

Первое обнаружение ДНК кокцидий (Conoidasida: Eimeriidae) у широколобки Годлевского *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874)

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

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

АННОТАЦИЯ. Впервые в пищеварительном тракте широколобки Годлевского *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874) методом высокопроизводительного секвенирования получены фрагменты гена *cox1* представителя семейства Eimeriidae. Детектированные нуклеотидные последовательности кокцидий составили <0,01% от общего массива данных и принадлежали единственному генотипу, достоверно отличавшемуся от всех ранее известных. Филогенетическая реконструкция на основании транслированных аминокислотных последовательностей достоверно продемонстрировала базальное расположение ветвей представителей сем. Eimeriidae из рыб. Вопрос о родовой принадлежности детектированного организма остается открытым из-за недостаточного количества нуклеотидных данных представителей родов *Eimeria*, *Calyptospora* и *Goussia* из рыб.

Ключевые слова: Eimeriidae, *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874), ген *cox1*, озеро Байкал

Для цитирования: Дзюба Е.В., Букин Ю.С., Ханаев И.В., Богданов Б.Э., Яхненко А.С., Сапожникова Ю.П., Деникина Н.Н. Первое обнаружение ДНК кокцидий (Conoidasida: Eimeriidae) у широколобки Годлевского *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874) // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 5. - С. 1206-1218. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-5-1206

1. Введение

Анализ фауны паразитов рыб является необходимой частью исследований, посвященных вопросам их экологии. Преимущество молекулярно-генетического подхода с использованием современных технологий высокопроизводительного секвенирования заключается в возможности анализа и идентификации относительно коротких фрагментов чужеродной ДНК из содержимого пищеварительного тракта, органов и тканей рыб. Эти методы эффективны за счет высокого разрешения и возможности идентификации широкого спектра видов (Harms-Tuohy et al., 2016; Jakubavičiūtė et al., 2017; Yoon et al., 2017). Несмотря на ряд недостатков, таких как неточная идентификация видов из-за отсутствия их генетических данных в общедоступных базах (Siddall et al., 2012; Kvist, 2013) и детекция ДНК организмов из пищеварительных трактов кормовых объектов (Sakaguchi et al., 2017), метабаркодирование может дополнять традиционные методы исследования фауны паразитов рыб (Ogedengbe et al., 2011; Villsen et al., 2022; Деникина и др., 2023a; b).

Все представители типа простейших Sporozoa или Apicomplexa из группы Alveolata являются одноклеточными облигатными паразитами многоклеточных животных, а также считаются одними из самых успешных паразитов в мире (Morrison, 2009). Предполагается, что более 6000 описанных видов составляют всего 0,1% от общего их разнообразия (Morrison, 2009). Представители родов *Cryptosporidium*, *Plasmodium*, *Toxoplasma* и *Babesia* являются возбудителями заболеваний человека и животных. Кокцидии (Conoidasida: Eimeriidae) наносят значительный урон сельскохозяйственному производству. Несмотря на широкое распространение и хозяйственное значение, исследования эволюционных отношений внутри этой группы только начинаются (Arisue and Hashimoto, 2015; Xavier et al., 2018). Таксономия кокцидий к настоящему времени находится в стадии разработки, многие роды являются парафилетическими, что ставит под сомнение ценность строгих морфологических и экологических признаков для их классификации (Ogedengbe et al., 2018; Xavier et al., 2018). При этом представители семейства Eimeriidae у водных животных изу-

*Автор для переписки.

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

Поступила: 19 июня 2024; Принята: 04 сентября 2024;
Опубликована online: 31 октября 2024

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



чены значительно хуже, чем у наземных. Однако, даже имеющиеся скудные данные о последовательностях малой субъединицы рибосомальной РНК (МСЕ рРНК) позволяют предположить, что именно они являются базовыми группами внутри семейств (Jirků et al., 2009; Xavier et al., 2018; Деникина и др., 2023b). В настоящее время в базе NCBI зарегистрированы последовательности гена *cox1* мтДНК Eimeriidae из следующих видов рыб: красногубая морская собачка *Ophioblennius macclurei* (Silvester, 1915), белый американский лаврак *Morone americana* (Gmelin, 1789) и обыкновенная верховка *Leucaspilus delineatus* (Heckel, 1843).

Широколобка Годлевского *Abyssocottus (Limnocottus) godlewskii* (Dybowski, 1874) – эндемичный вид озерных широколобок, обитающий на глубинах от 100 до 900 м (Богданов, 2023). Сложности в исследованиях экологии и фауны паразитов глубоководных видов 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 кокцидий. Целью работы являлось определение филогенетического положения представителя сем. Eimeriidae 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'tcgtcggcagcgctcagatgtgtataagagacagGGWAC WGGWTGAACWGTWTAYCCYCC и dgHCO2198 5'gtc tcgtgggctcggagatgtgtataagagacagTAIACYTCIGGRTGIC CRAARAAYCA (Leray et al., 2013). Все ампликоны из пищеварительного тракта объединяли и использовали для подготовки пробы к секвенированию.

Библиотеку из очищенного пула ампликонов сконструировали с использованием набора Nextera XT (Illumina, Хейворд, Калифорния, США), нуклеотидные последовательности определяли с помощью Illumina NextSeq. Регистрационный номер полученных данных в международной базе NCBI: PRJNA1086215.

Все 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.

В качестве референсной базы данных для таксономического анализа использовали 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 пищевого тракта хозяина. Первичную обработку полученных нуклеотидных последовательностей представителей семейства Eimeriidae и соответствующих данных, представленных в базе NCBI (Таблица 1), проводили в редакторе BioEdit, выравнивали с помощью программы ClustalW. Последовательность зарегистрирована в NCBI № PP552829. Филогенетический анализ, включая выбор моделей для оценки эволюционной дивергенции и реконструкции эволюционной истории, проводили с использованием программы MEGA7 (Kumar et al., 2016). Эволюционную дивергенцию между группами последовательностей оценивали методом максимального правдоподобия по модели Тамуры-Нея (TN DNA evolutionary model) (Tamura and Nei, 1993). 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).

3. Результаты и обсуждение

В результате анализа данных метагеномного секвенирования ДНК содержимого пищеварительных трактов широколобки Годлевского были детектированы последовательности представителей сем. Eimeriidae с относительной представленностью <0,01%. Полученные последовательности принадлежали единственному гаплотипу, достоверно отличающемуся от всех известных последовательностей гена *cox1* кокцидий, включая *G. bayaе* и Eimeriidae из обыкновенной верховки, и продемонстрировавшему наибольшую степень гомологии (86,71%) с нуклеотидными последовательностями *Cyclospora cayetanensis* Ortega, Gilman & Sterling, 1994.

Кокцидии рыб сравнительно малоизучены и нуклеотидные данные для них крайне скудны. Кроме последовательностей гена *cox1* мтДНК из обыкновенной верховки, полученных нами ранее в аналогичном эксперименте (Деникина и др., 2023b), в базе NCBI представлены только две последовательности представителей сем. Eimeriidae из рыб: *G. bayae* из желчного пузыря *M. americana* (Matsche et al., 2019) и последовательность из крови *O. macclurei*. Однако последняя, заявленная как *Coccidia* sp. (NCBI: OR822199.1), в действительности принадлежит представителю клады новой широко распространенной группы паразитов рыб типа Apicomplexa, сестринской отряду Corallicolida и названная авторами «ichthyocolids» (Bonacolta et al., 2024). Исходя из вышесказанного, эти данные в филогенетическом анализе не рассматривали. При построении филогенетического дерева использованы данные представителей сем. Eimeriidae позвоночных животных, в качестве аут-группы представлена последовательность гена *cox1* мтДНК *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) (Таблица 1, Рис. 1).

Следует отметить, что для всех имеющихся в настоящее время последовательностей сем. Eimeriidae из рыб, ближайшими гомологами являются последовательности паразитов из теплокровных животных и птиц: *G. bayae* гомологична *Choleoeimeria taggarti* (Amery-Gale et al., 2018) Kruth, Michel, Amery-Gale & Barta, 2020 (79,33%, NCBI: MK813349) из желтоногой сумчатой мыши *Antechinus flavipes flavipes* Waterhouse, 1838. Представители сем. Eimeriidae из обыкновенной верховки наиболее близки к *Eimeria praecox* (Johnson, 1938) (82,95%, NCBI: KX094945) из банкивской джунглевой курицы *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758); *Isoospora serini* (Aragao, 1933) (84,62%, NCBI: ON584773) и *Isoospora serinuse* (Yang, Brice, Elliot & Ryan 2015) (82,37%; NCBI: KX276860) из канарского канареечного вьюрка *Serinus canaria* (Linnaeus, 1758). Анализ эволюционной дивергенции между группами нуклеотидных последовательностей выявил близость представителей Eimeriidae из широколобкой Годлевского к паразитам сумчатых животных (Таблица 2).

Таблица 1. Номера нуклеотидных последовательностей гена *cox1* из базы данных NCBI, использованные в анализе.

Хозяин	№№ NCBI; вид
Mammalia: Placentalia	MN260359; MN260361; MN260362; MN260363; MN260364; MN316534; MN316535; <i>Cyclospora cayetanensis</i> Ortega, Gilman & Sterling, 1994 KP025693; <i>Eimeria flavescens</i> Marotel & Guilhon, 1941 KT203398; <i>Eimeria mephitidis</i> Andrews 1928 JQ993698; <i>Eimeria piriformis</i> Kotlan & Pospesch, 1934 HM771687; KX495130; OL770312; <i>Eimeria zuernii</i> (Rivolta, 1878) Martin, 1909 MN077082; <i>Toxoplasma gondii</i> (Nicolle & Manceaux, 1908)
Mammalia: Marsupialia	MK202809; <i>Eimeria gaimardi</i> Barker, O'Callaghan, and Beveridge, 1988 MK202808; <i>Eimeria mundayi</i> Barker, O'Callaghan, and Beveridge, 1988 MK202807; <i>Eimeria potoroii</i> Barker, O'Callaghan, and Beveridge, 1988 JN192136; <i>Eimeria trichosuri</i> O'Callaghan & O'Donoghue, 2001 MK202806; <i>Eimeria woyliei</i> Northover et al., 2019
Reptilia	KF859856; <i>Caryospora bigenetica</i> Wacha and Christensen, 1982 KR108297; MW720599; <i>Isoospora amphiboluri</i> Cannon, 1967 MW720599; <i>Isoospora lunulatae</i> Yang, Brice, Berto & Zahedid, 2021
Aves	EF158855; <i>Eimeria acervulina</i> Tyzzer, 1929 MH758793; <i>Eimeria anseris</i> (Kotlan, 1932) HM771675; <i>Eimeria brunetti</i> Levine, 1942 JQ659301; KX094945; <i>Eimeria praecox</i> Johnson, 1930 MF497440; <i>Eimeria tenella</i> (Railliet & Lucet, 1891) Fantham, 1909 KC346355; <i>Isoospora gryphoni</i> Olson, Gissing, Barta & Middleton, 1998 KT224377; <i>Isoospora manorinae</i> Yang, Brice, Jian & Ryan 2016 NC_065382; <i>Isoospora picoflavae</i> Rejman, Hak-Kovacs & Barta, 2021 ON584773; <i>Isoospora serini</i> (Aragao, 1933) KX276860; <i>Isoospora serinuse</i> Yang, Brice, Elliot & Ryan 2015
Amphibia	KT184381; <i>Lankesterella minima</i> (Chaussat, 1850) Nöller, 1912
Actinopteri	PP590353; PP590354; PP590355; PP590356; Eimeriidae MH792860; <i>Goussia bayae</i> Matsche, Adams & Blazer, 2019

Проведенный анализ филогенетических отношений на основании нуклеотидных последовательностей *cox1* мтДНК оказался малоинформативным: древо оказалось неразрешенным с низкими под-держками. Однако представители сем. Eimeriidae из рыб сформировали базальные ветви. В полученной филогенетической реконструкции на основании транслированных аминокислотных последовательностей (Рис. 1) представители сем. Eimeriidae из рыб достоверно располагаются в основании древа. Таким образом, ранее сформулированная гипотеза о том, что именно кокцидии рыб дали начало всем известным линиям кокцидий у других позвоночных животных (Rosenthal et al., 2016; Xavier et al., 2018; Matsche et al., 2019; Деникина и др., 2023b), нашла свое косвенное подтверждение.

Ранее было высказано предположение, что фрагмент гена *cox1* имеет достаточный филогенетический потенциал, чтобы помочь в разрешении очевидных парафилий внутри кокцидий (Ogedengbe et al., 2011). Полученные результаты не позволяют однозначно подтвердить эту гипотезу, поскольку пока данных о последовательностях *cox1* мтДНК представителей родов *Eimeria*, *Calyptospora* и *Goussia* из рыб явно недостаточно. По той же причине преждевременно утверждать, к какому роду относятся детектированный нами представитель сем. Eimeriidae.

Метагеномные исследования (метабаркодирование) эукариот морских и наземных экосистем продемонстрировали высокое разнообразие и доминирование представителей Apicomplexa (Mahé et al., 2017; Lentendu et al., 2018), которые являются паразитами беспозвоночных и позвоночных животных, и имеют сложные жизненные циклы, значительно различающиеся между группами (Votýpka et al., 2016; Rueckert et al., 2019). Семейство Eimeriidae – наиболее разнообразный таксон простейших, основной особенностью представителей которого является образование экологически устойчивых ооцист, которые выделяются с фекалиями хозяина. Общая морфология ооцист, а также количество спороцист и спорозоитов широко используются для определения отдельных родов. Однако, результаты последних филогенетических исследований плохо коррелируют с текущей таксономией. Они также показали, что несколько диагностических признаков, считавшихся до сих пор уникальными, на самом деле присутствуют у представителей

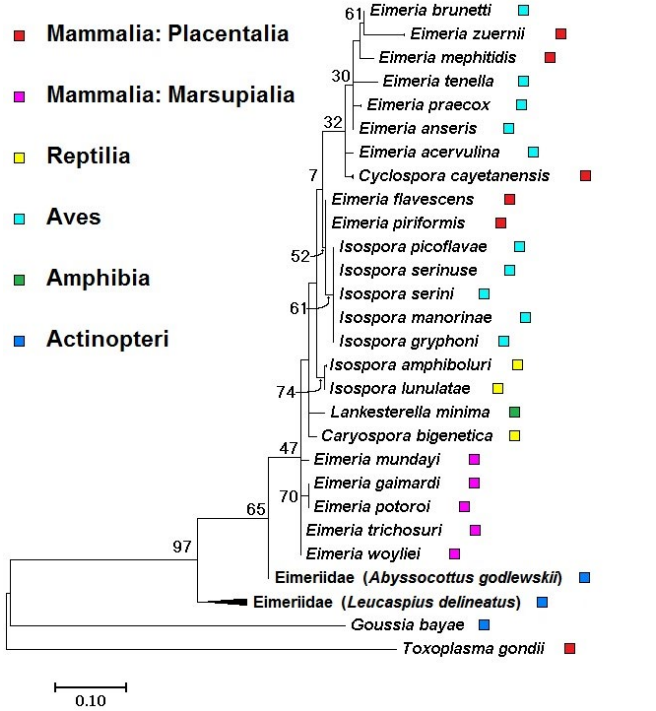


Рис.1. Филогенетическое древо представителей семейства Eimeriidae, построенное методом максимального правдоподобия на основании транслированных аминокислотных последовательностей фрагментов гена *cox1* мтДНК. В качестве аут-группы – *T. gondii*

нескольких генетически далеких родов (Votýpka et al., 2016). В настоящее время известно, что у различных видов морских и пресноводных рыб наиболее распространены представители родов *Eimeria*, *Goussia* и *Calyptospora* (Xavier et al., 2018).

Ранее у рыб из оз. Байкал было отмечено пять видов кокцидий (Шульман и Заика, 1964; Заика, 1965; Пронина, 1990), из которых только один у представителей семейства Cottidae:

1. *Goussia carpelli* (Leger et Stankovitch, 1921) (Syn.: *Eimeria carpelli* (Leger et Stankovitch, 1921); *E. cyprini* (Plehn, 1924); *Goussia carpelli* sensu (Dykova et Lom, 1983). Паразит локализован в стенках кишечника и желчного пузыря большоголобкой широколобкой *Batrachocottus baicalensis* (Dybowski, 1874), песчаной широколобкой *Leocottus kesslerii* (Dybowski, 1874), ширококрылой широколобкой *Abyssocottus* (*Cyphocottus*) *eurystomus* (Taliev, 1955) и сибирского речного гольяна *Phoxinus rivularis* (Pallas, 1773).

Таблица 2. Оценка эволюционной дивергенции между группами последовательностей. Стандартные погрешности показаны над диагональю

	1	2	3	4	5	6	7
1. Eimeriidae (<i>Abyssocottus godlewskii</i>)		0,029	0,062	0,019	0,020	0,022	0,076
2. Eimeriidae (<i>Leucaspis delineatus</i>)	0,119		0,047	0,026	0,024	0,021	0,069
3. <i>Goussia bayae</i>	0,385	0,271		0,053	0,049	0,050	0,065
4. Mammalia: Marsupialia	0,061	0,105	0,315		0,010	0,012	0,077
5. Reptilia + Amphibia	0,070	0,102	0,293	0,020		0,004	0,068
6. Mammalia: Placentalia + Aves	0,087	0,089	0,303	0,034	0,010		0,069
7. <i>Toxoplasma gondii</i>	0,486	0,450	0,423	0,487	0,433	0,443	

2. *Goussia leucisci* (Schulman et Zaika, 1964) Lom, Desser, Dykova, 1989 (Syn.: *Eimeria leucisci* (Schulman et Zaika, 1964); *E. freemani* (Molnar et Fernando, 1974); *Goussia freemani* (Molnar et Fernando, 1974)). Паразит локализован в почках и в стенках желчного пузыря сибирского ельца *Leuciscus baicalensis* (Dybowski, 1874).

3. *Eimeria esoci* Schulman et Zaika, 1964. Паразит локализован в стенках кишечника и желчного пузыря обыкновенной щуки *Esox lucius* Linnaeus, 1758.

4. *Eimeria percae* (Riviere, 1914) (Syn.: *Coccidium percae* Riviere, 1914; *Eimeria percae* Reichenow, 1921; *E. rivieri* Yakimoff, 1929). Паразит локализован в стенках кишечника и почках обыкновенного окуня *Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758).

5. *Eimeria* sp. Паразит локализован в стенках кишечника байкальского омуля *Coregonus migratorius* (Georgi, 1775).

У представителей семейства Cottidae: прибрежных видов большоголовой широколобки и песчаной широколобки, а также у глубоководного вида – ширококрылой широколобки ранее был отмечен один вид – *G. carpelli*.

Для паразитических простейших Apicomplexa, использующих орально-фекальный путь передачи и распространения, большое значение имеет устойчивость ооцист к действию факторов окружающей среды (Clopton et al., 2016). Эти особенности позволяют детектировать их в различных образцах окружающей среды, включая палеонтологические (Rueckert et al., 2011; Côté and Le Bailly, 2018; Le Bailly et al., 2019; Singer et al., 2020; Beltrame et al., 2022). Ооцисты, в том числе и представителей родов *Eimeria* и *Goussia*, могут присутствовать во внешней среде, в том числе и в донных осадках (Siński and Behnke, 2004). У кокцидий водных животных молодые ооцисты обычно выделяются с фекалиями неспорулированными и неинфекционными, так как их развитие прекращается лишь во внешней среде, где происходит образование спороцист со спорозитами (Votýrka et al., 2016). В жизненном цикле кокцидий рыб зарегистрировано два типа передачи: прямой с фекальным загрязнением и непрямой, который включает в себя беспозвоночных животных (Steinhagen and Korting, 1988; Davis and Ball, 1993). Соответственно, можно предположить, что ДНК представителя сем. Eimeriidae с равной долей вероятности могла поступить в пищеварительный тракт широколобки Годлевского двумя путями: прямым из внешней среды и/или непрямым из ее кормовых объектов.

Последовательности представителей Eimeriidae составляли <0,01% от всех данных метагеномного секвенирования ДНК содержимого пищеварительных трактов рыб. Однако, в настоящее время мы не можем утверждать, является ли детектированный нами паразит специфичным для широколобки Годлевского. *G. carpelli*, зарегистрированная у представителей семейства Cottidae, считается специфичным паразитом карпа *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (Molnár et al., 2005), а у других видов рыб из списка ее хозяев имеются свои отдельные

виды кокцидий (Соколов и Мошу, 2014). В связи с этим, необходимо комплексное морфологическое и молекулярно-генетическое изучение этих паразитов, особенно широко распространенной *G. carpelli* из различных систематических групп рыб.

4. Заключение

Впервые в результате анализа данных метагеномного секвенирования ДНК содержимого пищеварительных трактов широколобки Годлевского были детектированы последовательности представителей сем. Eimeriidae с относительной представленностью <0,01%. Полученные последовательности принадлежали единственному гаплотипу, достоверно отличающемуся от всех ранее известных. В отличие от анализа нуклеотидных последовательностей *cox1* мтДНК, филогенетическая реконструкция на основании транслированных аминокислотных последовательностей достоверно продемонстрировала базальное расположение ветвей представителей сем. Eimeriidae из рыб. Вопрос о родовой принадлежности детектированного организма остается открытым из-за недостаточного количества нуклеотидных данных представителей родов *Eimeria*, *Calyptospora* и *Goussia* из рыб. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения целенаправленных комплексных (включая молекулярно-генетические) исследований фауны паразитических простейших рыб.

Источники финансирования и благодарности

Авторы выражают благодарность команде НИС “Г.Ю. Верещагин” за помощь в сборе материала, а также Кирильчику С.В. за помощь в подготовке рукописи. 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)
- Arisue N., Hashimoto T. 2015. Phylogeny and evolution of apicomplexans and apicomplexan parasites. *Parasitology International* 64: 254-259. DOI: [10.1016/j.parint.2014.10.005](https://doi.org/10.1016/j.parint.2014.10.005)
- Beltrame M.O., Tietze E., Cañal V. et al. 2022. Paleogenetic and microscopic studies of *Eimeria* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) as a tool to reveal the zoological origin of coprolites: The case of study of artiodactyl coprolites from an archeological site from Patagonia, Argentina. *The Holocene* 32(11): 1144-1150. DOI: [10.1177/09596836221114287](https://doi.org/10.1177/09596836221114287)
- 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)

- Bonacolta A.M., Krause J., Smit N. et al. 2024. A new and widespread group of fish apicomplexan parasites. *Current Biology*: 1-28. DOI: [10.2139/ssrn.4698405](https://doi.org/10.2139/ssrn.4698405)
- Clopton R.E., Steele S.M., Clopton D.T. 2016. Environmental persistence and infectivity of oocysts of two species of gregarines, *Blabercola migrator* and *Blabercola cubensis* (Apicomplexa: Eugregarinida: Blabericolidae), parasitizing Blaberid Cockroaches (Dictyoptera: Blaberidae). *Journal of Parasitology* 102(2): 169-173. DOI: [10.1645/15-934](https://doi.org/10.1645/15-934)
- Côté N.M.-L., Le Bailly M. 2018. Palaeoparasitology and palaeogenetics: review and perspectives for the study of ancient human parasites. *Parasitology* 145(5): 656-664. DOI: [10.1017/S003118201700141X](https://doi.org/10.1017/S003118201700141X)
- Davis A.J., Ball S.J. 1993. The biology of fish Coccidia. *Advances in Parasitology* 32: 293-366.
- 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)
- 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)
- Jirků M., Jirků M., Oborník M. et al. 2009. *Goussia Labbé*, 1896 (Apicomplexa, Eimeriorina) in Amphibia: diversity, biology, molecular phylogeny and comments on the status of the genus. *Protist* 160: 123-136. DOI: [10.1016/j.protis.2008.08.003](https://doi.org/10.1016/j.protis.2008.08.003)
- 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)
- Le Bailly M., Goepfert N., Prieto G. et al. 2019. Camelid gastrointestinal parasites from the archaeological site of Huanchaquito (Peru): first results. *Environmental Archaeology* 25(3): 325-332. DOI: [10.1080/14614103.2018.1558804](https://doi.org/10.1080/14614103.2018.1558804)
- 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)
- Lentendu G., Mahé F., Bass D. et al. 2018. Consistent patterns of high alpha and low beta diversity in tropical parasitic and free-living protists. *Molecular Ecology* 27: 2846-2857. DOI: [10.1111/mec.14731](https://doi.org/10.1111/mec.14731)
- 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)
- Mahé F., de Vargas C., Bass D. et al. 2017. Parasites dominate hyperdiverse soil protist communities in Neotropical rainforests. *Nature Ecology & Evolution* 1(0091): 1-8. DOI: [10.1038/s41559-017-0091](https://doi.org/10.1038/s41559-017-0091)
- Matsche M.A., Adams C.R., Blazer V.S. 2019. Newly described coccidia *Goussia bayae* from White Perch *Morone americana*: morphology and phylogenetics support emerging taxonomy of *Goussia* within piscine hosts. *Journal of Parasitology* 105(1): 1-10. DOI: [10.1645/18-67](https://doi.org/10.1645/18-67)
- Molnár K., Ostoros G., Baska F. 2005. Cross-infection experiments confirm the host specificity of *Goussia* spp. (Eimeriidae: Apicomplexa) parasitizing cyprinid fish. *Acta Protozoologica* 44: 43-49.
- Morrison D.A. 2009. Evolution of the Apicomplexa: where are we now? *Trends in Parasitology* 25: 375-382. DOI: [10.1016/j.pt.2009.05.010](https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.05.010)
- Nei M., Kumar S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. New York: Oxford University Press.
- 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)
- Ogedengbe J.D., Hanner R.H., Barta J.R. 2011. DNA barcoding identifies *Eimeria* species and contributes to the phylogenetics of coccidian parasites (Eimeriorina, Apicomplexa, Alveolata). *International Journal for Parasitology* 41(8): 843-850. DOI: [10.1016/j.ijpara.2011.03.007](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.03.007)
- Ogedengbe M.E., El-Sherry S., Ogedengbe J.D. et al. 2018. Phylogenies based on combined mitochondrial and nuclear sequences conflict with morphologically defined genera in the eimeriid coccidian (Apicomplexa). *International Journal for Parasitology* 48: 59-69. DOI: [10.1016/j.ijpara.2017.07.008](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.07.008)
- Rosenthal B.M., Dunams-Morela D., Ostoros G. et al. 2016. Coccidian parasites of fish encompass profound phylogenetic diversity and gave rise to each of the major parasitic groups in terrestrial vertebrates. *Infection, Genetics and Evolution* 40: 219-227. DOI: [10.1016/j.meegid.2016.02.018](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.02.018)
- Rueckert S., Betts E.L., Tsaousis A.D. 2019. The Symbiotic spectrum: where do the Gregarines fit? *Trends in Parasitology* 35(9): 687-694. DOI: [10.1016/j.pt.2019.06.013](https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.06.013)
- Rueckert S., Simdyanov T.G., Aleoshin V.V. et al. 2011. Identification of a divergent environmental DNA sequence clade using the phylogeny of gregarine parasites (Apicomplexa) from crustacean hosts. *PLoS ONE* 6(3): e18163. DOI: [10.1371/journal.pone.0018163](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018163)
- 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)
- 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)
- Singer D., Duckert C., Heděnc P. et al. 2020. High-throughput sequencing of litter and moss eDNA reveals a positive correlation between the diversity of Apicomplexa and their invertebrate hosts across alpine habitats. *Soil Biology and Biochemistry* 147: 107837. DOI: [10.1016/j.soilbio.2020.107837](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107837)
- Siński E., Behnke J.M. 2004. Apicomplexan parasites: environmental contamination and transmission. *Polish Journal of Microbiology* 53: 67-73.
- Steinhagen D., Korting W. 1988. Experimental transmission of *Goussia carpelli* (Leger; Stankovitch, 1921, Protista: Apicomplexa) to common carp, *Cyprinus carpio* L. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 8: 112-112.
- 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. DOI: [10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023)
- 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)
- Votýpka J., Modrý D., Oborník M. et al. 2016. Apicomplexa. *Handbook of the Protists*, 1-58. DOI: [10.1007/978-3-319-32669-6_20-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-32669-6_20-1)
- Xavier R., Severino R., Pérez-Losada M. et al. 2018. Phylogenetic analysis of apicomplexan parasites infecting commercially valuable species from the North-East Atlantic reveals high levels of diversity and insights into the evolution of the group. *Parasites & Vectors* 11(63): 1-12. DOI: [10.1186/s13071-018-2645-7](https://doi.org/10.1186/s13071-018-2645-7)

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)

Богданов Б.Э. 2017. Обзор широколобок рода *Limnocottus* (Pisces; Cottidae): номенклатура, феноетические 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* 6(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* 6(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* 6(4): 104-118. DOI: [10.31951/2658-3518-2023-A-4-104](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2023-A-4-104)

Заика В.Е. 1965. Паразитофауна рыб озера Байкал. Москва: Наука.

Пронина С.В. 1990. Первые сведения о кокцидии *Eimeria* sp. у байкальского омуля *Coregonus autumnalis migratorius*. В: IX Всесоюзн. совещ. по паразитам и болезням рыб. Ленинград, С. 104-105.

Соколов С.Г., Мошу А.А. 2014. *Goussia obstinata* sp. n. (Sporozoa: Eimeriidae) – новый вид кокцидий из кишечника ротана *Perccottus glenii* Dybowski, 1877 (Perciformes: Odontobutidae). *Паразитология* 48(5): 382-392.

Шульман С.С., Заика В.Е. 1964. Кокцидии рыб озера Байкал. *Известия Сибирского отделения АН СССР: Серия биологических и медицинских наук* 8: 126-130.