, а резервуарных – рыбы (Акрамова и др., 2019). Например, у североамериканских видов сем. Cottidae в кишечнике паразитирует *Rhabdochona cotti* Gustafson, 1949 (Moravec and Muzzall, 2007). В составе пищи этих рыб отмечены представители отряда Ephemeroptera (Scott and Crossman, 1973; Mason and Machidori, 1976).

Черный байкальский хариус, *Thymallus baicalensis* Dybowski, 1874 типичный представитель ихтиофауны литорали Байкала, спектр потребляемых им организмов очень широк и включает в себя как животных бентоса, так и имаго различных видов насекомых (Тугарина и Купчинская, 1977; Тугарина, 1981; Книжин и др., 2006). Веснянки, поденки и ручейники, в том числе рода *Hydropsyche*, указаны в пищевых спектрах хариусов (Тесленко и др., 2011; Колесов, 2018). Сибирский елец, *Leuciscus baicalensis* (Dybowski, 1874) обитает в прибрежной зоне оз. Байкал, его заливах и притоках с небольшими глубинами. Основу его питания составляют беспозвоночные бентоса, имаго насекомых, водоросли и детрит (Попов и Попов, 2015). Учитывая особенности экологии этих видов нахождение у них нематод рода *Rhabdochona* представляется

вполне объяснимым. В пищевом спектре озерных широколобок доминируют амфиподы, молодь рыб и олигохеты (Базикалова и др., 1937; Талиев, 1955; Сиделева и Механикова, 1990). Известные промежуточные хозяева нематод рода *Rhabdochona* – поденки и ручейники не указаны в питании озерных широколобок. Таким образом, детектированная нами ДНК нематоды может принадлежать как паразиту собственно широколобки Годлевского, так и паразитам его кормовых объектов.

4. Заключение

Нематоды рода *Rhabdochona* ранее не были известны для глубоководных рыб Байкала. Полученные результаты позволяют предположить наличие у эндемичных видов байкальских широколобок не описанных ранее видов паразитов. В связи с этим перспективными являются как комплексные паразитологические и молекулярно-генетические исследования фауны паразитов, так и проведение ревизии описанных ранее видов у рыб озера Байкал.

Источники финансирования и благодарности

Авторы выражают благодарность команде НИС “Г.Ю. Верещагин” за помощь в сборе материала. Работа выполнена в рамках тем государственного задания № 121032300224-8 и 121032300196-8.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. 1990. Basic local alignment searchtool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410. DOI: [10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Armenteros M., Rojas-Corzo A., Ruiz-Abierno A. et al. 2014. Systematics and DNA barcoding of free-living marine nematodes with emphasis on tropical desmodorids using nuclear SSU rDNA and mitochondrial COI sequences. *Nematology* 16(8): 979-989. DOI: [10.1163/15685411-00002824](https://doi.org/10.1163/15685411-00002824)
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114-2120. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu170](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170)
- Caspeta-Mandujano J.M., Moravec F., Salgado-Maldonado G. 2001. Two new species of rhabdochoniids (Nematoda: Rhabdochoniidae) from freshwater fishes in Mexico, with a description of a new genus. *Journal of Parasitology* 87(1): 139-43. DOI: [10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0139:TNSORN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0139:TNSORN]2.0.CO;2)
- Gonçalves L.T., Bianchi F.M., Deprá M. et al. 2021. Barcoding a can of worms: testing *cox1* performance as a DNA barcode of Nematoda. *Genome* 64(7): 705-717. DOI: [10.1139/gen-2020-0140](https://doi.org/10.1139/gen-2020-0140)
- Harms-Tuohy C.A., Schizas N.V., Appeldoorn R.S. 2016. Use of DNA metabarcoding for stomach content analysis in the invasive lionfish *Pterois volitans* in Puerto Rico. *Marine Ecology-Progress Series* 558: 181-191. DOI: [10.3354/meps11738](https://doi.org/10.3354/meps11738)

- Hirasawa R., Urabe M., Yuma M. 2004. Relationship between intermediate host taxon and infection by nematodes of the genus *Rhabdochona*. *Parasitology International* 53(1): 89-97. DOI: [10.1016/j.parint.2003.12.001](https://doi.org/10.1016/j.parint.2003.12.001)
- Hirasawa R., Urabe M. 2003. *Ephemera strigata* (Insecta: Ephemeroptera: Ephemeridae) is the intermediate host of the nematodes *Rhabdochona denudata honshuensis* and *Rhabdochona coronacauda* in Japan. *Journal of Parasitology* 89(3): 617-20. DOI: [10.1645/GE-3106RN](https://doi.org/10.1645/GE-3106RN)
- Hirasawa R., Yuma M. 2003. *Ephemera strigata* imagoes are the likely source of a parasitic nematode infection of fish. *Folia parasitologica* 50: 313-314.
- Hodda M. 2022. Phylum Nematoda: a classification, catalogue and index of valid genera, with a census of valid species. *Zootaxa* 5114(1):1-289. DOI: [10.11646/zootaxa.5114.1.1](https://doi.org/10.11646/zootaxa.5114.1.1)
- Jakubavičiūtė E., Bergström U., Eklöf J.S. et al. 2017. DNA metabarcoding reveals diverse diet of the three-spined stickleback in a coastal ecosystem. *PLoS One* 12(10): e0186929. DOI: [10.1371/journal.pone.0186929](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186929)
- Knot I.E., Zouganelis G.D., Weedall G.D. et al. 2020. DNA barcoding of Nematodes using the MinION. *Frontiers in Ecology and Evolution* 8. DOI: [10.3389/fevo.2020.00100](https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00100)
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. DOI: [10.1093/molbev/msw054](https://doi.org/10.1093/molbev/msw054)
- Kvist S. 2013. Barcoding in the dark? A critical view of the sufficiency of zoological DNA barcoding databases and a plea for broader integration of taxonomic knowledge. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69(1): 39-45. DOI: [10.1016/j.ympev.2013.05.012](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.05.012)
- Leray M., Yang J.Y., Meyer C.P. et al. 2013. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology* 10(34): 1-13. DOI: [10.1186/1742-9994-10-34](https://doi.org/10.1186/1742-9994-10-34)
- Le S.Q., Gascuel O. 2008. An improved general amino acid replacement matrix. *Molecular Biology and Evolution* 25 (7): 1307-1320. DOI: [10.1093/molbev/msn067](https://doi.org/10.1093/molbev/msn067)
- Mason J.C., Machidori S. 1976. Populations of sympatric sculpins, *Cottus aleuticus* and *Cottus asper*, in four adjacent salmon-producing coastal streams on Vancouver Island, B.C. *U.S. Fishery Bulletin* 74 (1): 131-141.
- McSorley R. 2003. Adaptations of nematodes to environmental extremes. *Florida Entomologist* 86(2): 138-142. DOI: [10.1653/0015-4040\(2003\)086\[0138:AONTEE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2003)086[0138:AONTEE]2.0.CO;2)
- Mejía-Madrid H.H., Choudhury A., de León G.P. 2007. Phylogeny and biogeography of *Rhabdochona* Railliet, 1916 (Nematoda: Rhabdochoniidae) species from the Americas. *Systematic Parasitology* 67(1): 1-18. DOI: [10.1007/s11230-006-9065-3](https://doi.org/10.1007/s11230-006-9065-3)
- Mkandawire T.T., Grencis R.K., Berriman M. et al. 2022. Hatching of parasitic nematode eggs: a crucial step determining infection. *Trends in Parasitology* 38(2): 174-187. DOI: [10.1016/j.pt.2021.08.008](https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.08.008)
- Moravec F., Muzzall P. 2007. Redescription of *Rhabdochona cotti* (Nematoda, Rhabdochoniidae) from *Cottus caeruleomentum* (Teleostei, Cottidae) in Maryland, USA, with remarks on the taxonomy of North American *Rhabdochona* spp. *Acta Parasitologica* 52: 51-57. DOI: [10.2478/s11686-006-0049-x](https://doi.org/10.2478/s11686-006-0049-x)
- Moravec F., Nagasawa K. 2018. *Rhabdochona angusticaudata* sp. n. (Nematoda: Rhabdochoniidae) from the Japanese eel *Anguilla japonica*, and new records of some other nematodes from inland fishes in Japan. *Folia Parasitologica* 65: 016. DOI: [10.14411/fp.2018.016](https://doi.org/10.14411/fp.2018.016)
- Moravec F., Nagasawa K. 2021. Some spirurid nematodes (Spirurida) from freshwater and brackish-water fishes in Okinawa Prefecture, Japan, with descriptions of two new species. *Acta Parasitologica* 66: 163-177. DOI: [10.1007/s11686-020-00268-1](https://doi.org/10.1007/s11686-020-00268-1)
- Moravec F., Scholz T. 1995. Life history of the nematode *Rhabdochona hellichi*, a parasite of the barbel in the Jihlava River, Czech Republic. *Journal of Helminthology* 69(1): 59-64. DOI: [10.1017/S0022149X00013845](https://doi.org/10.1017/S0022149X00013845)
- Moravec F. 1972. General characterization of the nematode genus *Rhabdochona* with a revision of the South American species. *Acta Societatis Zoologicae Bohemoslovacae* 36: 29-46.
- Moravec F. 1994. Parasitic nematodes of freshwater fish of Europe. Praha: Academia.
- Moravec F. 1995. Trichopteran larvae (Insecta) as the intermediate hosts of *Rhabdochona hellichi* (Nematoda: Rhabdochoniidae), a parasite of *Barbus barbus* (Pisces). *Parasitology Research* 81(3): 268-270. DOI: [10.1007/BF00937122](https://doi.org/10.1007/BF00937122)
- Moravec F. 2010. Some aspects of the taxonomy, biology, possible evolution and biogeography of nematodes of the spirurine genus *Rhabdochona* Railliet, 1916 (Rhabdochoniidae, Thelazioidea). *Acta Parasitologica* 55: 144-160. DOI: [10.2478/s11686-010-0017-3](https://doi.org/10.2478/s11686-010-0017-3)
- Nei M., Kumar S. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. New York: Oxford University Press.
- Nemys eds. 2024. Nemys: World Database of Nematodes. Accessed at URL: <https://nemys.ugent.be> on 2024-08-08. DOI: [10.14284/366](https://doi.org/10.14284/366)
- Nurk S., Meleshko D., Korobeynikov A. et al. 2017. metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *Genome research* 27(5): 824-834. DOI: [10.1101/gr.213959.116](https://doi.org/10.1101/gr.213959.116)
- Rusch J.C., Hansen H., Strand D.A. et al. 2018. Catching the fish with the worm: a case study on eDNA detection of the monogenean parasite *Gyrodactylus salaris* and two of its hosts, Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Parasites & Vectors* 11: 1-12. DOI: [10.1186/s13071-018-2916-3](https://doi.org/10.1186/s13071-018-2916-3)
- Sakaguchi S.O., Shimamura S., Shimizu Y. et al. 2017. Comparison of morphological and DNA-based techniques for stomach content analyses in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*: A case study on diet richness of juvenile fishes. *Fisheries Science* 83: 47-56. DOI: [10.1007/s12562-016-1040-6](https://doi.org/10.1007/s12562-016-1040-6)
- Saraiva A.M., Pereira A., Cruz C. 2002. Observations on the occurrence and maturation of *Rhabdochona anguillae* (Nematoda: Rhabdochoniidae) in the Sousa River, Portugal. *Helminthologia* 39: 41-43.
- Scott W.B., Crossman E.J. 1973. Freshwater fishes of Canada. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada* 184: 1-966.
- Siddall M.E., Kvist S., Phillips A. et al. 2012. DNA Barcoding of Parasitic Nematodes: Is it Kosher? *Journal of Parasitology* 98(3): 692-694. DOI: [10.1645/GE-2994.1](https://doi.org/10.1645/GE-2994.1)
- Tamura K., Nei M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10: 512-526.
- Trujillo-González A., Edmunds R.C., Becker J.A. et al. 2019. Parasite detection in the ornamental fish trade using environmental DNA. *Scientific Reports* 9: 5173. DOI: [10.1038/s41598-019-41517-2](https://doi.org/10.1038/s41598-019-41517-2)
- Villsen K., Corse E., Archambaud-Suard G. et al. 2022. Diet metabarcoding reveals extensive dietary overlap between two benthic stream fishes (*Zingel asper* and *Cottus gobio*) and provides insights into their coexistence. *Diversity* 14(5): 412. DOI: [10.3390/d14050412](https://doi.org/10.3390/d14050412)
- Yoon T.-H., Kang H.-E., Lee S.R. et al. 2017. Metabarcoding analysis of the stomach contents of the Antarctic Toothfish (*Dissostichus mawsoni*) collected in the Antarctic Ocean. *PeerJ*

5: e3977. DOI: [10.7717/peerj.3977](https://doi.org/10.7717/peerj.3977)

Акрамова Ф.Д., Азимов Д.А., Шакарбоев Э.Б. и др. 2019. Эколого-фаунистический анализ нематод отряда Spirurida – паразитов животных Узбекистана. Российский паразитологический журнал 13(3): 11-24. DOI: [10.31016/1998-8435-2019-13-3-11-24](https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-3-11-24)

Базикалова А.Я., Калининкова Т.Н., Михин В.С. 1937. Материалы к познанию бычков Байкала. Труды Байкальской лимнологической станции 7(2): 209-213.

Богданов Б.Э. 2017. Обзор широколобок рода *Limnocottus* (Pisces; Cottidae): номенклатура, фенетические отношения и диагностические признаки. Байкальский Зоологический Журнал 2(21): 46-55.

Богданов Б.Э. 2023. Коттоидные рыбы (Perciformes: Cottidae) Байкала и Байкальского региона: обновлённый аннотированный список с описанием новых таксонов. *Limnology and Freshwater Biology* 3: 63-95. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-3-63](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-3-63)

Деникина Н.Н., Кулакова Н.В., Букин Ю.С. и др. 2023. Первое обнаружение ДНК *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas, 1781) у верховки *Leucaspilus delineatus* (Heckel, 1843). *Limnology and Freshwater Biology* 1: 6-10. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-1-1](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-1-1)

Деникина Н.Н., Кулакова Н.В., Букин Ю.С. и др. 2023. Филогенетический анализ кокцидий (Apicomplexa: Eimeriorina) у обыкновенной верховки *Leucaspilus delineatus* (Heckel, 1843). *Limnology and Freshwater Biology* 4: 104-118. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-4-104](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-4-104)

Дзюба Е.В., Букин Ю.С., Ханаев И.В. и др. 2024. Первое обнаружение ДНК кокцидий (Conoidasida: Eimeriidae) у широколобки Годлевского *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874). *Limnology and Freshwater Biology* 5: 1206-1218. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-5-1206](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-5-1206)

Клюге Н.Ю. 2009. Поденки (Ephemeroptera) бассейна озера Байкал В книге: Тимошкин О.А. (Ред.), Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Новосибирск: Наука.

Книжин И.Б., Вайс С.Дж., Сушник С. 2006. Хариусы бассейна озера Байкал (*Thymallus*, Thymallidae): разнообразие форм и их таксономический статус. Вопросы ихтиологии 46(4): 442-459.

Колесов Н.А. 2018. Биология Сибирского хариуса *Thymallus arcticus* бассейна реки Томь. Вестник КемГУ: Серия: Биологические, технические науки и науки о Земле 1: 27-31.

Нажмиддинов Э.Х., Кучбоев А.Э., Мухаммадиев М.А. и др. 2021. Эколого-морфологические характеристики нематод рода *Rhabdochona* - паразитов обыкновенной маринки. Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями 22: 387-393. DOI: [10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.387-393](https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.387-393)

Попов П.А., Попов В.А. 2015. К экологии сибирского ельца. Мир науки, культуры, образования 1(50): 403-406.

Пугачев О.Н. 2004. Каталог паразитов пресноводных рыб Северной Азии. Нематоды, скребни, пиявки, моллюски, ракообразные, клещи. Санкт-Петербург: Труды ЗИН РАН.

Ринчинов З.А., Балданова Д.Р., Хамнуева Т.Р. и др. 2017. Зараженность нематодами желтокрылки и печаной широколобки в оз. Байкал. Вестник Бурятского Государственного Университета. Биология, география 3: 143-147.

Рожкова Н.А., Базова Н.В., Баграница И.О. 2020. Новые данные о фауне и распространении ручейников (Trichoptera) притоков озера Байкал. Евразийский энтомологический журнал 19(6): 347-355. DOI: [10.15298/euroasentj.19.6.09](https://doi.org/10.15298/euroasentj.19.6.09)

Сиделева В.Г., Механикова И.В. 1990. Пищевая специализация и эволюция керчаковых рыб (Cottoidei) озера Байкал. Труды Зоологического института АН СССР 222: 144-161.

Талиев Д.Н. 1955. Бычки-подкаменщики Байкала (Cottoidei). Москва – Ленинград: Наука.

Тесленко В.А., Тиунова Т.М., Михеев П.Б. и др. 2011. Питание нижеамурского хариуса *Thymallus tugarinae* (Thymallidae) в р. Лимури (Нижний Амур). Вестник СВНЦ ДВО РАН 3: 51-58.

Тугарина П.Я., Купчинская Е.С. 1977. Питание и пищевые взаимоотношения рыб Байкало-Ангарского бассейна. Новосибирск: Наука.

Тугарина П.Я. 1981. Хариусы Байкала. Новосибирск: Наука.