

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Гончар Анна Георгиевна

Жизненные циклы трематод сем. *Notocotylidae*
в экосистемах побережья северных морей

Научная специальность: 1.5.12. Зоология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
Галактионов Кирилл Владимирович

Санкт-Петербург – 2023

Содержание

1. 1. Введение.....	3
1.1. Актуальность.....	3
1.2. Цель и задачи.....	4
1.3. Теоретическая и практическая значимость.....	4
1.4. Научная новизна.....	5
1.5. Материал и методы.....	5
1.6. Апробация работы.....	7
1.7. Публикации.....	7
1.8. Личный вклад автора.....	8
1.9. Объём и структура диссертации.....	8
2. Обзор литературы.....	9
2.1. Жизненный цикл Notocotyliidae.....	9
2.2. Разнообразие Notocotyliidae.....	14
2.3. Notocotyliidae в прибрежных морских экосистемах.....	18
3. Результаты исследования и их обсуждение.....	20
3.1. <i>Paramonostomum</i> Lühe, 1909.....	20
3.2. <i>Notocotylus atlanticus</i> Stunkard, 1966.....	26
3.3. <i>Tristriata anatis</i> Belopolskaia, 1953.....	33
3.4. <i>Catatropis onobae</i> sp. nov.....	39
3.5. Филогения сем. Notocotyliidae.....	43
4. Заключение.....	50
5. Выводы.....	52
6. Благодарности.....	53
7. Список литературы.....	54
8. Приложение 1.....	67
9. Приложение 2.....	68

1. 1. Введение

1.1. Актуальность

Паразитический образ жизни чрезвычайно распространён в природе, и даже есть основания полагать, что бóльшая часть современных видов – паразиты (Windsor, 1998), но истинное разнообразие этих организмов изучено лишь фрагментарно (Brooks, Hoberg, 2001; Poulin, Morand, 2005). Наибольшее внимание традиционно получают паразиты, имеющие значение в медицине и ветеринарии. Изучение такого узкого круга объектов, однако, недостаточно для раскрытия общих закономерностей формирования и существования паразито-хозяйинных систем. Преодолеть это ограничение возможно, расширяя представления о разнообразии паразитов и их биологии. Особое значение имеют исследования паразитов в морских арктических и бореальных экосистемах, понимание функционирования которых сегодня, в условиях происходящих климатических изменений и растущего антропогенного пресса, – одна из приоритетных задач как фундаментальной, так и прикладной науки.

Сказанное выше в полной мере относится к представителям класса Trematoda – одного из таксонов паразитических плоских червей. Первая систематизация данных о трематодах на европейском севере относится к началу 20 века (Odhner, 1905). Эти данные были впоследствии многократно дополнены (например, Sannia, James, 1977; Bray, 1979; Kjøie, 1984; Kuklin et al., 2004; Galaktionov et al., 2019). В частности, исследования трематод на Белом и Баренцевом морях имеют длительную историю, и ещё в середине 20 века нашли своё отражение в ряде обобщающих публикаций (Белопольская, 1952; Шульман, Шульман-Альбова, 1953; Полянский, 1955; Чубрик, 1966).

С 1950-х гг. в этом регионе изучались и трематоды сем. Notocotylidae (Белопольская, 1952; Кулачкова, 1954, 1961; Подлипаев, 1979) – массовые и патогенные паразиты утиных. Тем не менее, многое в отношении этого семейства остаётся неизвестным, и выполнение спектра поведенческих, экологических, биогеографических, филогенетических исследований представляется перспективным. Все эти идеи, однако, теряют смысл в отсутствие достоверной информации о видовом составе нотокотилид этого региона. Есть основания полагать, что фауна нотокотилид северных морей недооценена, а представления о статусе известных для региона видов и путях их циркуляции нуждаются в ревизии с использованием современных методических подходов.

1.2. Цель и задачи

Цель данной работы – охарактеризовать видовое и внутривидовое разнообразие трематод сем. Notocotylidae, циркулирующих в прибрежных экосистемах северных морей, определить пути их трансмиссии и дополнить представления о филогении семейства.

Основные задачи:

1. На основе морфологических критериев охарактеризовать разнообразие нотокотилид в промежуточных (литоральные моллюски) и окончательных (утиные) хозяевах, ассоциированных с экосистемами побережья морей севера Палеарктики.

2. С помощью молекулярных методов дифференцировать таксоны видового ранга среди обнаруженных морфотипов и определить ход их жизненных циклов.

3. Описать и сравнить особенности поведения церкарий близких и часто встречающихся видов нотокотилид, которые могут способствовать успеху трофической трансмиссии.

4. Оценить внутривидовую генетическую изменчивость для видов, имеющих широкое распространение, и выполнить филогеографические реконструкции.

5. Уточнить на основе анализа молекулярно-генетических данных филогению сем. Notocotylidae и предложить критерии для ревизии системы этого семейства.

1.3. Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость диссертационного исследования определяется общебиологическими вопросами, которые оно затрагивает. Работа вносит вклад в понимание факторов, влияющих на процессы видообразования у паразитических организмов со сложным жизненным циклом. Полученные результаты служат развитию подходов к определению границ внутри комплексов трудноразличимых видов. Знания о фауне нотокотилид также существенны для документации и обобщения разнообразия трематод.

Практическая значимость связана с тем, что изучаемые трематоды используют в качестве окончательных хозяев утиных птиц (Anatidae), многие из которых имеют хозяйственное значение. Кроме того, результаты работы могут быть использованы исследователями из разных областей (паразитологами, зоологами, морскими биологами) для полноценной и достоверной видовой идентификации представителей сем. Notocotylidae, встречающихся на севере Палеарктики. Это касается стадий жизненного цикла и из птиц, и из брюхоногих моллюсков.

1.4. Научная новизна

Научная новизна работы заключается, прежде всего, в том, что в ней впервые достоверно оценено биоразнообразие и пути трансмиссии трематод сем. Notocotylidae в экосистемах побережья северных морей. Описан новый вид трематод сем. Notocotylidae – *Catatropis onobae* Gonchar & Galaktionov, 2021, а также его жизненный цикл и отличия от предполагаемых видов-двойников. Для вида *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953 впервые идентифицирован первый промежуточный хозяин и таким образом расшифрован жизненный цикл. Впервые в Европе зарегистрирован вид *Notocotylus atlanticus* Stunkard, 1966. Впервые для церкарий нотокотилид экспериментально и статистически достоверно показаны различия в поведении, касающихся «выбора» субстрата инцистирования. Проведена первая относительно полная филогенетическая реконструкция трематод сем. Notocotylidae. На примере *T. anatis* впервые выполнена филогеографическая реконструкция для амфибореального вида трематод с долгоживущей мариной.

1.5. Материал и методы

Все методы, использованные в работе, детально изложены в опубликованных статьях (Gonchar, Galaktionov, 2016, 2017, 2020, 2021, 2022; Gonchar et al., 2019).

1.5.1. Материал

Материалом для настоящей работы послужили трематоды сем. Notocotylidae из моллюсков и птиц, ассоциированных с побережьем морей Палеарктики. Собственные сборы выполнены в 2011–2019 гг. на побережье Белого и Баренцева морей. Материал из Охотского моря и отдельные образцы из Франции, Норвегии и Исландии получены от коллег; также изучен материал из коллекции трематод птиц Белого моря В.Г. Кулачковой (1957–1970 гг.). Географическое положение точек сбора материала приведено в Приложении 1. На заражённость нотокотилидами мною были проверены около 20 тысяч моллюсков видов *Ecrobia ventrosa* (Montagu, 1803), *Peringia ulvae* (Pennant, 1777), *Littorina saxatilis* (Olivi, 1792), *L. obtusata* (L., 1758), *L. sitkana* Philippi, 1846 и *Onoba aculeus* Gould, 1841. Мариты нотокотилид были получены в результате неполного паразитологического вскрытия птиц сем. Anatidae – обыкновенной гаги (*Somateria mollissima* L., 1758), гаги-гребенушки (*S. spectabilis* L., 1758), кряквы (*Anas platyrhynchos* L., 1758), камешушки (*Histrionicus histrionicus* L., 1758), шилохвосты (*A. acuta* L., 1758) и свиязи (*A. penelope* L., 1758). Всего коллекция, собранная и проанализированная за время исследования, содержит 217 фиксаций.

1.5.2. Морфологические описания

За живыми редиями, церкариями, метацеркариями и маритами мною проводились наблюдения под биноклем и на временных препаратах под микроскопом. Для описания марит были изготовлены тотальные препараты с разными вариантами окраски, в основном – борным кармином. Для визуализации шипов тегумента и вентральных органов марит использовалась сканирующая электронная микроскопия. Для прояснения некоторых деталей строения использовалась конфокальная лазерная сканирующая микроскопия с предварительной обработкой объектов флуоресцентно меченым фаллоидином. Все приведенные в работе размерные параметры паразитов даны в микрометрах.

1.5.3. Эксперимент по определению специфичности церкарий по отношению к субстрату инцистирования

Зараженный моллюск *E. ventrosa* помещался в чашку Петри диаметром 40 мм с морской водой и субстратом и оставляла на сутки при 20°C и постоянном равномерном освещении; затем подсчитывала все появившиеся за это время цисты. Для всех чашек, где общее число цист было 5 и больше, была вычислена доля цист на определенном субстрате от общего числа цист на всех экспериментальных субстратах. После арксинус-трансформации проводились сравнения с помощью t-теста или критерия χ^2 .

1.5.4. Молекулярно-генетические исследования

Из фиксированного в 96% этаноле материала была выделена ДНК, затем амплифицированы и секвенированы фрагменты ITS1, 28S рДНК, генов *cox1* и *nadh1* (праймеры перечислены в Приложении 2). Для дальнейшего анализа (просмотр и редактирование последовательностей, филогенетические реконструкции, построение сетей гаплотипов, анализ “barcode gap”) были использованы программы Geneious Prime 2022.1.1 (<http://www.geneious.com>), jModelTest 2.1.10 (Guindon, Gascuel, 2003; Darriba et al., 2012), MrBayes v.3.2.6 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003, Ronquist et al., 2012), PopArt 1.7 (Leigh, Bryant, 2015), DnaSP6 (Rozas et al., 2017), Arlequin suite 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010), R (R Core Team, 2022; Alexander et al., 2016) и ASAP (Puillandre et al., 2021).

1.6. Апробация работы

Результаты исследования были представлены на семинарах кафедры зоологии беспозвоночных СПбГУ в 2013–2023 гг. и на следующих научных конференциях:

1. V Съезд Паразитологического Общества при РАН, 23–26 сентября 2013 г., Новосибирск.
2. Ecology and Evolution of Marine Parasites and Diseases, 10–14 марта 2014 г., Тексель, Нидерланды.
3. XII European Multicolloquium of Parasitology, 20–24 августа 2016 г., Турку, Финляндия. Доклад отмечен медалью Европейского паразитологического общества “Young Scientist Award”.
4. VI Съезд Паразитологического Общества при РАН, 15–19 октября 2018 г., Санкт-Петербург.
5. XIII European Multicolloquium of Parasitology, 12–16 октября 2021 г., Белград, Сербия.
6. International symposium on ecology and evolution of marine parasites and diseases, 15–18 ноября 2022 г., Ла-Рошель, Франция.

1.7. Публикации

По результатам диссертационного исследования шесть статей опубликованы в международных журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science Core Collection и Scopus.

1. Gonchar A, Galaktionov KV. 2016. Substratum preferences in two notocotylid (Digenea, Notocotylidae) cercariae from *Hydrobia ventrosa* at the White Sea. Journal of Sea Research. 113:115–118.
2. Gonchar A, Galaktionov KV. 2017. Life cycle and biology of *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae): morphological and molecular approaches. Parasitology Research. 116(1):45–59.
3. Gonchar A, Jouet D, Skírnisson K, Krupenko D, Galaktionov KV. 2019. Transatlantic discovery of *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae) based on life cycle data. Parasitology Research. 118(5):1445–1456.
4. Gonchar A, Galaktionov KV. 2020. New data support phylogeographic patterns in a marine parasite *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae). Journal of Helminthology. 94:e79.
5. Gonchar A, Galaktionov KV. 2021. It is marine: distinguishing new species of *Catatropis*

(Digenea: Notocotylidae) from its freshwater twins. *Parasitology*. 148(1):78–83.

6. Gonchar A, Galaktionov KV 2022. The Pacific *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae). *Parasitology International*. 88:102559.

1.8. Личный вклад автора

Сбор основного объёма материала, планирование и реализация исследований, а также написание текстов статей выполнены лично автором диссертации. Часть материала была собрана при помощи К. В. Галактионова, К. Скирниссона (Университет Исландии), К. В. Регель (ИБПС ДВО РАН), Д. Жуэ (Университет Реймса), Д. Ю. Крупенко, А. И. Грановича, Д. Алёшкиной и К. Воловик. К. В. Галактионов участвовал в обсуждении результатов. Морфологические описания *T. anatis* выполнены совместно с К. В. Галактионовым. Данные по *N. atlanticus* из Франции получены совместно с Д. Жуэ. Конфокальные исследования *N. atlanticus* выполнены совместно с Д. Ю. Крупенко. Экспериментальные заражения *N. atlanticus* выполнены К. В. Галактионовым и К. Скирниссоном.

1.9. Объём и структура диссертации

Основной текст диссертации включает в себя введение; обзор литературы; результаты, изложенные в пяти разделах; заключение; и выводы. В рукопись также входит раздел благодарностей; список литературы со 149 источниками; и два приложения. Общий объём работы составляет 68 страниц, в том числе 18 рисунков и 8 таблиц.

2. Обзор литературы

2.1. Жизненный цикл *Notocotylidae*

Наиболее приметные стадии жизненного цикла трематод – марита и церкария; именно с них началось формирование представлений о нотокотилидах. *Fasciola verrucosa* Frölich, 1789 из гуся *Anser anser* (L., 1758) и *Cercaria ephemera* Nitzsch, 1807 из улиток *Planorbarius corneus* (L., 1758), как впоследствии оказалось, были первыми находками мариты и церкарии нотокотилид. Предположения о том, что моностомные церкарии с тремя глазками и светопреломляющими гранулами в каналах экскреторной системы – это личиночные стадии трематод, которых сейчас относят к *Notocotylidae*, высказывались с середины XIX века (van Beneden, 1858). Тем не менее, довольно долго ни одна из известных церкарий подобного строения не была точно соотнесена с конкретной половозрелой формой. При этом к началу XX века устоялись представления о том, что церкарии нотокотилид инцистируются во внешней среде, а мариты развиваются в толстой кишке и слепых отростках у птиц (Lühe, 1909). Предпринимались попытки найти соответствие между молодыми маритами и церкариями на основе морфологического сходства. Так, например, предположили, что для марит из *Anas acuta* личиночные стадии – это *Cercaria urbanensis* Cort, 1914 из *Physa gyrina* Say, 1821 (Harrish, 1922); это впоследствии подтвердилось (*Notocotylus urbanensis* (Cort, 1914) Harrish, 1922; Herber, 1955 по Филимонова, 1985).

В том же 1922 году в Европе жизненный цикл был полностью установлен для вида, определённого как *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kossack, 1911 (Joyeux, 1922)¹. Жуайё не только вырастил марит, накормив утят личинками из *Planorbarius rotundatus* Poiret, 1801, но и заразил моллюсков для наблюдения за развитием партенит. В результате были описаны яйца, материнская спороциста, редии, церкарии и цисты с метацеркариями. Этот вид оказался не самым типичным (короткохвостые церкарии, не покидающие моллюска), а в описании, вероятно, были допущены некоторые неточности (сомнения вызывает вылупление мирацидия во внешней среде). Тем не менее, именно в этой работе впервые был экспериментально расшифрован жизненный цикл нотокотилид. Его общая характеристика (на основании разных источников) приводится в следующем абзаце, а далее в тексте раскрыты подробности в отношении разных стадий.

Итак, нотокотилиды – трематоды с двуххозяиным жизненным циклом. В роли первого промежуточного хозяина выступают пресноводные и морские гастроподы. Моллюски

¹ Сейчас считается, что это был вид *Pseudocatatropis joyeuxi* Kanev & Vassilev, 1986 (Dubois, 1951; Kanev et al., 1994).

заражаются, случайно заглатывая яйца паразита. Внутри моллюска формируется материнская спороциста, которая продуцирует ограниченное число материнских редий. Те, в свою очередь, отрождают дочерних редий, в которых развиваются церкарии. У большинства видов церкарии, покинув редию, некоторое время дозревают в тканях моллюска и только после этого выходят во внешнюю среду. После непродолжительного периода плавания они инцистируются на подводных субстратах и превращаются в покоящихся личинок – адолескарий. У нескольких видов церкарии имеют недоразвитый хвост, не покидают моллюска и инцистируются в его мантийной полости. Окончательный хозяин (для большинства видов им служат птицы; для некоторых – млекопитающие) заражается, заглатывая субстрат с адолескариями. Мариты, как правило, локализируются в задних отделах кишечника и его слепых выростах. Продолжительность их жизни составляет до нескольких месяцев.

Наименее изученные аспекты жизненного цикла нотокотилид – это особенности развития и строения мирацидия, процесс заражения моллюска и метаморфоз в материнскую спороцисту.

Характерное строение яиц нотокотилид с крышечкой и филаментами известно давно (Rudolphi, 1809; van Beneden, 1858; Lühe, 1909), а о развивающихся в них личинках информации существенно меньше. Очевидно, что мирацидий нотокотилид не выходит из яйца во внешней среде. Этому свидетельствуют и ранние наблюдения (van Beneden, 1858), и последующие экспериментальные работы (Wright, Bennett, 1964; Rohde, Onn, 1967; Kanev et al., 1994; Skála et al., 2014). Лишь Жуайо (Joyeux, 1922) упоминает вылупление мирацидия (изображение не приводится) из яиц вне моллюска. Все прочие данные говорят о том, что у нотокотилид нет мирацидия, способного перемещаться в водной среде посредством ресничной локомоции и активно внедряться в подходящего моллюска-хозяина через покровы.

Процесс заражения моллюска был описан на ультраструктурном уровне для вида *N. attenuatus* (Murrills et al., 1985a, 1985b, 1988). Авторы заключили, что мирацидий нотокотилид подвергся крайней степени редукции, и что в яйце содержится зачаточная материнская спороциста, снабжённая аппаратом экстрезии. Предполагается, что с его помощью зачаток материнской спороцисты впрыскивается через стенку кишки в гемоцель после того, как яйцо было случайно съедено подходящим моллюском. Судя по этим результатам, для мирацидия нотокотилид характерна экстремальная степень упрощения, связанная с переходом к пассивной стратегии заражения моллюска.

Через сутки после заражения материнская спороциста *N. attenuatus* размером 10–13 мкм обнаруживается в гемоцеле моллюска неподалеку от кишки (Murrills, 1988). На более поздних сроках материнских спороцист разных видов, сферической или овоидной формы, размером от

60 до 280 мкм, отмечали вдоль наружной стенки разных отделов кишки (Rohde, Onn, 1967; Kanev et al., 1994; Koch, 2002) и в гепатопанкреасе моллюска (Joyeux, 1922; Skála et al., 2014). Внутри развивается несколько материнских редий: например, одна у “*N. attenuatus*” (= *P. joyeuxi*), две у *Catatropis verrucosa* (Frölich, 1789) Odhner, 1905 и *N. attenuatus*, четыре у *Notocotylus stagnicola* Herber, 1942 или пять у *Catatropis indica* Srivastava, 1935 (Joyeux, 1922; Kanev et al., 1994; Skála et al., 2014; Herber, 1942; Rohde, Onn, 1967). Предполагается, что число редий в материнской спороцисте постоянно в пределах вида (Филимонова, 1985).

Редии нотокотилид локализуются в гепатопанкреасе моллюска и устроены сходно у разных видов (например, Herber, 1942; Dönges, 1962; Pike, 1969; Bisset, 1977; Kanev et al., 1994; Skála et al., 2014). Материнские и дочерние редии трудно отличить друг от друга (Herber, 1942; Rohde, Onn, 1967). В дочерних редиях видны эмбрионы церкарий, а также они могут обладать выраженной пигментацией (Koch, 2002). Они лишены воротничка и локомоторных выростов; размер варьирует у разных видов, но, как правило, находится в пределах 650–1400 мкм в длину и 160–270 мкм в ширину (например, Martin, 1956; Dönges, 1962; Flores, Brugni, 2003). На переднем конце их тела расположены ротовое отверстие и глотка, ведущая в слепо замкнутую кишку; немного позади от глотки – родильная пора. Однако в нескольких работах указывается на отсутствие родильной поры (Harper, 1929), либо она не изображена (Joyeux, 1922; Odening, 1963). В задней части тела лежит герминальная масса и зародышевые шары; более зрелые эмбрионы занимают более переднее положение (Herber, 1942; Cort, 1948). Органы размножения редий *Tristriata anatis* описаны на ультраструктурном уровне (Podvyaznaya, Galaktionov, 2018). На этом примере показана особенность нотокотилид – развитие эмбрионов церкарий внутри герминальной массы вплоть до появления у них хвостового зачатка.

Количество развивающихся церкарий в пределах одной редии тоже различно у разных видов: от 1–2 у *Notocotylus minutus* Stunkard, 1960 до более чем 12 у *Quinqueserialis quinqueserialis* (Barker & Laughlin, 1911) Harwood, 1939 (Stunkard, 1960; Herber, 1942). Церкарии покидают редий и завершают своё развитие в лакунах гемоцеля в гепатопанкреасе моллюска; например, у *N. attenuatus* на это уходит три дня (Skála et al., 2014). Церкарии *C. indica*, едва покинувшие редию и извлечённые из моллюска искусственно, морфологически неотличимы от выделяющихся спонтанно, но не инцистируются и продолжают плавать (Rhode, Onn, 1967).

Облик церкарий большинства нотокотилид (см., например, Филимонова, 1985) очень узнаваемый: у них одна (ротовая) присоска, три глазка, пигментированное тело с множеством цистогенных желёз и два выроста по бокам от основания хвоста². Дорсальная сторона тела

² Их называли прикрепительными (Harper, 1926), дорсальными прикрепительными (Rees, 1932) и локомоторными «кармашками» (Rothschild, 1938); локомоторными «отростками» (Pike, 1969) и «придатками» (Ždárská, 1970); а также «постериолатеральными железами» (Southgate, 1971).

выгнута, а вентральная – вогнута. Форма тела изменчива: церкарии могут то сильно вытягиваться, то сокращаться до округлого состояния. Наиболее кратко и ёмко церкарий нотокотилид можно описать как «трёхглазых моностомных» церкарий (например, Faust, 1918).

Наличие у зрелых церкарий трёх пигментированных глазков – один из выразительных признаков нотокотилид. В ходе их развития пигмент сначала распределен полосами вдоль тела, а затем концентрируется в области глазков (Harper, 1926). Пара латеральных глазков формируется раньше; медианный глазок обычно появляется уже у покинувших редию церкарий (Harper, 1926; Bisset, 1977). Латеральные глазки более яркие и имеют более чёткие границы; у медианного глазка пигмент более бледный и расположен кольцом (Dönges, 1962; Pike, 1969). Изучение серий гистологических срезов показало, что все три глазка иннервируются как функциональные фоторецепторы (Faust, 1918; Dönges, 1962).

Ещё один легко обнаруживаемый признак церкарий нотокотилид – главные собирательные каналы (ГСК) выделительной системы, заполненные светопреломляющими гранулами. Два ГСК отходят от округлого мочевого пузырька, тянутся по бокам тела и соединяются в его передней части. Таким образом они формируют кольцо, и спереди оно может иметь разную форму: округлую, с непарным отростком или петлёй (Rothschild, 1938). Развитие выделительной системы описано от стадии зародышевого шара до зрелой церкарии с экскреторной формулой $2[(3+3+3)+(3+3+3)]=36$ – она характерна для всех нотокотилид и остаётся неизменной до стадии мариты (Odening, 1966).

Церкарии нотокотилид имеют характерное поведение. У большинства видов они наиболее охотно покидают моллюска в первой половине дня (Herber, 1942; Скрябин, 1953; Flores, Brugni, 2006). Для вида *Paramonostomum alveatum* (Mehlis in Creplin, 1846) Lühe, 1909 на Белом море экспериментально показано, что пик эмиссии церкарий совпадает с пиком освещённости (Prokofiev et al., 2016). Однако есть и другой пример: церкарии *Catatropis johnstoni* Martin, 1956 выделяются и днём, и ночью (Martin, 1956).

Во время плавания тело церкарий Notocotylidae принимает шарообразную форму, а хвост активно бьёт (Cort, 1914). Они обладают выраженной положительной фотореакцией (Скрябин, 1953; Stunkard, 1967a; Прокофьев, 2006). Периодически церкарии делают перерывы в плавании, прикрепляются к субстрату с помощью дорсальных прикрепительных кармашков, изгибаются и касаются субстрата передним концом тела с ротовой присоской (Dönges, 1962; Krupenko, Gonchar, 2017a). Расположившись на поверхности субстрата, они поочерёдно то сильно вытягиваются, то сжимаются, и могут таким образом ползти (Cort, 1914; Herber, 1942).

Церкарии нотокотилид могут инцистироваться практически сразу после выхода из моллюска (Капнев et al., 1994), но, как правило, они проводят некоторое время (10–30 мин) в

толще воды (Martin, 1956; Kinsella, 1971; Flores, Brugni, 2003). Перед инцистированием тело церкарии ритмично сокращается (Pike, 1969). Наиболее распространённые субстраты инцистирования – это раковины моллюсков (Harper, 1926, Pike, 1969) и водная растительность (Herber, 1942, Dönges, 1962; Naem, Smythe, 2015). Цисты имеют форму полусферы и обеспечивают надёжную защиту от неблагоприятных условий среды: например, жизнеспособность адолескарий *N. attenuatus* не снижалась при помещении в раствор с солями тяжёлых металлов (Evans, 1982).

Метацеркарии разных видов нотокотилид могут быть инвазионны сразу после инцистирования (Kinsella, 1971; Kanev et al., 1994); или приобретать это свойство через несколько часов (Dönges, 1962), суток (Flores, Brugni, 2003) или недель (Evans et al., 1997) после него. Способность заражать окончательного хозяина сохраняется до восьми месяцев (Dönges, 1962). На примере вида *N. attenuatus* было экспериментально показано, что метацеркарии начинают эксцистироваться в толстом кишечнике через 2.25 ч после заражения, а к концу четвёртых суток мариты скапливаются в дистальных участках слепых отростков (Radlett, 1979). Первые дни после заражения мариты сохраняют следы пигмента глазков (Herber, 1942). Вентральные органы – это образования в виде папилл или гребней, выступающие на вентральной поверхности тела марит нотокотилид – формируются постепенно (Филимонова, 1985). Предполагается, что они могут нести прикрепительную (Beverley-Burton, Logan, 1976), пищеварительную (Wittrock, 1978) или дыхательную (MacKinnon, 1982) функцию, однако наверняка это ещё не доказано.

Продукция яиц у многих нотокотилид (например, у *C. johnstoni*; *Catatropis chillinae* Flores & Brugni, 2003) начинается примерно через 10 дней после заражения, но мариты некоторых видов развиваются быстрее (*Paramonostomum anatis* Garkawi, 1965; Гаркави, 1968), а некоторых – медленнее (*Q. quinqueserialis*; Kinsella, 1971). Единоновременно в матке может быть до 3 тысяч яиц (Dönges, 1962). Яйца на полюсах несут филаменты, которые нарастают постепенно по мере продвижения яйца по петлям матки и достигают финального размера только в дистальных её отделах (Martin, 1956; Rausch, Fay, 1966; Bayssade-Dufour et al., 1996). Продолжительность жизни марит нотокотилид (по крайней мере некоторых, в особенности, крупных и долго созревающих) может достигать полугода. Именно столько потребовалось ожидать прежде, чем пойманные в природе заражённые ондатры перестали выделять яйца *Q. quinqueserialis* (Kinsella, 1971).

Таким образом, ход жизненного цикла нотокотилид хорошо известен в целом, но конкретные его подробности изучены лишь у небольшого числа видов. Например, всего в одной работе сколько-нибудь подробно рассмотрено содержимое зрелого яйца (вид

N. attenuatus). Значительные пробелы есть и в менее тонких вопросах. Так, из 18 валидных видов рода *Catatropis* – наиболее хорошо изученного в этом отношении – лишь для восьми определены первые промежуточные хозяева (Rohde, Onn, 1967; Дворядкин, 1987; Kanev et al., 1994; Bayssade-Dufour et al., 1996; Flores, Brugni, 2003, 2006; Besprozvannykh, 2006). Это было сделано посредством экспериментальных заражений. Примеры расшифровки жизненных циклов нотокотилид путём сопоставления маркерных последовательностей ДНК у мариит и стадий из моллюсков единичны (Assis et al., 2019; Izrailskaia et al., 2019; Sasaki et al., 2021). При этом данные о круге хозяев нотокотилид необходимы, в том числе, для понимания их гостальной специфичности и выяснения путей трансмиссии в природе.

Подробный обзор по вопросу о специфичности нотокотилид к окончательному хозяину приводит Л. В. Филимонова (Филимонова, 1985). Три рода нотокотилид приурочены к млекопитающим: *Hippocrepis*, *Ogmocotyle* и *Ogmogaster*. Представители остальных родов паразитируют преимущественно у птиц, но с некоторыми исключениями (например, хозяева *Q. quinqueserialis*, *Notocotylus noyeri* Joyeux, 1922 и *Catatropis morosovi* Gubanov et al., 1966 – грызуны). Как правило, один вид паразита может встречаться в нескольких разных видах птиц, но в пределах одного отряда. Препятствия к точной оценке специфичности мариит нотокотилид – большая вероятность ошибок в идентификации и несовершенство принятой системы.

Что касается специфичности к первым промежуточным хозяевам, то один вид нотокотилид, по всей видимости, может встречаться в моллюсках одного рода (Филимонова, 1985). В этом вопросе, однако, ясности ещё меньше, в силу дефицита данных о первых промежуточных хозяевах. Значимость таких материалов подчёркивается давно: например, при выделении двух «биологических групп» внутри рода *Notocotylus* – с развитием в «лёгочных» и «переднежаберных» моллюсках (Dubois, 1951).

2.2. Разнообразие Notocotylidae

На момент обоснования сем. Notocotylidae Lühe, 1909 в него было включено три рода: *Catatropis*, *Notocotylus* и *Paramonostomum*. Определительными признаками служили форма тела, вентральные органы и соотношение размеров сумки цирруса и метратерма (Lühe, 1909). В пределах каждого рода был кратко охарактеризован один вид. По мере описания новых таксонов и проведения ревизий эта система потеряла свою стройность и начала обрастать противоречиями, многие из которых сохраняются по сей день.

Результаты исследования разнообразия Notocotylidae впервые обобщены в VIII томе серии «Трематоды животных и человека» (Скрябин, 1953), где это семейство рассматривается в

рамках подотряда Notocotylata. Семь родов (три исходных, а также *Quinqueserialis*, *Hofmonostomum*, *Parapronocephalum* и *Tristriata*) отнесены к подсем. Notocotylineae, и по одному – к Hippocrepinae, Ogmogasterinae и Ogmocotylineae. Приведена характеристика 58 видов нотокотилид, в т.ч. рисунки, а также определительные ключи. Для девяти видов изложены имевшиеся на момент написания обзора данные о жизненном цикле.

В монографии С. Ямагути 1958 г. (Yamaguti, 1958) нотокотилиды вошли в два раздела: по трематодам птиц и млекопитающих. Набор родов сохраняется прежним, за исключением р. *Parapronocephalum* – он отнесён к сем. Pronocephalidae. Виды перечислены с упоминанием окончательных хозяев и географического происхождения, но без подробного описания. Их набор дополнен по сравнению с работой Скрыбина (1953), но из 76 видов лишь для 10 приведена информация о первом промежуточном хозяине (во многих случаях – спорная). В «Синописе по дигенейм позвоночных» (Yamaguti, 1971) перечислено уже более 100 видов (для 19 есть данные о первом промежуточном хозяине); и два новых рода – *Uniserialis* и *Tetraserialis*.

В соответствии с принятой в настоящее время системой трематод (Cribb et al., 2001; Olson et al., 2003), Notocotylidae входят в отряд Plagiorchiida, подотряд Pronocephalata, надсемейство Pronocephaloidea. Филогенетические отношения внутри семейства неясны, поэтому предложено воздержаться от выделения подсемейств. К Notocotylidae отнесены 13 родов: *Hippocrepis*, *Notocotyloides*, *Parapronocephalum*, *Ogmocotyle*, *Ogmogaster*, *Pseudoquinqueserialis*, *Paramonostomum*, *Tristriata*, *Catatropis*, *Notocotylus*, *Uniserialis*, *Tetraserialis* и *Quinqueserialis* (Barton, Blair, 2005). Несмотря на спорность некоторых трактовок, эта определительная таблица родов наиболее полная и современная. Классификация, как это было и ранее, построена на морфологии марит и таксономической принадлежности окончательных хозяев.

Основные диагностические признаки у марит – это размеры тела и отдельных органов; тип, количество и расположение вентральных папилл и гребней; соотношение длин сумки цирруса и метратерма; положение полового отверстия относительно точки бифуркации кишки; протяжённость желточников; расположение и количество петель матки; размер яиц и длина их филаментов (Harwood, 1939; Herber, 1942; Dubois, 1951; Скрыбин, 1953; McDonald, 1981; Филимонова, 1985). По умолчанию эти признаки, как это принято для трематод вообще, описываются на основании окрашенных тотальных препаратов. Дополнительно в ряде работ используется сканирующая электронная микроскопия (Wittrock, 1978; Radlett, 1980; Tandon, Roy, 1996; Koch, 2002; Naem, Smythe, 2015; Diaz et al., 2020; Ramadan et al., 2020; Sasaki et al., 2021 и др.). Это позволяет более надёжно описать вентральные органы, а также дополнительно использовать признак строения шипов тегумента.

Вентральные органы отсутствуют у адолескарий и развиваются у марит постепенно (Pike, 1969; Radlett, 1979), а у фиксированных и на тотальных препаратах не всегда различимы (Szidat, Szidat, 1935; Stunkard, 1967b). Несмотря на эти ограничения, именно форма и число вентральных органов служат для диагностики родов нотокотилид. Виды в пределах рода отличаются по числу папилл в ряду и положению передних папилл в разных рядах друг относительно друга и по отношению к переднему концу тела.

Параллельно описанием разнообразия марит нотокотилид, и во многом независимо от него, было описано много церкарий, относящихся к этому семейству. Ранние попытки их дифференцировать во многом опирались на размерные характеристики, в частности – длину тела и хвоста (Szidat, 1933; Szidat, Szidat, 1935; Yamaguti, 1938; Herber, 1942). Более стабильный и сопоставимый (в т. ч. при измерении разными авторами) размерный признак – диаметр цист (Rothschild, 1938). Он, строго говоря, уже не относится к церкариям, но при наблюдении за ними неизбежно и наблюдение за формированием цист.

Церкарии нотокотилид (за одним исключением, которое будет рассмотрено ниже) устроены крайне единообразно, в том числе, в отличие от многих других трематод, экскреторная формула у них одинакова в пределах семейства (Odening, 1966). При описании церкарий нотокотилид Ротшильд (Rothschild, 1938) предлагала учитывать цвет, плотность и распределение пигмента по телу; степень развития глазков и полового зачатка; форму мочевого пузырька и размер экскреторной поры; размер цистогенных желёз; и особенности поведения – на какой стадии церкарии покидает редию, продолжительность их плавания, субстрат инцистирования, скорость формирования цисты. Многие из этих параметров субъективны или сложны в оценке, и на практике наиболее применимым для дифференциации церкарий нотокотилид оказался подход, основанный на строении главных собирательных каналов (ГСК) экскреторной системы.

ГСК у церкарий нотокотилид заполнены светопреломляющими экскреторными гранулами и хорошо видны на временных препаратах с живыми церкариями, несмотря на пигментацию тела. Ротшильд (Rothschild, 1938) обратила внимание, что встречаются характерные варианты формы ГСК и предложила выделить по этому признаку три морфотипа: *Monostomi*, *Imbricata* и *Yenchingensis*. К морфотипу *Monostomi* (типовой вид *Cercaria ephemera* Lebour, 1907) она отнесла церкарий, у которых передний участок ГСК расположен сзади от медианного глазка. У церкарий морфотипа *Imbricata* (типовой вид *Cercaria imbricata* Loos, 1896) передний участок ГСК выпячивается вперед, формируя петлю, которая проходит между латеральными глазками и оказывается спереди от медианного. Церкарии морфотипа *Yenchingensis* (типовой вид *Cercaria yenchingensis* Faust, 1930) имеют непарный отросток на

переднем участке ГСК, направленный в сторону медианного глазка или чуть сбоку от него.

Предложенные Ротшильд признаки не позволяют дифференцировать таксоны надвидового уровня. Например, в пределах рода *Catatropis* есть виды с церкариями морфотипов и *Imbricata* (*Catatropis vietnamensis* Izrilskaia et al., 2019), и *Monostomi* (*Catatropis lagunae* Baussade-Dufour, 1996). Церкарии морфотипа *Monostomi*, в свою очередь, встречаются также в родах *Paramonostomum* (*P. alveatum*, Stunkard, 1967a) и *Notocotylus* (*Notocotylus triserialis* Diesing, 1839 (Dubois, 1951), Pike, 1969). Однако для различения видов морфотип церкарий может быть значим (Dönges, 1962; Odening, 1963).

У нескольких видов нотокотилид церкарии имеют необычное для этого семейства строение. У них отсутствуют пигментированные глазки, а хвост короткий и не может обеспечивать плавание. Такие церкарии покидают редий, но не выходят во внешнюю среду. Окончательный хозяин заражается, съедая заражённого моллюска-хозяина с метацеркариями (адолескариями) внутри. Подобные церкарии описаны из моллюсков сем. Planorbidae (Joyeux, 1922; Izrilskaia et al., 2019). Предложение объединить эти виды в отдельный род *Pseudocatatropis* (Kanev et al., 1994) не было поддержано в “Keys to Trematoda” (Barton, Blair, 2005), исходя из приоритета данных о маритах в систематике трематод. Справедливость такого подхода ставится под сомнение авторами нового вида *Pseudocatatropis dvoryadkini* Izrilskaia et al., 2019³.

Несмотря на то, что по некоторым признакам (строения и поведения) можно отличить церкарий нотокотилид разных видов, глобально они всё же устроены очень единообразно. В таких обстоятельствах дополнительным источником информации может служить таксономическая принадлежность моллюска-хозяина. Для полноценного использования этой информации необходимо понимать степень специфичности нотокотилид. Это один из аспектов, которых касается данное диссертационное исследование.

Разнообразие нотокотилид продолжает документироваться – в частности, описываются новые виды. На сегодняшний день оптимальным признаётся подход к описанию новых видов трематод, сформулированный в духе интегративной таксономии (Blasco-Costa et al., 2016; Faltýnková et al., 2022). Такой подход подразумевает, помимо морфологического описания марит и обозначения окончательных хозяев, вовлечение информации о других стадиях жизненного цикла и молекулярных данных. Появление в GenBank первых последовательностей ДНК для Notocotylidae связано с выходом двух крупных работ по филогении трематод (Tkach et al., 2001; Olson et al., 2003). С тех пор, то есть примерно за последние 20 лет, было описано не менее 20 новых видов нотокотилид (по результатам поиска в Google Scholar и в списках

³ Вид значится как невалидный в WoRMS, но причина в том, что голотип не был эксплицитно зафиксирован.

литературы найденных работ). Шесть из них были охарактеризованы генетически с использованием хотя бы одного маркера. Также для пяти видов был указан вид первого промежуточного хозяина и описано строение редий и церкарий. Лишь для двух из новых видов (описаны в одной работе – Izrailskaia et al., 2019) представлены оба этих типа данных. Остальные виды описаны исключительно по маритам, причём большинство из последних отнесены к роду *Paramonostomum* (т. е. у них отсутствуют вентральные папиллы). Эти данные следует воспринимать с осторожностью, т. к. на тотальных препаратах папиллы часто оказываются неразличимы.

2.3. Notocotylidae в прибрежных морских экосистемах

Нотокотилиды распространены и в пресноводных, и в морских биотопах. Истинно «морскими» можно считать представителей рода *Ogmogaster*. Их окончательные хозяева – китообразные и ластоногие, а первые промежуточные хозяева неизвестны. Однако у видов, мариты которых развиваются в птицах, жизненные циклы тоже могут быть приурочены к морским местообитаниям. В таких случаях первые промежуточные хозяева – морские или солоноватоводные моллюски, обитающие в условиях литорали или эстуариев. Разнообразие «прибрежных» нотокотилид отражено в таблице 1.

Большую его часть составляют паразиты из нескольких видов мелких моллюсков-детритофагов, которых сейчас относят к родам надсем. Truncatelloidea – *Peringia*, *Ecrobia* (Hydrobiidae), *Spurwinkia* (Cochliopidae) и *Coxiella* (Tomichiidae). Также описаны нотокотилиды из нескольких видов сем. Littorinidae (Littorinoidea). В качестве хозяев нотокотилид упоминаются *Onoba aculeus* (Rissooidea) и *Skeneopsis planorbis* (O. Fabricius, 1780) (Littorinoidea). По одному виду нотокотилид обнаружено в моллюсках из надсем. Cerithioidea: *Cerithideopsis californica* (Haldeman, 1840) (Potamididae) и *Sermyla riquetii* (Grateloup, 1840) (Thiaridae).

Для части этих нотокотилид известны только редии и церкарии. У тех, для которых экспериментально установлен жизненный цикл (то есть, охарактеризованы мариты и названы виды), окончательными хозяевами служат птицы. Данных о нотокотилидах, циркулирующих в морских прибрежных экосистемах, меньше, чем о пресноводных.

Приведённый в этой главе обзор призван показать общий контекст диссертационного исследования. Далее в тексте работы для удобства каждый раздел предваряется кратким фокусом на литературе именно по тем вопросам, которым он посвящён.

Таблица 1. Нотокотилиды, приуроченные к морским прибрежным биотопам.

Вид и/или наименование церкарий	Моллюск-хозяин	Географический регион	Источник (первое упоминание)
<i>Paramonostomum alveatum</i>	<i>Peringia ulvae</i>	Белое море, западный берег Северной Атлантики	Кулачкова, 1954
<i>Notocotylus minutus</i>	<i>Ecrobia truncata</i> (Vanatta, 1924)	западный берег Северной Атлантики	Stunkard, 1960
<i>Notocotylus atlanticus</i>	<i>Spurwinkia salsa</i> (Pilsbry, 1905)	западный берег Северной Атлантики	Stunkard, 1966
<i>Paramonostomum parvum</i> Stunkard & Dunihue, 1931	<i>S. salsa</i>	западный берег Северной Атлантики	Stunkard, 1967a
<i>Uniserialis berviserialis</i> Stunkard, 1967	<i>S. salsa</i>	западный берег Северной Атлантики	Stunkard, 1967b
<i>Paramonostomum anatis</i>	<i>E. ventrosa</i>	Азовское море	Гаркави, 1968
<i>Catatropis lagunae</i>	<i>P. ulvae</i>	восточный берег Северной Атлантики	Bayssade-Dufour et al., 1996
4 × <i>Cercaria</i> sp.	<i>P. ulvae</i>	Великобритания	Rothschild, 1938
<i>Cercaria</i> sp. (Imbricata)	<i>E. ventrosa</i>	Великобритания	Rothschild, 1938
<i>Cercaria Notocotylidae</i> sp. 10–14	<i>P. ulvae</i> , <i>E. ventrosa</i>	Ла-Манш	Deblock, 1980
<i>Cercaria lebouri</i> / <i>Paramonostomum chabaudi</i> Van Strydonck, 1965	<i>Littorina obtusata</i> , <i>L. littorea</i>	Великобритания	Stunkard, 1932; Evans et al., 1997
<i>Parapronocephalum symmetricum</i> Belopolskaia, 1952	<i>L. saxatilis</i>	Белое море	Белопольская, 1952
<i>Cercaria Notocotylus</i> 1	<i>L. saxatilis</i>	Баренцево море	Чубрик, 1966
<i>Cercaria Notocotylus</i> 2	<i>Onoba aculeus</i>	Баренцево море	Чубрик, 1966
<i>Notocotylus</i> sp.	<i>L. saxatilis</i> , <i>L. obtusata</i> , <i>P. ulvae</i> , <i>Skeneopsis planorbis</i>	Баренцево море	Подлипаев, 1979
<i>Cercaria</i> sp.	<i>Melarhappe neritoides</i> (L., 1758)	Великобритания	Rothschild, 1938
Notocotylidae gen. sp.	<i>L. sitkana</i>	Курильские острова	Цимбалюк и др., 1978
<i>Cercaria mihi</i> 12	<i>L. scutulata</i>	Аляска	Ching, 1991
Notocotylidae gen. sp. NZ 1 и 2	<i>Austrolittorina antipodum</i> , <i>A. unifasciata</i>	Австралия, Новая Зеландия	O'Dwyer et al., 2014, 2015
<i>Catatropis johnstoni</i>	<i>Cerithideopsis californica</i>	Калифорния	Martin, 1956
<i>Paramonostomum philippinense</i> Velasquez, 1969	<i>Sermyla riquetti</i>	Филиппинские о-ва	Velasquez, 1969
<i>Paramonostomum caeci</i> , <i>P. bursae</i> Smith & Hickman, 1983	<i>Coxiella striata</i> (Reeve, 1842)	о. Тасмания	Smith, Hickman, 1983

3. Результаты исследования и их обсуждение

3.1. *Paramonostomum* Lühe, 1909

3.1.1. История вопроса

Род *Paramonostomum* включает нотокотилид, у которых отсутствуют вентральные органы – папиллы или гребни (Barton, Blair, 2005). Поскольку эти структуры зачастую сложно выявить на тотальных препаратах, часть форм могли быть отнесены к роду *Paramonostomum* ошибочно (Harwood, 1939; Филимонова, 1985). В пределах рода выделяют две группы видов: с овоидной формой тела марит (“*alveatum*”) и с вытянутой (“*elongatum*”) (Harwood, 1939). Типовой вид *P. alveatum* относится к первой группе. Его жизненный цикл и патогенное воздействие на птенцов гаги впервые были изучены В.Г. Кулачковой (1954) в Кандалакшском заповеднике; промежуточными хозяевами оказались моллюски *Peringia ulvae*. Позднее экспериментальное подтверждение этого цикла в Северной Америке получил Станкард (1967а); он также указал, что церкарии *P. alveatum* имеют морфотип *Monostomi*.

Гидробииды известны в качестве промежуточных хозяев и других нотокотилид в Европе (табл. 1), среди которых *P. anatis*, морфологически близкий к *P. alveatum* (Гаркави, 1968). Мы изучили беломорский материал с целью воспроизвести и, возможно, дополнить данные В. Г. Кулачковой.

3.1.2. Новые данные о *P. alveatum* на Белом море

Мы обнаружили в моллюсках *Ecrobia ventrosa* нотокотилид с церкариями, которые по форме переднего отдела главных собирательных каналов представляют собой ряд переходных форм: без отростков (классический морфотип *Monostomi*) (рис. 1а) и с одним центральным, двумя боковыми или тремя отростками (вариации морфотипа *Yenchingensis*) (рис. 2). Эти формы мы трактуем как набор внутривидовых вариантов, поскольку они не отличаются по последовательностям 28S и ITS1 рДНК. По этим последовательностям они также совпали с маритой *P. alveatum* из обыкновенной гаги *Somateria mollissima*. Эта марита была идентифицирована на основе морфологических критериев: положения полового отверстия (позади от точки бифуркации кишки), строения цирруса (крупный с шипиками) и его сумки (тонкостенная).

Долгое время считалось, что на Белом море встречается один вид гидробиид, *P. ulvae*. Позже стало ясно, что этот вид сосуществует там с ещё одним – *E. ventrosa* (Горбушин, 1992).

Мы обнаружили редий и церкарий *P. alveatum* (это подтверждается молекулярно-генетическими данными) в обоих видах гидробиид. Сейчас они относятся разным родам одного семейства, и это говорит о не вполне строгой специфичности некоторых нотокотилид к первому промежуточному хозяину на уровне вида. Более того, *Spurwinkia salsa* – промежуточный хозяин *P. alveatum* в Северной Америке – по новой системе относится к другому семейству из надсем. Truncatelloidea. Вопрос о спектре видов промежуточных хозяев нотокотилид обсуждается также в следующем разделе (3.2.).

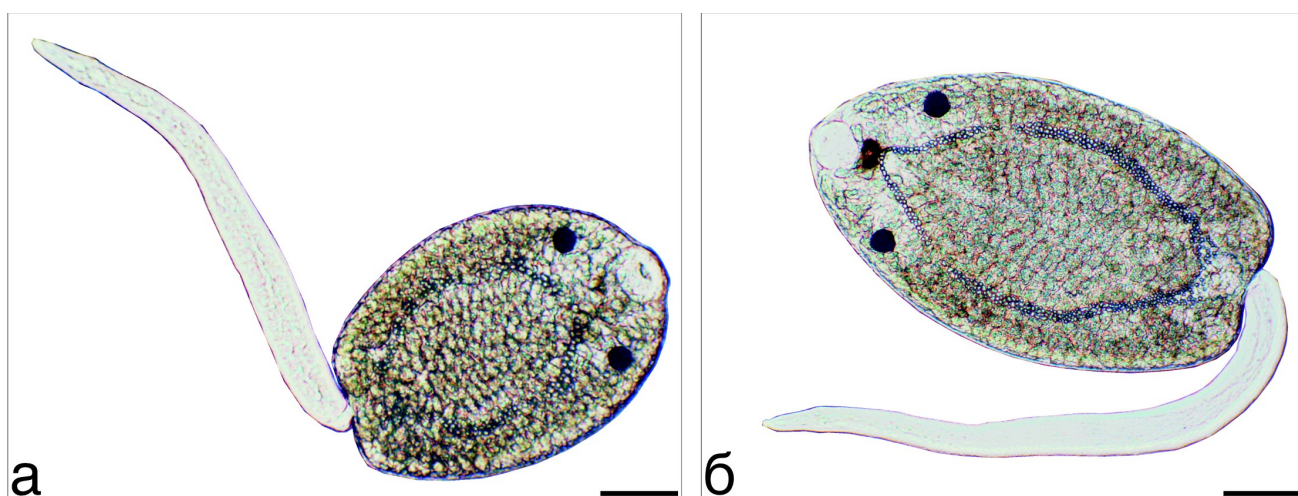


Рисунок 1. Микрофотографии церкарий (а) *Paramonostomum alveatum* и (б) *P. anatis*. Масштабная линейка 50 мкм.

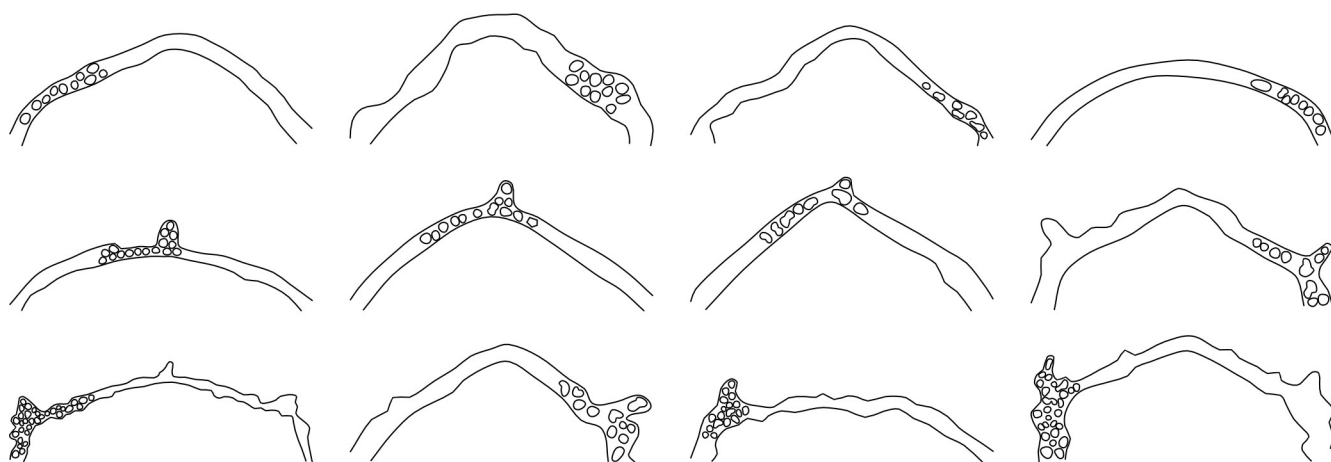


Рисунок 2. Вариации в строении переднего участка главных собирательных каналов экскреторной системы у церкарий *Paramonostomum alveatum*. Показана форма каналов, на отдельных участках прорисованы экскреторные гранулы.

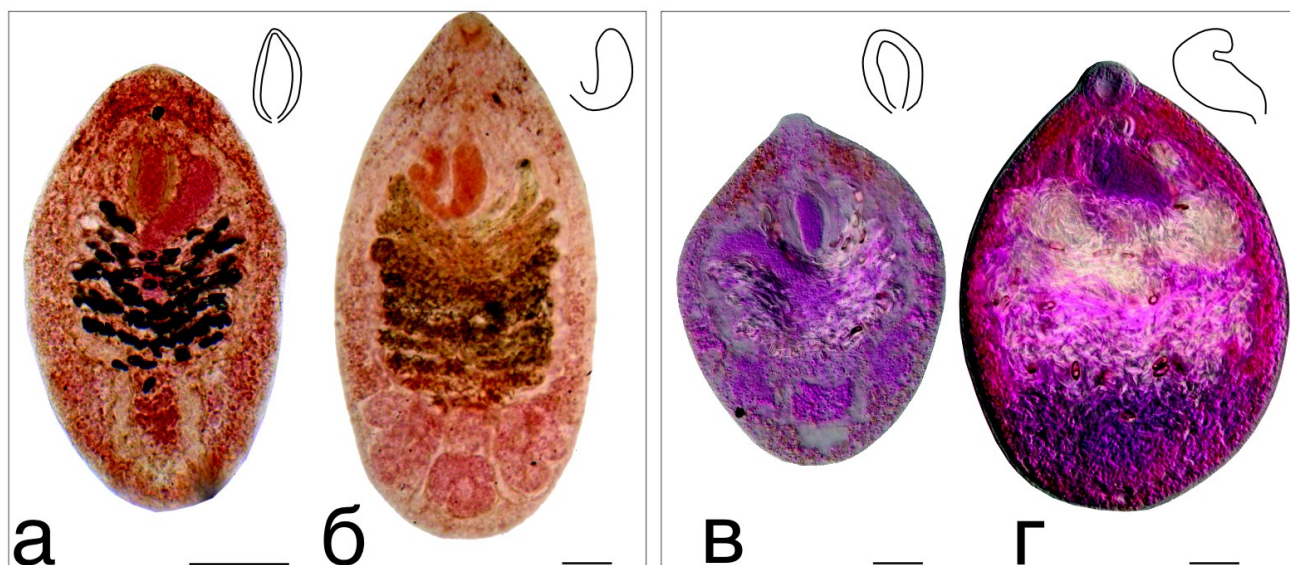


Рисунок 3. Микрофотографии препаратов марит р. *Paramonostomum* из коллекции В. Г. Кулачковой (а, б) и полученных в результате экспериментального заражения (в, г). Толстостенная сумка цирруса (а, в) соответствует диагнозу *P. anatis*, тонкостенная (б, г) – *P. alveatum*. Масштабная линейка 50 мкм.

3.1.3. *Paramonostomum anatis* на Белом море

В обыкновенной крякве *A. platyrhynchos* мы обнаружили марит рода *Paramonostomum* с овоидной формой тела, очень сходных с *P. alveatum*, но отличающихся, прежде всего, по строению сумки цирруса: она была толстостенная и имела спиральную исчерченность за счёт мощной мускулатуры (Krupenko, Gonchar, 2017b). На основе морфологических признаков они отнесены нами к виду *P. anatis*; это первое его обнаружение в северной Европе. Жизненный цикл *P. anatis* был изучен на Азовском море; там промежуточными хозяевами служат *E. ventrosa* (Гаркави, 1968). Мы также нашли нотокотилид из беломорских *E. ventrosa*, которые по маркерным последовательностям ДНК (28S рДНК, ITS1) совпадают с нашим образцом *P. anatis*. Мы впервые выяснили морфотип церкарий для этого вида (Imbricata) (рис. 16). Церкарии очень напоминают *Cercaria Notocotylidae* sp. no. 12 Deblock, 1980, которые также приурочены к гидробиям. В работе, где впервые описан цикл этого вида (Гаркави, 1968), морфотип не упоминается и не понятен по приведённому рисунку⁴.

Мы изучили 58 препаратов марит рода *Paramonostomum* из коллекции В.Г. Кулачковой, датированные 1957–1970 годами (материал из окрестностей ББС ЗИН РАН «Картеш» на Белом море). Большинство из них сейчас находятся в состоянии, которое не позволяет уточнить видовую идентификацию. Однако 12 марит определить удалось: семь как *P. alveatum* (одна из *Anas strepera* L., 1758 и шесть из *S. mollissima*); и пять как *P. anatis* (три из *Mergus merganser* L.,

⁴ В соответствии с более поздней интерпретацией этой работы Гаркави, церкарии *P. anatis* имеют морфотип *Yenchingensis* (Deblock, 1980). Возможно, причина в том, что на рисунке за передний отросток ГСК был принят пищевод.

1758, одна из *S. mollissima* и одна из *A. platyrhynchos*). Это свидетельствует о том, что два вида *Paramonostomum* встречались на Белом море и прежде, однако их не различали.

Наши образцы *P. anatis* не совпадают по последовательности 28S рДНК с *P. anatis* из щёголя *Tringa erythropus* Pallas, 1764 из Херсонской области (Tkach et al., 2001; GenBank AF184258). Предположения о том, как это можно объяснить, приведены в разделе 3.5..

3.1.4. Субстрат инцистирования церкарий *P. alveatum* и *P. anatis*

Мы сравнили поведение церкарий двух видов р. *Paramonostomum* по отношению к субстрату инцистирования (Gonchar, Galaktionov, 2016). Эти виды ранее обозначались нами вслед за Деблоком (Deblock, 1980) как *Cercaria Notocotylidae* sp. No 11 и *C. Notocotylidae* sp. No 12 Deblock, 1980 (Gonchar and Galaktionov, 2016), но они соответствуют двум видам, которые обсуждались в двух предшествующих разделах: *P. alveatum* и *P. anatis*. Для церкарий нотокотилид ранее наблюдали преимущественное формирование цист на раковинах моллюсков, ракообразных и растениях (например, Dönges, 1962; Алексеев, 1962). Мы впервые предприняли попытку описать это поведение количественно.

Субстратами в первой экспериментальной серии были раковина моллюска-хозяина *E. ventrosa* и листовая пластина водного травянистого растения взморника морского (*Zostera marina* L., 1753). Оказалось, что церкарии двух видов ведут себя по-разному (рис. 4). В случае *P. anatis* цисты с адолескариями обнаруживали на обоих субстратах примерно в равной степени (t-test $p = 0.94$, $n = 78$). Церкарии *P. alveatum* избирательно инцистировались на zostере (t-test $p << 0.001$, $n = 66$).

Во второй экспериментальной серии для *P. alveatum* мы сравнили инцистирование церкарий на двух растительных субстратах (*Z. marina* и прибрежный злак *Poa* sp.); для *P. anatis* – на раковинах живых моллюсков (моллюска-хозяина, незаражённых *E. ventrosa* и *P. ulvae*) и пустых раковинах *E. ventrosa*. В первом случае инцистирование происходило на обоих растениях (t-test $p = 0.42$; $n = 42$) (рис. 5). Во втором – цисты распределились равномерно по раковинам живых моллюсков ($n = 46$; $\chi^2 = 0.012$; $p = 0.99$), но практически отсутствовали на пустых раковинах (0.8% от общего числа) (рис. 6).

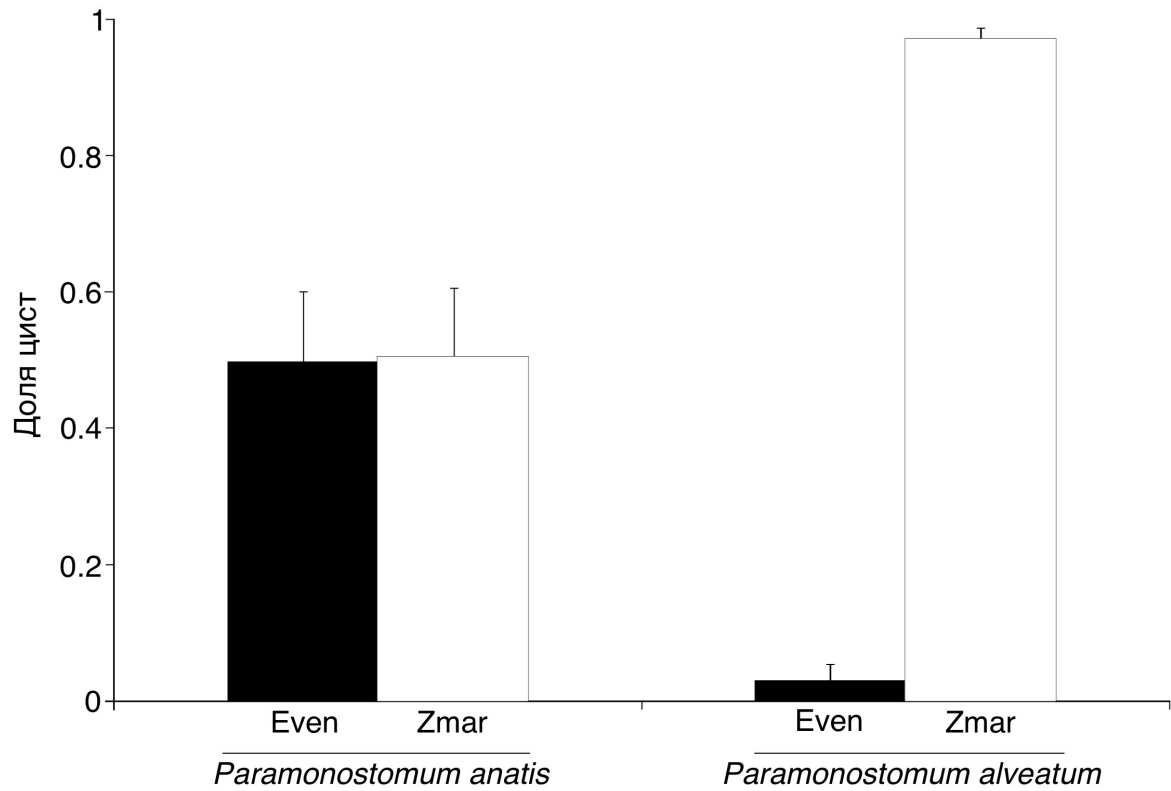


Рисунок 4. Распределение цист нотокотилид между двумя экспериментальными субстратами. Even — поверхность раковины *E. ventrosa* (черные столбики); Zmar — поверхность *Z. marina* (белые столбики). Отмечены доверительные интервалы (95%). (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2016)

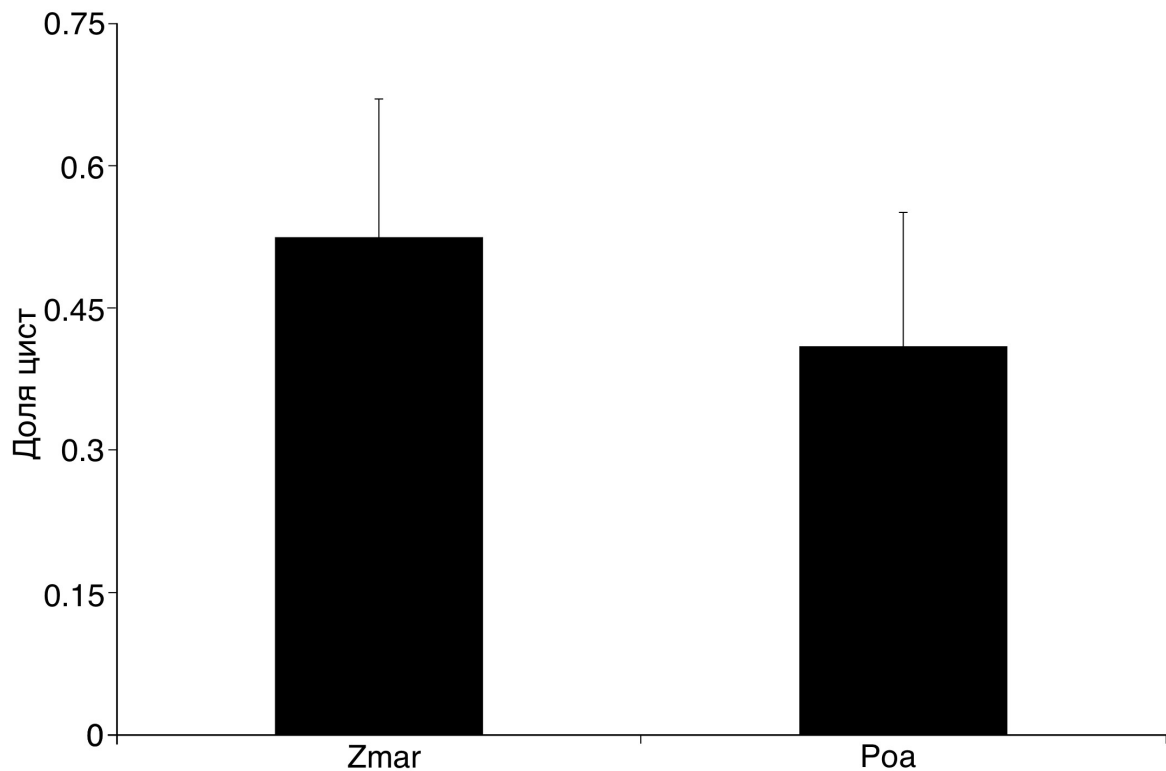


Рисунок 5. Распределение цист *P. alveatum* между двумя экспериментальными субстратами: поверхностью *Z. marina* (Zmar) и *Poa* sp. (Poa). Отмечены доверительные интервалы (95%). (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2016)

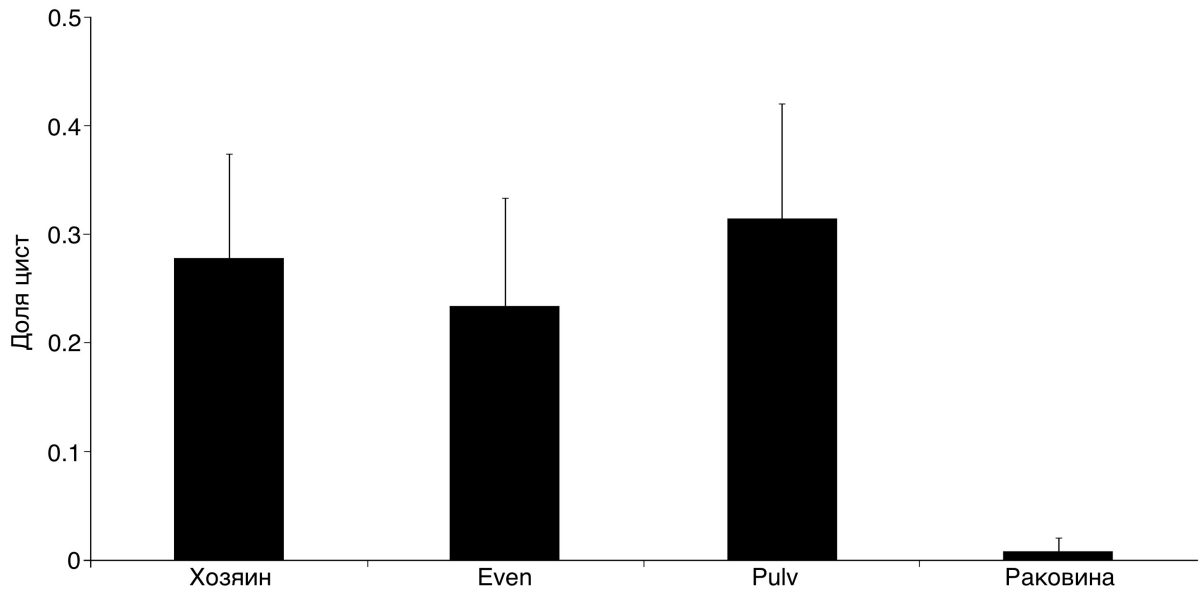


Рисунок 6. Распределение цист *P. anatis* между экспериментальными субстратами: поверхностями раковин моллюска-хозяина *E. ventrosa* (Хозяин), незаражённых *E. ventrosa* (Even) и *P. ulvae* (Pulv), пустой раковины *E. ventrosa* (Раковина). Отмечены доверительные интервалы (95%). (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2016)

Адаптивность наблюдаемых предпочтений может заключаться в повышении успеха трансмиссии (Pearson, 1972). На Белом море марины *P. alveatum* обнаруживались в обыкновенных гагах *S. mollissima* (Кулачкова, 1954) и ряде других видов уток, лебедях и даже куликах (Филимонова, 1985). Некоторые из них питаются преимущественно растениями, другие могут поедать их случайно при питании на литорали. Можно ожидать, что спектр окончательных хозяев *P. anatis* включает прибрежных птиц, питающихся бентосными беспозвоночными, и иногда – растениями (например, нырковые утки). Выявленную специфичность к субстратам нельзя считать строгой, за исключением тенденции к инцистированию только на раковинах живых моллюсков: это повышает вероятность быть съеденными окончательными хозяевами.

3.1.5. Итоги

В моллюсках *E. ventrosa* обнаружены редии и церкарии двух видов рода *Paramonostomum*, различающиеся морфологически и по молекулярным данным. Для вида *P. alveatum* уточнен круг хозяев и строение церкарий; *P. anatis* впервые регистрируется в Северной Европе. Экспериментально показано, что церкарии этих видов различаются по своей способности к избирательному инцистированию на субстрате. Специфичность инцистирования церкарий *P. alveatum* на растительном субстрате и *P. anatis* – на раковинах живых моллюсков может способствовать их трофической трансмиссии.

3.2. *Notocotylus atlanticus* Stunkard, 1966

3.2.1. История вопроса

Notocotylus, типовой род сем. Notocotylidae, включает порядка 50 видов. Судя по данным литературы, существенная часть из них – невалидные виды, в т. ч. синонимичные или сборные. Таксономические сложности связаны с проблемами в первоописаниях, ошибками в определении марит и церкарий, а также с морфологическим сходством между видами (Harwood, 1939, Dubois, 1951, Stunkard, 1966). Например, под названием *Notocotylus attenuatus* регистрируется множество находок нотокотилид в птицах разных отрядов и млекопитающих по всему миру (Филимонова, 1985). Однако при подробном анализе публикаций и коллекций XIX и начала XX веков обнаруживаются весомые доводы в пользу того, что *N. attenuatus* – *species inquirenda*, а типовым видом следует считать *N. triserialis* (Dubois, 1951). Наконец, описан целый ряд видов, которые на стадии мариты едва ли отличимы друг от друга: *N. triserialis*, *N. intestinalis* Tubanguí, 1932, *N. urbanensis*, *N. stagnicola*, *N. dafilae* Harwood, 1939, *N. imbricatus* (Looss, 1893) Szidat, 1935, *N. magniovatus* Yamaguti, 1934, *N. atlanticus*, *N. minutus*, а, возможно, и ещё некоторые.

При таких обстоятельствах для дифференциации видов *Notocotylus* было предложено (Dubois, 1951) уделять особое внимание строению церкарий и кругу хозяев – прежде всего, моллюсков, но отчасти и позвоночных. Экспериментальные свидетельства о ходе жизненных циклов (помимо окончательного хозяина) имеются для порядка 20 видов рода. С одной стороны, это не так мало. С другой же – достоверность данных в части работ вызывает сомнения, и ситуация в итоге становится лишь более запутанной. С учётом этого, для полноценной ревизии рода потребуется целый ряд надёжных исследований, сочетающих детальное описание морфологии разных стадий цикла и определение круга хозяев с привлечением молекулярно-генетических данных. Мы впервые смогли сделать шаг в этом направлении.

3.2.2. Идентификация вида *N. atlanticus* в Палеарктике

В моллюсках *E. ventrosa* мы обнаружили нотокотилид, отличных от видов рода *Paramonostomum*, описанных в разделе 3.1. (Gonchar et al., 2019). Их реди и церкарии (рис. 7) типичного для нотокотилид облика. У церкарий главные собирательные каналы имеют отросток, который заходит вперед за медианный глазок – морфотип *Yenchingensis*. По наблюдениям, многие церкарии в экспериментальных сосудах формируют цисты (рис. 8) на раковине моллюска-хозяина.

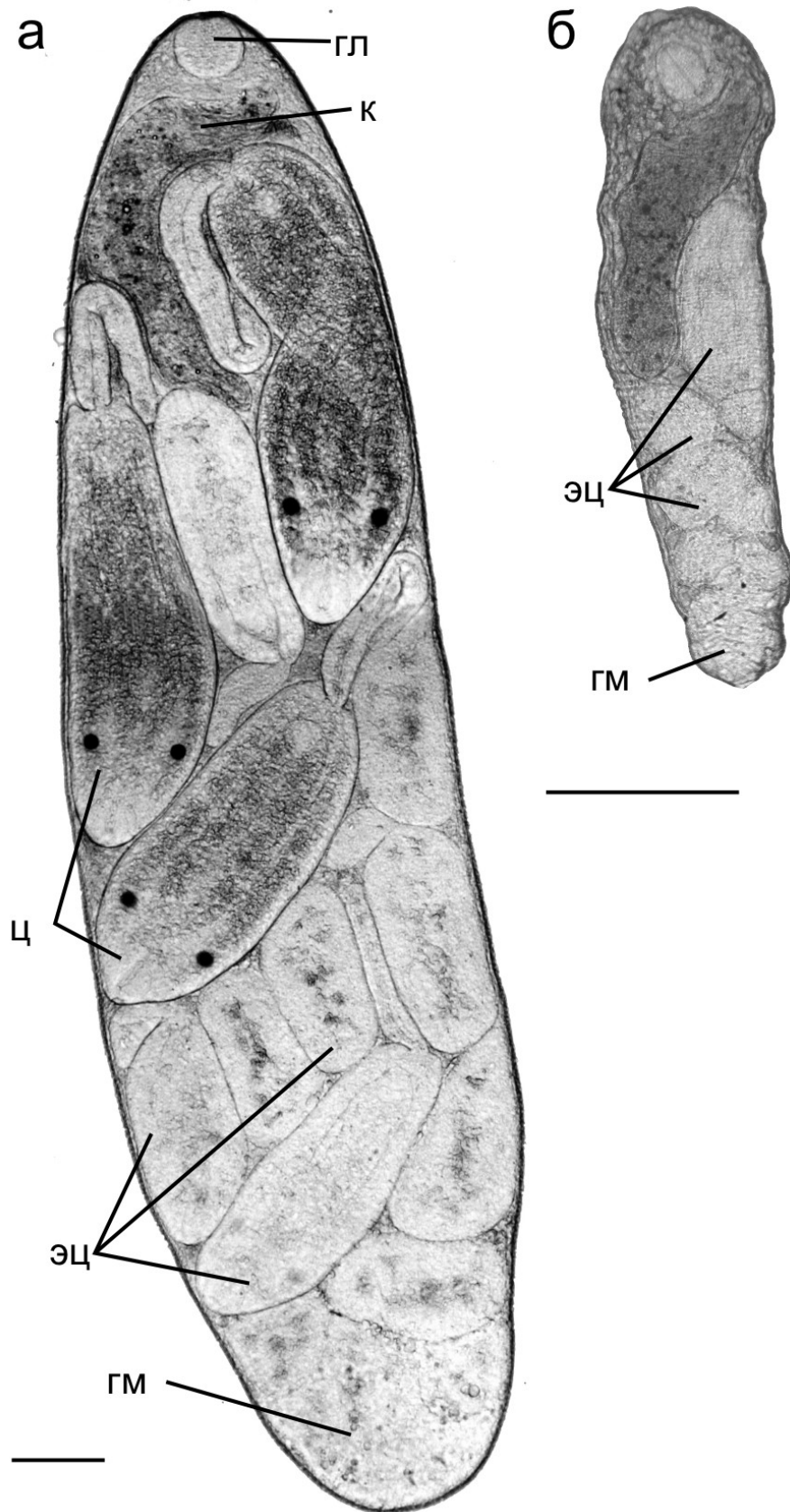


Рисунок 7. Микрофотографии зрелой (а) и молодой (б) редий *N. atlanticus*. Обозначения: гл – глотка; гм – герминальная масса; к – кишка; ц – развивающиеся церкарии; эц – эмбрионы церкарий. Масштабная линейка 100 мкм. (С изменениями из Gonchar et al., 2019)

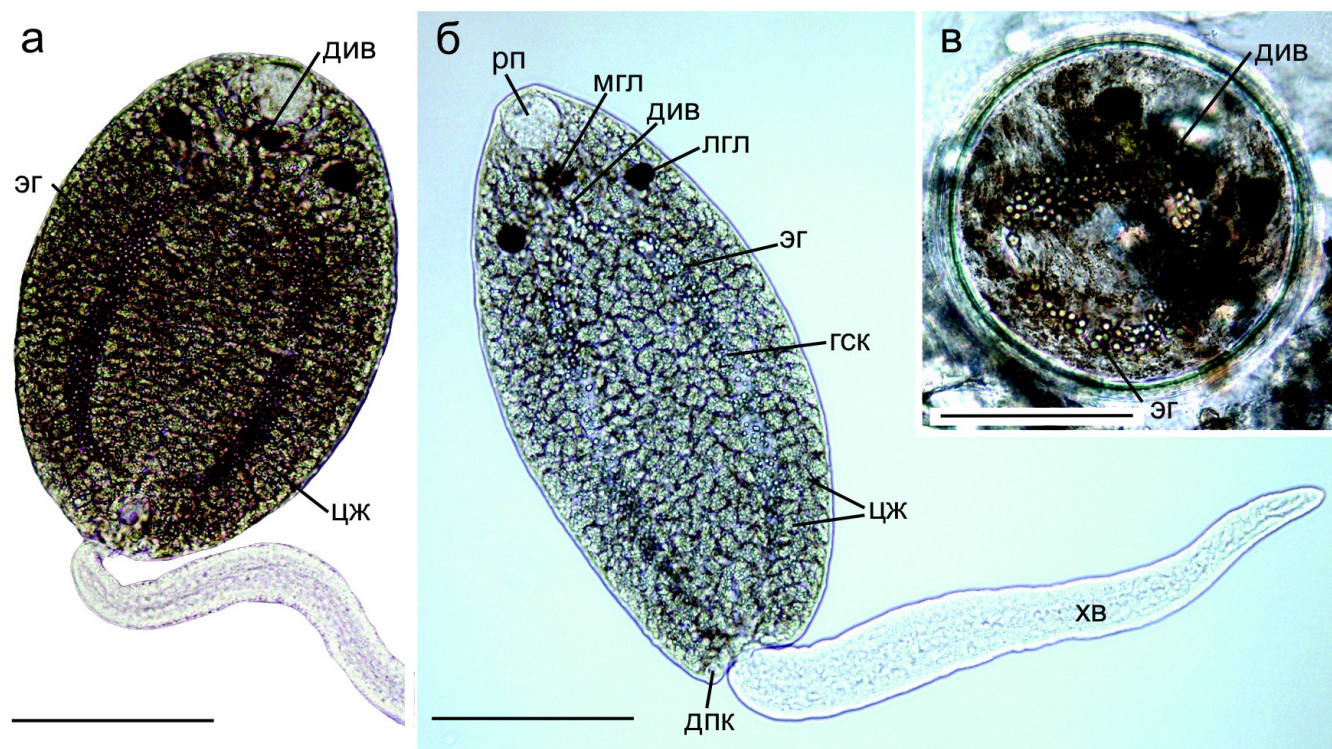


Рисунок 8. Микрофотографии живых церкарий в сокращённом (а) и вытянутом (б) состоянии, и адолескарии (в) *N. atlanticus*. Обозначения: гск – главный собирательный канал экскреторной системы с экскреторными гранулами (эг) и передним дивертикулом (див); дпк – дорсальный прикрепительный кармашек; лгл – латеральный глазок; мгл – медианный глазок; рп – ротовая присоска; хв – хвост; цж – цистогенные железы. Масштабная линейка 100 мкм. (С изменениями из Gonchar et al., 2019)

В кряквах *A. platyrhynchos*, добытых на побережье Белого моря, мы обнаружили марит рода *Notocotylus* (Gonchar et al., 2019). Морфологически они очень близки к маритам вида-космополита *N. attenuatus* и ряда других (рис. 9). Секвенирование и сравнение последовательностей 28S рДНК и ITS1 для этих марит и для церкарии *Yenchingensis* из *E. ventrosa* показало, что они составляют части одного жизненного цикла ($p = 0$ для обоих фрагментов). Учитывая данные о строении марит и церкарий, а также принадлежность промежуточных хозяев к Hydrobiidae (табл. 2), мы предполагаем, что наш материал относится к виду *N. atlanticus* (Gonchar et al., 2019). Этот вид не регистрировался с момента его описания, но церкарий морфотипа *Yenchingensis* находили в гидробиях в Европе (Rothschild, 1941; Deblock, 1980; Skírnisson et al., 2004; Gonchar, Galaktionov 2016). Среди них *Cercaria Notocotylidae* sp. no. 13 Deblock, 1980, как предполагалось, относится именно к *N. atlanticus*. Наши молекулярно-генетические данные для *N. atlanticus* позволят в будущем легче идентифицировать этот вид, а также уточнить его географическое распространение.

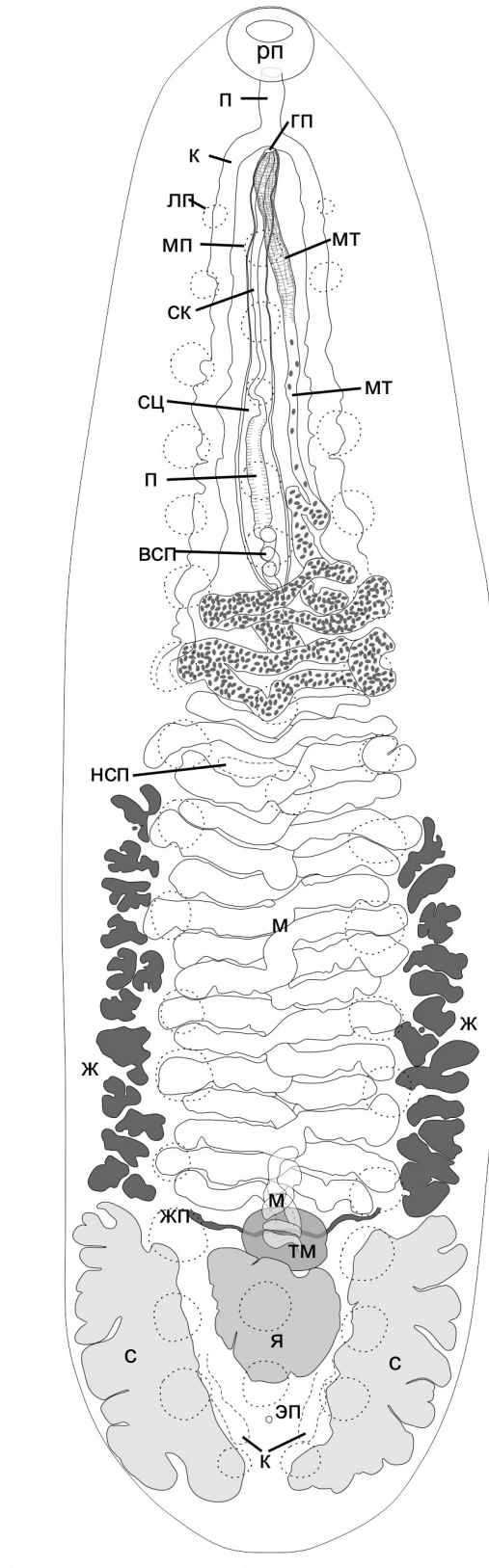


Рисунок 9. Рисунок марицы *N. atlanticus*, вид с вентральной стороны. Обозначения: всп – внутренний семенной пузырь; гп – гонопор; ж – желточник; жп – желточный проток; к – кишка; лп – латеральная вентральная папилла; м – матка; мп – медиальная вентральная папилла; мт – метратерм; нсп – наружный семенной пузырь; п – пищевод; п – простатическая часть; рп – ротовая присоска; с – семенник; ск – семявыносящий канал; сц – сумка цирруса; тм – тельце Мелиса; эп – экскреторная пора; я – яичник. Масштабная линейка 500 мкм. (С изменениями из Gonchar et al., 2019)

Таблица 2. Морфологические признаки марит, редий и церкарий, а также данные о первом промежуточном хозяине, которые могут помочь в различении пяти видов рода *Notocotylus* (из Gonchar et al., 2019).

Вид	Дл. филам. яиц, μm	Метр. / сумка цирр.	Локом. выросты редий	Церк.	Первый промежуточный хозяин		
					Вид	Сем., надсем.	Подкласс
<i>N. atlanticus</i>	53–151	< 1/2	нет	Yen	<i>S. salsa</i> , <i>E. ventrosa</i>	Cochliopidae, Hydrobiidae (Rissoidea)	Caenogastropoda
<i>N. intestinalis</i>	–	> 1/2	нет	Yen	<i>Parafossarulus manchouricus</i> (Bourguignat, 1860), <i>P. spiridonovi</i> Zatravkin & Starobogatov, 1989	Bithyniidae (Rissoidea)	Caenogastropoda
<i>N. magniovatus</i>	до 500	< 1/2	есть	Yen	<i>Semisulcospira</i> spp., <i>Koreoleptoxis tegulata</i> (E. von Martens, 1894), <i>Tarebia granifera</i> (Lamarck, 1816)	Semisulcospiridae, Thiaridae (Cerithioidea)	Caenogastropoda
<i>N. imbricatus</i>	185–240	1/4–3/4	нет	Yen	<i>Bithynia tentaculata</i> (L., 1758)	Bithyniidae (Rissoidea)	Caenogastropoda
<i>N. attenuatus</i>	300–464	2/7–4/5	нет	Mon	<i>Lymnaea</i> spp.	Lymnaeidae	Heterobranchia

N. atlanticus – Gonchar et al., 2019; Stunkard, 1966. *N. intestinalis* – Besprozvannykh, 2010. *N. magniovatus* – Yamaguti, 1938; Dubois, 1951; Odening, 1964. *N. imbricatus* – Dubois, 1951. *N. attenuatus* – Szidat, Szidat, 1935; Pike, 1969; Филимонова, 1985. Yen – морфотип *Yenchingensis*. Mon – морфотип *Monostomi*.

3.2.3. Географическое распространение

Новые данные о представителях рода *Notocotylus* в Японии (Sasaki et al., 2021) позволили нам лучше понять масштабы географического распространения *N. atlanticus*. Из трёх видов *Notocotylus*, обнаруженных в обыкновенных кряквах на о. Хоккайдо, один характеризовался такой же последовательностью 28S рДНК, что и наши европейские образцы *N. atlanticus*. Однако их конспецифичность была под сомнением из-за отсутствия каких-либо других данных о японском образце. Мы получили последовательности *cox1* для 6 европейских изолятов, использовали эти данные для анализа “barcode gap” и показали принадлежность европейских и японских изолятов к одному виду (Gonchar, Galaktionov, 2022; рис. 10). Эти результаты поддержали высказанную ранее гипотезу (Sasaki et al., 2021).

Внутривидовая изменчивость у *N. atlanticus* ($1.36 \pm 0.51\%$) оказалась высокой относительно других нотокотилид ($0.43\text{--}0.78\%$). Однако, у вида *T. anatis* значение сопоставимо (1.18%), и это единственный вид, который также представлен и в Северной Атлантике (СА), и в Северной Пацифике (СП). Тем не менее, если у *T. anatis* мы показали изоляцию между СА и СП популяциями (раздел 3.3.; Gonchar, Galaktionov, 2017), то у *N. atlanticus* по крайней мере

один европейский изолят NOT5 ближе к японскому (4 замены), чем к другим европейским (10–12 замен). Эти данные, однако, предварительные, и для лучшего понимания картины нужен анализ больше го числа изолятов из разных точек ареала, в т.ч. с восточного побережья Северной Америки.

Географическое распространение *N. atlanticus* необходимо обсуждать в контексте жизненного цикла этого вида. Для окончательных хозяев из р. *Anas* миграции между СА и СП не являются основными, но, например, для *A. platyrhynchos* показана слабая генетическая дифференциация в пределах Евразии (Kulikova et al., 2012). Важно также, какой вид является первым промежуточным хозяином (ППХ). Исходя из имеющихся данных, можно предположить, что в Северной Америке, Европе и Японии в его роли выступают моллюски трёх разных семейств из надсем. Truncatelloidea. Это предположение требует дальнейшей проверки, но если оно верно, то специфичность *N. atlanticus* к ППХ во многом определяется экологическими особенностями моллюсков: все они – мелкие детритофаги, обитающие на илистой литорали и сходные по общему облику. Вероятно, *N. atlanticus* может осваивать новых хозяев путем «host-switch» без последующей генетической дифференциации (по крайней мере по маркерам 28S рДНК и *cox1*).

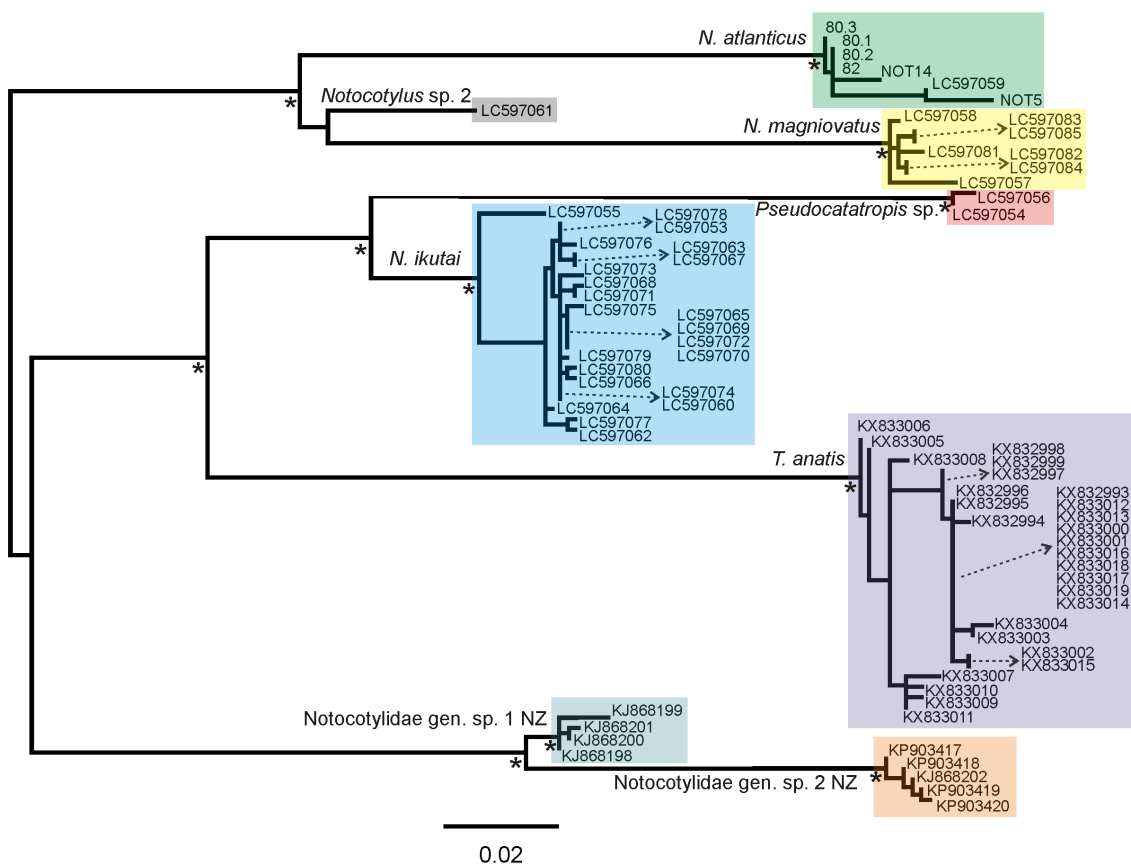


Рисунок 10. Границы видов по результатам анализа “barcode gap” на основе последовательностей *cox1*, отмеченные на филограмме, построенной методом максимальной правдоподобия. Звездочками отмечены узлы с бустреп-поддержкой 100%. Масштабная линейка показывает число замен на одну позицию выравнивания. (Из Gonchar, Galaktionov, 2022)

3.2.4. Вопросы специфичности

Надо отметить, что возможен и сценарий, при котором североамериканский и европейский *N. atlanticus* не являются одним видом. Для окончательной его проверки необходим материал из типового местонахождения в Новой Англии. В Северной Америке промежуточным хозяином *N. atlanticus* служат моллюски *S. salsa*, в Европе – *E. ventrosa*. Прежде эти виды относились к одному роду, *Hydrobia*; сейчас – к разным семействам в пределах одного надсемейства (Wilke et al., 2013). Это не уникальный случай для нотокотилид: *Paramonostomum alveatum* регистрировался в этих же двух видах улиток (Кулачкова, 1954; Stunkard, 1967a); *N. magniovatus* развивается в моллюсках из двух семейства в пределах Cerithioidea (табл. 2). Случаи паразитирования *Q. quinqueserialis* в моллюсках разных родов сем. Planorbidae подтверждены молекулярно-генетическими методами (Gagnon, Detwiler, 2019). При оценке трематодофауны моллюсков в Канаде один вид нотокотилид (не описанный, но выявленный по последовательностям гена *cox1*) был встречен в трех разных видах моллюсков из трех семейств надсем. Lymnaeoidea (Gordy et al., 2016). Многих нотокотилид считали специфичными к виду или роду моллюсков, но изменения в классификации гастропод могут поставить эту идею под вопрос. Например, Филимонова (1985) приводит суммарные данные о десяти видах рода *Lymnaea* в качестве хозяев *N. attenuatus*; по современным данным эти виды принадлежат к семи разным родам. Таким образом, что-то должно измениться в будущем: или представления о специфичности нотокотилид, или границы некоторых видов. На данный момент мы предлагаем принять гипотезу единства вида *N. atlanticus* в Северной Америке и Европе. Распространение паразита между этими регионами может происходить при миграции птиц, хотя такой путь миграций не является основным (Bruun, 1971; Newton, 2007).

Новые данные о специфичности представителей *Notocotylus* дает и филогенетический анализ (раздел 3.5., рис. 18). В разных кладах оказываются виды, для которых промежуточными хозяевами служат гастроподы из двух далёких ветвей: Caenogastropoda и Heterobranchia. Предположение о существовании двух «биологических групп», приуроченных к двум названным группам моллюсков, в пределах *Notocotylus* предполагал Dubois (1951). Наши данные поддерживают это предположение с эволюционной точки зрения. Подробнее этот вопрос будет рассмотрен в разделе 3.5.

3.2.5. Итоги

Впервые в Палеарктике идентифицирован вид *N. atlanticus*. Его церкарии обнаружены в моллюсках *E. ventrosa* на Белом море и на побережье Исландии, марины – в *Anas* spp.

N. atlanticus отличается от *N. attenuatus* по молекулярно-генетическим критериям и ходу жизненного цикла; при этом мариты морфологически очень сходны. *N. atlanticus* также встречается в Японии. Предварительные данные свидетельствуют о широкой специфичности этого вида к моллюскам – первым промежуточным хозяевам; этот вопрос требует дальнейшего изучения с привлечением дополнительных материалов.

3.3. *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953

3.3.1. История вопроса

Вид *T. anatis* был описан М.М. Белопольской (1953) по материалу из обыкновенного гоголя *Vucephala clangula* (L., 1758) и каменушки *H. histrionicus* с Дальнего Востока. Мариты примечательны строением вентральных органов: они представлены тремя продольными гребнями. Впоследствии находки таких марит были приурочены, в основном, к разным точкам дальневосточного региона (обобщено в Филимонова, 1985); также их регистрировали в пестроносом турпане *Melanitta perspicillata* (L., 1758) на Аляске (Frame, 1969), в обыкновенных гагах *S. mollissima* на Мурманском берегу Баренцева моря (Kuklin, 2015) и в песцах *Alopec lagopus* (L., 1758) на побережье Исландии (Skírnisson et al., 1993). Второй вид рода *T. elegans* Filimonova, 1971 после изучения дополнительного материала был синонимизирован автором с *T. anatis* (Филимонова, 1985). Жизненный цикл *T. anatis* оставался неизученным.

3.3.2. Ход жизненного цикла, морфология редий и церкарий

Сопоставив последовательности фрагментов 28S рДНК, ITS1 и *cox1* для марит *T. anatis* (из гаг *S. mollissima*, *S. spectabilis* и каменушки *H. histrionicus*) и редий и церкарий (из *L. saxatilis* и *L. sitkana*), мы обнаружили, что они относятся к одному виду ($p = 0$, $p = 0.16 \pm 0.16 \%$ и $p = 0.98 \pm 0.35 \%$ для трёх фрагментов соответственно; Gonchar, Galaktionov, 2017). Таким образом, было впервые показано, что первыми промежуточными хозяевами *T. anatis* являются моллюски рода *Littorina*, а также впервые описаны редии и церкарии этого вида.

Редии (рис. 11) подвижные, без локомоторных выростов, с терминально расположенным ротовым отверстием, мускулистой глоткой, пищеводом и мешкообразной кишкой. Экскреторная формула $2[(1) + (1)] = 4$. Герминальная масса лежит в задней части тела. В выводковой камере более зрелые эмбрионы занимают переднее положение. Внутри одного моллюска обнаруживается до 100 редий разного возраста и размера (рис. 12): (1) молодых, (2) редий с эмбрионами церкарий, (3) зрелых редий с развивающимися в них церкариями и (4) дегенерирующих редий. Размеры приведены в Таблице 3.

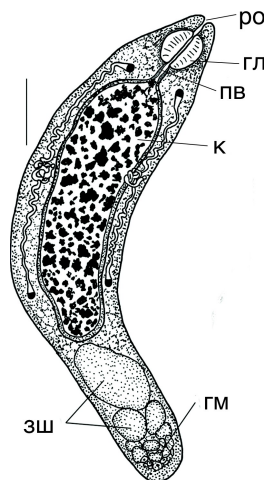


Рисунок 11. Молодая редия *Tristriata anatis*. Обозначения: гл – глотка; зш – зародышевые шары; гм – герминальная масса; к – кишка; пв – пищевод; ро – ротовое отверстие. Масштабная линейка 50 мкм. (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2017)

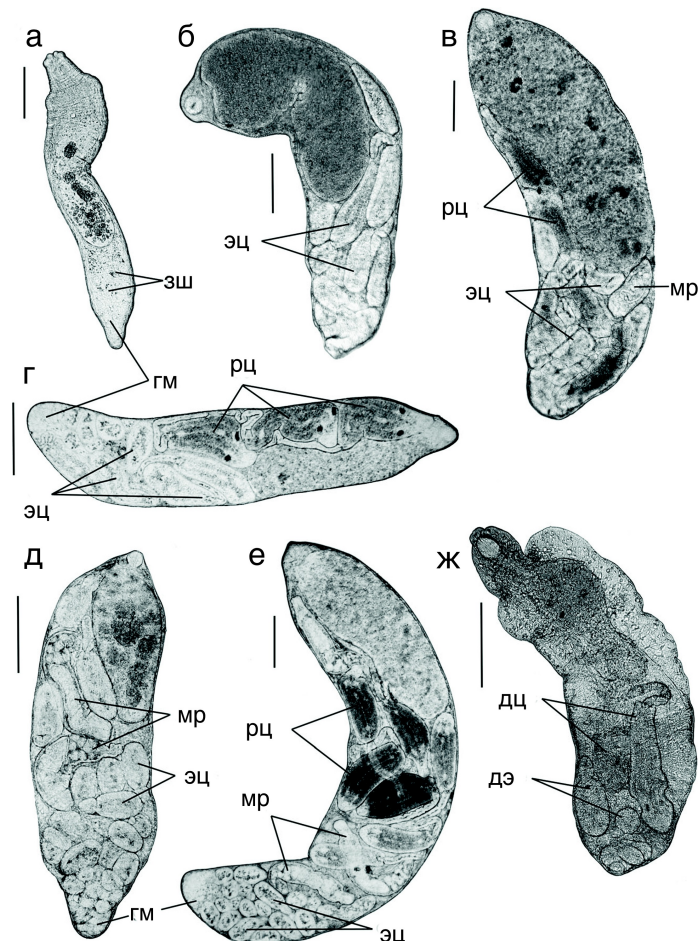


Рисунок 12. Редии *Tristriata anatis* разного возраста. а – молодая редия; б – редия с эмбрионами церкарий; в – редия с развивающимися церкариями и эмбрионами, содержит развивающиеся редии следующего поколения; г – зрелая редия с развивающимися церкариями и эмбрионами; д – предполагаемая редия второго поколения, содержит развивающиеся редии следующего поколения и эмбрионы; е – предполагаемая редия второго поколения с эмбрионами, развивающимися редиями следующего поколения и церкариями; ж – дегенерирующая редия. Обозначения: гм – герминальная масса; дц – дегенерирующая церкария; дэ – дегенерирующий эмбрион; зш – зародышевый шар; мр – молодая редия; рц – развивающаяся церкария; эц – эмбрион церкарии. Масштабные линейки 50 мкм (а), 100 мкм (б, в, г), 200 мкм (д, е, ж). (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2017)

Таблица 3. Размеры редий *Tristriata anatis* (из Gonchar, Galaktionov, 2017).

	Длина	Ширина	Диаметр глотки
Молодые редии с зародышевыми шарами	280–510 (408)	45–89 (65)	24–40 (34)
Редии с эмбрионами церкарий	415–1001 (702)	100–257 (189)	36–52 (43)
Редии с развивающимися церкариями	715–1330 (1041)	229–329 (285)	50–65 (57)

Церкарии (рис. 13) имеют типичное для нотокотилид строение, размеры их тела 315–510 (425) × 165–270 (230), хвост 315–488 (408) × 37–83 (62), ротовая присоска 45–60 (55). Секрет одноклеточных цистогенных желёз представлен палочковидными гранулами. Главные собирательные каналы экскреторной системы сливаются в передней части, формируя дугу; её форма соответствует морфотипу *Monostomi*. Полностью сформированные пигментированные личинки покидают моллюска и могут плавать 2–4 ч. Мы не наблюдали их инцистирование ни на стенках сосуда, ни на раковине хозяина.

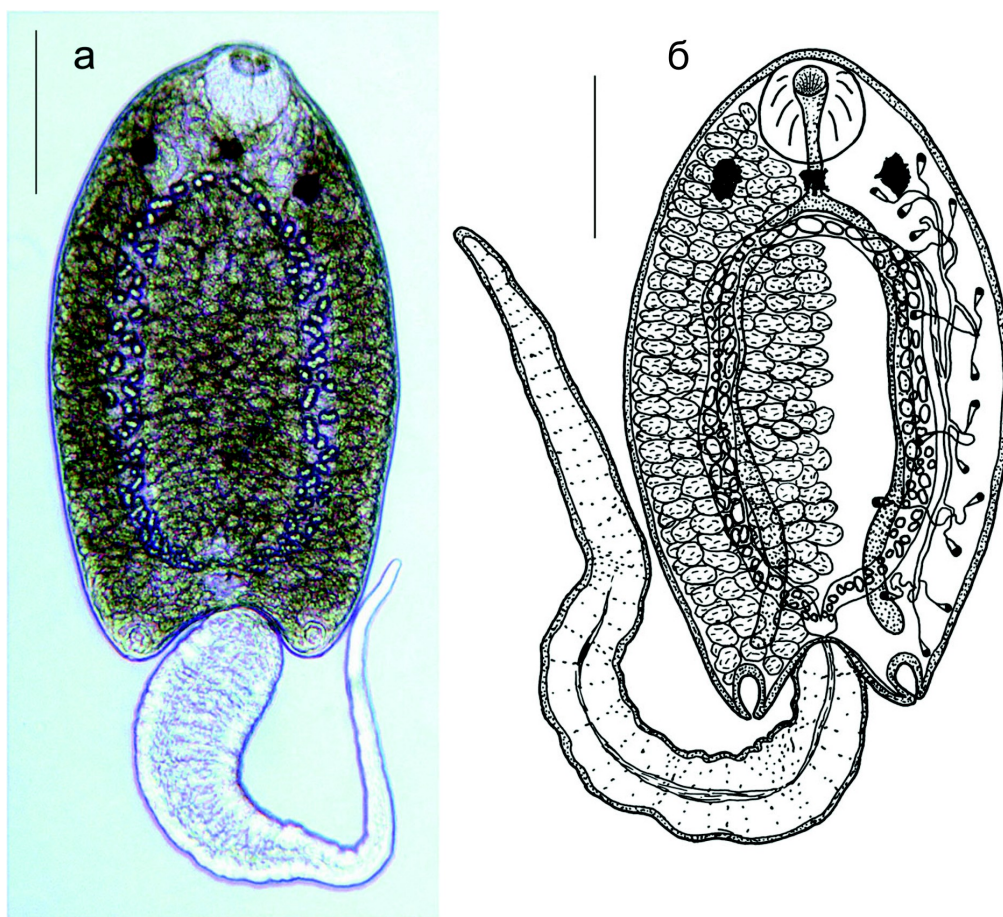


Рисунок 13. Церкария *Tristriata anatis* – (а) микрофотография живой церкарии и (б) рисунок. Масштабная линейка 100 мкм. (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2017)

3.3.3. Уточнение описания марит и амфибореальное распространение вида

Мы дополнили описание марит *T. anatis*, прежде всего, в отношении строения половой системы (рис. 14). Размеры и форма тела у зрелых марит варьируют – соотношение длины к ширине от 2.3 до 4. Молодые экземпляры имеют более удлинённое тело; по мере роста и накопления яиц оно становится шире. Наш материал демонстрирует широкий спектр переходных форм по этому и ряду других признаков, на основе которых выделялся второй вид *T. elegans*. Весь этот материал оказался однороден по молекулярно-генетическим данным. Таким образом, мы подтверждаем синонимию *T. elegans* с *T. anatis*, как предполагала Филимонова (1985). Основные диагностические признаки *T. anatis* приведены в Таблице 4.

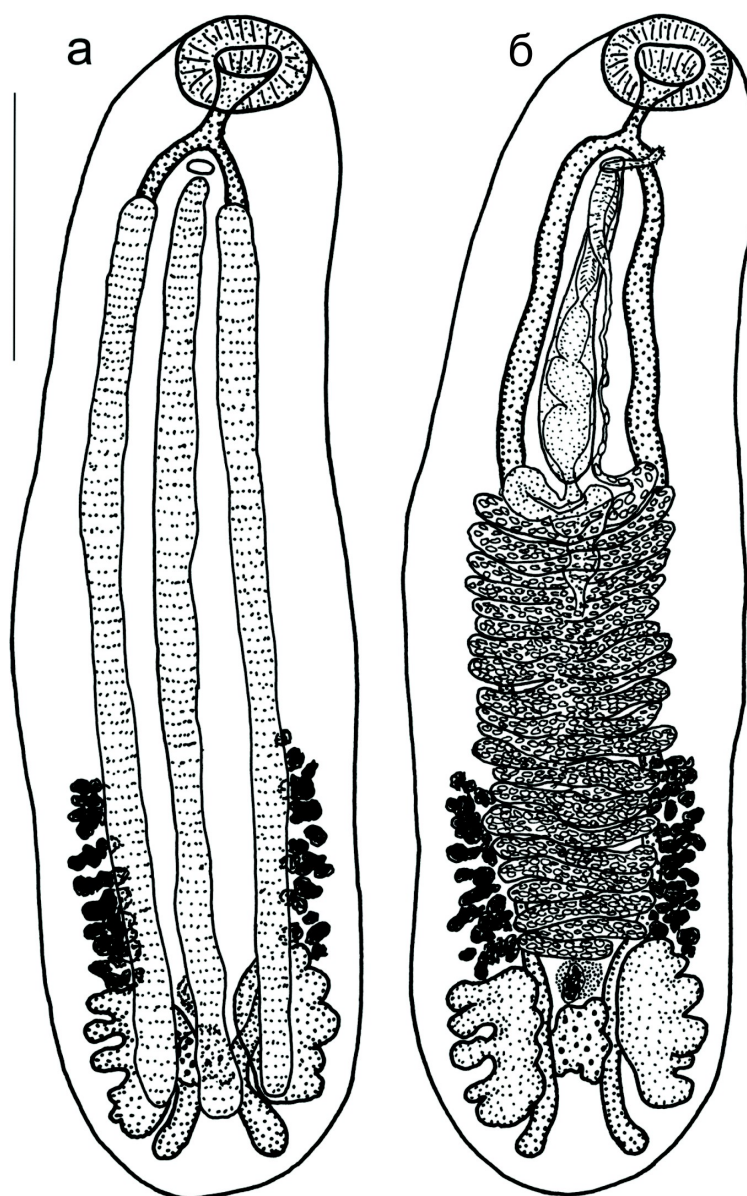


Рисунок 14. Марита *Tristriata anatis*, вид с вентральной стороны – (а) показаны вентральные гребни; (б) показано внутреннее строение. Масштабная линейка 500 мкм. (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2017)

Таблица 4. Размерные признаки марит *Tristriata anatis* (из Gonchar, Galaktionov, 2017).

Признак	
Длина тела	1395–4760
Ширина тела	477–1210
Ротовая присоска	172–430
Соотношение длины метратерма и длины сумки цирруса	1/2–1/5
Число петель матки впереди от зоны желточных фолликулов / общее их число	8–17/16–26
Передняя граница желточных фолликулов на уровне 56–71/100 длины тела	
Задний край сумки цирруса достигает 34–39/100 длины тела	
Яйца	18–28 × 7–14

Наш материал включает изоляты как из региона типового местообитания на Дальнем Востоке, так и из Европы. Молекулярные данные показывают, что все они относятся к одному виду (Gonchar, Galaktionov, 2017). Морфологические вариации, упомянутые выше, встречаются и в северной Пацифике, и в северной Атлантике. Всё это, а также данные литературы, подтверждают амфибореальное распространение вида *T. anatis*. Круг окончательных хозяев без сомнения включает разные виды утиных; возможно, специфичность ещё более широкая, и в число окончательных хозяев входят и некоторые хищные млекопитающие (Skírnisson et al., 1993). Первые промежуточные хозяева относятся к разным видам рода *Littorina*: *L. saxatilis* и *L. obtusata* в Европе, *L. sitkana* в Охотском море.

3.3.4. Филогеография

Распространение и биология хозяев *T. anatis* подразумевает существование изоляции между европейской и тихоокеанской популяциями этого паразита. Моллюски рода *Littorina* живут и на западе, и на востоке Палеарктики, но их ареал прерывается на участке от Карского до Чукотского моря. Многие птицы-хозяева совершают сезонные миграции: со стороны Европы на восток, из Охотского и Берингова моря – на запад. Такие миграции, в основном, ограничены Таймыром: тут птицы могут встречаться во время гнездования, но не могут обмениваться паразитами, т.к. нет промежуточных хозяев-моллюсков.

Существование изоляции подтверждается при анализе сети гаплотипов, в который вошли 88 образцов и два митохондриальных маркера – *cox1* и *nadh1* (Gonchar, Galaktionov, 2020; рис. 15). Нет ни одного гаплотипа, который был бы общим для северной Атлантики и северной Пацифики. Высокие значения индекса фиксации F_{st} (0.91 для *cox1* и 0.87 для *nadh1*) также свидетельствуют о дифференциации популяций. Наши данные дают также основания

считать, что предковой является популяция в северной Пацифике. На это указывает более высокий показатель разнообразия гаплотипов в этом регионе.

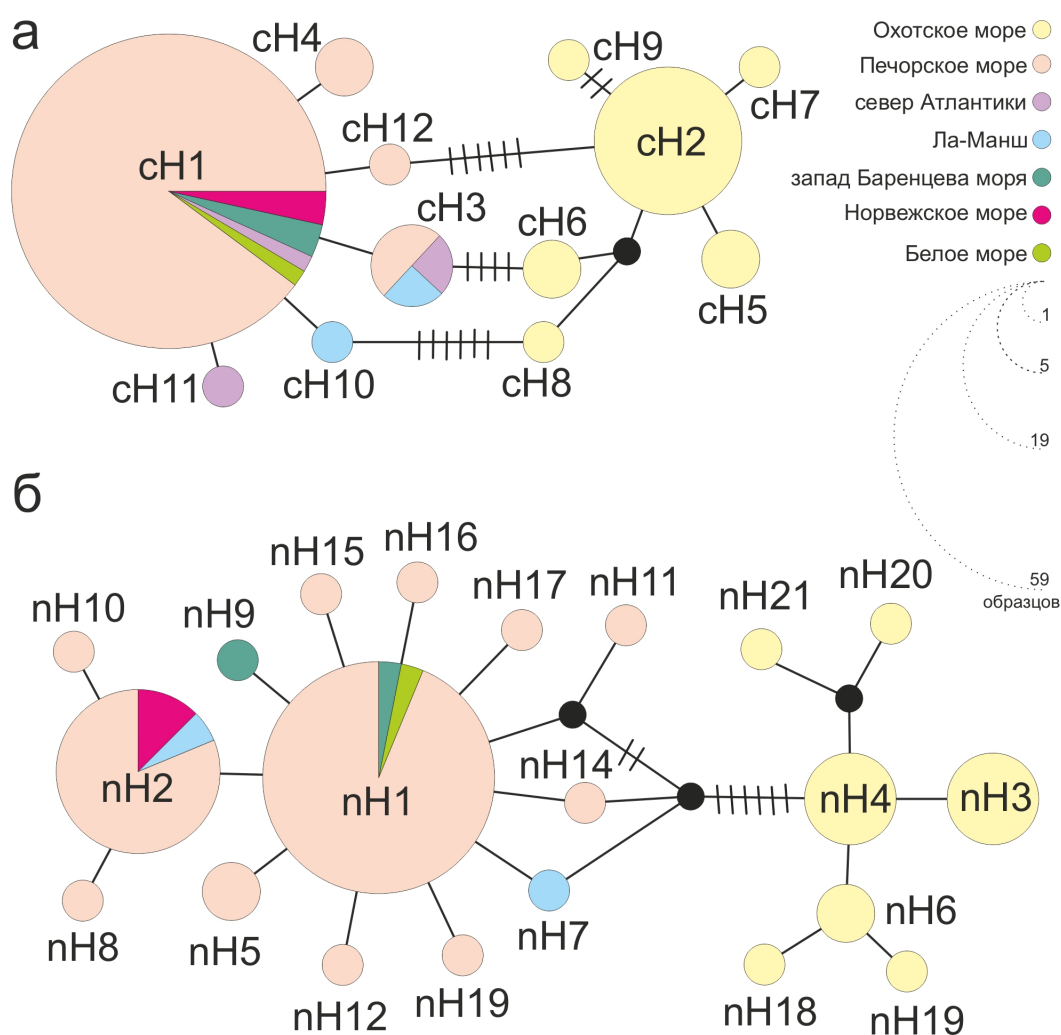


Рисунок 15. Сети гаплотипов для вида *Tristriata anatis* на основе последовательностей генов *cox1* (а) и *nadh1* (б). Размеры кругов отражают частоты гаплотипов. Поперечные линии и черные круги показывают гаплотипы, которые не попали в выборку. (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2020)

Причина сохранения единства вида, возможно, в исторических событиях. В теплые межледниковья Плейстоцена могли происходить трансарктические перелеты птиц, а литорины могли расширять свой ареал с запада и востока вдоль побережья морей бассейна Северного Ледовитого океана. В это время, видимо, мог происходить генетический обмен между европейской и тихоокеанской популяциями *T. anatis*. Дополнительное условие для этого – долгая продолжительность жизни марицы у нотокотилид (от месяца и дольше, чего вполне достаточно для того, чтобы преодолеть вместе с хозяином большие расстояния во время миграций).

Доминирование в западной популяции одного (для *cox1*) или двух (для *nadh1*)

гаплотипов, которые встречаются практически во всех точках, говорит о потоке генов между ними. Интересно, что доминантный гаплотип имеют изоляты, собранные в Печорском море в разные годы с 2006 до 2017. По всей видимости, это не является результатом случайной экспансии одного клона паразита в какой-то сезон, а отражает стабильную циркуляцию *T. anatis* и формирование здесь локального очага трансмиссии. Отсутствие второго промежуточного хозяина исключает дополнительную дисперсию паразита. Утки проводят в этом регионе достаточно времени: они успевают не только заразиться, но и, после достижения маритами зрелости, стать источником заражения литторин. О локальном заражении птиц дополнительно говорят два типа наших находок: мариты в сеголетках гаг и молодые мариты, только приступившие к производству яиц, во взрослых птицах.

3.3.5. Итоги

Впервые определён ход жизненного цикла вида *T. anatis*, описаны реди и церкарии и уточнено строение марит. Доказано амфибореальное распространение вида и выполнен филогеографический анализ. Установлена генетическая разобщенность между популяциями в Европе и северо-восточной Азии, причем тихоокеанская популяция паразита, по-видимому, является предковой. Показано, что специфические условия Печорского моря способствуют поддержанию там локального очага трансмиссии *T. anatis*.

3.4. *Catatropis onobae* sp. nov.

3.4.1. История вопроса

Долгое время сосуществовало несколько взглядов на то, как реализуется жизненный цикл нотокотилид, объединяемых под названием "*C. verrucosa*". По одним данным, реди развиваются в моллюсках сем. Planorbidae, церкарии имеют недоразвитый хвост, у них отсутствуют глазки; они не плавают во внешней среде и инцистируются прямо в мантийной полости моллюска – первого промежуточного хозяина (результаты Joueux, 1922 в изложении Dubois, 1951; Odening, 1966). Другие данные показали, что реди развиваются в моллюсках рода *Bithynia* spp., церкарии имеют нормальный хвост и глазки, выходят во внешнюю среду и там инцистируются (Еркина, 1953; Kanev *et al.*, 1994). Наконец, также высказывались предположения о том, что первыми промежуточными хозяевами "*C. verrucosa*" служат морские моллюски литторины (Белопольская, 1952). Очевидно, что такие признаки не могут характеризовать один вид – несмотря на то, что морфологические различия между маритами отсутствуют или минимальны.

Для разрешения противоречий в трактовке жизненного цикла форма из «лёгочных» моллюсков была отнесена к новому роду *Pseudocatatropis* (Kanev, Vasiliev, 1986 цит. по Kanev *et al.*, 1994); на данный момент к нему относятся виды *P. joyeuxi* и *P. dvoryadkini*. Статус «морского» *Catatropis* оставался неясным. При попытке найти стадии развития этого вида в литторинах был описан жизненный цикл другого вида нотокотилид – *T. anatis* (раздел 3.3.).

3.4.2. Ход жизненного цикла, морфология редий и церкарий

В моллюсках *O. aculeus* были обнаружены редии и церкарии нотокотилид, которые по маркерным последовательностям ДНК (28S рДНК, ITS1) оказались идентичны маритам рода *Catatropis*, обнаруженным в гагах (Gonchar, Galaktionov, 2021).

Размер редий (рис. 16а) варьирует в широких пределах, 218–800 (492) × 106–234 (174); глотка 31–49 (43) × 31–44 (37). Зрелые редии содержат зародышевые шары, эмбрионы церкарий и 3–5 развивающихся церкарий. Размер церкарий (рис. 16б) 243–361 (300) × 118–180 (145); хвост 322–588 (463) × 33–48 (41); ротовая присоска 27–40 × 30–43, брюшной присоски нет. Церкария несет три глазка и дорсальные прикрепительные кармашки. Главные собирательные каналы сливаются в передней части с образованием отростка. Таким образом, церкарии соответствуют морфотипу *Yenchingensis*. Диаметр экскреторных гранул 1.45–2.28 (1.86, n=38), они расположены по 1–2 в ряд. Цистогенные железы содержат однородные гранулы секрета.



Рисунок 16. Микрофотографии редии (а) и церкарии (б) *Catatropis onobae*. Масштабная линейка 200 мкм. (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2021)

Заражённые улитки были обнаружены на Белом море, в юго-западной части Баренцева моря и в Исландии. В Печорском море, судя по данным о заражении гаг, паразит также должен встречаться в моллюсках; *O. aculeus* известны из этого региона (Гурьянова, Ушаков, 1928), но отсутствовали в наших пробах. Ранее на Баренцевом море в *O. aculeus* находили *Cercaria Notocotylus* 2 Tschubrik, 1966 – церкарий с типичным для нотокотилид обликом, описание которых, однако, не позволяет однозначно соотнести их с нашим материалом. В других упоминаниях отсутствуют описания и рисунки (Gorbushin, Levakin, 1999; Galaktionov, Skírnisson, 2000, Skírnisson, Galaktionov, 2002). Остальные трематоды, паразитирующие в *O. aculeus*, заметно отличаются от представителей Notocotylidae (Зеликман, 1966; Чубрик, 1966; Подлипаев, 1979; Kjøie, 1985; Galaktionov, Skírnisson, 2000, Skírnisson, Galaktionov, 2002).

3.4.3. Идентификация видов рода *Catatropis*

Мариты, полученные нами из обыкновенных гаг (рис. 17), по своему строению должны быть отнесены к роду *Catatropis*, но отличаются почти от всех других видов этого рода по комбинации следующих признаков: число вентральных папилл в латеральных рядах; положение гонопора относительно точки бифуркации кишки; соотношение длины метратерма и сумки цирруса; положение проксимального конца сумки цирруса и передних желточных фолликулов относительно переднего конца тела; и вид окончательного хозяина. При этом наиболее близки к ним морфологически виды *Catatropis hatcheri* Flores & Brugni, 2006 и *C. chilinae*, а также виды из пресноводных моллюсков: собственно *C. verrucosa* и *Pseudocatatropis* spp. Первые два вида отличаются от нового соотношением длин сумки цирруса и метратерма, и отмечены они только в Южной Америке. Сложнее, исторически, дифференцировать *C. onobae* от видов *C. verrucosa* и *P. joyeuxi*. Детальное сравнение марит этих видов (на основе ключевых работ: Odhner, 1905; Joyeux, 1922; Еркина, 1953; Odening, 1966; Kanev et al., 1994) показало их высокое сходство. Тем не менее, ряд признаков указывает на обоснованность выделения нескольких видов, в т. ч. и нового *C. onobae*.

C. onobae – пока единственный вид р. *Catatropis*, первым промежуточным хозяином для которого служат морские моллюски надсем. Rissooidea. Церкарии *C. onobae* из *O. aculeus* относятся к морфотипу *Yenchingensis*, и отличие по этому признаку от церкарий *C. verrucosa* sensu Kanev et al., 1994 неоднозначно. Судя по иллюстрации (Kanev et al., 1994, с. 135, рис. 6), последние относятся к морфотипу *Monostomi*, однако в той же работе в текстовом описании упоминается короткий отросток главных собирательных каналов (Kanev et al., 1994). Отличие церкарий *C. onobae* от церкарий *P. joyeuxi* и *P. dvoryadkini* очевидно, т. к. последние имеют атипичное строение (недоразвитый хвост, отсутствие пигментированных глазков) и поведение

(не выходят во внешнюю среду). Также вид *C. onobaе* отличает реализация жизненного цикла в экосистемах морского побережья. Остальные рассмотренные виды связаны своими жизненными циклами с пресноводными биотопами.

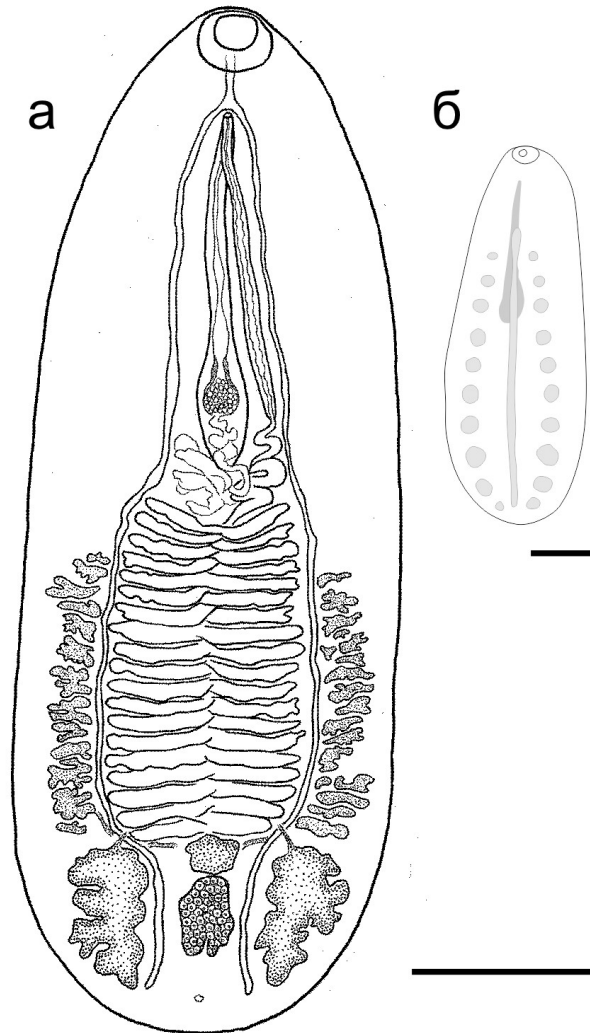


Рисунок 17. Марита *Catatropis onobaе* – рисунок (а) и схема расположения вентральных органов (б). Масштабная линейка 500 мкм. (С изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2021)

Обобщение выявленных между *C. verrucosa* и *C. onobaе* различий приведено в Таблице 5. Мариты этих видов предельно схожи морфологически, но выделение двух видов оправдано данными о первом промежуточном хозяине и стадиях, развивающихся в нем. Важно отметить, что, поскольку Однер (Odhner, 1905) работал с морским материалом, переписание им *C. verrucosa* в реальности, вероятнее всего, относится к его «двойнику» – *C. onobaе*. Вторая пара близких видов (они отнесены сейчас к другому роду и, вероятно, географически друг от друга изолированы) – это *P. joyeuxi* и *P. dvoryadkini*. С появлением молекулярно-генетических данных для видов *C. verrucosa* и *P. joyeuxi* взаимоотношения в пределах этих двух пар видов должны окончательно проясниться.

Таблица 5. Отличия внутри двух групп видов рр. *Catatropis* и *Pseudocatropis* и между ними (с изменениями из Gonchar, Galaktionov, 2021).

	группа “ <i>C. verrucosa</i> ”		группа “ <i>P. joyeuxi</i> ”	
	<i>C. verrucosa</i>	<i>C. onobae</i>	<i>P. joyeuxi</i>	<i>P. dvoryadkini</i>
Географическое происхождение Мариты:	центральная Европа	побережья европейских морей	центральная Европа	Дальний Восток
–длина тела	2300–5700	1775–3375 (2657)	1400–1720	1525–1728
–число папилл	9–14	8–12 (9)	8	6–9
–метр./бурс, %	76–100	73–92 (83)	63–79	45–56 (50)
Длина яиц	25–30	15.3–18.7	18–20	19–23
Промежут. хоз.	<i>Bithynia</i> spp.	<i>Onoba aculeus</i>	Planorbidae	<i>Helicorbis suffunensis</i> Starobogatov, 1957 (Planorbidae)
Церкарии	типичные, <i>Monostomi</i> / <i>Yenchingensis</i>	типичные, <i>Yenchingensis</i>	с неразвитым хвостом и без глаз, <i>Imbricata</i>	с неразвитым хвостом и без глаз, <i>Imbricata</i>

На основании данных из работ, в которых описывался жизненный цикл: Joyeux, 1922; Dubois, 1951; Еркина, 1953; Odening, 1966; Kanev et al., 1994; Izrailskaia et al., 2019, наши данные); метр./бурс. – соотношение длины метратерма и длины сумки цирруса; число папилл – число папилл в каждом латеральном ряду

3.4.4. Итоги

Впервые показано, что промежуточным хозяином для представителей рода *Catatropis* из обыкновенных гаг служат моллюски *O. aculeus*. На основе данных о жизненном цикле и строении церкарий эти формы отнесены к новому виду *C. onobae* sp. nov. Он принадлежит паре видов “*Catatropis verrucosa*”, неотличимых друг от друга на стадии мариты. Исходя из полученных результатов, важно, чтобы в будущем идентификация видов “*Catatropis verrucosa*” осуществлялась с учётом не только молекулярных данных, но и вида моллюска-хозяина и строения церкарий. Если эти данные недоступны, то мариты должны сопоставляться с описаниями из экспериментальных работ по *C. verrucosa* (Еркина, 1953; Kanev et al., 1994) и *P. joyeuxi* (Joyeux, 1922; Odening, 1966).

3.5. Филогения сем. Notocotylidae

3.5.1. Набор данных для филогенетического анализа

Полученные в ходе работы маркерные последовательности ДНК Notocotylidae были проанализированы вместе с данными, отобранными в NCBI Nucleotide database (GenBank). На дату 30.07.2022 для семейства доступна 761 последовательность (поиск *Notocotylidae[Organism]*), из них 289 получены в ходе данного исследования (поиск

Notocotylidae[*Organism*]) AND *Gonchar*[*Author*]) и 472 – другого авторства.

Из всего набора 438 последовательностей относятся к митохондриальной ДНК; среди них два полных митогенома – для видов *Ogmocotyle sikae* (Yamaguti, 1933) Ruiz, 1946 (KR006934) и *N. intestinalis* (MT560390) – и фрагменты митохондриальных генов первой субъединицы цитохром оксидазы с (*cox1* – 356) и первой субъединицы NADH-дегидрогеназы (*nadh1* – 77). Все остальные последовательности (323) являются фрагментами рибосомного оперона. Участок 28S рРНК с вариабельными доменами D1–D3 доступен для наибольшего числа видов, и именно он был использован для филогенетического анализа семейства.

При подготовке выравнивания были использованы все доступные в GenBank уникальные последовательности 28S рДНК для *Notocotylidae* длиной от 931 пары нуклеотидов (п. н.), а также последовательность *Diplodiscus subclavatus* (Goeze, 1782) в качестве внешней группы. При этом в последовательности были внесены отдельные однонуклеотидные исправления там, где были веские основания подозревать ошибку прочтения. В полностью консервативных (у всех нотокотилид и во внешней группе) позициях: (1) удалены однонуклеотидные инсерции; (2) неоднозначные нуклеотиды и делеции заменены на консенсусный вариант. В неконсервативных позициях делеции заменены на N. Всего в анализ было включено 27 последовательностей других авторов (Табл. 6).

В ходе наших исследований получены последовательности 28S рДНК для 11 видов нотокотилид (Табл. 6). Пять из них рассмотрены в разделах 3.1.–3.4.: это *Paramonostomum alveatum*, *P. anatis*, *Notocotylus atlanticus*, *Tristriata anatis* и *Catatropis onobae* sp. nov. Четыре вида были нами обнаружены только на стадии мариты (*Catatropis* sp. из гаг на Охотском море) или только в моллюсках (*Notocotylidae* gen. sp. 4, 5 из *P. ulvae* и sp. 6 из *L. saxatilis* на Белом море). Ещё один вид – это *Parapronocephalum symmetricum*, чей жизненный цикл был известен на Баренцевом море (Белопольская, 1952). Исследование последних пяти видов продолжается и выходит за рамки данной работы. Однако, мы включили весь имеющийся материал в филогенетический анализ.

Таким образом, всего в него вошло 38 видов, и общая длина выравнивания последовательностей фрагмента 28S рДНК для этих видов составила 1258 п. н..

Этот набор данных был использован для построения филогенетического дерева методом Байеса (эволюционная модель GTR + I +G, в соответствии с оценкой в программе jModelTest 2.1.10). Соотнесение полученного филогенетического сценария с другими типами данных (о морфологии, экологии, распространении) позволяет выявить некоторые закономерности в эволюции нотокотилид.

Таблица 6. Информация о последовательностях 28S рДНК, включённых в филогенетический анализ.

Вид	GenBank ID	хозяин	Авторы
Данные других авторов			
<i>Paramonostomum anatis</i>	AF184258	<i>Tringa erythropus</i>	Tkach et al., 2001
<i>Notocotylus attenuatus</i>	AF184259	<i>Aythya ferina</i>	Tkach et al., 2001
<i>Notocotylus</i> sp. UK-PO-2003	AY222219	<i>Stagnicola palustris</i>	Olson et al., 2003
<i>Catatropis indicus</i>	AY222220	<i>Cairina moschata</i>	Olson et al., 2003
<i>Pronocephaloidea</i> sp. S5M1A5(M)	EU371602	<i>Potamopyrgus antipodarum?</i>	Adema et al., 2009
<i>Notocotylus</i> sp. BH-2008	EU712725	<i>Physa gyrina</i>	Hanelt, 2009
<i>Notocotylus malhamensis</i>	JQ766939	<i>Myodes glareolus / Microtus agrestis</i>	Boyce et al., 2012
<i>Notocotylus intestinalis</i>	JQ890559	<i>Gallus gallus</i> dom. *	Besprozvannykh et al., 2013
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 1 NZ	KJ868210	<i>Austrolittorina antipodum</i>	O'Dwyer et al., 2014
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 2 NZ	KJ868214	<i>Austrolittorina antipodum</i>	O'Dwyer et al., 2014
<i>Ogmogaster antarctica</i>	KM258675	<i>Balaenoptera borealis</i>	Fraija-Fernández et al., 2015
<i>Pseudocatropis</i> sp. AMU2020	LC596916	<i>Anas penelope</i>	Sasaki et al., 2021
<i>Notocotylus ikutai</i> H126	LC596925	<i>Radix auricularia</i>	Sasaki et al., 2021
<i>Notocotylus magniovatus</i>	LC596926	<i>Semisulcospira libertina</i>	Sasaki et al., 2021
<i>Notocotylus</i> sp. A MN-2021	LC599518	<i>Radix auricularia</i>	Nakao, Sasaki, 2021
<i>Catatropis vietnamensis</i>	MH750019	<i>Anas platyrhynchos</i> *	Izrailskaia et al., 2019
<i>Pseudocatropis dvoryadkini</i>	MH750022	<i>Anas platyrhynchos</i> *	Izrailskaia et al., 2019
<i>Notocotylus primulus</i>	MH880281	<i>Lophonetta specularioides</i>	Diaz et al., 2020
<i>Notocotylus fosteri</i>	MK614163	<i>Oryzomys palustris</i>	Diaz et al., 2020
<i>Hippocrepis hippocrepis</i>	MN270932	<i>Biomphalaria straminea</i>	Assis et al., 2019
<i>Notocotylus</i> sp. OK-2019 N11K0	MN726956	<i>Bithynia tentaculata</i>	Schwelm et al., 2020
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. OK-2019	MN726958	<i>Bithynia tentaculata</i>	Schwelm et al., 2020
<i>Notocotylus chionis</i>	MN877911	<i>Calidris fuscicollis</i>	Capasso et al., 2020
<i>Notocotylus</i> sp. CMA-2020	MW358653	<i>Physella acuta</i>	Adema, unpublished (2020)
<i>Quinqueserialis quinqueserialis</i>	MW934288	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Gagnon et al., 2021
<i>Quinqueserialis kinsellai</i>	MW934291	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Gagnon et al., 2021
<i>Catatropis</i> sp. HMN-2022	ON986399	<i>Bithynia funiculata</i>	Nguyen, unpublished (2022)
Данные, полученные в этой работе			
<i>Notocotylus atlanticus</i>	MH818008	<i>Anas platyrhynchos</i>	Gonchar et al., 2019
<i>Catatropis onobae</i> (174)	MN963021	<i>Onoba aculeus</i>	Gonchar, Galaktionov, 2021
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 5 (180)		<i>Peringia ulvae</i>	
<i>Paramonostomum alveatum</i> (167)		<i>Peringia ulvae</i>	
<i>Paramonostomum alveatum</i> ? (102)		<i>Somateria mollissima</i>	
<i>Parapronocephalum symmetricum</i> (79)		<i>Littorina obtusata</i>	
<i>Paramonostomum anatis</i> ? (179)		<i>Ecrobia ventrosa</i>	
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 6 (171)		<i>Littorina saxatilis</i>	
<i>Tristriata anatis</i> (134)		<i>Littorina saxatilis</i>	
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 4 (175)		<i>Peringia ulvae</i>	
<i>Catatropis</i> sp. (50)		<i>Somateria mollissima</i>	
Внешняя группа			
<i>Diplodiscus subclavatus</i>	AY222212	<i>Pelophylax ridibundus</i>	Olson et al., 2003

* – экспериментально заражённый хозяин

3.5.2. Эволюционные закономерности

На дереве выделяются три клады с высокими значениями поддержки (апостериорных вероятностей) (рис. 18). При этом филогенетическое положение части образцов остается неопределённым; некоторые из них формируют сестринские пары видов (например, *Notocotylus*

primulus Diaz et al., 2020 и *Notocotylus chionis* Baylis 1928, *P. anatis* и “*P. anatis*”). Неполнота достигнутого разрешения объясняется, во-первых, ограниченностью набора данных по сравнению с реальным разнообразием семейства; и, во-вторых, использованием лишь одного маркерного фрагмента ДНК. Две эти проблемы взаимосвязаны и пока не могут быть решены, а предлагаемое нами дерево – максимально информативное из того, что доступно на данный момент для сем. Notocotylidae.

Географическое происхождение включённых в анализ образцов охватывает многие регионы, но не является равномерным. Наиболее широко представлены Европа и Азия, в меньшей степени – Америка, Австралия и Новая Зеландия; отсутствует материал из Африки. Исходя из имеющейся информации, филогенетическая близость видов не связана с географической, но есть и возможный пример такого соответствия: виды *N. primulus* и *N. chionis* из Южной Америки. Более того, новый южноамериканский вид *Paramonostomum deseado* n. sp. (МК713356, не был включён в наш анализ из-за малой длины сиквенса 28S рДНК), также группируется вместе с ними (Bagnato et al., 2022). *Hippocrepis hippocrepis* (Diesing, 1850) также из Южной Америки, но не оказывается в этой кладе. Это можно объяснить значимостью другого фактора: его окончательный хозяин – капибара, а для трёх упомянутых выше видов это птицы.

Картирование морфологических признаков марит, традиционно используемых при выделении родов, на полученное филогенетическое дерево указывает на их несостоятельность. Роды, выделенные на основе строения вентральных органов (это, прежде всего, *Notocotylus*, *Catatropis*, *Paramonostomum*), не монофилетичны. При этом в некоторых кладах (в особенности, более мелких) мариты имеют общий тип строения вентральных органов. Например, в кладе А входят представители *Notocotylus* и *Catatropis*, но внутри этой клады они группируются отдельно. Клада В включает представителей разных родов – *Notocotylus*, *Pseudocatatropis*, *Quinqueserialis* и *Hippocrepis*, – но они тоже сгруппированы. В кладе С строение марит известно только для трёх видов из семи, но все они относятся к *Catatropis* – возможно, это свойственно и другим видам этой клады. *Paramonostomum* встречаются в двух разных кладах на дереве, родственность которых пока неясна.

Положение на дереве родов помимо трёх «классических» также не показывает очевидных закономерностей. Например, мариты с «воротничком» характерны для *H. hippocrepis* и *P. symmetricum*, но они не оказываются близкими родственниками. При этом *P. symmetricum* группируется с *T. anatis* – видом, у марит которого три вентральных гребня, а *Ogmogaster antarctica* Johnston, 1931 (мариты с пятью вентральными гребнями) занимает обособленное положение.

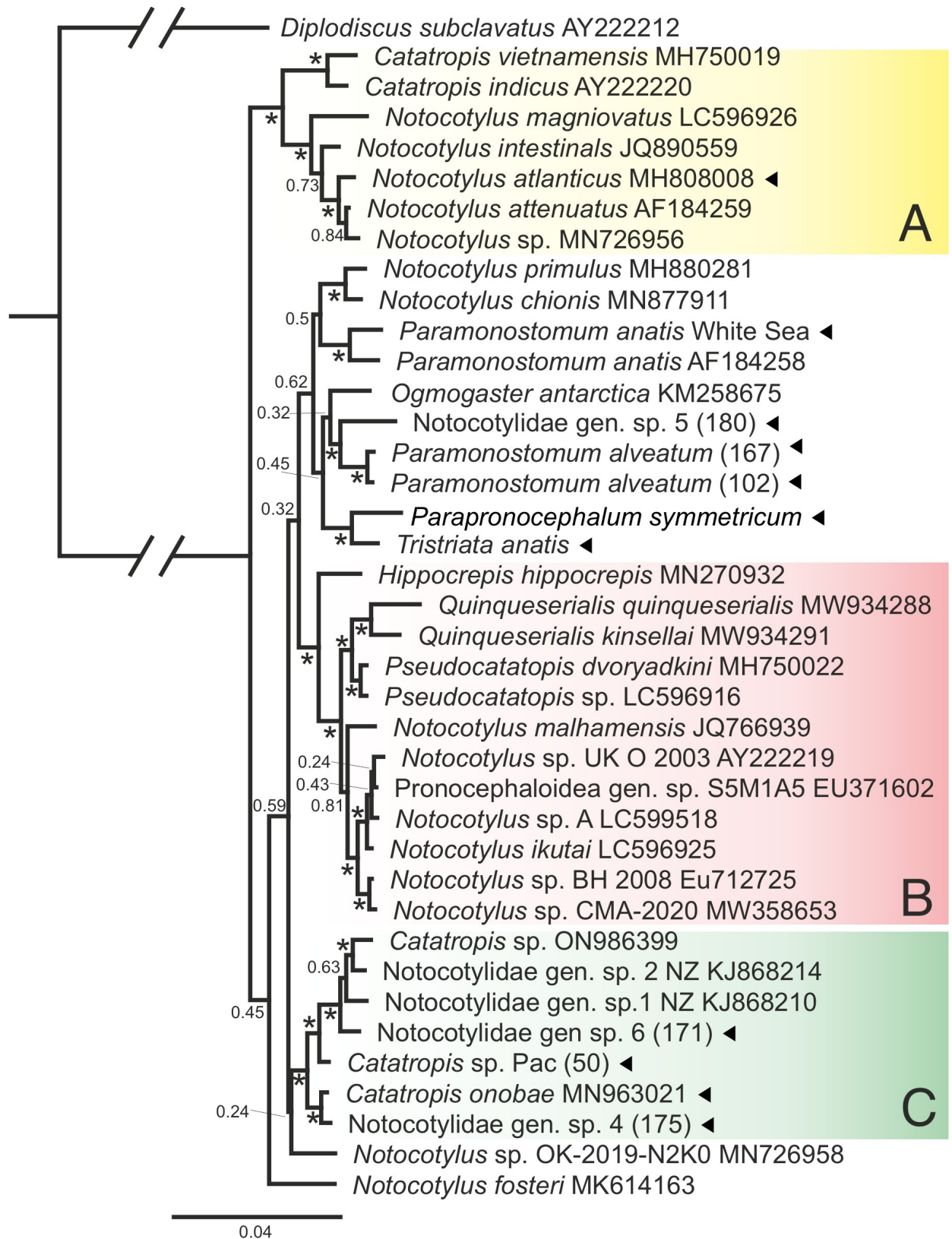


Рисунок 18. Филогенетическое дерево для сем. Notocotylidae, построенное методом Байеса на основе фрагмента 28S рДНК. В узлах отмечены апостериорные вероятности, значения выше 0.90 заменены звёздочками. Треугольниками отмечены виды, последовательности для которых были получены в данном исследовании. Масштабная линейка показывает число замен на одну позицию выравнивания.

Всё это свидетельствует о необходимости крупной перестройки в систематике семейства, подразумевающей изменение состава существующих родов и выделение новых. Один шаг в этом направлении уже предпринят: описан род *Pseudocatatropis* Kanev & Vassilev, 1986 с маритами, отвечающими диагнозу р. *Catatropis*, но со своеобразным жизненным циклом (Kanev et al., 1994; Izrailskaia et al., 2019). Это предложение не было поддержано, исходя из консервативного понимания строгих критериев в диагностике родов у трематод, в авторитетном издании “Keys to Trematoda” (Barton, Blair, 2005), но впоследствии получило экспертное одобрение на портале WRoMS (WoRMS Editorial Board. 2022 – дата обращения 31.07.2022) и уже может считаться устоявшимся. По мере продолжения ревизии семейства традиционные названия родов (*Notocotylus*, *Catatropis*, *Paramonostomum*), возможно, будут использованы для обозначения «морфотипов» марит, не имеющих таксономического значения. Подобная система морфотипов уже существует для церкарий нотокотилид.

Данные о строении (по крайней мере о морфотипе) церкарий большинства видов нотокотилид, представленных на дереве, отсутствуют, поэтому рассуждать о потенциальной значимости этого признака в контексте представленной о филогении семейства невозможно. Однако сведения из литературы и наши результаты (разделы 3.1.–3.4.) говорят об отсутствии таксономического значения морфотипов церкарий на уровне выше видового.

Важно, однако, отметить, что aberrantный среди нотокотилид вариант церкарий – без глазков, с недоразвитым хвостом, не выходящих во внешнюю среду и инцистирующихся в первом промежуточном хозяине – встречается в двух не связанных непосредственным родством кладах (*P. symmetricum* и *Pseudocatatropis* spp.). Видимо, такое сокращение путей циркуляции произошло у нотокотилид независимо, по крайней мере, дважды.

Окончательными хозяевами нотокотилид могут быть птицы и млекопитающие. Распределение этих двух вариантов по филогенетическому дереву показывает, что вариант хозяев – птиц более распространен и встречается во всех кладах. Это говорит о том, что происхождение и радиация нотокотилид связаны именно с паразитированием в птицах. Переход на млекопитающих осуществлялся независимо в разных кладах (несколько видов в кладе В, а также виды *N. fosteri* Kinsella, Tkach, 2005 и *O. antarctica*). Возможно, существуют даже клады, приуроченные только к птицам, однако явных закономерностей в отношении окончательных хозяев не наблюдается.

Иная картина складывается при попытке оценить таксономическую принадлежность первых промежуточных хозяев у нотокотилид, включенных в филогенетический анализ. Оказывается, что большинство из них паразитируют в представителях Caenogastropoda. Лишь в одной кладе (В) в качестве первых промежуточных хозяев используются «лёгочные» моллюски

(Heterobranchia). Для трёх видов нотокотилид, представленных на дереве, данные о моллюсках-хозяевах отсутствуют, поэтому сохраняется доля неопределённости в трактовке полученной картины. Однако есть все основания предполагать, что представители Notocotylidae перешли к заражению «лёгочных» моллюсков единожды в своей эволюционной истории.

4. Заключение

Проведенные исследования были сфокусированы на разнообразии трематод сем. Notocotylidae в прибрежных экосистемах северных морей, с акцентом на их жизненных циклах. Материал работы включил 11 видов, которые проходят своё развитие в моллюсках из обозначенного региона, преимущественно его европейской части. Только два из этих видов были известны там ранее. Методически работа была построена на комбинировании нескольких источников информации (морфологических, молекулярно-генетических и экологических) для составления наиболее полной картины. Полученные результаты позволяют сформулировать ряд заключительных идей.

В сем. Notocotylidae есть тенденция к формированию групп видов с практически неотличимыми морфологически маркерами. Об этом свидетельствуют описание вида *C. opobae* sp. nov. и обоснование новых данных о распространении вида *N. atlanticus* в Европе и Азии. Ещё один такой пример, вероятно, – это пара видов, обозначенных сейчас как *P. anatis*. Для сем. Notocotylidae, как и для других групп трематод, формирование адекватного представления о разнообразии требует интегративного подхода, заключающегося в сочетании морфологических и молекулярных данных с информацией о жизненном цикле. Это позволит более точно определять понятие «криптические виды», которое до недавнего времени имело относительно вольные трактовки и широко применялось в отношении трематод (Bray et al., 2022).

Принципы, лежащие в основе таксономии сем. Notocotylidae, не поддерживаются по результатам молекулярно-филогенетического анализа, однако новые критерии выделения родов в этом семействе пока не выявлены.

Наше исследование дополнило перечень видов, включенных в молекулярно-филогенетический анализ, на 40% (плюс 11 видов к 27 из GenBank). Это, однако, не позволило полноценно реконструировать филогению семейства. Некоторые клады имеют высокую поддержку, но положение на нём как минимум трети видов абсолютно не ясно. По крайней мере, монофилия семейства (в т. ч. принадлежность к нему рода *Parapronocephalum* – спорный прежде вопрос) не вызывает сомнения. Чтобы улучшить разрешение филогенетического дерева, необходимо увеличение длины выравнивания и числа видов.

В отношении более длинного маркерного фрагмента ДНК на данный момент наиболее подходящим видится участок рибосомного оперона 5.8S+ITS2 и/или 18S (они уже доступны для ряда видов, обладают некоторой степенью вариабельности и хорошо выравниваются). Принципиально важно сфокусировать усилия разных исследователей на одинаковом фрагменте, чтобы при увеличении длины выравнивания не уменьшался набор видов. ITS1 имеет

плохие перспективы для филогении из-за наличия повторов, которые затрудняют выравнивание, но подходит как один из элементов для идентификации видов.

В отношении роста числа видов в анализе, вероятно, наиболее востребованы будут исследования, выполненные за пределами Европы. Отчасти такие тенденции уже есть в Америке (Assis et al., 2019; Diaz et al., 2020; Gagnon et al., 2021) и восточной Азии (Izrailskaia et al., 2019; Sasaki et al., 2021). С продолжением изучения «морской» фауны нотокотилид в Европе связаны некоторые мои дальнейшие научные задачи. Наконец, особый интерес представляют «пресноводные» виды, в особенности развивающиеся в моллюсках Heterobranchia: действительно ли они формируют одну монофилетическую группу в пределах сем. Notocotylidae, как это представляется с нынешним набором данных?

С помощью секвенирования переменных митохондриальных маркеров нам удалось показать распространение вида *T. anatis* и на северо-западе Европы, и на северо-востоке Азии. Подобное трансконтинентальное распространение мы обнаружили и для вида *N. atlanticus*, причём те же данные были использованы для проверки гипотезы о принадлежности образцов разного географического происхождения к одному виду (методом анализа “barcode gap”). Эти примеры свидетельствуют об актуальности использования данных по внутривидовому генетическому разнообразию как для подтверждения видового статуса, так и для уточнения данных о распространении вида и построения филогеографических реконструкций. Его оценкой крайне желательно сопровождать документацию разнообразия нотокотилид (и других трематод), в дополнение к прочтению достаточно протяженного фрагмента общепринятого консервативного маркера (рДНК).

Выполненные исследования не ограничены материалом из Белого моря, но в большой степени на них базируются. Этот регион можно считать модельным в отношении изучения разнообразия и жизненных циклов трематод. На данный момент представители Notocotylidae описаны здесь более полно, чем в других частях мира.

5. Выводы

1. Промежуточным хозяином для представителей рода *Catatropis*, паразитирующих на стадии мариты в обыкновенных гагах, служат моллюски *Onoba aculeus*. Эти трематоды представляют собой новый для науки вид, который описан нами как *Catatropis onobae* sp. nov.

2. На основании особенностей жизненного цикла и по молекулярным маркерам впервые в Палеарктике идентифицирован вид *Notocotylus atlanticus*, а также сделано заключение о его распространении и в Европе, и в Азии.

3. В моллюсках *Ecrobia ventrosa* паразитируют редии и церкарии двух видов рода *Paramonostomum* – *P. alveatum* и *P. anatis*, различающиеся морфологически, по молекулярным данным и по своей способности к избирательному инцистированию на субстрате. Инцистирование церкарий обоих видов на живых субстратах может способствовать их трофической трансмиссии.

4. Первым промежуточным хозяином для *Tristriata anatis* служат моллюски рода *Littorina*. *T. anatis* характеризуется амфибореальным распространением; европейские и тихоокеанские популяции этого вида генетически разобщены, при этом тихоокеанская популяция, по-видимому, является предковой. Локальный очаг трансмиссии *T. anatis* поддерживается на побережье Печорского моря.

5. Морфологический и молекулярно-филогенетический анализ указывают, что признаки строения вентральных органов не характеризуют таксоны надвидового ранга в сем. Notocotylidae. Крупные группы маркируются принадлежностью промежуточных хозяев к Caenogastropoda или Heterobranchia. Для дифференциации видов принципиальными являются данные о жизненном цикле. При этом специфичность к промежуточному хозяину может варьировать, но ограничена надсемейством моллюсков.

6. Благодарности

Я благодарна своему научному руководителю Кириллу Владимировичу Галактионову – за возможность действовать самостоятельно, но при этом всегда знать, что помощь рядом; за терпение и неизменно доброжелательную поддержку.

Я признательна администрации и сотрудникам двух биостанций: Беломорской биологической станции Зоологического института РАН «Картеш» (в особенности, Кириллу Евгеньевичу Николаеву) и Учебно-научной базы «Беломорская» Санкт-Петербургского государственного университета.

С большой благодарностью я хотела бы упомянуть коллег из Зоологического института: Лаборатории по изучению паразитических червей и протистов (в особенности, Анну Ивановну Соловьёву); и из Лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики (в особенности, Наталью Иосифовну Абрамсон и Семёна Юрьевича Бодрова).

Часть молекулярно-генетических исследований я выполнила в Научном парке СПбГУ (ресурсный центр «Развитие клеточных и молекулярных технологий»). Там же Алексей Эльвинович Машарский и Анна Эдуардовна Романович отсековировали для меня бесчисленное множество образцов – огромное им за это спасибо.

Я очень ценю принадлежность к удивительной команде единомышленников – кафедре зоологии беспозвоночных СПбГУ, и говорю «спасибо» всем коллегам. При этом Георгию Сергеевичу Слюсареву и Сергею Викторовичу Багрову – дополнительные благодарности за помощь в сборе марит трематод; а Дарье Юрьевне Крупенко и Георгию Артуровичу Кремневу – за совместные размышления о трематодах.

Отдельная благодарность заведующему кафедрой зоологии беспозвоночных СПбГУ Андрею Игоревичу Грановичу: это отражение того, что именно этот человек когда-то впервые вдохновил меня зоологией и с тех пор не перестаёт быть ориентиром.

Для выражения благодарности Андрею Александровичу Добровольскому мне не найти подходящих слов. Как жаль, что в отношении этого текста я не услышу его критику, из которой одна за другой выросли бы новые идеи, мысли и планы.

Спасибо моей маме Ирине Александровне Гончар за то, что она спрашивала меня «Ну что, когда у тебя защита?» на протяжении пяти лет (на самом деле, за другое). Спасибо маленькому Фёдору – как минимум, за ежедневное напоминание о том, как выглядит настоящее любопытство. Огромное спасибо моему мужу и коллеге-зоологу Петру Александровичу Смирнову: домашняя и рабочая поддержка с его стороны стоит за каждой написанной страницей.

7. Список литературы

1. Алексеев В.М. 1962. Роль креветок в распространении нотокотилеоза. Зоологический журнал. 41(8):125–1257.
2. Белопольская М.М. 1952. Паразитофауна морских водоплавающих птиц. Учёные записки ЛГУ. Серия биологических наук. 141(28):127–180.
3. Гаркави Б.Л. 1968. Циклы развития *Paramonostomum pseudalveatum* Price, 1931 и *Paramonostomum anatis* Garkawi, 1965 (Trematoda, Notocotylidae). В кн.: Гагарин и др. (ред.), Гельминты человека, животных и растений и меры борьбы с ними. М.: Наука, 140–145.
4. Горбушин А.М. 1992. О видовом составе моллюсков рода *Hydrobia* (Gastropoda, Prosobranchia) в Белом море. Зоологический журнал. 71(9): 47–56.
5. Гурьянова Е., Ушаков П. 1928. К фауне Черной губы на Новой Земле. В кн.: Дерюгин К. (ред.) Исследования морей СССР. Вып. 6. Ленинград: Ленинградский гидрологический институт, с. 3–72.
6. Дворянkin В.А. 1987. Морфология и жизненный цикл *Catatropis morosovi* (Trematoda, Notocotylidae) – паразита мышевидных грызунов. Гельминты и вызываемые ими заболевания. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 29–33.
7. Еркина Н.А. 1953. Жизненный цикл *Catatropis verrucosa* (Frölich, 1789). В кн.: Скрыбин К.И. (ред.), Трематоды животных и человека. Основы трематодологии. Том VIII. М.: Издательство Академии наук СССР, с. 106–117.
8. Зеликман Э.А. 1966. Некоторые эколого-паразитологические связи на литорали северной части Кандалакшского залива. Труды ММБИ. 10(14): 7–77.
9. Кулачкова В.Г. 1954. Жизненный цикл и патогенное значение трематоды гаги *Paramonostomum alveatum* (Mehlis, 1846). Труды проблемных и тематических совещаний ЗИН. 4:118–122.
10. Кулачкова В.Г. 1961. Годичные и сезонные колебания зараженности гидробий личинками *Paramonostomum alveatum* (Mehlis 1846) Luhe 1909 (Trematodes). Труды Карельского филиала АН СССР. 30:79–89.
11. Подлипаев С.А. 1979. Партениты и личинки трематод литоральных моллюсков Восточного Мурмана. Экологическая и экспериментальная паразитология. Л.: Издательство ЛГУ, 47–101.
12. Полянский Ю.И. 1955. Материалы по паразитологии рыб северных морей СССР. Паразиты рыб Баренцева моря. Труды Зоологического института. 19:5–170.

13. Прокофьев В.В. 2006. Стратегии заражения животных-хозяев церкариями трематод: опыт анализа в экосистемах побережья морей и озер северо-запада России. Дисс. ... доктора биологических наук. Санкт-Петербург. 478 с.
14. Скрябин К.И. 1953. Трематоды животных и человека. Основы трематодологии. Том VIII. М.: Издательство Академии наук СССР. 618 с.
15. Филимонова Л.В. 1985. Трематоды фауны СССР. Нотокотилиды. М.: Наука. 127 с.
16. Цимбалюк А.К., Куликов В.В., Ардашева Н.В., Цимбалюк Е.М. Гельминты беспозвоночных литорали острова Итуруп. В кн.: Животный и растительный мир шельфа Курильских островов. М., Наука, 1978, 64–126.
17. Чубрик Г. К. 1966. Фауна и экология личинок трематод из моллюсков Баренцева и Белого морей. Труды ММБИ. 10(14): 78–158.
18. Шульман С.С., Шульман-Альбова Р.Е. 1953. Паразиты рыб Белого моря. Издательство Академии наук СССР. 201 с.
19. Adema CM, Lun C-M, Hanelt B, Seville RS. 2009. Digenean trematode infections of native freshwater snails and invasive *Potamopyrgus antipodarum* in the Grand Teton National Park/John D. Rockefeller Memorial Parkway Area. *Journal of Parasitology*. 95(1):224–227. doi:10.1645/GE-1614.1.
20. Alexander A, Steel D, Hoekzema K, Mesnick SL, Engelhaupt D, Kerr I, Payne R, Baker CS. 2016. What influences the worldwide genetic structure of sperm whales (*Physeter macrocephalus*)? *Molecular Ecology*. 25(12):2754–2772. doi:10.1111/mec.13638.
21. Assis JCA, Lopez-Hernández D, Pulido-Murillo EA, Melo AL, Pinto HA. 2019. A morphological, molecular and life cycle study of the capybara parasite *Hippocrepis hippocrepis* (Trematoda: Notocotylidae). *PLoS ONE*. 14(8):e0221662. doi:10.1371/journal.pone.0221662.
22. Bagnato E, Gilardoni C, Lauthier JJ, Cremonte F. 2022. *Paramonostomum deseado* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) parasitizing the South American black oystercatcher and their atypical life cycle from the Patagonian coast. *Parasitology*. 149(12):1642–1651. doi:10.1017/S0031182022001159.
23. Barton DP, Blair D. 2005. Family Notocotylidae Lühe, 1909. In: Jones A, Bray RA, Gibson DI, editors. *Keys to the Trematoda: Volume 2*. UK: CABI Publishing. p. 383–396.
24. Bayssade-Dufour C, Albaret J-L, Fermet-Quinet H, Farhati K. 1996. *Catatropis lagunae* n. sp., Trematoda, Notocotylidae, parasite d'oiseaux de mer. *The Canadian Field-Naturalist*. 110:392–402.
25. van Beneden PJ. 1858. Mémoire sur les vers intestinaux. Paris: JB Baillièere et fils.

26. Besprozvannykh VV. 2006. Life cycle of the trematode *Catatropis hisikui* (Notocotylidae) in conditions of Primorsky region. *Vestnik Zoologii*. 40:267–270.
27. Besprozvannykh VV. 2010. Life cycle of the trematode *Notocotylus intestinalis* (Digenea, Notocotylidae) under natural conditions in Primorye Region (Russia). *Vestnik Zoologii*. 43(2):e-1-e-7.
28. Besprozvannykh V, Ngo H, Ha N, Hung N, Rozhkovan K, Ermolenko A. 2013. Descriptions of digenean parasites from three snail species, *Bithynia fuchsiana* (Morelet), *Parafossarulus striatulus* Benson and *Melanoides tuberculata* Müller, in North Vietnam. *Helminthologia*. 50(3):190–204. doi:10.2478/s11687-013-0131-5.
29. Beverley-Burton M, Logan VH. 1976. The ventral papillae of notocotylid trematodes. *The Journal of Parasitology*. 62(1):148. doi:10.2307/3279079.
30. Bisset SA. 1977. *Notocotylus tadornae* n. sp. and *Notocotylus gippyensis* (Beverley-Burton, 1958) (Trematoda: Notocotylidae) from waterfowl in New Zealand: morphology, life history and systematic relations. *Journal of Helminthology*. 51(4):365–372. doi:10.1017/S0022149X00007720.
31. Blasco-Costa I, Cutmore SC, Miller TL, Nolan MJ. 2016. Molecular approaches to trematode systematics: ‘best practice’ and implications for future study. *Systematic Parasitology*. 93(3):295–306. doi:10.1007/s11230-016-9631-2.
32. Boyce K, Hide G, Craig PS, Harris PD, Reynolds C, Pickles A, Rogan MT. 2012. Identification of a new species of digenean *Notocotylus malhamensis* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from the bank vole (*Myodes glareolus*) and the field vole (*Microtus agrestis*). *Parasitology*. 139(12):1630–1639. doi:10.1017/S0031182012000911.
33. Bray RA. 1979. Digenea in marine fishes from the eastern seaboard of Canada. *Journal of Natural History*. 13(4):399–431. doi:10.1080/00222937900770331.
34. Bray RA, Cutmore SC, Cribb TH. 2022. A paradigm for the recognition of cryptic trematode species in tropical Indo-west Pacific fishes: the problematic genus *Preptetos* (Trematoda: Lepocreadiidae). *International Journal for Parasitology*. 52(2–3):169–203. doi:10.1016/j.ijpara.2021.08.004.
35. Brooks DR, Hoberg EP. 2001. Parasite systematics in the 21st century: opportunities and obstacles. *Trends in Parasitology*. 17(6):273–275. doi:10.1016/S1471-4922(01)01894-3.
36. Bruun B. 1971. North American waterfowl in Europe. *British Birds*. 64(385–408).
37. Capasso S, Servián A, Tkach VV, Diaz JI. 2020. *Notocotylus chionis* (Trematoda: Notocotylidae) and *Notocotylus* sp. From shorebirds in southern Patagonian wetlands of Argentina: morphological and molecular studies. *Polar Biology*. 43(12):1957–1966.

- doi:10.1007/s00300-020-02753-9.
38. Ching HL. 1991. Lists of larval worms from marine invertebrates of the Pacific Coast of North America. *Journal of the Helminthological Society of Washington*. 58(1):57–68.
 39. Cort WW. 1914. Larval trematodes from North American fresh-water snails. *The Journal of Parasitology*. 1(2):65–84.
 40. Cort WW, Ameel DJ, van der Woude A. 1948. Studies on germinal development in rediae of the trematode order Fasciolatoidea Szidat, 1936. *The Journal of Parasitology*. 34(5):428–45.
 41. Cribb TH, Bray RA, Littlewood DTJ. 2001. The nature and evolution of the association among digeneans, molluscs and fishes. *International Journal for Parasitology*. 31(9):997–1011. doi:10.1016/S0020-7519(01)00204-1.
 42. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 9(8):772–772. doi:10.1038/nmeth.2109.
 43. Deblock S. 1980. Inventaire des trématodes larvaires parasites des mollusques *Hydrobia* (Prosobranches) des côtes de France. *Parassitologia*. 22(1):1–105.
 44. Diaz JI, Gilardoni C, Lorenti E, Cremonese F. 2020. *Notocotylus primulus* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae) from the crested duck *Lophonetta specularioides* (Aves, Anatidae) from Patagonian coast, southwestern Atlantic ocean. *Parasitology International*. 74:101976. doi:10.1016/j.parint.2019.101976.
 45. Dönges J. 1962. Entwicklungsgeschichtliche und morphologische Untersuchungen an Notocotyliden (Trematoda). *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 22(1). doi:10.1007/BF00260165.
 46. Dubois G. 1951. Etude des trématodes Nord-Américains de la collection E.L. Schiller et révision du genre *Notocotylus* Diesing, 1839. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles*. 74:41–76.
 47. Evans DW, Irwin SWB, Fitzpatrick SM. 1997. Metacercarial encystment and in vivo cultivation of *Cercaria lebouri* Stunkard 1932 (Digenea: Notocotylidae) to adults identified as *Paramonostomum chabaudi* van Strydonck 1965. *International Journal for Parasitology*. 27(11):1299–1304. doi:10.1016/S0020-7519(97)00102-1.
 48. Evans NA. 1982. Effects of copper and zinc on the life cycle of *Notocotylus attenuatus* (Digenea: Notocotylidae). *International Journal for Parasitology*. 12(4):363–369. doi:10.1016/0020-7519(82)90040-6.
 49. Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10(3):564–567. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
 50. Faltýnková A, Kudlai O, Pantoja C, Yakovleva G, Lebedeva D. 2022. Another plea for ‘best

- practice' in molecular approaches to trematode systematics: *Diplostomum* sp. clade Q identified as *Diplostomum baeri* Dubois, 1937 in Europe. *Parasitology*. 149(4):503–518. doi:10.1017/S0031182021002092.
51. Faust EC. 1918. Life history studies on Montana Trematodes. *Illinois Biological Monographs*. 4(1):1–120.
 52. Flores V, Brugni N. 2003. *Catatropis chilinae* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from *Chilina dombeiana* (Gastropoda: Pulmonata) and notes on its life-cycle in Patagonia, Argentina. *Systematic Parasitology*. 54(2):89–96. doi:10.1023/A:1022593810479.
 53. Flores V, Brugni N. 2006. *Catatropis hatcheri* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from *Heleobia hatcheri* (Prosobranchia: Hydrobiidae) and notes on its life-cycle in Patagonia, Argentina. *Systematic Parasitology*. 63(2):109–116. doi:10.1007/s11230-005-9004-8.
 54. Fraija-Fernández N, Olson PD, Crespo EA, Raga JA, Aznar FJ, Fernández M. 2015. Independent host switching events by digenean parasites of cetaceans inferred from ribosomal DNA. *International Journal for Parasitology*. 45(2–3):167–173. doi:10.1016/j.ijpara.2014.10.004.
 55. Frame GW. 1969. New definitive host, range extension, and notes on the morphology of *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953 (Trematoda, Notocotylidae) from southeast Alaska. *Canadian Journal of Zoology*. 47(2):265–266. doi:10.1139/z69-055
 56. Gagnon DK, Detwiler JT. 2019. Broader geographic sampling increases extent of intermediate host specificity for a trematode parasite (Notocotylidae: *Quinqueserialis quinqueserialis*). *Journal of Parasitology*. 105(6):874. doi:10.1645/19-16.
 57. Gagnon DK, Kasl EA, Preisser WC, Belden LK, Detwiler JT. 2021. Morphological and molecular characterization of *Quinqueserialis* (Digenea: Notocotylidae) species diversity in North America. *Parasitology*. 148(9):1083–1091. doi:10.1017/S0031182021000792.
 58. Galaktionov KV, Nikolaev KE, Aristov DA, Levakin IA, Kozminsky EV. 2019. Parasites on the edge: patterns of trematode transmission in the Arctic intertidal at the Pechora Sea (South-eastern Barents sea). *Polar Biology*. 42(9):1719–1737. doi:10.1007/s00300-018-2413-3.
 59. Galaktionov KV, Skírnisson K. 2000. Digeneans from intertidal molluscs of SW Iceland. *Systematic Parasitology*. 47(2):87–101. doi:10.1023/A:1006426117264.
 60. Gonchar A, Galaktionov KV. 2016. Substratum preferences in two notocotylid (Digenea, Notocotylidae) cercariae from *Hydrobia ventrosa* at the White Sea. *Journal of Sea Research*. 113:115–118. doi:10.1016/j.seares.2015.07.006.
 61. Gonchar A, Galaktionov KV. 2017. Life cycle and biology of *Tristriata anatis* (Digenea:

- Notocotylidae): morphological and molecular approaches. *Parasitology Research*. 116(1):45–59. doi:10.1007/s00436-016-5260-6.
62. Gonchar A, Galaktionov KV. 2020. Short communication: New data support phylogeographic patterns in a marine parasite *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae). *Journal of Helminthology*. 94:e79. doi:10.1017/S0022149X19000786.
 63. Gonchar A, Galaktionov KV. 2021. It is marine: distinguishing a new species of *Catatropis* (Digenea: Notocotylidae) from its freshwater twin. *Parasitology*. 148(1):74–83. doi:10.1017/S0031182020001808.
 64. Gonchar A, Galaktionov KV. 2022. The Pacific *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae). *Parasitology International*. 88:102559. doi:10.1016/j.parint.2022.102559.
 65. Gonchar A, Jouet D, Skírnisson K, Krupenko D, Galaktionov KV. 2019. Transatlantic discovery of *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae) based on life cycle data. *Parasitology Research*. 118(5):1445–1456. doi:10.1007/s00436-019-06297-8.
 66. Gorbushin AM, Levakin IA. 1999. The effect of trematode parthenitae on the growth of *Onoba aculeus*, *Littorina saxatilis* and *L. obtusata* (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 79(2):273–280. doi:10.1017/S0025315498000307.
 67. Gordy MA, Hanington PC. 2019. A fine-scale phylogenetic assessment of digenean trematodes in central Alberta reveals we have yet to uncover their total diversity. *Ecology and Evolution*. 9(6):3153–3238. doi:10.1002/ece3.4939.
 68. Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*. 52(5):696–704. doi:10.1080/10635150390235520.
 69. Hanelt B. 2009. Hyperparasitism by *Paragordius varius* (Nematomorpha: gordiida) larva of monostome redia (Trematoda: Digenea). *Journal of Parasitology*. 95(1):242–243. doi:10.1645/GE-1683.1.
 70. Harper WF. 1929. On the structure and life-histories of British fresh-water larval trematodes. *Parasitology*. 21(1–2):189–219. doi:10.1017/S0031182000022897.
 71. Harrah EC. 1922. North American monostomes primarily from fresh water hosts. *Illinois Biological Monographs*. 7(3):7–107.
 72. Harwood PD. 1939. Notes on tennessee helminths. Iv. North American trematodes of the subfamily Notocotylineae. *Journal of the Tennessee Academy of Science*. 14(3):332–340.
 73. Herber EC. 1942. Life history studies on two trematodes of the subfamily Notocotylineae. *The Journal of Parasitology*. 28(3):179. doi:10.2307/3272771.

74. Herber EC. 1955. Life history studies on *Notocotylus urbanensis* (Trematoda: Notocotylinae). Proceedings of the Pennsylvania Academy of Science. 29:267–275. <https://www.jstor.org/stable/44109970>
75. Izrailskaia AV, Besprozvannykh VV, Tatonova YV, Nguyen HM, Ngo HD. 2019. Developmental stages of *Notocotylus magniovatus* Yamaguti, 1934, *Catatropis vietnamensis* n. sp., *Pseudocatatropis dvoryadkini* n. sp., and phylogenetic relationships of Notocotylidae Lühe, 1909. Parasitology Research. 118(2):469–481. doi:10.1007/s00436-018-6182-2.
76. Joyeux C. 1922. Recherches sur les Notocotyles. Bulletins de la Société de Pathologie Exotique. 15:331–343.
77. Kanev I, Vassilev I, Dimitrov V, Radev V. 1994. Life-cycle, delimitation and redescription of *Catatropis verrucosa* (Frölich, 1789) Odhner, 1905 (Trematoda: Notocotylidae). Systematic Parasitology. 29(2):133–148. doi:10.1007/BF00009809.
78. Kinsella JM. 1971. Growth, development, and intraspecific variation of *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotylidae) in rodent hosts. The Journal of Parasitology. 57(1):62. doi:10.2307/3277753.
79. Koch M. 2002. First record and description of *Catatropis indicus* Srivastava 1935 (Digenea: Notocotylidae) in Australia. Memoirs of the Queensland Museum. 48(1):147–153.
80. Køie M. 1984. Digenetic trematodes from *Gadus morhua* L. (Osteichthyes, Gadidae) from Danish and adjacent waters, with special reference to their life-histories. Ophelia. 23(2):195–222. doi:10.1080/00785326.1984.10426614.
81. Køie M. 1985. On the morphology and life-history of *Lepidapedon elongatum* (Lebour, 1908) Nicoll, 1910 (Trematoda, lepecreadiidae). Ophelia. 24(3):135–153. doi:10.1080/00785326.1985.10429724.
82. Krupenko D, Gonchar A. 2017a. Musculature arrangement and locomotion in notocotylid cercariae (Digenea: Notocotylidae) from mud snail *Ecrobia ventrosa* (Montagu, 1803). Parasitology International. 66(3):262–271. doi:10.1016/j.parint.2017.02.002
83. Krupenko D, Gonchar A. 2017b. Ventral concavity and musculature arrangement in notocotylid maritae (Digenea: Notocotylidae). Parasitology International. 66(5):660–665. doi:10.1016/j.parint.2017.06.008.
84. Kuklin VV. 2015. Seabird helminth fauna and parasite life cycles on the Murman coast of the Barents Sea in winter. Doklady Biological Sciences. 461(1):100–103. doi:10.1134/S001249661502012X.
85. Kuklin VV, Galkin AK, Marasaev SF, Marasaeva EF. 2004. The characteristics of the

- helminthofauna of sea birds of the Svalbard Aarchipelago. Doklady Biological Sciences. 395(1–6):124–126. doi:10.1023/B:DOBS.0000025236.33003.4c.
86. Kulikova IV, Poysa H, Zhuravlev YuN. 2012. Phylogeography of the mallard *Anas platyrhynchos* from Eurasia inferred from sequencing of the mtDNA control region. Russian Journal of Genetics. 48(7):705–712. doi:10.1134/S1022795412070095.
 87. Leigh JW, Bryant D. 2015. POPART: full-feature software for haplotype network construction. Methods in Ecology and Evolution. 6(9):1110–1116. doi:10.1111/2041-210X.12410.
 88. Lühe M. 1909. Parasitische plattwürmer. I. Trematodes. Jena: Verlag von Gustav Fischer (Die Susswasserfauna Deutschlands).
 89. MacKinnon BM. 1982. The structure and possible function of the ventral papillae of *Notocotylus triserialis* Diesing, 1839. Parasitology. 84(2):313–332. doi:10.1017/S0031182000044875.
 90. Martin WE. 1956. The Life Cycle of *Catatropis johnstoni* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae). Transactions of the American Microscopical Society. 75(1):117. doi:10.2307/3223661.
 91. McDonald ME. 1981. Key to trematodes reported in waterfowl. Washington, D.C.: U.S. Fish and Wildlife Service Resource Publication Report No.: 142.
 92. Murrills RJ, Reader TAJ, Southgate VR. 1985a. Studies on the invasion of *Notocotylus attenuatus* (Notocotylidae: Digenea) into its snail host *Lymnaea peregra*: the contents of the fully embryonated egg. Parasitology. 91(2):397–405. doi:10.1017/S0031182000057450.
 93. Murrills RJ, Reader TAJ, Southgate VR. 1985b. Studies on the invasion of *Notocotylus attenuates* (Notocotylidae: Digenea) into its snail host, *Lymnaea peregra*. *In vitro* observations on the hatching mechanism of the egg. Parasitology. 91(3):545–554. doi:10.1017/S0031182000062788.
 94. Murrills RJ, Southgate VR, Reader TAJ. 1988. Studies on the invasion of *Notocotylus attenuatus* (Notocotylidae: Digenea) into its snail host, *Lymnaea peregra*: *in vivo* observations 1 and 7 days post infection. International Journal for Parasitology. 18(2):161–166. doi:10.1016/0020-7519(88)90055-0.
 95. Naem S, Smythe AB. 2015. Tegumental ultrastructure of adult *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotylidae): an intestinal parasite of muskrat (*Ondatra zibethicus*). Parasitology Research. 114(7):2473–2480. doi:10.1007/s00436-015-4444-9.
 96. Nakao M, Sasaki M. 2021. Trematode diversity in freshwater snails from a stopover point for migratory waterfowls in Hokkaido, Japan: an assessment by molecular phylogenetic and population genetic analyses. Parasitology International. 83:102329.

- doi:10.1016/j.parint.2021.102329.
97. Newton I. 2007. The migration ecology of birds. London, Academic Press/Elsevier, 984pp.
 98. Odening K. 1963. Das Exkretionssystem monostomer Cercarien (Tremaroda: Notocotylidae) aus Gewässern von Berlin und Umgebung. *Limnologica*. 1(5):365–373.
 99. Odening K. 1966. Physidae und Planorbidae als Wirte in den Lebenszyklen einheimischer Notocotylidae (Trematoda: Paramphistomida). *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 27(3). doi:10.1007/BF00260342.
 100. Odhner T. 1905. Die Trematoden des arktischen Gebietes. *Fauna Arctica*. IV(2):291–372.
 101. O’Dwyer K, Blasco-Costa I, Poulin R, Faltýnková A. 2014. Four marine digenean parasites of *Austrolittorina* spp. (Gastropoda: Littorinidae) in New Zealand: morphological and molecular data. *Systematic Parasitology*. 89(2):133–152. doi:10.1007/s11230-014-9515-2.
 102. O’Dwyer K, Faltýnková A, Georgieva S, Kostadinova A. 2015. An integrative taxonomic investigation of the diversity of digenean parasites infecting the intertidal snail *Austrolittorina unifasciata* Gray, 1826 (Gastropoda: Littorinidae) in Australia. *Parasitology Research*. 114(6):2381–2397. doi:10.1007/s00436-015-4436-9.
 103. Olson PD, Cribb TH, Tkach VV, Bray RA, Littlewood DTJ. 2003. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*. 33(7):733–755. doi:10.1016/S0020-7519(03)00049-3.
 104. Pearson JC. 1972. A phylogeny of life-cycle patterns of the Digenea. *Advances in Parasitology*. 10:153–189.
 105. Pike AW. 1969. Observations on the life cycles of *Notocotylus triserialis* Diesing, 1839, and *N. imbricatus* (Looss, 1893) *sensu* Szidat, 1935. *Journal of Helminthology*. 43(1–2):145–165. doi:10.1017/S0022149X00003989.
 106. Podvyaznaya IM, Galaktionov KV. 2018. Reproduction of trematodes in the molluscan host: an ultrastructural study of the germinal mass and brood cavity in daughter rediae of *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953 (Digenea: Notocotylidae). *Parasitology Research*. 117(8):2643–2652. doi:10.1007/s00436-018-5956-x.
 107. Poulin R, Morand S. 2004. Parasite biodiversity. Washington [D.C.]: Smithsonian Books, 216 pp.
 108. Prokofiev VV, Galaktionov KV, Levakin IA. 2016. Patterns of parasite transmission in Polar seas: Daily rhythms of cercarial emergence from intertidal snails. *Journal of Sea Research*. 113:85–98. doi:10.1016/j.seares.2015.07.007.
 109. Puillandre N, Brouillet S, Achaz G. 2021. ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources*. 21(2):609–620. doi:10.1111/1755-0998.13281.

110. R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing.
111. Radlett AJ. 1979. Excystation of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kossack, 1911 (Trematoda: Notocotylidae) and their localization in the caecum of the domestic fowl. *Parasitology*. 79(3):411–416. doi:10.1017/S0031182000053804.
112. Radlett AJ. 1980. The structure and possible function of the ventral papillae of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kossack, 1911, (Trematoda: Notocotylidae). *Parasitology*. 80(2):241–246. doi:10.1017/S0031182000000718.
113. Ramadan M, Taha N, Haroun S. 2020. Scanning electron microscopy of *Catatropis aegyptiacus* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae) from Norway brown rat, *Rattus norvegicus* (Muridae: Mammalia) from Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. 50(1):209–214. doi:10.21608/jesp.2020.88839.
114. Rausch RL, Fay FH. 1966. Studies on the helminth fauna of Alaska. XLIV. Revision of *Ogmogaster* Jagerskiold, 1891, with a description of *O. pentalineatus* sp. n. (Trematoda: Notocotylidae). *The Journal of Parasitology*. 52(1):26. doi:10.2307/3276386.
115. Rees FG. 1932. An investigation into the occurrence, structure, and life-histories of the trematode parasites of four species of *Lymnæa* (*L. truncatula* (Müll.), *L. pereger* (Müll.), *L. palustris* (Müll.), and *L. stagnalis* (Linné), and *Hydrobia jenkinsi* (Smith) in Glamorgan and Monmouth. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 102(1):1–32. doi:10.1111/j.1469-7998.1932.tb06198.x.
116. Rohde K, Onn L. 1967. Life cycle of *Catatropis indica* Srivastava, 1935 (Trematoda: Notocotylidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 29(2). doi:10.1007/BF00260201.
117. Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19(12):1572–1574. doi:10.1093/bioinformatics/btg180.
118. Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. 61(3):539–542. doi:10.1093/sysbio/sys029.
119. Rothschild M. 1938. Notes on the classification of cercariae of the superfamily Notocotylidae (Trematoda), with special reference to the excretory system. *Novitates Zoologicae*. 16(2):75–83.
120. Rothschild M. 1941. Observations on the growth and trematode infections of *Peringia ulvae* (Pennant) 1777 in a pool in the Tamar saltings, Plymouth. *Parasitology*. 33(4):406–415. doi:10.1017/S0031182000024616.
121. Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins

- SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*. 34(12):3299–3302. doi:10.1093/molbev/msx248.
122. Rudolphi CA. 1809. *Entozoorum sive vermium intestinalium historia naturalis*. Amsterdam: Symptibus Tabernae Librariae et Artium.
123. Sannia A, James BL. 1977. The Digenea in marine molluscs from Eyjafjörður, North Iceland. *Ophelia*. 16(1):97–109. doi:10.1080/00785326.1977.10425463.
124. Sasaki M, Kobayashi M, Yoshino T, Asakawa M, Nakao M. 2021. *Notocotylus ikutai* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from lymnaeid snails and anatid birds in Hokkaido, Japan. *Parasitology International*. 83:102318. doi:10.1016/j.parint.2021.102318.
125. Schwelm J, Kudlai O, Smit NJ, Selbach C, Sures B. 2020. High parasite diversity in a neglected host: larval trematodes of *Bithynia tentaculata* in Central Europe. *Journal of Helminthology*. 94:e120. doi:10.1017/S0022149X19001093.
126. Skála V, Bulantová J, Walker AJ, Horák P. 2014. Insights into the development of *Notocotylus attenuatus* (Digenea: Notocotylidae) in *Lymnaea stagnalis*: from mother sporocyst to cercariae. *Parasitology International*. 63(1):94–99. doi:10.1016/j.parint.2013.09.009.
127. Skírnisson K, Eydal M, Gunnarsson E, Hersteinsson P. 1993. Parasites of the Arctic fox (*Alopex lagopus*) in Iceland. *Journal of Wildlife Diseases*. 29(3):440–446. doi:10.7589/0090-3558-29.3.440.
128. Skírnisson K, Galaktionov KV. 2002. Life cycles and transmission patterns of seabird digeneans in SW Iceland. *Sarsia*. 87(2):144–151. doi:10.1080/003648202320205229.
129. Skírnisson K, Galaktionov KV, Kozminsky EV. 2004. Factors influencing the distribution of digenetic trematode infections in a mudsnail (*Hydrobia ventrosa*) population inhabiting salt marsh ponds in Iceland. *Journal of Parasitology*. 90(1):50–59. doi:10.1645/GE-118R.
130. Smith SJ, Hickman JL. 1983. Two notocotylid trematodes from birds in Tasmania and their life histories. *Royal Society of Tasmania*. 117:85–103.
131. Southgate VR. 1971. Observations on the fine structure of the cercaria of *Notocotylus attenuatus* and formation of the cyst wall of the metacercaria. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*. 120(3):420–449. doi:10.1007/BF00324901.
132. Stunkard HW. 1932. Some larval trematodes from the coast in the Region of Roscoff, Finistère. *Parasitology*. 24(3):321–343.
133. Stunkard HW. 1960. Studies on the morphology and life-history of *Notocotylus minutus* n. sp., a digenetic trematode from ducks. *The Journal of Parasitology*. 46(6):803–809.
134. Stunkard HW. 1967a. Studies on the trematode genus *Paramonostomum* Lühe, 1909

- (Digenea: Notocotylidae). The Biological Bulletin. 132(1):133–145. doi:10.2307/1539883.
135. Stunkard HW. 1967b. The morphology, life-history, and systematic relations of the digenetic trematode, *Uniserialis breviserialis* sp. nov., (Notocotylidae), a parasite of the bursa Fabricius of birds. The Biological Bulletin. 132(2):266–276.
 136. Szidat L. 1933. Über drei neue monostome Gabelschwanzcercarien der ostpreussischen Fauna. Zeitschrift für Parasitenkunde. 5(3–4):443–459. doi:10.1007/BF02121360.
 137. Szidat L, Szidat U. 1935. Beiträge zur Kenntnis der Trematoden der Monostomidengattung *Notocotylus* Dies. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten Erste Abteilung. 133:411–422.
 138. Tandon V, Roy B. 1996. Stereoscan observations on the tegumental surface of *Catatropis indicus* Srivastava, 1935. Acta Parasitologica. 41(3):115–119.
 139. Tkach VV, Pawlowski J, Mariaux J, Swiderski Z, Litlewood DTJ, Bray RA. 2001. Molecular phylogeny of the suborder Plagiorchiata and its position in the system of Digenea. In: Interrelationships of the Platyhelminthes. Taylor & Francis. p. 186–193.
 140. Velasquez CC. 1969. Life History of *Paramonostomum philippinensis* sp. n. (Trematoda: Digenea: Notocotylidae). The Journal of Parasitology. 55(2):289. doi:10.2307/3277392.
 141. Wilke T, Haase M, Hershler R, Liu H-P, Misof B, Ponder W. 2013. Pushing short DNA fragments to the limit: Phylogenetic relationships of ‘hydrobioid’ gastropods (Caenogastropoda: Rissooidea). Molecular Phylogenetics and Evolution. 66(3):715–736. doi:10.1016/j.ympev.2012.10.025.
 142. Windsor DA. 1998. Most of the species on Earth are parasites. International Journal for Parasitology. 28(12):1939–1941. doi:10.1016/S0020-7519(98)00153-2.
 143. Wittrock DD. 1978. Ultrastructure of the ventral papillae of *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotylidae). Zeitschrift für Parasitenkunde. 57(2):145–154. doi:10.1007/BF00927155.
 144. WoRMS Editorial Board. 2022. World Register of Marine Species. Available from <https://www.marinespecies.org> at VLIZ. Accessed 2023-01-09. doi:10.14284/170.
 145. Wright CA, Bennett MS. 1964. The life cycle of *Notocotylus attenuatus*. Parasitology. 54(4):14.
 146. Yamaguti S. 1938. Zur Entwicklungsgeschichte von *Centrocestus armatus* (Tanabe) mit besonderer Berücksichtigung der Cercarie. Zeitschrift für Parasitenkunde. 10(2):293–296. doi:10.1007/BF02124953.
 147. Yamaguti S. 1958. Systema Helminthum. Volume 1. The digenetic trematodes of vertebrates – part 1. New York: Interscience Publishers Inc.

148. Yamaguti S. 1971. Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Tokyo: Keigaku Publishing Co.
149. Ždárská Z. 1970. The gland cells of the cercaria of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) and the cyst wall of its adolesearia. Folia Parasitologica. 17(1):31–47.

8. Приложение 1

Точки сбора материала.

Географические координаты	Место сбора		Регион	
N66.31244 E33.66234	Сухая салма	Кандалакшский залив	Белое море	Республика Карелия
N66.42416 E33.79166	Архипелаг Кемь-луды	Кандалакшский залив	Белое море	Республика Карелия
N66.2982 E33.46305	Бухта Левин Наволок	Кандалакшский залив	Белое море	Республика Карелия
N66.2943 E33.5856	Бухта Лебяжья	Кандалакшский залив	Белое море	Республика Карелия
N66.28901 E33.75168	Остров Борщовец	Кандалакшский залив	Белое море	Республика Карелия
N59.226494 E153.732282	Залив Шкиперов	Бухта Бабушкина	Охотское море	Магаданская область
N59.116615 E154.336794	Бухта Промежуточная	Кекурный залив	Охотское море	Магаданская область
N69.820278 E59.464722	Бухта Лямчина	Остров Вайгач	Баренцево море	Ненецкий АО
N70.2 E58.5	Бухта Седова	Остров Вайгач	Баренцево море	Ненецкий АО
N69.272925 E59.09785	Остров Долгий	Печорское море	Баренцево море	Ненецкий АО
N69.121934 E36.080627	остров Немецкий	Дальние Зеленцы	Баренцево море	Мурманская область
N48.7415W4.00761	Остров Иль де Бац (окрестности Роскоффа)	Пролив Ла-Манш	Кельтское / Северное море	Бретань, Франция
N70.2834 E30.9782	окрестности деревни Киберг	Варангер-фьорд	Баренцево море	Тромс-ог-Финнмарк, Норвегия
N70.07057 E30.01957	Сальттьерн	Варангер-фьорд	Баренцево море	Тромс-ог-Финнмарк, Норвегия
N70.17114 E28.56279	Варагнерботн	Варангер-фьорд	Баренцево море	Тромс-ог-Финнмарк, Норвегия
N69.69825 E19.02427	окрестности Тромсё		Норвежское море	Тромс-ог-Финнмарк, Норвегия
N63.81666 W20.08333	Кельдур		север Атлантического океана	Исландия

9. Приложение 2

Праймеры, использованные для амплификации маркерных последовательностей ДНК.

Фрагмент	Праймеры	Последовательность праймера	Источник
ITS1	F, BD1	GTCGTAACAAGGTTTCCGTA	Luton et al., 1992
	R, 4S	TCTAGATGCGTTCGAARTGTTCGATG	
домен D2 28S рДНК	F, C2'B	GAAAAGTACTTTGRARAGAGA	Bayssade-Dufour et al., 2000
	R, D2	TCCGTGTTTCAAGACGGG	Vân Le et al., 1993
домены D1–D3 28S рДНК	F, digl2	AAGCATATCACTAAGCGG	Tkach et al., 1999
	R, 1500R	GCTATCCTGAGGGAAACTTCG	Olson et al., 2003
фрагмент гена CO1	F, JB3	TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT	Bowles et al., 1993
	R, JB4.5	TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG	
	R, trem.cox1.rn1	AATCATGATGCAAAAAGGTA	Králová-Hromadová et al., 2008
фрагмент гена ND1	eND1_f1	AAGGGBCCTAAYAAGGTTG	Gonchar, Galaktionov, 2020
	eND1_r	ACMAYACATAAARCAMGCYTCAA	

F – прямой праймер; R – обратный праймер. Последовательности даны от 5'-конца к 3'-концу. Список источников:

1. Bayssade-Dufour C, Jouet D, Rudolfova J, Horák P, Ferté H (2000) Seasonal morphological variations in bird schistosomes. *Parasite* 13:205–214.
2. Bowles J, Hope M, Tiu WU, Liu X, McManus DP (1993) Nuclear and mitochondrial genetic markers highly conserved between Chinese and Philippine *Schistosoma japonicum*. *Acta Tropica* 55:217–229.
3. Gonchar A, Galaktionov KV (2020) New data support phylogeographic patterns in a marine parasite *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae). *Journal of Helminthology* 94:e79.
4. Králová-Hromadová I, Špakulová M, Horáčková E, Turčeková L, Novobilský A, Beck R, Koudela B, Marinculić A, Rajský D, Pybus M (2008) Sequence analysis of ribosomal and mitochondrial genes of the giant liver fluke *Fascioloides magna* (Trematoda: Fasciolidae): intraspecific variation and differentiation from *Fasciola hepatica*. *Journal of Parasitology* 94(1):58–67.
5. Luton K, Walker D and Blair D (1992) Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea). *Molecular and Biochemical Parasitology* 56:323–327.
6. Olson PD, Cribb TH, Tkach VV, Bray RA, Littlewood DTJ (2003) Phylogeny and classification of the Digenea. *International Journal for Parasitology* 33:733–755.
7. Tkach V, Grabda-Kazubska B, Pawlowski J, Swiderski Z (1999) Molecular and morphological evidence for close phylogenetic affinities of the genera *Macrodera*, *Leptophallus*, *Metaleptophallus* and *Paralepoderma* (Digenea, Plagiorchiata). *Acta Parasitologica* 44:170–179.
8. Vân Le HL, Lecointre G, Perasso R (1993) A 28S rRNA-based phylogeny of the gnathostomes: first steps in the analysis of conflict and congruence with morphologically based cladograms. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2:31–51.

SAINT-PETERSBURG UNIVERSITY

Printed as manuscript

Gonchar Anna Georgievna

Life cycles of the notocotylid digeneans
in the coastal ecosystems of the northern seas

Scientific specialization: 1.5.12. Zoology

Thesis for a degree of
Candidate of Sciences in Biology

Translation from Russian

Scientific advisor:
DSc in Biology,
Galaktionov Kirill Vladimirovich

Saint Petersburg—2023

Table of Contents

1. Introduction.....	71
1.1. Relevance of the study.....	71
1.2. The aim and the objectives.....	71
1.3. Theoretical and practical significance.....	72
1.4. Scientific novelty.....	72
1.5. Material and methods.....	73
1.6. Approbation of the study.....	74
1.7. Publications.....	75
1.8. Author's personal contribution.....	75
1.9. The thesis overview.....	75
2. Literature review.....	77
2.1. Life cycle of the Notocotyliidae.....	77
2.2. Diversity of the Notocotyliidae.....	82
2.3. Notocotyliidae in the coastal marine ecosystems.....	85
3. Results of the study and discussion.....	87
3.1. <i>Paramonostomum</i> Lühe, 1909.....	87
3.2. <i>Notocotylus atlanticus</i> Stunkard, 1966.....	92
3.3. <i>Tristriata anatis</i> Belopolskaia, 1953.....	99
3.4. <i>Catatropis onobae</i> sp. nov.....	105
3.5. Phylogeny of the family Notocotyliidae.....	109
4. Closing.....	114
5. Conclusions.....	116
6. Acknowledgements.....	117
7. References.....	118
8. Supplement 1.....	131
9. Supplement 2.....	132

1. Introduction

1.1. Relevance of the study

The parasitic lifestyle is very common, and some estimates even suggest that most of the modern species are parasites (Windsor, 1998). However, the diversity of these organisms has been studied only in fragments (Brooks and Hoberg, 2001; Poulin and Morand, 2005). Parasites of medical and veterinary importance have traditionally received much attention, but the study of such a narrow range of objects is insufficient to reveal general patterns of how host-parasite systems emerge and operate. To overcome this limitation, the knowledge of parasites should be expanded. Particularly important are the studies of parasites in the Arctic and boreal marine ecosystems: the understanding of how they function today, under the climate change and the anthropogenic pressure, is one of the priority tasks for both fundamental and applied science.

This is fully relevant for the representatives of the Digenea, one of the parasitic flatworm groups. The first summary on the digeneans in the European North dates back to the beginning of the 20th century (Odhner, 1905). This summary has been updated many times since (e.g., Sannia, James, 1977; Bray, 1979; K oie, 1984; Kuklin et al., 2004; Galaktionov et al., 2019). Notably, studies of the digeneans in the White and Barents Seas have had a long history, and resulted in a number of seminal works as early as in the middle of the 20th century (Belopolskaia, 1952; Shulman, Shulman-Albova, 1953; Polyansky, 1955; Chubrik, 1966).

Since the 1950s, members of the family Notocotylidae, common and pathogenic parasites of ducks, have also been studied in this region (Belopolskaia, 1952; Kulachkova, 1954, 1961; Podlipaev, 1979). Still, much about this family remains unknown, and thus a variety of behavioural, ecological, biogeographic, and phylogenetic studies look promising. To fulfil these ideas, reliable information on the species composition of notocotylids of this region is required. There is evidence that the diversity of notocotylids at the shores of the northern seas is underestimated, and their transmission pathways are unclear; both should be revised using modern approaches. This brings us to the goal of the current study.

1.2. The aim and the objectives

The ultimate **aim** of this study is to estimate the diversity—at the inter- and intraspecies levels—of the digeneans of the family Notocotylidae that circulate in the coastal ecosystems of the northern seas, to determine their transmission pathways and to update the phylogeny of this family.

The main **objectives** are:

1. To characterize the diversity of Notocotylidae in the intermediate (intertidal molluscs) and definitive (anatids) hosts in the coastal ecosystems of the northern seas in the Palaearctic based on the morphological criteria.
2. To distinguish species among the discovered morphotypes and determine the course of their life cycles using DNA-based methods.
3. To describe and compare the behavioural features that may enhance trophic transmission of cercariae belonging to the closely related and common species of Notocotylidae.
4. To evaluate intraspecific genetic variability for widely distributed species and perform phylogeographic reconstructions.
5. To clarify, using the DNA sequence data, the phylogeny of the family Notocotylidae, and propose the criteria for taxonomic revision.

1.3. Theoretical and practical significance

The **theoretical significance** of the thesis research is in the general biological issues it addresses. The study contributes to the understanding of the factors influencing speciation in parasitic organisms with a complex life cycle. It helps develop approaches to determine the boundaries within the species complexes. The knowledge of the notocotylid fauna is also essential for the documentation and generalization of digenean diversity.

The **practical significance** is related to the bird definitive hosts of Notocotylidae: these are ducks (Anatidae), which have certain economic importance. Also, the results of the study can be used by researchers from different fields (parasitologists, zoologists, marine biologists) for reliable species identification of representatives of the family Notocotylidae occurring in the North Palaearctic. This applies to the life cycle stages from both birds and gastropods.

1.4. Scientific novelty

This study is the first solid assessment of biodiversity and transmission pathways of the digeneans of the family Notocotylidae in the coastal ecosystems of the northern seas. The new species *Catatropis onobae* Gonchar & Galaktionov, 2021 was described, as well as its life cycle and differences from the other species with extremely similar maritae. For the species *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953, the first intermediate host was identified and thus the life cycle was elucidated. The species *Notocotylus atlanticus* Stunkard, 1966 was first registered in Europe. For the first time for

notocotylid cercariae, differences in behaviour concerning the “choice” of the encystment substratum were experimentally and statistically shown. The first relatively complete phylogenetic reconstruction for the family Notocotylidae was performed. The species *T. anatis* served as an example for the first phylogeographic reconstruction for a digenean species with amphiboreal distribution and a long-lived marita.

1.5. Material and methods

All methods used in this study are described in full detail in the published articles (Gonchar, Galaktionov, 2016, 2017, 2020, 2021, 2022; Gonchar et al., 2019). Below is a recap of the main procedures.

1.5.1. Material

The material for this study are digeneans of the family Notocotylidae from molluscs and birds inhabiting the sea coasts in the Palaearctic. My own samples were collected in 2011–2019 on the coasts of the White and Barents Seas. Material from the Sea of Okhotsk and several specimens from France, Norway, and Iceland were contributed by my colleagues; I also studied the White Sea bird trematode collection of V.G. Kulachkova (1957–1970). The sampling locations are listed in the Appendix 1. For this study, I tested about 20,000 snails *Ecrobia ventrosa* (Montagu, 1803), *Peringia ulvae* (Pennant, 1777), *Littorina saxatilis* (Olivi, 1792), *L. obtusata* (L., 1758), *L. sitkana* Philippi, 1846 and *Onoba aculeus* Gould, 1841 for notocotylid infection. Notocotylid maritae were obtained from incomplete parasitological dissection of birds of the family Anatidae: common eider (*Somateria mollissima* L., 1758), king eider (*S. spectabilis* L., 1758), mallard (*Anas platyrhynchos* L., 1758), harlequin duck (*Histrionicus histrionicus* L., 1758), pintail (*A. acuta* L., 1758) and wigeon (*A. penelope* L., 1758). In total, the sample database of this study contains 217 records.

1.5.2. Morphological descriptions

Living rediae, cercariae, metacercariae and maritae were observed under a binocular microscope and on temporary mounts under a compound microscope. To describe maritae, I stained (mostly with carmine) and mounted them. To visualize tegumental spines and ventral organs in maritae I used scanning electron microscopy. To clarify certain anatomical details I used confocal laser scanning microscopy preceded by staining with fluorescently-labelled phalloidin. All sizes are in micrometres.

1.5.3. Experiment to evaluate cercarial specificity towards the encystment substratum

One infected *E. ventrosa* snail was placed in a 40-mm Petri dish with sea water and substrata, and left for 24 h at 20 °C and constant even illumination; then, the cysts were counted. For all dishes with a total of five or more cysts, the proportion of cysts on a particular substratum relative to the total number of cysts on all experimental substrata was calculated. Following arcsine transformation, the comparisons were performed using t-test and χ^2 test.

1.5.4. Molecular studies

Tissues preserved in 96% ethanol were used to extract DNA, and then fragments of the ITS1, 28S rDNA, *cox1* and *nadh1* genes were amplified and sequenced (primers are listed in the Appendix 2). For further analysis (review and assembly of the chromatograms, alignments, phylogenetic reconstructions, building haplotype networks and barcode gap analysis) I used Geneious Prime 2022.1.1 (<http://www.geneious.com>), jModelTest 2.1.10 (Guindon, Gascuel, 2003; Darriba et al., 2012), MrBayes v.3.2.6 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003, Ronquist et al., 2012), PopArt 1.7 (Leigh, Bryant, 2015), DnaSP6 (Rozas et al., 2017), Arlequin suite 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010), R (R Core Team, 2022; Alexander et al., 2016) and ASAP (Puillandre et al., 2021).

1.6. Approbation of the study

The results of this study were presented at the seminars of Department of Invertebrate Zoology SPbU in 2013–2023 and on the following conferences:

1. V Meeting of the Parasitological Society of the Russian Academy of Sciences, 23–26 September 2013, Novosibirsk, Russia.
2. International Symposium on Ecology and Evolution of Marine Parasites and Diseases, 10–14 March 2014, Texel, the Netherlands.
3. XII European Multicolloquium of Parasitology, 20–24 August 2016, Turku, Finland. The presentation was awarded the medal of the European society for parasitology “Young Scientist Award”.
4. VI Meeting of the Parasitological Society of the Russian Academy of Sciences, 15–19 October 2018, St Petersburg, Russia.
5. XIII European Multicolloquium of Parasitology, 12–16 October 2021, Belgrade, Serbia.
6. International Symposium on Ecology and Evolution of Marine Parasites and Diseases, 15–18 November 2022, La Rochelle, France.

1.7. Publications

As a result of this study, six articles were published in the international peer-reviewed journals indexed in Web of Science Core Collection and Scopus.

1. Gonchar A, Galaktionov KV. 2016. Substratum preferences in two notocotylid (Digenea, Notocotylidae) cercariae from *Hydrobia ventrosa* at the White Sea. *Journal of Sea Research*. 113:115–118.
2. Gonchar A, Galaktionov KV. 2017. Life cycle and biology of *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae): morphological and molecular approaches. *Parasitology Research*. 116(1):45–59.
3. Gonchar A, Jouet D, Skírnisson K, Krupenko D, Galaktionov KV. 2019. Transatlantic discovery of *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae) based on life cycle data. *Parasitology Research*. 118(5):1445–1456.
4. Gonchar A, Galaktionov KV. 2020. New data support phylogeographic patterns in a marine parasite *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae). *Journal of Helminthology*. 94:e79.
5. Gonchar A, Galaktionov KV. 2021. It is marine: distinguishing new species of *Catatropis* (Digenea: Notocotylidae) from its freshwater twins. *Parasitology*. 148(1):78–83.
6. Gonchar A, Galaktionov KV 2022. The Pacific *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae). *Parasitology International*. 88:102559.

1.8. Author's personal contribution

Most of the sampling, study design and research procedures, as well as writing the papers were performed by the thesis' author. Several samples were contributed by K.V. Galaktionov, K. Skírnisson (University of Iceland), D. Jouet (University of Reims), D.Y. Krupenko, A.I. Granovitch, D. Aleshkina and K. Volovik. K.V. Galaktionov took part in discussing results. Data on *N. atlanticus* from France were obtained in collaboration with D. Jouet. CLSM studies of *N. atlanticus* were performed together with D.Y. Krupenko. Experimental infections of *N. atlanticus* were performed by K.V. Galaktionov and K. Skírnisson.

1.9. The thesis overview

The thesis contains the Introduction, Literature review, five sections of the Results, Closing, and Conclusions. These are followed by the Acknowledgements, the Reference list of 149 sources, and two Appendices. The manuscript is 63 pages long, including 18 Figures and 8 Tables.

2. Literature review

2.1. Life cycle of the Notocotylidae

The most conspicuous stages in the digenean life cycle are the marita and the cercaria; discovery of Notocotylidae started with these stages. *Fasciola verrucosa* Frölich, 1789 from the goose *Anser anser* (L., 1758) and *Cercaria ephemera* Nitzsch, 1807 from the snails *Planorbarius corneus* (L., 1758), as it later turned out, were the first records of the marita and the cercaria of notocotylids. It has been hypothesized since the middle of the 19th century that monostome cercariae with three eyespots and light-refracting granules in the channels of the excretory system are the larval stages of adult digeneans which are now attributed to Notocotylidae (van Beneden, 1858). Nevertheless, for quite a long time, no cercariae of such structure were accurately matched to particular sexually mature worms. And still, by the beginning of the 20th century, the idea had established that cercariae of notocotylids encyst in the external environment and that their maritae develop in the colon and caecum of birds (Lühe, 1909). Attempts have been made to match young maritae to cercariae by estimating their morphological similarity. For example, it was suggested that *Cercaria urbanensis* Cort, 1914 from *Physa gyrina* Say, 1821 are larval stages of the maritae from *Anas acuta* (Harrah, 1922), which was later confirmed (*Notocotylus urbanensis* (Cort, 1914) Harrah, 1922; Herber, 1955 in Filimonova, 1985).

The same year 1922 in Europe the life cycle was fully elucidated for a species identified as *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kossack, 1911 (Joyeux, 1922)¹. Joyeux not only raised maritae by feeding ducklings with the larvae from *Planorbarius rotundatus* Poiret, 1801, but also infected snails to observe the development of parthenitae. As a result, eggs, mother sporocysts, rediae, cercariae, and cysts with metacercariae were described. This species turned out to be unusual (stumpy-tailed cercariae not leaving the mollusc), and the description probably contained a mistake (the miracidia hatching in the external environment is doubtful). Nevertheless, this was the first experimental study of the notocotylid life cycle. Below is the overview of this life cycle (based on a range of sources), followed by the details on different stages.

Notocotylids are digeneans with a two-host life cycle. Freshwater and marine gastropods serve as their first intermediate hosts. Molluscs get infected by accidentally ingesting the eggs of the parasite. A mother sporocyst forms inside the mollusc, producing a limited number of mother rediae. These, in turn, produce daughter rediae, in which cercariae develop. In most species, the cercariae leave the rediae, reach maturity after spending some time in the molluscan tissues, and then emerge

¹Now it is considered to have been *Pseudocatropis joyeuxi* Kanev & Vassilev, 1986 (Dubois, 1951; Kanev et al., 1994).

into the external environment. After a short period of swimming, they encyst on underwater substrata and transform into the resting larvae, the metacercariae. In several species, the cercariae have an underdeveloped tail, do not leave the mollusc, and encyst in its mantle cavity. The definitive hosts (for most species these are birds; for some—mammals) get infected by ingesting the substratum with metacercariae. Maritae, as a rule, localize in hind-gut and caeca. Their lifespan is up to several months.

The least studied aspects of notocotylid life cycle are the development and structure of the miracidia, the process of the mollusc infection, and the metamorphosis into the mother sporocyst.

The peculiar structure of notocotylid eggs, with an operculum and filaments, has long been known (Rudolphi, 1809; van Beneden, 1858; Lühe, 1909), but there is much less information about the larvae developing inside. It is clear enough that the miracidium of notocotylids does not hatch in the external environment. Early observations (van Beneden, 1858) and subsequent experimental studies (Wright, Bennett, 1964; Rohde, Onn, 1967; Kanev et al., 1994; Skála et al., 2014) verify this. Only Joyeux (1922) mentioned the hatching of the miracidium (without a figure) from the eggs outside of the mollusc. All other data suggest that notocotylids do not have miracidia capable of moving by ciliary locomotion in the aquatic environment and actively penetrating through the body surface of a suitable molluscan host.

The process of mollusc infection has been described at the ultrastructural level for the species *N. attenuatus* (Murrills et al., 1985a, 1985b, 1988). The authors concluded that the notocotylid miracidium has undergone an extreme reduction, and that the egg contains a primordial mother sporocyst equipped with an extrusion apparatus. This mother sporocyst is assumed to get injected through the intestine wall into the haemocoel after the egg was accidentally eaten by a suitable mollusc. According to these results, the notocotylid miracidium is extremely simplified due to the transition to a passive strategy of mollusc infection.

One day after infection, a mother sporocyst of *N. attenuatus* measuring 10–13 µm was found in the molluscan haemocoel near the intestine (Murrills, 1988). At later stages, mother sporocysts of various species, spherical or ovoid in shape and ranging in size from 60 to 280 µm, were observed along the outer wall of the intestine (Rohde, Onn, 1967; Kanev et al., 1994; Koch, 2002) and in the hepatopancreas of molluscs (Joyeux, 1922; Skála et al., 2014). The number of mother rediae developing inside a mother sporocyst seems species-specific: for example, one in *N. attenuatus* (= *P. joyeuxi*), two in *Catatropis verrucosa* (Frölich, 1789) Odhner, 1905 and *N. attenuatus* (Skála et al., 2014), four in *Notocotylus stagnicolae* Herber, 1942, or five in *Catatropis indica* Srivastava, 1935 (Joyeux, 1922; Kanev et al., 1994; Skála et al., 2014; Herber, 1942; Rohde, Onn, 1967). It is assumed that the number of rediae in the mother sporocyst is constant within a species (Filimonova, 1985).

Notocotylid rediae localize in the hepatopancreas of the mollusc and have similar structure in

different species (e.g., Herber, 1942; Dönges, 1962; Pike, 1969; Bisset, 1977; Kanev et al., 1994; Skála et al., 2014). Mother and daughter rediae are difficult to distinguish (Herber, 1942; Rohde, Onn, 1967). In the daughter rediae, cercarial embryos are seen, and they may also be more pigmented (Koch, 2002). Rediae lack collar and locomotory appendages; their size varies from species to species, but is generally between 650 and 1400 μm long and 160 and 270 μm wide (e.g., Martin, 1956; Dönges, 1962; Flores, Brugni, 2003). At the anterior end of their body there is a mouth opening and a pharynx leading into a caecum; slightly behind the pharynx is a birth pore. However, several studies claim the absence of the birth pore (Harper, 1929), or it is not depicted (Joyeux, 1922; Odening, 1963). The germinal mass and germinal balls lie in the posterior part of the body; the more mature embryos are, the more anterior their position is (Herber, 1942; Cort, 1948). The reproductive organs of *Tristriata anatis* have been described at the ultrastructural level (Podvyaznaya, Galaktionov, 2018). This example shows a special feature of notocotylics—the development of cercarial embryos inside the germinal mass up to the appearance of the tail primordium.

The number of developing cercariae within one redia also varies: from 1–2 in *Notocotylus minutus* Stunkard, 1960 to more than 12 in *Quinqueserialis quinqueserialis* (Barker, Laughlin, 1911) Harwood, 1939 (Stunkard, 1960; Herber, 1942). Cercariae leave the rediae and complete their development in the haemocoel lacunae in the molluscan hepatopancreas; for example, in *N. attenuatus* this takes three days (Skála et al., 2014). Cercariae of *C. indica* that have just left the rediae and were artificially extracted from the mollusc are morphologically indistinguishable from those released spontaneously, but they do not encyst and keep on swimming (Rhode, Onn, 1967).

The appearance of cercariae of most notocotylics (see, e.g., Filimonova, 1985) is very recognizable: they have one (oral) sucker, three eyespots, a pigmented body with many cystogenous glands, and two dorsal adhesive pockets on the sides of the tail base². The dorsal side of the body is convex and the ventral side is concave. The shape of the body is variable: the cercariae can be strongly elongated or contracted, appearing round. The concise rough description of the notocotylic cercariae would be “three-eyed monostome” cercariae (e.g., Faust, 1918).

The presence of three pigmented eyespots in mature cercariae is one of the expressive features of notocotylics. During their development, the pigment is first distributed in stripes along the body and then concentrates in the area of the eyespots (Harper, 1926). A pair of lateral eyespots is formed earlier; the median eyespot usually appears in the cercariae that have already left the redia (Harper, 1926; Bisset, 1977). The lateral eyespots are brighter and have clearer borders; the median eyespot is paler and arranged in a ring (Dönges, 1962; Pike, 1969). The study of a series of histological sections

² They were called adhesive (Harper, 1926), dorsal adhesive (Rees, 1932) and locomotor (Rothschild, 1938) “pockets”; locomotory “processes” (Pike, 1969) and “appendices” (Ždárská, 1970); as well as “posterior-lateral glands” (Southgate, 1971).

showed that all three ocelli are innervated as functional photoreceptors (Faust, 1918; Dönges, 1962).

Another prominent feature of notocotylid cercariae is the structure of the main collecting ducts (MCD) of the excretory system, filled with light-refractive granules. Two MCD stem from the rounded excretory bladder, extend forward along the sides of the body, and join in its anterior part. Thus, they form a ring which may look differently in the front: rounded, with an unpaired diverticulum or with a loop (Rothschild, 1938). The development of the excretory system has been described from the germinal ball stage to the mature cercaria, with the excretory formula $2[(3+3+3)+(3+3+3)]=36$ characteristic of all notocotylids and remaining unchanged up to the marita stage (Odening, 1966).

Cercariae of Notocotylidae have a peculiar behaviour. In most species, they prefer to leave the mollusc before noon (Herber, 1942; Skrjabin, 1953; Flores, Brugni, 2006). For the species *Paramonostomum alveatum* (Mehlis in Creplin, 1846) Lühe, 1909 in the White Sea, it was experimentally shown that the peak of cercariae emission coincides with the sunlight peak (Prokofiev et al., 2016). However, there is a different example: cercariae of *Catatropis johnstoni* Martin, 1956 are emitted both during the day and at night (Martin, 1956).

During swimming, the body of notocotylid cercariae is spherical and the tail is actively beating (Cort, 1914). They have a pronounced positive photo-reaction (Skrjabin, 1953; Stunkard, 1967a; Prokofiev, 2006). Once in a while, the cercariae take pauses in swimming, attach to the substratum using dorsal adhesive pockets, bend and touch the substratum with the anterior end of the body (Dönges, 1962; Krupenko, Gonchar, 2017a). If spread on the surface of the substratum, they extend and contract actively, and can thus crawl (Cort, 1914; Herber, 1942).

Notocotylid cercariae are capable of encysting almost immediately after leaving the mollusc (Kanev et al., 1994), but usually they spend some time (10–30 min) in the water column (Martin, 1956; Kinsella, 1971; Flores and Brugni, 2003). Before encystment, the body of the cercariae contracts rhythmically (Pike, 1969). The most common encystment substrata are molluscan shells (Harper, 1926, Pike, 1969) and aquatic vegetation (Herber, 1942, Dönges, 1962; Naem, Smythe, 2015). The cysts are hemispherical and protect well from adverse environmental conditions: for example, the viability of *N. attenuatus* metacercariae was not affected when they were placed in a solution of heavy metal salts (Evans, 1982).

Metacercariae of different species of notocotylids may be invasive immediately after encystment (Kinsella, 1971; Kanev et al., 1994); or after several hours (Dönges, 1962), days (Flores, Brugni, 2003), or weeks (Evans et al., 1997). The ability to infect a definitive host retains for up to eight months (Dönges, 1962). With *N. attenuatus* as an example, it has been experimentally shown that metacercariae start excystment in the large intestine 2.25 h after infection, and by the end of the fourth day, maritae accumulate in the distal parts of the caeca (Radlett, 1979). During the first days after

infection, *maritae* retain traces of eyespot pigment (Herber, 1942). Ventral organs (the papillae or ridges protruding on the ventral surface of the body in notocotylid *maritae*) are appearing gradually (Filimonova, 1985). It has been suggested that they may serve for attachment (Beverley-Burton, Logan, 1976), digestion (Wittrock, 1978), or respiration (MacKinnon, 1982), but neither has been validated yet.

Egg production in many notocotylids (e.g., *C. johnstoni*; *Catatropis chillinae* Flores & Brugni, 2003) begins about 10 days after infection, but *maritae* of some species develop faster (*Paramonostomum anatis* Garkawi, 1965; Garkawi, 1968) and some slower (*Q. quinqueserialis*; Kinsella, 1971). The uterus may contain up to 3,000 eggs at a time (Dönges, 1962). The eggs bear filaments at the poles; the filaments grow gradually as the egg advances along the uterine loops and reach their final size only in its distal parts (Martin, 1956; Rausch, Fay, 1966; Bayssade-Dufour et al., 1996). The lifespan of at least some, especially large and taking long to develop, notocotylid *maritae* can be up to half a year. This is how long it took before wild-caught infected muskrats stopped shedding *Q. quinqueserialis* eggs (Kinsella, 1971).

Thus, the course of the notocotylid life cycle is well known in general, but its specific details have been studied only in few species. For example, only one study dealt in any detail with the contents of the mature egg (*N. attenuatus*). There are also significant gaps in the less subtle issues. Out of 18 valid species of the genus *Catatropis*, the best-studied in this respect, only for eight species the first intermediate hosts were found (Rohde, Onn, 1967; Dvoryadkin, 1987; Kanev et al., 1994; Bayssade-Dufour et al., 1996; Flores, Brugni, 2003, 2006; Besprozvannykh, 2006). This was done through experimental infections. Studies elucidating the notocotylid life cycles by comparing marker DNA sequences in *maritae* and intramolluscan stages are very few (Assis et al., 2019; Izrailskaia et al., 2019; Sasaki et al., 2021). This is surprising, because data on the host range of notocotylids are necessary, among other things, to understand their host specificity and to elucidate transmission pathways in nature.

The specificity of notocotylids towards the definitive host was reviewed in detail by L.V. Filimonova (Filimonova, 1985). Three genera of Notocotylidae are confined to marine mammals: *Hippocrepis*, *Ogmocotyle*, and *Ogmogaster*. Representatives of other genera parasitize mainly in birds, but with some exceptions (e.g., hosts of *Q. quinqueserialis*, *Notocotylus noyeri* Joyeux, 1922, and *Catatropis morosovi* Gubanov et al., 1966 are rodents.) As a rule, one parasite species can occur in several different bird species, but within the same order. Accurate assessment of the specificity of notocotylid *maritae* is hindered by the high risk of identification errors and the imperfections of the existing taxonomy.

Regarding the specificity towards the first intermediate hosts, one species of Notocotylidae

seemed to occur in molluscs belonging to one genus (Filimonova, 1985). However, there is even less clarity on this question due to the lack of data on the first intermediate hosts. The importance of such data has long been emphasized: for example, two “biological groups” within the genus *Notocotylus* were outlined, developing in “pulmonate” and “prosobranch” molluscs (Dubois, 1951).

2.2. Diversity of the Notocotylidae

When the family Notocotylidae Lühe, 1909 was established, it contained three genera: *Catatropis*, *Notocotylus* and *Paramonostomum*. They were distinguished by the body shape; the type of ventral organs; and the ratio of cirrus sac and metraterm lengths (Lühe, 1909). Within each genus, one species was briefly characterized. Following erection of new taxa and revisions, the system of the family lost its coherence and began to develop controversies, many of which persist today.

The summary on the diversity of Notocotylidae first appeared in volume VIII of the series “Trematodes of Animals and Humans” (Skrjabin, 1953), where this family was considered within the suborder Notocotylata. Seven genera (three original ones, as well as *Quinqueserialis*, *Hofmonostomum*, *Parapronocephalum*, and *Tristriata*) were assigned to the subfamily Notocotylineae, and one each to Hippocrepiinae, Ogmogasterinae, and Ogmocotylineae. The book included diagnoses for 58 species of Notocotylidae, figures and identification keys. For nine species life cycle data were available.

In S. Yamaguti’s 1958 monograph (Yamaguti, 1958), notocotylids appeared in two sections: on trematodes of birds and mammals. The set of genera remained the same, with the exception of *Parapronocephalum*, which was transferred to the family Pronocephalidae. The species list had information on the definitive hosts and geographical origin, but no detailed descriptions. This list was extended in comparison with Skrjabin’s study (1953), but of 76 species only for 10 information on the first intermediate host was given (in many cases disputable). The “Synopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates” (Yamaguti, 1971) already listed more than 100 species (with information on the first intermediate host for 19 of them); and two new genera, *Uniserialis* and *Tetraserialis*.

According to the current system of Digenea (Cribb et al., 2001; Olson et al., 2003), Notocotylidae belong to the order Plagiorchiida, suborder Pronocephalata, superfamily Pronocephaloidea. Phylogenetic relationships within the family are unclear, therefore it was suggested to refrain from setting up subfamilies. Notocotylidae includes 13 genera: *Hippocrepiis*, *Notocotylodes*, *Parapronocephalum*, *Ogmocotyle*, *Ogmogaster*, *Pseudoquinqueserialis*, *Paramonostomum*, *Tristriata*, *Catatropis*, *Notocotylus*, *Uniserialis*, *Tetraserialis*, and *Quinqueserialis* (Barton, Blair, 2005). Despite some controversies, the section on Notocotylidae in the “Keys to Trematoda” is the most complete and

up-to-date. The classification is still based on morphology of *maritae* and identity of definitive hosts.

The main diagnostic characters in *maritae* are the size of the body and its organs; the type, number, and location of the ventral papillae and ridges; the ratio of the cirrus sac to the metraterm lengths; the position of the genital opening relative to the caecal bifurcation point; the extent of the vitellarium; the location and number of the uterine loops; the size of the eggs and their filaments (Harwood, 1939; Herber, 1942; Dubois, 1951; Skrjabin, 1953; McDonald, 1981; Filimonova, 1985). By default, these characters get described from the stained whole mounts (which is typical for all digeneans). Additionally, in several studies scanning electron microscopy was applied (Wittrock, 1978; Radlett, 1980; Tandon, Roy, 1996; Koch, 2002; Naem, Smythe, 2015; Diaz et al., 2020; Ramadan et al., 2020; Sasaki et al., 2021, etc.). This provided a more reliable description of the ventral organs, as well as a chance to consider an additional character—the tegumental spine structure.

The ventral organs are absent in the metacercariae and develop gradually as *maritae* grow (Pike, 1969; Radlett, 1979). They are sometimes not seen in preserved worms and on the whole mounts (Szidat, Szidat, 1935; Stunkard, 1967b). Despite these limitations, it is the shape and number of the ventral organs that serve to diagnose the genera in Notocotylidae. Species within the genus differ by the number of papillae in a row and the position of anterior papillae in different rows relative to each other and to the anterior end of the body.

Parallel to, and largely independent of, the exploration of the diversity of notocotylid *maritae*, many cercariae belonging to this family were also explored. Early attempts to differentiate them relied largely on metrical characteristics, in particular the body and tail lengths (Szidat, 1933; Szidat, Szidat, 1935; Yamaguti, 1938; Herber, 1942). A more stable and comparable (also when measured by different authors) size trait is the cyst diameter (Rothschild, 1938). Strictly speaking, it rather refers to metacercariae, but observing cyst formation is almost inevitable when watching cercariae.

Cercariae of Notocotylidae (with one exception, which will be discussed below) are very uniform in structure, and even, unlike in many other digeneans, their excretory formula is the same within the family (Odening, 1966). When describing cercariae of Notocotylidae, Rothschild (1938) suggested to consider colour, density, and distribution of pigment over the body; extent of eyespot and genital primordium development; shape of the urinary bladder and MCD, size of the excretory pore; size of the cystogenous glands; and behavioural features (when the cercariae leave the redia, how long they swim, where and how fast they encyst). Many of these parameters are subjective or difficult to estimate, and in practice, the approach based on the structure of the MCD of the excretory system proved to be the most applicable for the differentiation of notocotylid cercariae.

MCDs in notocotylid cercariae are filled with light-refracting excretory granules and are clearly visible on the temporary mounts with living cercariae, despite the body pigmentation. Rothschild

(Rothschild, 1938) noticed that there are characteristic variants of the shape of the MCD and proposed to distinguish three morphotypes according to this feature: Monostomi, Imbricata and Yenchingensis. In Monostomi cercariae (type species *Cercaria ephemera* Lebour, 1907), the anterior part of the MCD is located behind the median eyespot. In Imbricata cercariae (type species *Cercaria imbricata* Loos, 1896), the anterior part of the MCD protrudes forward, forming a loop that passes between the lateral eyespots and is in front of the median one. In Yenchingensis cercariae (type species *Cercaria yenchingensis* Faust, 1930) there is an unpaired diverticulum in the anterior part of the MCD, directed toward the median eyespot or slightly lateral to it.

The characters proposed by Rothschild do not allow differentiation of taxa above the rank of species. For example, within the genus *Catatropis*, there are species with cercariae of both Imbricata (*Catatropis vietnamensis* Izrilskaia et al., 2019) and Monostomi (*Catatropis lagunae* Bayssade-Dufour, 1996) morphotypes. Cercariae of the Monostomi morphotype, in turn, are also found in the genera *Paramonostomum* (*P. alveatum*, Stunkard, 1967a) and *Notocotylus* (*Notocotylus triserialis* Diesing, 1839 (Dubois, 1951), Pike, 1969). However, cercarial morphotype may be significant for species distinction (Dönges, 1962; Odening, 1963).

In several species of Notocotylidae, the cercariae have an unusual structure. They lack pigmented eyespots, have a stumpy tail and cannot swim. Such cercariae leave the rediae but do not emerge into the external environment. The definitive host gets infected by eating the infected first intermediate host (gastropod) with the metacercariae inside. Such cercariae have been described from the molluscs of the family Planorbidae (Joyeux, 1922; Izrilskaia et al., 2019). The proposal to combine these species into a separate genus *Pseudocatropis* (Kanev et al., 1994) was not supported in Keys to Trematoda (Barton and Blair, 2005), based on the priority of data on maritae in digenean systematics. This was, however, questioned by the authors of the new species *Pseudocatropis dvoryadkini* Izrilskaia et al., 2019³.

Although according to some features (structure and behaviour) it is possible to distinguish notocotylid cercariae of different species, they are very uniform. In such circumstances, the taxonomic affiliation of the host mollusc may serve as an additional source of evidence. To make the full use of it, it is necessary to understand the degree of specificity of notocotylids. This is one of the aspects that this study is dealing with.

The diversity of notocotylids is being further documented: new species get described. Quite understandably, the integrative taxonomy approach is now recognized as optimal for digeneans (Blasco-Costa et al., 2016; Faltýnková et al., 2022). This approach implies, in addition to the morphological descriptions of maritae and identity of the definitive hosts, the involvement of

³ The species is listed as “unaccepted” by WoRMS, but the reason is that the holotype was not explicitly fixed.

information on other stages of the life cycle and molecular data. The first DNA sequences for Notocotylidae appeared in GenBank when two major works on the phylogeny of trematodes were released (Tkach et al., 2001; Olson et al., 2003). Since then (that is, in about the last 20 years) at least 20 new species of Notocotylidae have been described (according to Google Scholar search and references in the papers found). Six of them have been characterized genetically using at least one marker. Also, for five species, the first intermediate host was specified and the structure of the rediae and cercariae was described. Only two of the new species (from one paper, Izrailskaia et al., 2019) provided both these types of data. The remaining species were described solely from maritae, and most of them assigned to the genus *Paramonostomum* (i.e., they supposedly lack ventral papillae). These data should be taken with caution, because on whole mounts the papillae often appear indistinguishable.

2.3. Notocotylidae in the coastal marine ecosystems

Notocotylidae are common in both freshwater and marine habitats. Representatives of the genus *Ogmogaster* can be considered truly “marine”. Their definitive hosts are cetaceans and pinnipeds, and the first intermediate hosts are unknown. However, the life cycles of species with maritae developing in birds can also be confined to marine habitats. In these cases, the first intermediate hosts are marine or brackish molluscs from intertidal or estuarine locations. The diversity of “coastal” notocotylids is reviewed in Table 1.

Most of them parasitize in several species of small deposit-feeding molluscs, which are now classified in the genera of the superfamily Truncatelloidea: *Peringia*, *Ecrobia* (Hydrobiidae), *Spurwinkia* (Cochliopidae) and *Coxiella* (Tomichiidae). Notocotylidae are also documented in several species of the family Littorinidae (Littorinoidea). *Onoba aculeus* (Rissooidea) and *Skeneopsis planorbis* (O. Fabricius, 1780) (Littorinoidea) are also known to host notocotylids. Two species of notocotylids were found in the molluscs of the subfamily Cerithioidea: *Cerithideopsis californica* (Haldeman, 1840) (Potamididae) and *Sermyla riquetii* (Grateloup, 1840) (Thiaridae).

For some of these notocotylids, only rediae and cercariae are known. If the life cycle is experimentally elucidated (i.e., maritae are characterized and species are named), birds serve as the definitive hosts. There is less data on notocotylids circulating in the marine coastal ecosystems than on the freshwater ones.

The review in this chapter was intended to show the general context of the thesis. Further in the text, for convenience, each section is preceded by a brief focus on the most relevant literature.

Table 1. Notocotylidae in the coastal marine ecosystems.

Species and/or cercaria name	Molluscan host	Geographic region	Reference (first occurrence)
<i>Paramonostomum alveatum</i>	<i>Peringia ulvae</i>	White Sea, western coast of the Northern Atlantic	Kulachkova, 1954
<i>Notocotylus minutus</i>	<i>Ecrobia truncata</i> (Vanatta, 1924)	western coast of the Northern Atlantic	Stunkard, 1960
<i>Notocotylus atlanticus</i>	<i>Spurwinkia salsa</i> (Pilsbry, 1905)	western coast of the Northern Atlantic	Stunkard, 1966
<i>Paramonostomum parvum</i> Stunkard & Dunihue, 1931	<i>S. salsa</i>	western coast of the Northern Atlantic	Stunkard, 1967a
<i>Uniserialis berviserialis</i> Stunkard, 1967	<i>S. salsa</i>	western coast of the Northern Atlantic	Stunkard, 1967b
<i>Paramonostomum anatis</i>	<i>E. ventrosa</i>	Sea of Azov	Гаркави, 1968
<i>Catatropis lagunae</i>	<i>P. ulvae</i>	eastern coast of the Northern Atlantic	Bayssade-Dufour et al., 1996
4 × <i>Cercaria</i> sp.	<i>P. ulvae</i>	Great Britain	Rothschild, 1938
<i>Cercaria</i> sp. (Imbricata)	<i>E. ventrosa</i>	Great Britain	Rothschild, 1938
<i>Cercaria Notocotylidae</i> sp. 10–14	<i>P. ulvae</i> , <i>E. ventrosa</i>	the English Channel	Deblock, 1980
<i>Cercaria lebouri</i> / <i>Paramonostomum chabaudi</i> Van Strydonck, 1965	<i>Littorina obtusata</i> , <i>L. littorea</i>	Great Britain	Stunkard, 1932; Evans et al., 1997
<i>Parapronocephalum symmetricum</i> Belopolskaia, 1952	<i>L. saxatilis</i>	White Sea	Belopolskaia, 1952
<i>Cercaria Notocotylus</i> 1	<i>L. saxatilis</i>	Barents Sea	Chubrik, 1966
<i>Cercaria Notocotylus</i> 2	<i>Onoba aculeus</i>	Barents Sea	Chubrik, 1966
<i>Notocotylus</i> sp.	<i>L. saxatilis</i> , <i>L. obtusata</i> , <i>P. ulvae</i> , <i>Skeneopsis planorbis</i>	Barents Sea	Podlipaev, 1979
<i>Cercaria</i> sp.	<i>Melarhaphé neritoides</i> (L., 1758)	Great Britain	Rothschild, 1938
Notocotylidae gen. sp.	<i>L. sitkana</i>	the Kuril islands	Tsimbaljuk et al., 1978
<i>Cercaria mihi</i> 12	<i>L. scutulata</i>	Alaska	Ching, 1991
Notocotylidae gen. sp. NZ 1 and 2	<i>Austrolittorina antipodum</i> , <i>A. unifasciata</i>	Australia, New Zealand	O'Dwyer et al., 2014, 2015
<i>Catatropis johnstoni</i>	<i>Cerithideopsis californica</i>	California	Martin, 1956
<i>Paramonostomum philippinense</i> Velasquez, 1969	<i>Sermyla riquetti</i>	the Philippines	Velasquez, 1969
<i>Paramonostomum caeci</i> , <i>P. bursae</i> Smith & Hickman, 1983	<i>Coxiella striata</i> (Reeve, 1842)	Tasmania	Smith, Hickman, 1983

3. Results of the study and discussion

3.1. *Paramonostomum* Lühe, 1909

3.1.1. Background

The genus *Paramonostomum* includes notocotylids lacking ventral organs, either papillae or ridges (Barton, Blair, 2005). Since these structures are often difficult to identify in whole mounts, some specimens could have been attributed to the genus *Paramonostomum* erroneously (Harwood, 1939; Filimonova, 1985). There are two groups of species within the genus: those with an ovoid shape of the maritae body (“alveatum”) and those with an elongated one (“elongatum”) (Harwood, 1939). The type species *P. alveatum* belongs to the first group. Its life cycle and pathogenic effect on eider chicks were first studied by V. G. Kulachkova (1954) in the Kandalaksha Reserve; intermediate hosts were *Peringia ulvae* molluscs. Later, these findings were experimentally confirmed in North America by Stunkard (1967a); he also pointed out that cercariae of *P. alveatum* have Monostomi morphotype.

Hydrobiids are also known as intermediate hosts of other notocotylids in Europe (Table 1), including *P. anatis*—the species morphologically close to *P. alveatum* (Garkawi, 1968). We studied the White Sea samples in order to reproduce and possibly supplement the data of V. G. Kulachkova.

3.1.2. New data on *P. alveatum* at the White Sea

In the gastropod *Ecrobia ventrosa* we found notocotylids with cercariae that have variable shape of the anterior part of the main collecting ducts: without diverticula (the classical morphotype Monostomi) (Fig. 1a) and with single central, two lateral or three diverticula (variations of the morphotype Yenchingensis) (Fig. 2). We interpret these forms as a set of intraspecific variants because they do not differ in 28S rDNA and ITS1 sequences. According to these sequences, they also matched *P. alveatum* marita from the common eider *Somateria mollissima*. This marita was identified by morphological criteria: the position of the genital pore (behind the point of caecal bifurcation), the structure of the cirrus (large with spines) and cirrus sac (thin-walled).

It has long been considered that one species of hydrobiids, *P. ulvae*, occurs at the White Sea. Now it is clear that this species coexists there with another one, *E. ventrosa* (Gorbushin, 1992). We found rediae and cercariae of *P. alveatum* (this is confirmed by molecular genetic data) in both species of hydrobiids. Now these gastropods belong to different genera of the same family, and this suggests that specificity of *P. alveatum* to the first intermediate host is not as tight. Moreover, *Spurwinkia salsa* are documented as intermediate host of *P. alveatum* in North America; these gastropods belong to another family within the superfamily Truncatelloidea (according to the recent system). The ranges of the first intermediate host species of Notocotylidae are further discussed in the next section (3.2.).

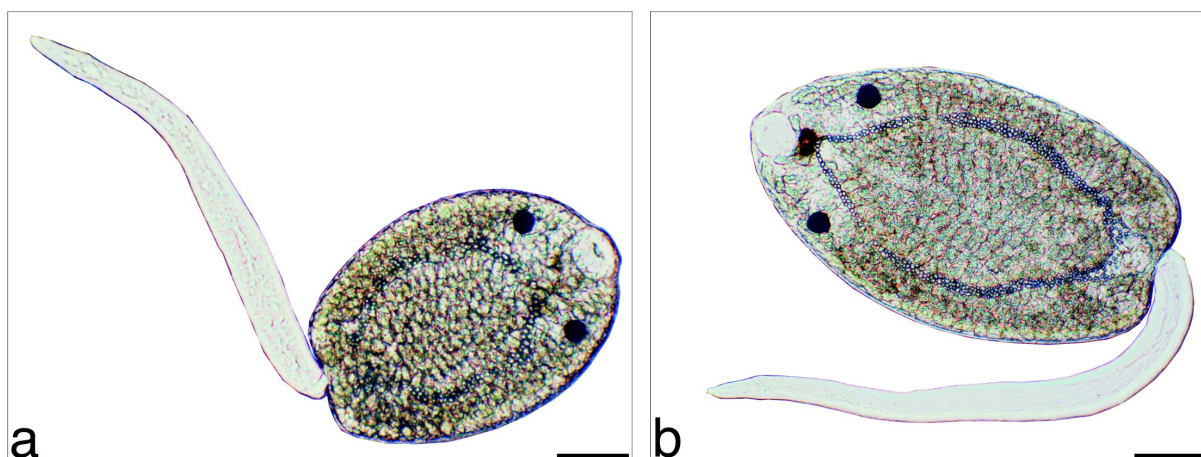


Figure 1. Microphotographs of cercariae of (a) *Paramonostomum alveatum* and (b) *P. anatis*. Scale bar 50 μm .

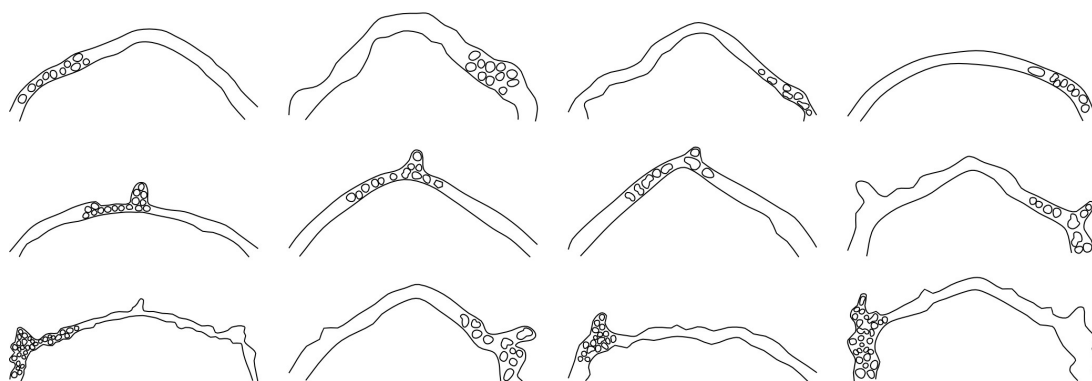


Figure 2. Variations in the shape of the anterior part of the main collecting ducts of the excretory system in *Paramonostomum alveatum* cercariae. The shape of the channels is shown, with excretory granules drawn only in certain parts.

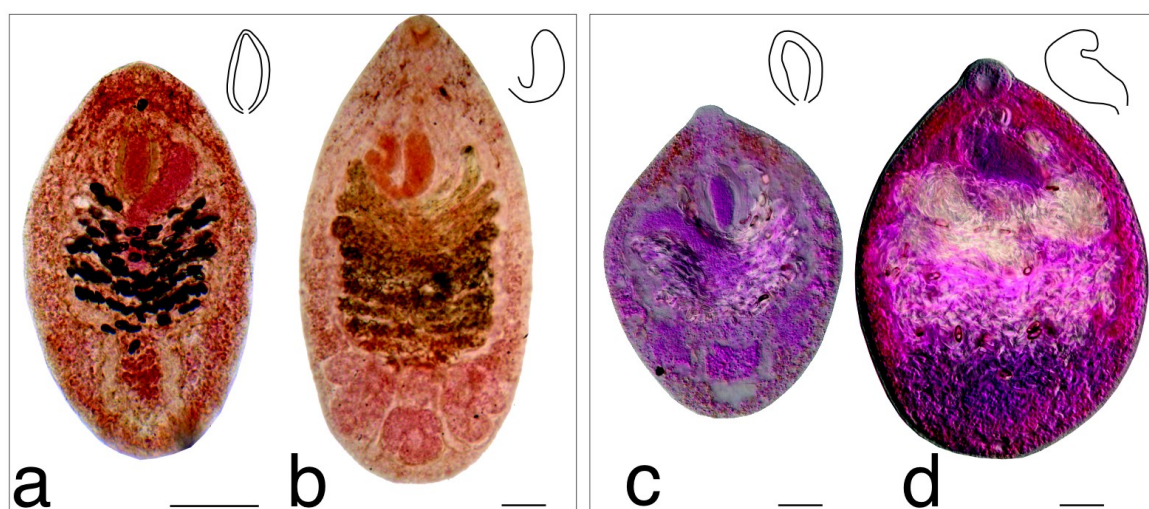


Figure 3. Microphotographs of maritae of the genus *Paramonostomum* from the collection of V. G. Kulachkova (a, b) and those obtained in the infection experiment (c, d). Thick-walled cirrus sac (a, c) corresponds to the diagnosis of *P. anatis*, thin-walled (b, d)—to that of *P. alveatum*. Scale bar 50 μm .

3.1.3. *Paramonostomum anatis* at the White Sea

In the mallard *A. platyrhynchos*, we found *Paramonostomum maritae* with an ovoid body shape, very similar to *P. alveatum*, but differing—primarily in the structure of the cirrus sac: it was thick-walled and had spiral striation produced by powerful musculature (Krupenko, Gonchar, 2017b). On the basis of morphological characters, we assigned them to the species *P. anatis*; it is the first record of this species in northern Europe. The life cycle of *P. anatis* was studied in the Sea of Azov; *E. ventrosa* serves as a first intermediate host there (Garkawi, 1968). We also found notocotylid cercariae in the White Sea *E. ventrosa*, which matched our specimen of *P. anatis* by marker DNA sequences (28S rDNA, ITS1). We documented for the first time the cercaria morphotype for this species (Imbricata) (Fig. 1b). The cercariae are very similar to *Cercaria Notocotylidae* sp. no. 12 Deblock, 1980, which are also parasites of Hydrobiidae. When the cycle of this species was first studied (Garkawi, 1968), the cercaria morphotype was neither mentioned in the text nor clear from the figure⁴.

I have studied 58 whole mount slides with the specimens of the genus *Paramonostomum* from the collection of V.G. Kulachkova, dated 1957–1970 (sampled in the vicinity of the Marine Biological Station of the Zoological Institute of the RAS “Kartesh” on the White Sea). Most of them are now in a state that does not allow identifying the species. However, 12 *maritae* were identified: seven as *P. alveatum* (one from *Anas strepera* L., 1758 and six from *S. mollissima*); and five as *P. anatis* (three from *Mergus merganser* L., 1758, one from *S. mollissima* and one from *A. platyrhynchos*). This indicates that two species of *Paramonostomum* were present in the White Sea before, but they were not distinguished.

Our samples of *P. anatis* do not match the 28S rDNA sequence of *P. anatis* from *Tringa erythropus* Pallas, 1764 from the Kherson region (Tkach et al., 2001; GenBank AF184258). We discuss possible explanations in section 3.5.

3.1.4. Encystment substrata for *P. alveatum* and *P. anatis* cercariae

We compared the behaviour of cercariae of the two *Paramonostomum* species relative to the encystment substratum. We used to call them *Cercaria Notocotylidae* sp. No 11 and *C. Notocotylidae* sp. No 12 according to Deblock, 1980 (Gonchar and Galaktionov, 2016), but they correspond to the two species discussed in the previous two sections: *P. alveatum* and *P. anatis*. The preference to form cysts on shells of molluscs, crustaceans, and plants was previously observed for cercariae of Notocotylidae (e.g., Dönges, 1962; Alekseev, 1962). We made an attempt to describe this behaviour

⁴ According to a later interpretation of Garkawi’s study, cercariae of *P. anatis* have Yenchingensis morphotype (Deblock, 1980). Perhaps, the reason was that the oesophagus in the figure was mistaken for the anterior diverticulum of the MCD.

quantitatively for the first time.

The substrata in the first experimental series were the shell of the host mollusc *E. ventrosa* and the leaf of the aquatic plant, the eelgrass (*Zostera marina* L., 1753). It turned out that the cercariae of the two species behave differently (Fig. 4). In the case of *P. anatis*, cysts with metacercariae were found on both substrata approximately equally (t-test $p = 0.94$, $n = 78$). Cercariae of *P. alveatum* selectively encysted on the eelgrass (t-test $p \ll 0.001$, $n = 66$).

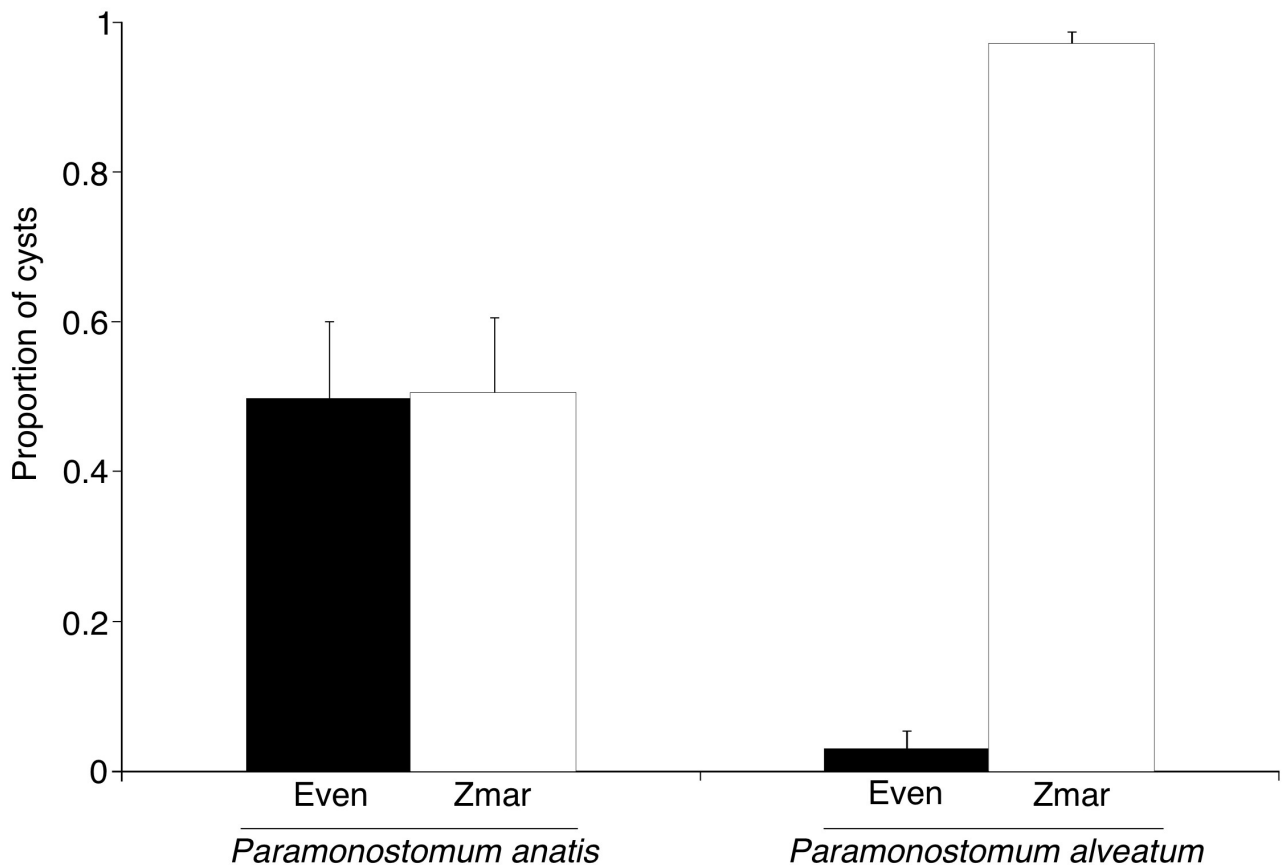


Figure 4. Distribution of notocotylid cysts between the two experimental substrata. Even—*E. ventrosa* shell surface (black bars); Zmar—*Z. marina* surface (white bars). 95% confidence intervals are shown. (modified from Gonchar, Galaktionov, 2016)

In the second experimental series for *P. alveatum* cercariae we compared encystment on two plant substrata (*Z. marina* and coastal grass *Poa* sp.); for *P. anatis* cercariae—on shells of living molluscs (host mollusc, uninfected *E. ventrosa* and *P. ulvae*) and empty *E. ventrosa* shells. In the first case, encystment occurred on both plants (t-test $p = 0.42$; $n = 42$) (Fig. 5). In the second one, cysts were evenly distributed among the shells of living gastropods ($n = 46$; $\chi^2 = 0.012$; $p = 0.99$), but were virtually absent on empty shells (0.8% of the total number) (Fig. 6).

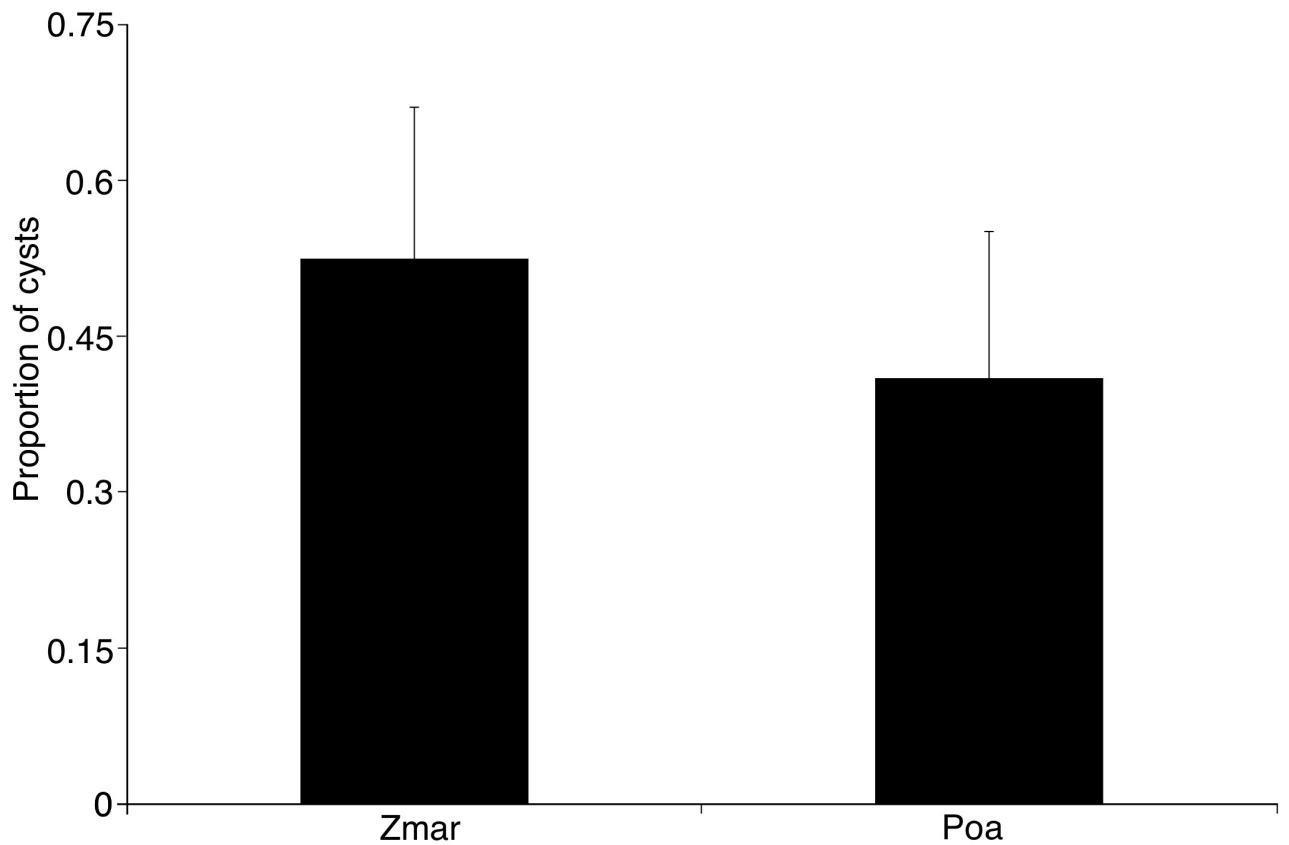


Figure 5. Distribution of *P. alveatum* cysts between the two experimental substrata: *Z. marina* (Zmar) and *Poa* sp. (Poa) surfaces. 95% confidence intervals are shown. (modified from Gonchar, Galaktionov, 2016)

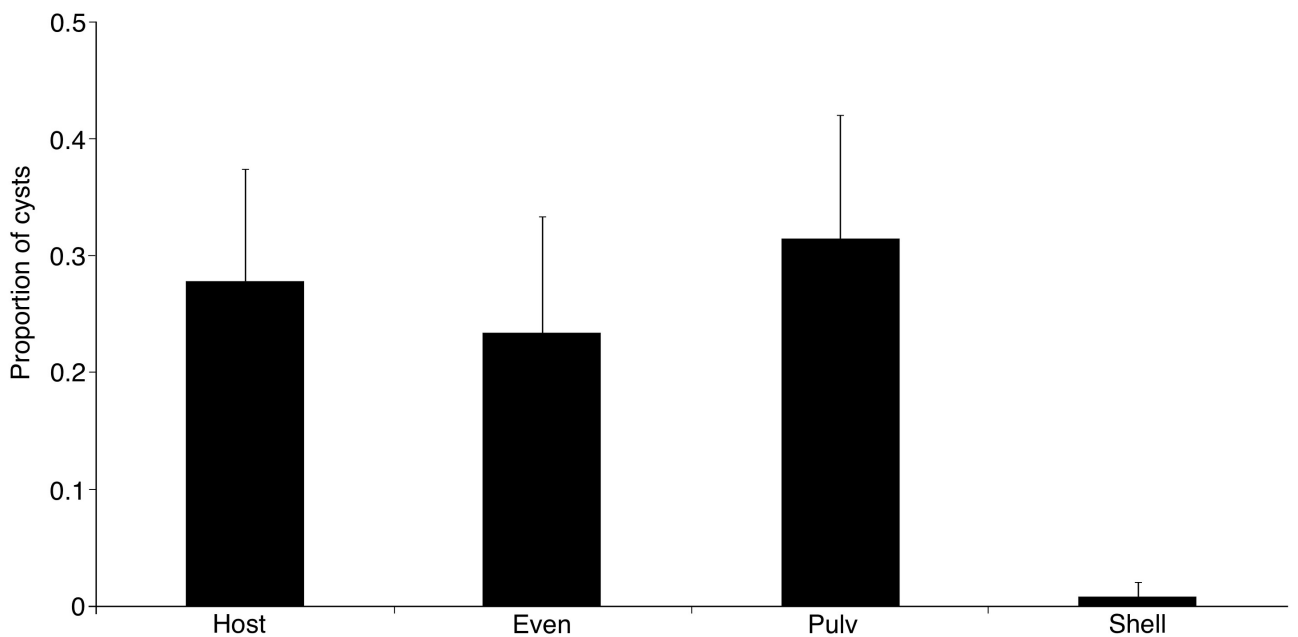


Figure 6. Distribution of *P. anatis* cysts between the experimental substrata: shell surfaces of the living molluscs (host *E. ventrosa* (Host), uninfected *E. ventrosa* (Even) and *P. ulvae* (Pulv)) and the empty shells of *E. ventrosa* (Shell). 95% confidence intervals are shown. (modified from Gonchar, Galaktionov, 2016)

The observed preferences may be adaptive to increase the transmission success (Pearson, 1972). In the White Sea, *P. alveatum* *maritae* were found in common eiders *S. mollissima* (Kulachkova, 1954) and several other duck species, swans, and even sandpipers (Filimonova, 1985). Some of them feed predominantly on plants, others may eat them incidentally when feeding in the intertidal. The range of the definitive hosts of *P. anatis* is expected to include shorebirds feeding on benthic invertebrates and sometimes on plants (e.g., diving ducks). The detected specificity to substrata is not strict, except for the trend to encyst only on shells of the living molluscs: this increases the probability of being eaten by the definitive hosts.

3.1.5. Conclusions

Rediae and cercariae of the two species of the genus *Paramonostomum*, differing morphologically and by molecular data, were found in *E. ventrosa* molluscs. For the species *P. alveatum*, the host range and structure of cercariae were updated; *P. anatis* was recorded in Northern Europe for the first time. It has been experimentally shown that the cercariae of these species differ in their ability to selectively encyst on the substratum. The specificity of *P. alveatum* cercariae encystment on the plant substratum and *P. anatis*—on the shells of the living molluscs may contribute to their trophic transmission.

3.2. *Notocotylus atlanticus* Stunkard, 1966

3.2.1. Background

Notocotylus, the type genus of the family Notocotylidae, includes about 50 species. Judging by the literature data, many of them are invalid, including synonymous species and species complexes. Taxonomic difficulties are due to problems in the original descriptions, errors in the identification of *maritae* and cercariae, and morphological similarities between species (Harwood, 1939, Dubois, 1951, Stunkard, 1966). For example, under the name *Notocotylus attenuatus*, many notocotylids from birds of different orders and mammals around the world were recorded (Filimonova, 1985). However, a detailed analysis of publications and collections of the 19th and early 20th centuries revealed weighty arguments in favour of *N. attenuatus* being a *species inquirenda*, accepting *N. triserialis* as the type species (Dubois, 1951). Moreover, a number of species were described that are hardly distinguishable from each other at the *marita* stage: *N. triserialis*, *N. intestinalis* Tubanguui, 1932, *N. urbanensis*, *N.*

stagnicolae, *N. dafilae* Harwood, 1939, *N. imbricatus* (Looss, 1893) Szidat, 1935, *N. magniovatus* Yamaguti, 1934, *N. atlanticus*, *N. minutus*, and possibly some more.

Under such circumstances, in order to differentiate *Notocotylus* species, it was proposed (Dubois, 1951) to pay special attention to the structure of the cercariae and the range of molluscan (and vertebrate, to a lesser extent) hosts. Experimental evidence on the life cycles (apart from the definitive host) is available for about 20 species of the genus. On the one hand, this is not so few. On the other hand, data from some studies might not be valid, making the situation even more confusing. With this in mind, a complete revision of the genus will require a number of reliable studies that describe in detail the morphology of different life cycle stages and determine the hosts range, employing molecular genetic data. I tried to take a step in this direction.

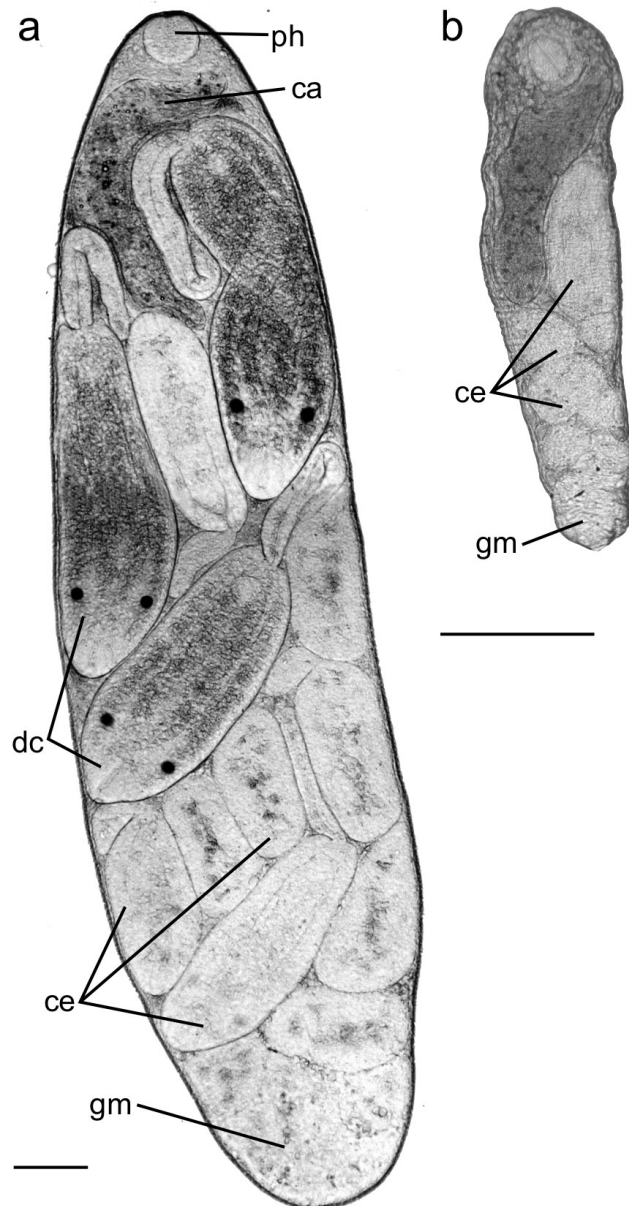


Figure 7. Microphotographs of the mature (a) and young (b) rediae of *N. atlanticus*. ph pharynx; ca caeca; dc developing cercaria; ce cercarial embryo; gm germinal mass. Scale bar 100 μ m. (from Gonchar et al., 2019)

3.2.2. Identification of *N. atlanticus* in the Palaearctic

In the molluscs *E. ventrosa*, we found notocotylids that differ from the species of the genus *Paramonostomum* described in Section 3.1 (Gonchar et al., 2019). Their rediae (Fig. 7) and cercariae (Fig. 8) are typical of notocotylids. In cercariae, the main collecting ducts have a diverticulum that extends anteriorly beyond the median eyespot—the Yenchingensis morphotype. Many cercariae in experimental vessels were observed to form cysts (Fig. 8) on the shell of the host mollusc.

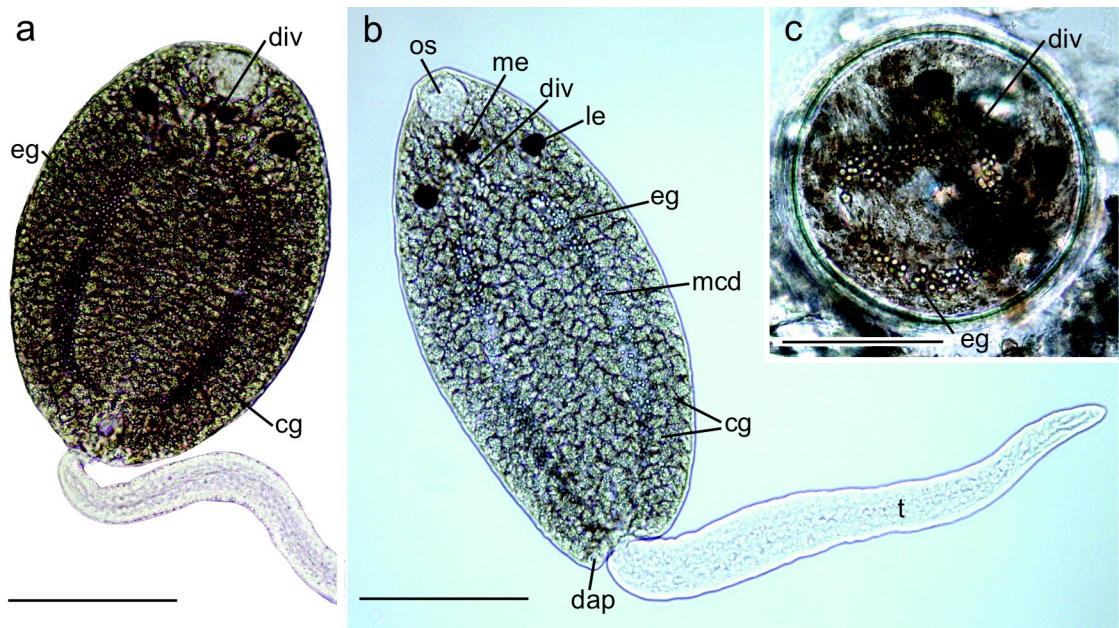


Figure 8. Microphotographs of living cercariae in the contracted (a) and extended (b) state, and of the metacercaria (c) of *N. atlanticus*. os oral sucker; dap dorsal adhesive pocket; le lateral eye; me median eye; mcd main collecting duct of the excretory system with excretory granules (eg), and its anterior diverticulum (div); cg cystogenous glands; t tail. Scale bars 100 μ m. (from Gonchar et al., 2019)

In mallards *A. platyrhynchos* from the White Sea coast, we found maritae of the genus *Notocotylus* (Gonchar et al., 2019). Morphologically, they were very similar to the maritae of the cosmopolitan species *N. attenuatus* and a number of other species (Fig. 9). Sequencing and comparison of the 28S rDNA and ITS1 for these maritae and for the Yenchingensis cercariae from *E. ventrosa* showed that they are parts of the same life cycle ($p = 0$ for both fragments). Considering the structure of maritae and cercariae, and Hydrobiidae as the first intermediate hosts (Table 2), we identify our material as *N. atlanticus* (Gonchar et al., 2019). This species has not been recorded since its description, but cercariae of the Yenchingensis morphotype have been found in the hydrobiids in Europe (Rothschild, 1941; Deblock, 1980; Skirnisson et al., 2004; Gonchar, Galaktionov 2016). Among them, *Cercaria Notocotylidae* sp. no. 13 Deblock, 1980, was suggested to belong to *N. atlanticus*. Our molecular genetic data will make it easier to identify this species in the future, as well as better understand its geographical distribution.

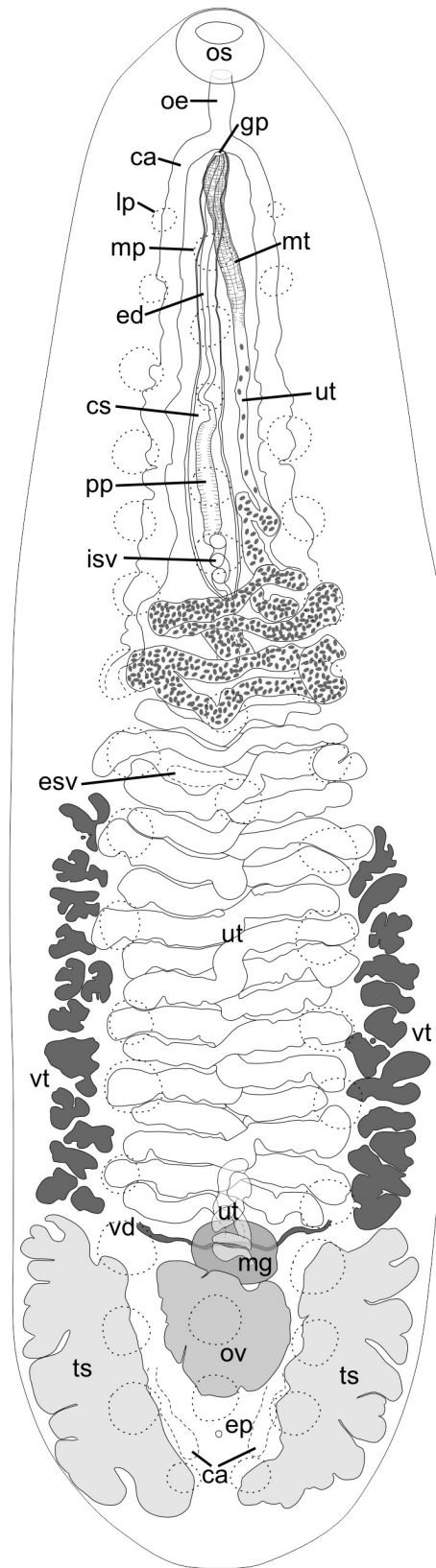


Figure 9. Drawing of *N. atlanticus marita*, ventral view. os oral sucker; oe oesophagus; ca caecum; mp median ventral papilla; lp lateral ventral papilla; ep excretory pore; ov ovary; mg Mehlis' gland; vt vitellarium; vd vitelline duct; uterus; mt metraterm; gp genital pore; ts testis; esv external seminal vesicle; isv internal seminal vesicle; pp pars prostatica; ed ejaculatory duct; cs cirrus sac. Scale bar 500 μ m. (from Gonchar et al., 2019)

Table 2. Morphological features of maritae, rediae, and cercariae and identity of the first intermediate host may help discriminate between five species of *Notocotylus* (from Gonchar et al., 2019).

Species	Egg filam. length, μm	Metr. to cirrus sac ratio	Locom. app. in rediae	Cerc.	First intermediate host		
					Species	Fam., superfam.	Cubclass
<i>N. atlanticus</i>	53–151	< 1/2	absent	Yen	<i>S. salsa</i> , <i>E. ventrosa</i>	Cochliopidae, Hydrobiidae (Rissoidea)	Caenogastropoda
<i>N. intestinalis</i>	–	> 1/2	absent	Yen	<i>Parafossarulus manchouricus</i> (Bourguignat, 1860), <i>P. spiridonovi</i> Zatravkin & Starobogatov, 1989	Bithyniidae (Rissoidea)	Caenogastropoda
<i>N. magniovatus</i>	< 500	< 1/2	present	Yen	<i>Semisulcospira</i> spp., <i>Koreoleptoxis tegulata</i> (E. von Martens, 1894), <i>Tarebia granifera</i> (Lamarck, 1816)	Semisulcospiridae (Cerithioidea), Thiaridae	Caenogastropoda
<i>N. imbricatus</i>	185–240	1/4–3/4	absent	Yen	<i>Bithynia tentaculata</i> (L., 1758)	Bithyniidae (Rissoidea)	Caenogastropoda
<i>N. attenuatus</i>	300–464	2/7–4/5	absent	Mon	<i>Lymnaea</i> spp.	Lymnaeidae	Heterobranchia

N. atlanticus—Gonchar et al., 2019; Stunkard, 1966. *N. intestinalis*—Besprozvannykh, 2010. *N. magniovatus*—Yamaguti, 1938; Dubois, 1951; Odening, 1964. *N. imbricatus*—Dubois, 1951. *N. attenuatus*—Szidat, Szidat, 1935; Pike, 1969; Filimonova, 1985. Yen—morphotype Yenchingensis. Mon—morphotype Monostomi.

3.2.3. Geographic distribution

New data on representatives of the genus *Notocotylus* in Japan (Sasaki et al., 2021) allowed us to better understand the extent of the geographic distribution of *N. atlanticus*. Of the three species of *Notocotylus* found in common mallards on the island Hokkaido, one had the same partial 28S rDNA sequence as our European *N. atlanticus* isolate. However, their conspecificity was inconclusive due to the absence of any other data from the Japanese sample. I obtained the *cox1* sequences for six European isolates, used these data for the barcode gap analysis, and showed that European and Japanese isolates do likely belong to the same species (Gonchar, Galaktionov, 2022; Fig. 10). These results supported the previously stated hypothesis (Sasaki et al., 2021).

Intraspecific variability in *N. atlanticus* ($1.36\pm 0.51\%$) was high relative to most other notocotylids (0.43–0.78%). However, in the species *T. anatis* the value is comparable (1.18%) and it is the only species also found in North Atlantic (NA) and North Pacific (NP). While in *T. anatis* we showed isolation between NA and NP populations (section 3.3.; Gonchar, Galaktionov, 2017), in *N. atlanticus* at least NOT5 European isolate is closer to the Japanese one (four substitutions) than to other European ones (10–12 substitutions). These data, however, are preliminary, and for a better

understanding, more isolates from different parts of the distribution range are needed, particularly from the east coast of North America.

The geographic distribution of *N. atlanticus* should be discussed in the context of the life history of this species. For its definitive hosts from the genus *Anas*, migrations between NA and NP are not the primary ones, but, for example, *A. platyrhynchos* displayed weak genetic differentiation within Eurasia (Kulikova et al., 2012). It is also important which species is the first intermediate host. Based on the available data, it appears that in North America, Europe, and Japan, molluscs of three different families within the superfamily Truncatelloidea serve its role. This assumption requires further verification, but if it is true, then the specificity of *N. atlanticus* to the first intermediate host may largely be determined by the ecological characteristics of molluscs: all of them are small deposit-feeders that live in the muddy intertidal and are similar in general appearance. Probably, *N. atlanticus* can adopt new hosts by host-switching without subsequent genetic differentiation (at least in terms of 28S rDNA and *cox1* markers).

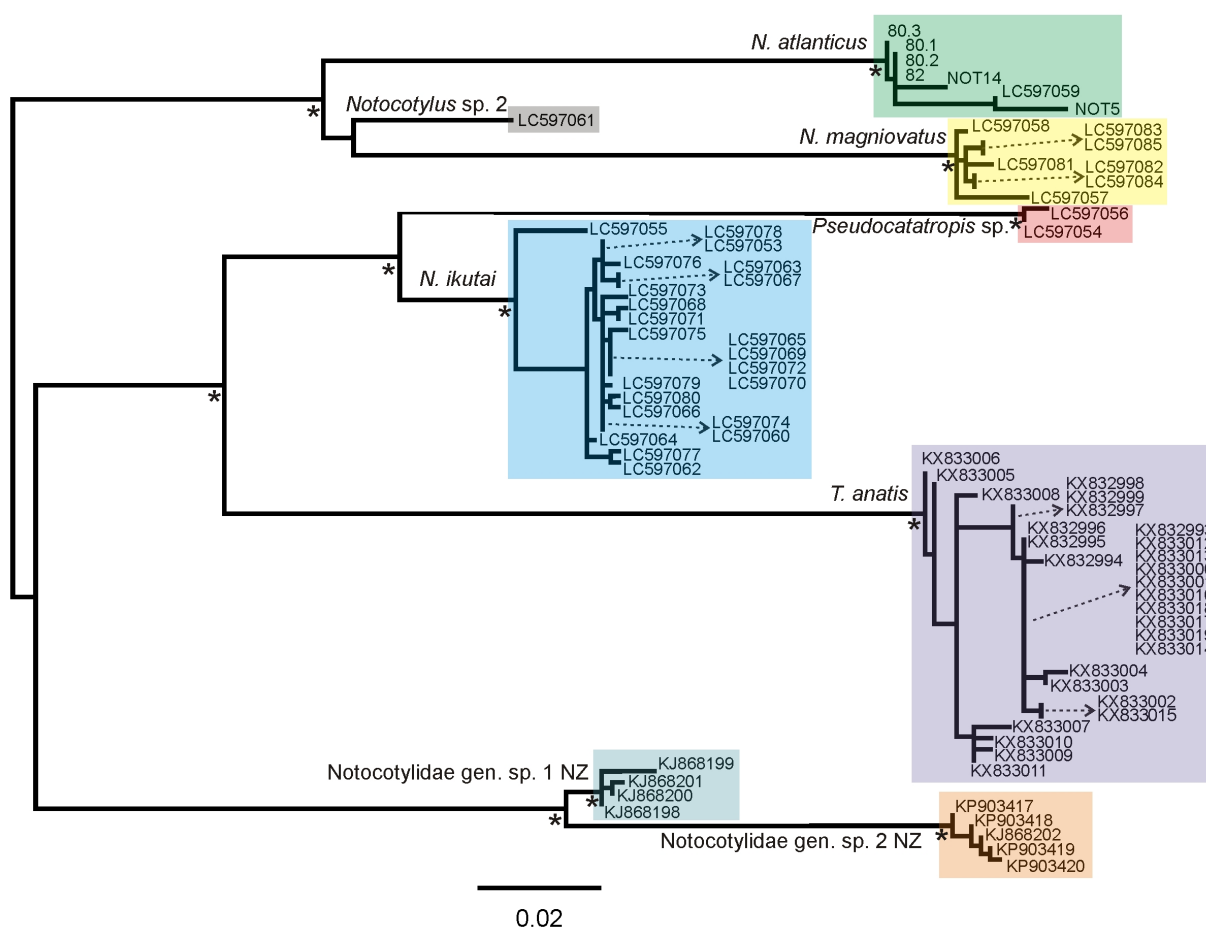


Figure 10. Species delimitation with barcode gap analysis based on *cox1* gene sequences, mapped on a maximum likelihood phylogenetic tree. Asterisks indicate bootstrap support values of 100%. A scale bar shows the number of substitutions per site. (from Gonchar, Galaktionov, 2022)

3.2.4. Specificity issues

There is a chance that North American and European *N. atlanticus* are in fact different species. Testing this requires material from the type locality in New England. According to the single species hypothesis, in North America the intermediate host of *N. atlanticus* is *S. salsa*; in Europe, it is *E. ventrosa*. These species used to belong to the same genus, *Hydrobia*; now, they belong to different families within the same superfamily (Wilke et al., 2013). This is not a unique case for notocotyliids: *Paramonostomum alveatum* has been recorded in the same two snail species (Kulachkova, 1954; Stunkard, 1967a); *N. magniovatus* develops in molluscs from two families within Cerithioidea (Table 2). Parasitism of *Q. quinqueserialis* in molluscs of different genera within the family Planorbidae has been confirmed genetically (Gagnon, Detwiler, 2019). When evaluating the digenean fauna of molluscs in Canada, one notocotyliid species (identified by the *cox1* gene sequences) was found in three different species of molluscs from three families within the superfamily Lymnaeoidea (Gordy et al., 2016). Many notocotyliids were thought to be confined to one species or genus of molluscs, but changes in the classification of gastropods question this idea. For example, Filimonova (1985) provided summary on ten species of the genus *Lymnaea* as hosts for *N. attenuatus*; currently, these species belong to seven different genera. Thus, something must change in the future: either ideas about the specificity of notocotyliids, or the boundaries of some species. For now, I propose the hypothesis of the single *N. atlanticus* species in North America and Europe. The spread of the parasite between these regions could occur during the migration of birds, although this migration route is not the main one (Bruun, 1971; Newton, 2007).

Phylogenetic analysis also provides new data on the specificity of *Notocotylus* representatives (Section 3.5., Fig. 18). Species which use gastropods from two distant branches (Caenogastropoda and Heterobranchia) as first intermediate hosts appear in two different clades. Dubois proposed that there were two “biological groups” of *Notocotylus*, restricted to one of these molluscan groups each (Dubois, 1951). Current data support this idea with phylogenetic background. This issue will be further considered in Section 3.5..

3.2.5. Summary

The species *N. atlanticus* was detected for the first time in the Palaearctic. Its cercariae were found in the molluscs *E. ventrosa* in the White Sea and on the coast of Iceland; *maritae* were found in *Anas* spp. *N. atlanticus* differs from *N. attenuatus* by genetic criteria and the course of the life cycle; the *maritae* are morphologically very similar. *N. atlanticus* is also found in Japan. Preliminary data indicate a broad specificity of this species to molluscs, the first intermediate hosts; this issue requires further study with the extra sampling.

3.3. *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953

3.3.1. Background

The species *T. anatis* was described from the common goldeneye *Bucephala clangula* (L., 1758) and the harlequin duck *Histrionicus histrionicus* in the Far East by M. M. Belopolskaia (1953). The maritae had peculiar ventral organs, the three longitudinal ridges. Later, such maritae were recorded mainly in different locations across the Far East region (summarized in Filimonova, 1985); and also in the surf scoter *Melanitta perspicillata* (L., 1758) in Alaska (Frame, 1969), in the common eider *S. mollissima* on the Murman coast of the Barents Sea (Kuklin, 2015), and in the arctic foxes *Alopex lagopus* (L., 1758) on the coast of Iceland (Skírnisson et al., 1993). The second species of the genus *T. elegans* Filimonova, 1971, after re-examination, was synonymized with *T. anatis* (Filimonova, 1985). The life cycle of *T. anatis* remained unknown.

3.3.2. Life cycle, morphology of rediae and cercariae

Comparing the partial sequences of 28S rDNA, ITS1, and *cox1* gene for *T. anatis* maritae (from the eiders *S. mollissima*, *S. spectabilis*, and harlequin duck *H. histrionicus*) and rediae and cercariae (from *L. saxatilis* and *L. sitkana*), I found that they belong to the same species ($p=0$, $p = 0.16 \pm 0.16\%$ and $p = 0.98 \pm 0.35\%$ for three fragments, respectively; Gonchar, Galaktionov, 2017). Thus, it was discovered that the first intermediate hosts of *T. anatis* are molluscs of the genus *Littorina*, and rediae and cercariae were also described.

Rediae (Fig. 11) are mobile, without locomotor appendages, have a terminal oral opening, muscular pharynx, oesophagus, and sac-like intestine. Excretory formula is $2[(1) + (1)] = 4$. The germinal mass lies in the posterior part of the body. In the brood chamber, the more mature embryos are, the more anterior position they occupy. Inside one mollusc, up to 100 redia of different ages and sizes are found (Fig. 12): (1) young, (2) rediae with cercariae embryos, (3) mature rediae with cercariae developing in them, and (4) degenerating rediae. Dimensions are shown in Table 3.

Cercariae (Fig. 13) appear as typical notocotylids; their body is 315–510 (425) × 165–270 (230), the tail is 315–488 (408) × 37–83 (62), the oral sucker is 45–60 (55). The secrete of unicellular cystogenous glands is represented by rod-shaped granules. The main collecting ducts of the excretory system merge in the anterior part, forming an arc; its shape corresponds to the Monostomi morphotype. Completely formed pigmented larvae leave the mollusc and can swim for 2–4 hours. We have not observed their encystment either on the vessel walls or on the host shell.

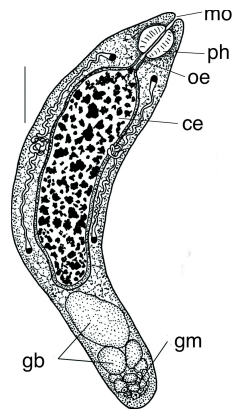


Figure 11. Young redia of *Tristriata anatis*. gb germinal ball, gm germinal mass, mo mouth opening, ph pharynx, oe oesophagus, ce caecum. Scale bar 50 μm . (modified from Gonchar, Galaktionov, 2017)

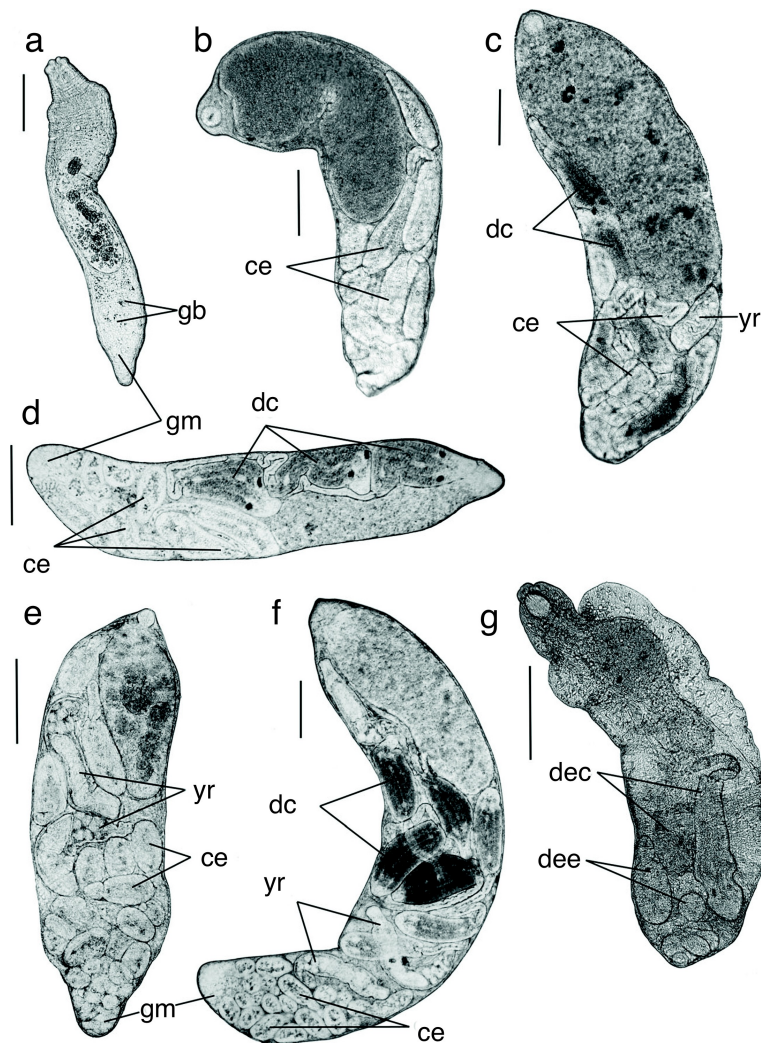


Figure 12. Rediae of *Tristriata anatis*: a young redia; b redia with cercarial embryos; c redia with developing cercariae and embryos, containing developing rediae of next generation; d mature redia with developing cercariae and embryos; e presumably second generation redia, containing developing rediae of next generation and embryos; f presumably second generation redia with embryos, developing rediae of next generation and cercariae; g degenerating redia; ce cercarial embryo, dc developing cercaria, dec degenerating cercaria, dee degenerating embryo, gb germinal ball, gm germinal mass, yr young redia. Scale bars 50 μm (a), 100 μm (b, c), 200 μm (d, e, f, g). (modified from Gonchar, Galaktionov, 2017)

Table 3. Sizes of *Tristriata anatis* rediae at different stages of their development (modified from Gonchar, Galaktionov, 2017).

	Length	Width	Pharynx diameter
Young rediae with germinal balls	280–510 (408)	45–89 (65)	24–40 (34)
Rediae with cercarial embryos	415–1001 (702)	100–257 (189)	36–52 (43)
Rediae with developing cercariae	715–1330 (1041)	229–329 (285)	50–65 (57)

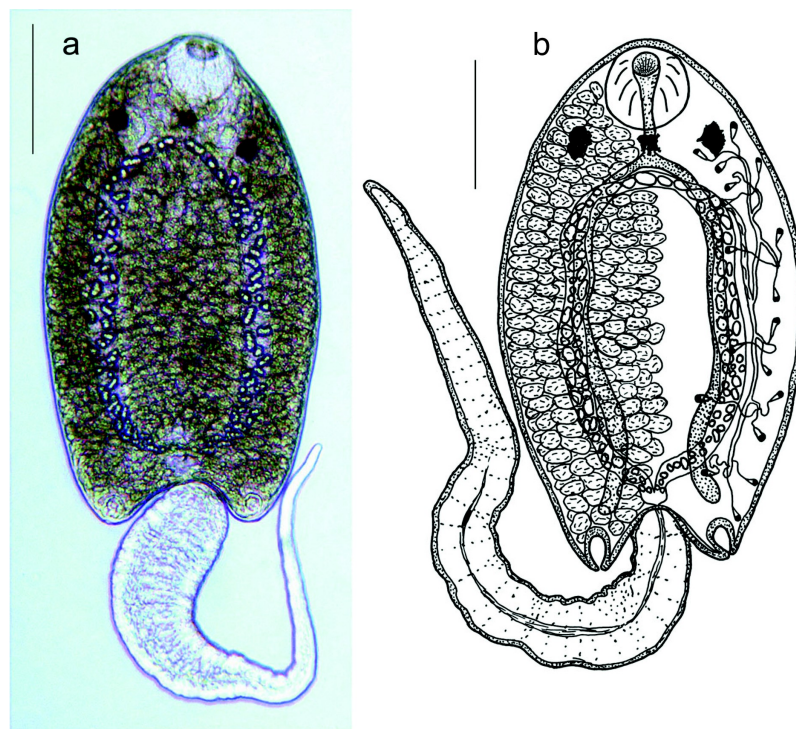


Figure 13. Cercaria of *Tristriata anatis*: (a) microphotograph of a living cercaria and (b) drawing. Scale bar 100 μm . (from Gonchar, Galaktionov, 2017)

3.3.3. Elaboration on the maritae morphology and amphiboreal distribution of the species

We updated the description of *T. anatis* maritae, mainly regarding the structure of the reproductive system (Fig. 14). The size and shape of the body in mature maritae vary—the length to width ratio is from 2.3 to 4. Young specimens have an elongated body; as they grow and eggs accumulate, it becomes wider. Our material demonstrates a wide range of transitional forms for this and a number of other characters that served to differentiate the second species *T. elegans*. All this material turned out to be homogeneous according to molecular genetic data. Thus, we confirmed the synonymy of *T. elegans* with *T. anatis*, as suggested by Filimonova (1985). The main diagnostic features of *T. anatis* are shown in Table 4.

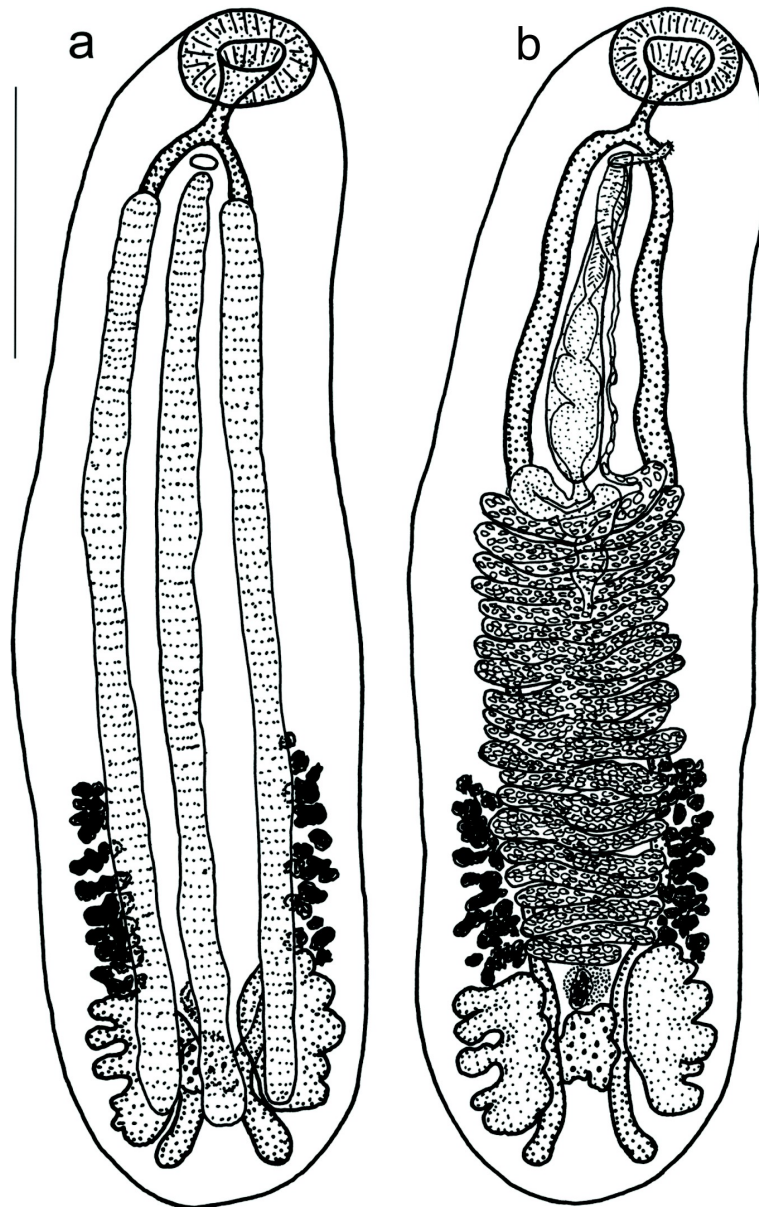


Figure 14. Marita of *Tristriata anatis*, (a) ventral view showing longitudinal ridges and (b) ventral view (the ridges are not shown). Sale bar 500 μm . (from Gonchar, Galaktionov, 2017)

Table 4. Morphometric parameters of *Tristriata anatis* maritae (from Gonchar, Galaktionov, 2017).

Parameter	
Body length	1395–4760
Body width	477–1210
Oral sucker	172–430
Length of metraterm/length of genital bursa ratio	1/2–1/5
Number of previtelline uterine loops/total number of uterine loops ratio	8–17/16–26
Vitellarium starts at 56–71/100 of body length	
Genital bursa reaching 34–49/100 of body length	
Eggs	18–28 \times 7–14

Our material includes isolates both from the region close to the type habitat in the Far East, and from Europe. Molecular data show that all of them are the same species (Gonchar, Galaktionov, 2017). The morphological variations mentioned above are found in both the northern Pacific and the northern Atlantic. All this, as well as literature data, confirms the amphiboreal distribution of *T. anatis*. The range of definitive hosts certainly includes various species of ducks; it is possible that the specificity is even broader and some carnivorous mammals are among the definitive hosts (Skírnisson et al., 1993). The first intermediate hosts belong to several species of the genus *Littorina*: *L. saxatilis* and *L. obtusata* in Europe, *L. sitkana* in the Sea of Okhotsk.

3.3.4. Phylogeography

The distribution and biology of *T. anatis* hosts implies the existence of isolation between the European and Pacific populations of this parasite. Molluscs of the genus *Littorina* live both in the west and in the east of the Palaearctic, but their range is interrupted from the Kara Sea to the Chukchi Sea. Many host birds make seasonal migrations: from Europe eastwards, from the Sea of Okhotsk and the Bering Sea westwards. Such migrations are mainly limited to Taimyr: here birds may meet during nesting, but cannot exchange parasites, because there are no molluscan intermediate hosts.

Such isolation was confirmed by the haplotype network analysis, which included 88 samples and two mitochondrial markers, partial *cox1* and *nadh1* genes (Gonchar, Galaktionov, 2020; Fig. 15). No haplotype was shared between the northern Atlantic and the northern Pacific. High F_{st} values (0.91 for *cox1* and 0.87 for *nadh1*) also indicated population differentiation. Our data suggest that the population in the northern Pacific is ancestral: this is indicated by a higher index of haplotype diversity in this region.

The reason why *T. anatis* persists as a single species is perhaps in historical events. During the warm interglacials of the Pleistocene, trans-Arctic bird migrations could occur, and periwinkles could expand their range from the west and east along the coast of the seas of the Arctic Ocean basin. At this time, apparently, a genetic exchange between the European and Pacific populations of *T. anatis* could take place. An additional condition for this is the long lifespan of maritae in notocotylids (a month or longer—quite enough to cover long distances during migrations together with the bird host).

The dominance in the western population of one (for *cox1*) or two (for *nadh1*) haplotypes, which were found in almost all sampling localities, indicates the gene flow between them. Interestingly, the dominant haplotype is characteristic of the isolates collected in the Pechora Sea in different years between 2006 to 2017. Apparently, this is not the result of a random expansion of one parasite clone in a certain season, but reflects the stable circulation of *T. anatis* and the formation of a

local transmission hotspot there. The absence of a second intermediate host excludes additional parasite dispersion. Ducks spend substantial time in this region: they manage not only to get infected, but also (when maritae get mature) become a source of infection for periwinkles. Two types of our findings confirm that the birds get infected locally: maritae in juvenile eiders, and young maritae, which have just begun to produce eggs, in adult birds.

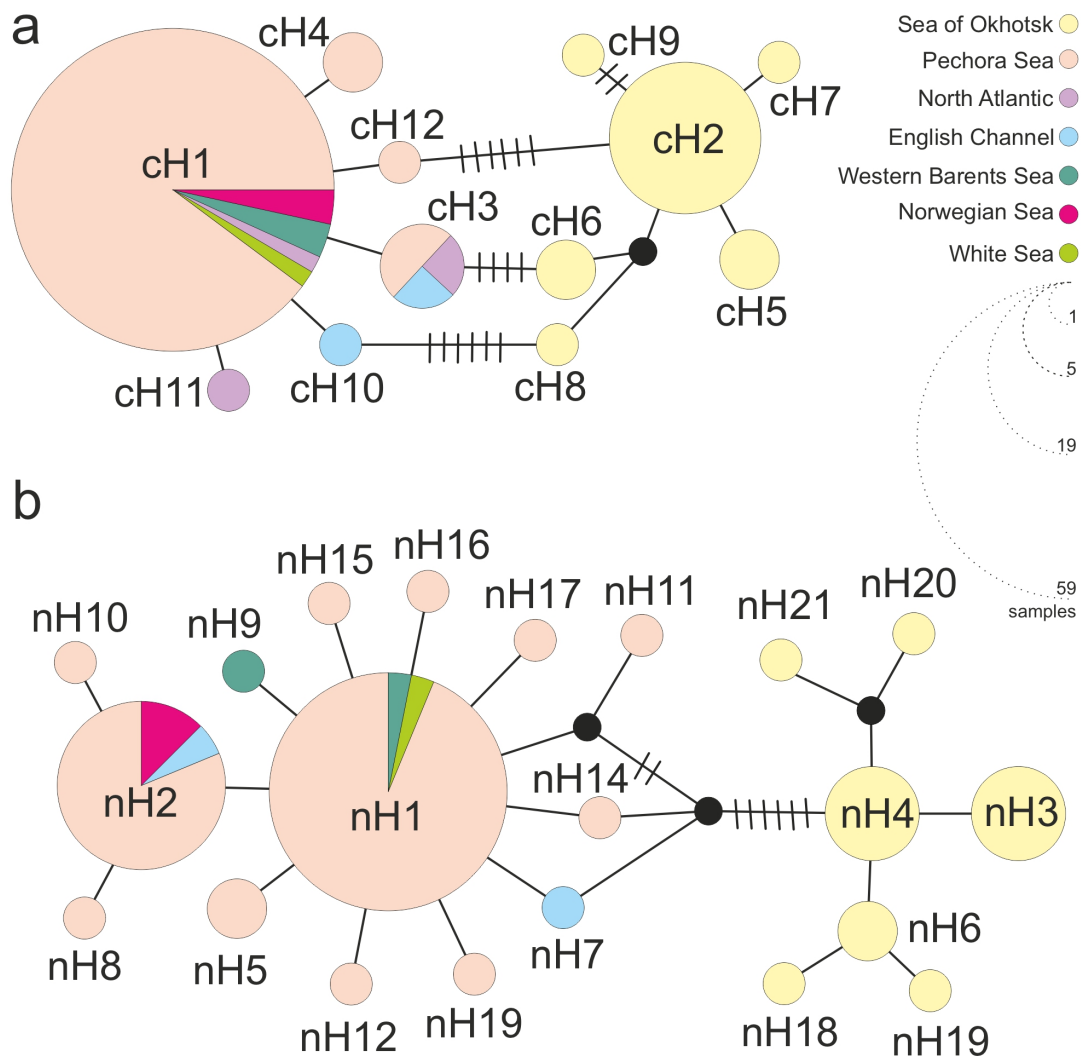


Figure 15. Haplotype networks for *Tristriata anatis* based on partial *cox1* (a) and *nadh1* (b) sequences. Circle size represents the haplotype frequency; hatch marks represent missing haplotypes. (from Gonchar, Galaktionov, 2020)

3.3.5. Summary

The life cycle of the species *T. anatis* was elucidated, its rediae and cercariae were described, and the structure of maritae was clarified. The amphiboreal distribution of the species was proved and a phylogeographic analysis was performed. Genetic isolation between populations in Europe and northeast Asia was found, with the Pacific population supposedly being ancestral. It was shown that the conditions of the Pechora Sea favour the maintenance of *T. anatis* transmission hotspot.

3.4. *Catatropis onobae* sp. nov.

3.4.1. Background

For a long time, there have been several conflicting ideas about the life cycle of notocotylids named “*C. verrucosa*”. Some data suggested that their rediae develop in molluscs of the family Planorbidae, cercariae have a stumpy tail, lack eyes, do not swim in the external environment and encyst right in the mantle cavity of the first intermediate host (Joyeux, 1922 interpreted by Dubois, 1951; Odening, 1966). Other data suggested that rediae develop in molluscs of the genus *Bithynia* spp., cercariae have a normal tail and eyes, get out of the mollusc and encyst in the environment (Erkina, 1953; Kanev et al., 1994). Finally, it was also suggested that the first intermediate hosts of “*C. verrucosa*” must be marine molluscs, likely some periwinkles (Belopolskaia, 1952). Obviously, such characters cannot be combined within the same species, despite the fact that morphological differences between maritae are absent or minimal.

To resolve some of these contradictions, the parasite from “pulmonate” molluscs was assigned to the new genus *Pseudocatatropis* (Kanev, Vasiliev, 1986, cited after Kanev et al., 1994); it currently includes two species, *P. joyeuxi* and *P. dvoryadkini*. However, the status of the “marine” *Catatropis* remained unclear. Attempting to find the developmental stages of this species in the periwinkles, the life cycle of another notocotylid species, *T. anatis*, was described (Section 3.3.).

3.4.2. Life cycle, morphology of rediae and cercariae

In the molluscs *O. aculeus*, rediae and cercariae of notocotylids were found, which, by DNA marker sequences (28S rDNA, ITS1), were identical to the maritae of the genus *Catatropis* found in the eiders (Gonchar, Galaktionov, 2021).

The size of rediae (Fig. 16a) varies a lot, 218–800 (492) × 106–234 (174); their pharynx is 31–49 (43) × 31–44 (37). Mature rediae contain germ balls, cercarial embryos, and 3–5 developing cercariae. Size of cercariae (Fig. 16b) is 243–361 (300) × 118–180 (145); their tail is 322–588 (463) × 33–48 (41) and oral sucker 27–40 × 30–43; ventral sucker is absent. Cercariae bear three eyespots and dorsal adhesive pockets. The main collecting ducts merge anteriorly to form a diverticulum, thus the cercariae correspond to the Yenchingensis morphotype. The diameter of excretory granules is 1.45–2.28 (1.86, n=38), they are arranged 1–2 in a row. Cystogenous glands contain homogeneous secrete granules.

Infected snails were found in the White Sea, in the southwestern part of the Barents Sea and in Iceland. In the Pechora Sea, judging by the data on eider infection, the parasite must also occur in

molluscs, and *O. aculeus* has been recorded in this region (Guryanova, Ushakov, 1928), although it was absent in our samples. Previously, in the Barents Sea, *Cercaria Notocotylus* 2 Chubrik, 1966 was found in *O. aculeus*. These cercariae have typical notocotylid appearance, but the description does not allow to unequivocally correlate them with our material. There are more records that lack descriptions and drawings (Gorbushin, Levakin, 1999; Galaktionov, Skírnisson, 2000; Skírnisson, Galaktionov, 2002). Other trematodes parasitizing *O. aculeus* differ markedly from representatives of Notocotylidae (Zelikman, 1966; Chubrik, 1966; Podlipaev, 1979; Køie, 1985; Galaktionov, Skírnisson, 2000; Skírnisson, Galaktionov, 2002).



Figure 16. Microphotographs of *Catatropis onobae* sp. nov. redia (a) and cercaria (b). Scale bar 200 μ m. (from Gonchar, Galaktionov, 2021)

3.4.3. Species delimitation in the genus *Catatropis*

Maritae obtained from the common eiders (Fig. 17) match the diagnosis of the genus *Catatropis*, but differ from almost all other species within it by a combination of the following characters: the number of ventral papillae in the lateral rows; the position of the genital pore relative to the caecal bifurcation point; the ratio between the lengths of the metraterm and the cirrus sac; the position of the proximal end of the cirrus sac and the anterior vitelline follicles relative to the anterior end of the body; and type of definitive host. The species *Catatropis hatcheri* Flores & Brugni, 2006 and *C. chilinae* are morphologically closest to the new species, as well as species from the freshwater molluscs: the actual *C. verrucosa* and *Pseudocatatropis* spp. *C. hatcheri* and *C. chilinae* differ from the new species in the ratio of the lengths of the cirrus sac and the metraterm, and they were described

in South America. It is more difficult, historically, to differentiate between *C. onobae* from the species *C. verrucosa* and *P. joyeuxi*. Detailed comparison of maritae of these species (based on the key studies: Odhner, 1905; Joyeux, 1922; Erkina, 1953; Odening, 1966; Kanev et al., 1994) showed their high similarity. Nevertheless, a number of signs point that distinguishing several species, including the new *C. onobae*, among these records is valid.

C. onobae is the only species of the genus *Catatropis* with marine molluscs of the superfamily Rissooidea as its first intermediate host. The cercariae of *C. onobae* from *O. aculeus* belong to the Yenchingensis morphotype, and it is ambiguous whether they differ in this character from the cercariae of *C. verrucosa* sensu Kanev et al., 1994. Judging by the illustration (Kanev et al., 1994, p. 135, fig. 6), the latter belong to the Monostomi morphotype; but in the same work, a short diverticulum of the main collecting ducts is mentioned in the text (Kanev et al., 1994). The difference between *C. onobae* cercariae and those of *P. joyeuxi* and *P. dvoryadkini* is obvious, since the latter have an atypical structure (stumpy tail, lack of pigmented eyes) and behaviour (do not exit the molluscan host). *C. onobae* is also special in running its life cycle in coastal ecosystems. The rest of the considered species are linked to the freshwater biotopes by their life cycles.

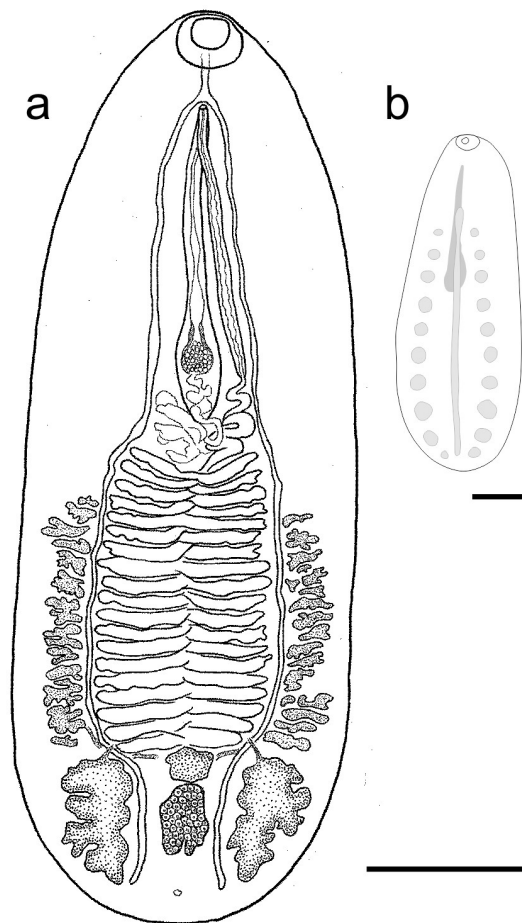


Figure 17. *Catatropis onobae* sp. nov. marita drawing (a) and scheme showing the position of ventral ridge and lateral papillae (b). Scale bar 500 μ m. (from Gonchar, Galaktionov, 2021)

Differences between *C. verrucosa* and *C. onobae* are summarized in Table 5. Maritae of these two species are extremely morphologically similar, but species delimitation is justified by data on the first intermediate host and stages developing in it. It is important to note that, since Odhner (1905) worked with marine material, his redescription of *C. verrucosa* in reality most likely refers to its “twin”, *C. onobae*. The second pair of closely related species (now assigned to a different genus, and probably geographically isolated from each other) are *P. joyeuxi* and *P. dvoryadkini*. With the advent of molecular genetic data for the species *C. verrucosa* and *P. joyeuxi*, the relationships among these four species should finally become clear.

Table 5. Summary of possible differences within and between the two groups of species in the genera *Catatropis* and *Pseudocatropis* (from Gonchar, Galaktionov, 2021).

	“ <i>C. verrucosa</i> ” group		“ <i>P. joyeuxi</i> ” group	
	<i>C. verrucosa</i>	<i>C. onobae</i>	<i>P. joyeuxi</i>	<i>P. dvoryadkini</i>
Geographic occurrence Maritae:	Central Europe	European seashores	Central Europe	The Far East
–Body length	2300–5700	1775–3375 (2657)	1400–1720	1525–1728
–Papillae no.	9–14	8–12 (9)	8	6–9
–Metr./c.s., %	76–100	73–92 (83)	63–79	45–56 (50)
Egg length	25–30	15.3–18.7	18–20	19–23
Int. host	<i>Bithynia</i> spp.	<i>Onoba aculeus</i>	Planorbidae	<i>Helicorbis sujfunensis</i> Starobogatov, 1957 (Planorbidae)
Cercariae	typical, Monostomi / Yenchingensis	typical, Yenchingensis	stumpy-tailed and eyeless, Imbricata	stumpy-tailed and eyeless, Imbricata

Based on data from studies where life cycle was known (Joyeux, 1922; Dubois, 1951; Erkina, 1953; Odening, 1966; Kanev et al., 1994; Izraïlskaia et al., 2019, our data); metr./c.s., ratio of the length of metraterm to the length of cirrus sac; papillae no., number of papillae in each lateral row; mean is given in parenthesis.

3.4.4. Summary

It was discovered that the molluscs *O. aculeus* serve as intermediate hosts for representatives of the genus *Catatropis* from the common eiders. Considering the life cycle and structure of cercariae, these forms were assigned to the new species *C. onobae* sp. nov. It belongs to the “*Catatropis verrucosa*” species pair, indistinguishable from each other at the marita stage. These results highlight the importance of data on the molluscan host species and cercariae structure (in addition to molecular data) for the identification of “*Catatropis verrucosa*” species. If such data are not available, then maritae should be compared to data from experimental infection studies on *C. verrucosa* (Erkina, 1953; Kanev et al., 1994) and *P. joyeuxi* (Joyeux, 1922; Odening, 1966).

3.5. Phylogeny of the family Notocotylidae

3.5.1. Dataset for the phylogenetic analysis

The DNA marker sequences of Notocotylidae obtained in this study were analyzed together with the data from the NCBI Nucleotide database (GenBank). As of 30.07.2022, 761 sequences were available for the family (search for Notocotylidae[Organism]), of which 289 had been obtained in the course of this study (search for Notocotylidae[Organism] AND Gonchar[Author]), and 472 by other authors.

Of the total set, 438 sequences represent mitochondrial DNA: two complete mitogenomes—for the species *Ogmocotyle sika* (Yamaguti, 1933) Ruiz, 1946 (KR006934) and *N. intestinalis* (MT560390)—and fragments of the mitochondrial genes of the first subunit of cytochrome c oxidase (*cox1*—356) and the first subunit of NADH dehydrogenase (*nadh1*—77). All other sequences (323) are fragments of the ribosomal operon. The 28S rRNA region covering D1–D3 variable domains is available for the greatest number of species, and it was this region that was used for the phylogenetic analysis of the family.

All unique 28S rRNA sequences for Notocotylidae available in GenBank and longer than 931 base pairs (bp), and the sequence of *Diplodiscus subclavatus* (Goeze, 1782) as an outgroup, were included into the alignment. Several single-nucleotide corrections were made in the sequences where there were good reasons to suspect a reading error. In completely conserved (in all notocotylids and in the outgroup) positions: (1) single nucleotide insertions were removed; (2) ambiguous nucleotides and deletions are replaced with a consensus variant. In non-conservative positions, deletions were replaced by N. A total of 27 sequences by other authors were included in the analysis (Table 6).

In this study, 28S rRNA sequences were obtained for 11 species of notocotylids (Table 6). Five of them were discussed in Sections 3.1–3.4: *Paramonostomum alveatum*, *P. anatis*, *Notocotylus atlanticus*, *Tristriata anatis* and *Catatropis onobae* sp. nov. We found four more species only at the marita stage (*Catatropis* sp. from eiders in the Sea of Okhotsk) or only in molluscs (Notocotylidae gen. sp. 4, 5 from *P. ulvae* and sp. 6 from *L. saxatilis* in the White Sea). One more species is *Parapronocephalum symmetricum*, with life cycle previously known in the Barents Sea (Belopolskaia, 1952). The study of the five latter species is still ongoing and is beyond the scope of this thesis. However, we included all available material in the phylogenetic analysis.

Table 6. Information about the 28S rRNA sequences included into the phylogenetic analysis.

Species	GenBank ID	Host	References
Data by other authors			
<i>Paramonostomum anatis</i>	AF184258	<i>Tringa erythropus</i>	Tkach et al., 2001
<i>Notocotylus attenuatus</i>	AF184259	<i>Aythya ferina</i>	Tkach et al., 2001
<i>Notocotylus</i> sp. UK-PO-2003	AY222219	<i>Stagnicola palustris</i>	Olson et al., 2003
<i>Catatropis indicus</i>	AY222220	<i>Cairina moschata</i>	Olson et al., 2003
<i>Pronocephaloidea</i> sp. S5M1A5(M)	EU371602	<i>Potamopyrgus antipodarum?</i>	Adema et al., 2009
<i>Notocotylus</i> sp. BH-2008	EU712725	<i>Physa gyrina</i>	Hanelt, 2009
<i>Notocotylus malhamensis</i>	JQ766939	<i>Myodes glareolus / Microtus agrestis</i>	Boyce et al., 2012
<i>Notocotylus intestinalis</i>	JQ890559	<i>Gallus gallus</i> dom. *	Besprozvannykh et al., 2013
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 1 NZ	KJ868210	<i>Austrolittorina antipodum</i>	O'Dwyer et al., 2014
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 2 NZ	KJ868214	<i>Austrolittorina antipodum</i>	O'Dwyer et al., 2014
<i>Ogmogaster antarctica</i>	KM258675	<i>Balaenoptera borealis</i>	Fraija-Fernández et al., 2015
<i>Pseudocatropis</i> sp. AMU2020	LC596916	<i>Anas penelope</i>	Sasaki et al., 2021
<i>Notocotylus ikutai</i> H126	LC596925	<i>Radix auricularia</i>	Sasaki et al., 2021
<i>Notocotylus magniovatus</i>	LC596926	<i>Semisulcospira libertina</i>	Sasaki et al., 2021
<i>Notocotylus</i> sp. A MN-2021	LC599518	<i>Radix auricularia</i>	Nakao, Sasaki, 2021
<i>Catatropis vietnamensis</i>	MH750019	<i>Anas platyrhynchos</i> *	Izrailskaia et al., 2019
<i>Pseudocatropis dvoryadkini</i>	MH750022	<i>Anas platyrhynchos</i> *	Izrailskaia et al., 2019
<i>Notocotylus primulus</i>	MH880281	<i>Lophonetta specularioides</i>	Diaz et al., 2020
<i>Notocotylus fosteri</i>	MK614163	<i>Oryzomys palustris</i>	Diaz et al., 2020
<i>Hippocrepis hippocrepis</i>	MN270932	<i>Biomphalaria straminea</i>	Assis et al., 2019
<i>Notocotylus</i> sp. OK-2019	MN726956	<i>Bithynia tentaculata</i>	Schwelm et al., 2020
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. OK-2019	MN726958	<i>Bithynia tentaculata</i>	Schwelm et al., 2020
<i>Notocotylus chionis</i>	MN877911	<i>Calidris fuscicollis</i>	Capasso et al., 2020
<i>Notocotylus</i> sp. CMA-2020	MW358653	<i>Physella acuta</i>	Adema, unpublished (2020)
<i>Quinqueserialis quinqueserialis</i>	MW934288	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Gagnon et al., 2021
<i>Quinqueserialis kinsellai</i>	MW934291	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Gagnon et al., 2021
<i>Catatropis</i> sp. HMN-2022	ON986399	<i>Bithynia funiculata</i>	Nguyen, unpublished (2022)
Data obtained in this study			
<i>Notocotylus atlanticus</i>	MH818008	<i>Anas platyrhynchos</i>	Gonchar et al., 2019
<i>Catatropis onobae</i> (174)	MN963021	<i>Onoba aculeus</i>	Gonchar, Galaktionov, 2021
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 5 (180)		<i>Peringia ulvae</i>	
<i>Paramonostomum alveatum</i> (167)		<i>Peringia ulvae</i>	
<i>Paramonostomum alveatum</i> ? (102)		<i>Somateria mollissima</i>	
<i>Parapronocephalum symmetricum</i> (79)		<i>Littorina obtusata</i>	
<i>Paramonostomum anatis</i> ? (179)		<i>Ecrobia ventrosa</i>	
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 6 (171)		<i>Littorina saxatilis</i>	
<i>Tristriata anatis</i> (134)		<i>Littorina saxatilis</i>	
<i>Notocotylidae</i> gen. sp. 4 (175)		<i>Peringia ulvae</i>	
<i>Catatropis</i> sp. (50)		<i>Somateria mollissima</i>	
Outgroup			
<i>Diplodiscus subclavatus</i>	AY222212	<i>Pelophylax ridibundus</i>	Olson et al., 2003

Thus, the 28S rRNA alignment included 38 species in total, and its total length was 1258 bp.

This data set was used to construct a Bayesian phylogenetic tree (GTR + I + G evolutionary model, as assessed in jModelTest 2.1.10). Matching the obtained phylogenetic scenario to the other types of data (on morphology, ecology, distribution) makes it possible to reveal some trends in the evolution of notocotylids.

3.5.2. Evolutionary trends

There are three major well-supported clades in the tree (Fig. 18). The position of several species remains uncertain; some of them form sister pairs of species (for example, *Notocotylus primulus* Diaz et al., 2020 and *Notocotylus chionis* Baylis 1928, *P. anatis* and “*P. anatis*”). The incomplete resolution is due, firstly, to the limited data set compared to the real diversity of the family; and, secondly, to using only one marker DNA fragment. These two problems are interrelated and cannot yet be overcome, with the proposed tree being the most informative of what is currently available for the family Notocotylidae.

The geographical origin of the samples included in the analysis covers many regions, but is not uniform. The most widely represented are Europe and Asia, to a lesser extent—America, Australia and New Zealand; there is no material from Africa. Based on the available information, the phylogenetic proximity of the species does not correlate to the geographic one, but there is a possible example of such a correspondence: *N. primulus* and *N. chionis* species from South America. Moreover, the new South American species *Paramonostomum deseado* n. sp. (MK713356, was not included in our analysis due to the small length of the 28S rRNA sequence), groups together with them (Bagnato et al., 2022). *Hippocrepis hippocrepis* (Diesing, 1850) is also from South America, but does not appear in this clade. This can be explained by the significance of another factor: its definitive host is the capybara, and for the three species mentioned above, these are birds.

When the morphological features of maritae that have traditionally been used for the identification of genera are mapped on the tree, their failure is evident. The genera identified on the basis of the ventral organs structure (first of all, *Notocotylus*, *Catatropis*, *Paramonostomum*) are not monophyletic. Still, in some clades (especially smaller ones), maritae share the type of the ventral organs. For example, clade A includes the representatives of *Notocotylus* and *Catatropis*, but within this clade they are grouped separately. Clade B includes the representatives of different genera—*Notocotylus*, *Pseudocatropis*, *Quinqueserialis* and *Hippocrepis*—but they are also grouped. In the clade C, the structure of maritae is known only for three out of seven species, but all of them belong to *Catatropis*; perhaps this is also characteristic of other species in this clade. *Paramonostomum* occur in two different clades on the tree, their relationship is not yet clear.

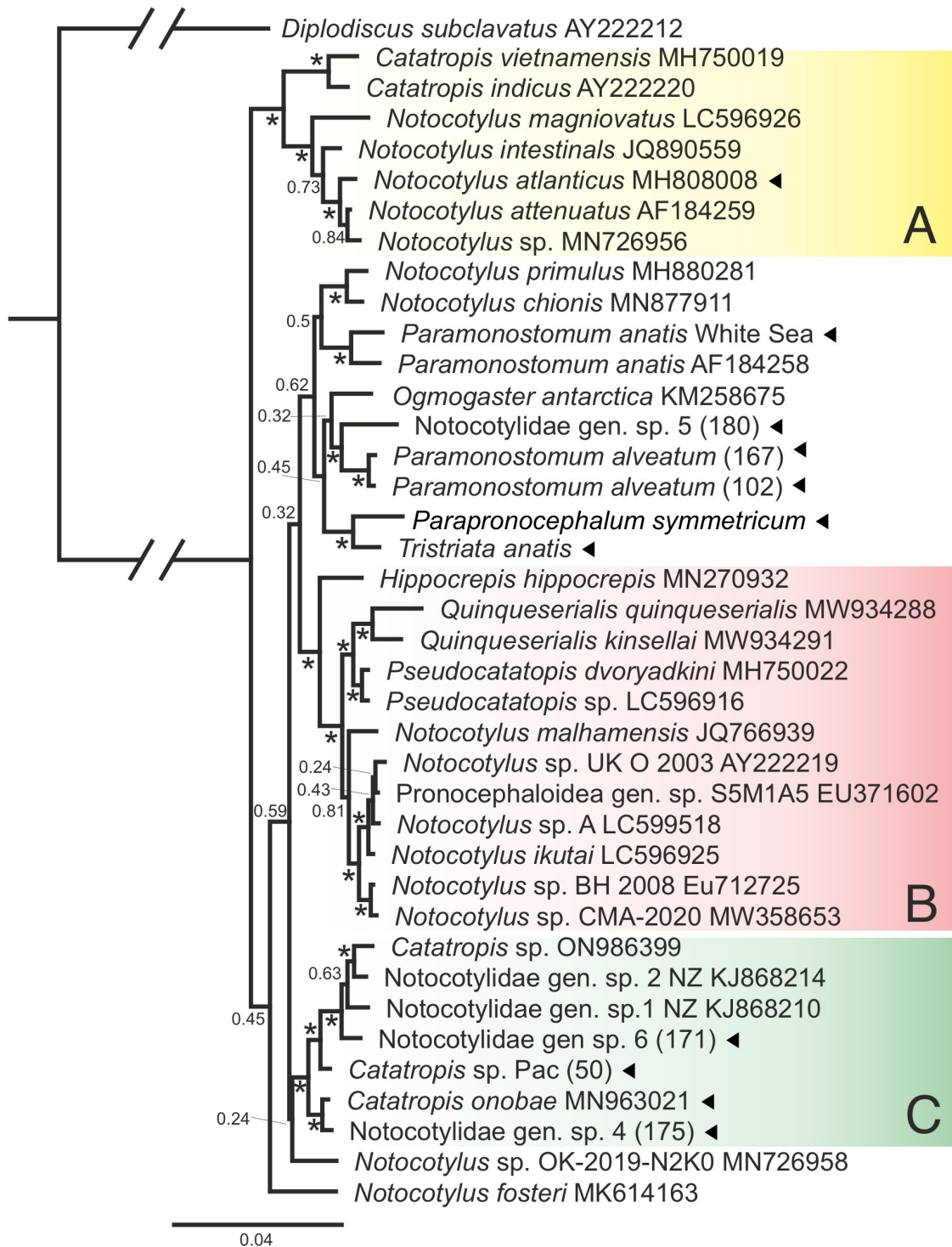


Figure 18. Bayesian phylogenetic tree for the family Notocotylidae based on the partial 28S rDNA sequences. Posterior probabilities are printed in the nodes; values above 0.90 are replaced by asterisks. Triangles mark sequences obtained in this study. Scale bar shows substitutions per site.

The position of other genera (beyond the three “classical” ones) also does not have obvious patterns. For example, maritae with a collar are characteristic of *H. hippocrepis* and *P. symmetricum*, but they are not close relatives. *P. symmetricum* groups with *T. anatis*, a species with three ventral ridges, while *Ogmogaster antarctica* Johnston, 1931 (maritae with five ventral ridges) has a different position.

All this calls for a major revision in the taxonomy of the family, which implies a change in the composition of existing genera and the allocation of new ones. One step in this direction has already been taken: the genus *Pseudocatatropis* Kanev & Vassilev, 1986 was erected where *maritae* comply with the diagnosis of *Catatropis*, but the life cycle is peculiar (Kanev et al., 1994; Izrailskaia et al., 2019). This proposal was not supported, based on a conservative understanding of the strict criteria in diagnosing trematode genera, in the seminal work “Keys to Trematoda” (Barton, Blair, 2005), but subsequently received expert approval on the WRoMS portal (WoRMS Editorial Board, 2022, accessed 07/31/2022) and can already be considered well-established. As the revision of the family continues, the traditional names of genera (*Notocotylus*, *Catatropis*, *Paramonostomum*) may get to designate “morphotypes” of *maritae* that have no taxonomic significance (similarly to the morphotypes of notocotylid cercariae).

There are no data on the structure, even the morphotype, of cercariae for most species on the tree; therefore, it is impossible to argue about the potential significance of this feature in the context of the family phylogeny. However, information from the literature and our results (Sections 3.1.–3.4) indicate the absence of a taxonomic significance of cercariae morphotypes above the species level.

However, it is important to note that the atypical cercariae (without eyespots and with a stumpy tail) occur in two species (*P. symmetricum* and *Pseudocatatropis* spp.) from two clades that are not directly related. Apparently, such truncation of the transmission pathways occurred independently in notocotylids, at least twice.

Birds and mammals can be definitive hosts for notocotylids. The distribution of these two options on the phylogenetic tree shows that the avian host is more common and occurs in all clades. This suggests that the origin and radiation of notocotylids are associated with parasitism in birds. The transition to mammals occurred independently in different clades (several species in clade B, as well as *N. fosteri* Kinsella, Tkach, 2005 and *O. antarctica*). There probably are clades confined only to birds, but no clear pattern in relation to the definitive hosts.

The taxonomic affiliation of the first intermediate hosts for notocotylids that are present on the tree brings up quite a different picture. It turns out that most of them parasitize representatives of Caenogastropoda. Only in one clade (B), “pulmonate” molluscs (Heterobranchia) are used as the first intermediate hosts. There are no data on host molluscs for three species on the tree, so there is still some uncertainty in the interpretation. However, there is every reason to believe that representatives of Notocotylidae switched to infecting “pulmonate” molluscs once in their evolutionary history.

4. Closing

The focus of this study was on the diversity of trematodes of the family Notocotylidae in the coastal ecosystems of the northern seas, particularly their life cycles. The material included 11 species, mainly from the European part of this region. Only two of these species were previously known there. The approach of this study was to use several sources of information (morphological, molecular and ecological) in order to compile the most complete picture. The results allow to formulate a number of concluding ideas.

Notocotylidae tend to form groups of species with morphologically almost indistinguishable maritae. This is evidenced by the description of the species *C. onobae* sp. nov. and by new data on the distribution of *N. atlanticus* in Europe and Asia. Another such example is probably the pair of species now designated as *P. anatis*. For family Notocotylidae, as well as for other groups of trematodes, the adequate assessment of diversity requires an integrative approach combining morphological and molecular data with information about the life cycle. This will make it possible to better define the concept of “cryptic species”, which until recently has had relatively loose interpretations and has been widely used for trematodes (Bray et al., 2022).

The principles behind the taxonomy of the Notocotylidae are not supported by the molecular phylogenetic analysis; however, new criteria for distinguishing genera in this family have not yet been identified.

This study increased the list of species available for the molecular phylogenetic analysis by 40% (11 more species in addition to 27 from GenBank). However, this did not allow to fully resolve the phylogeny of the family. Some clades have high support, but the position of at least one third of the species is completely unclear. The monophyly of the family is not challenged (including the fact that the genus *Parapronocephalum* belongs to it, which used to be a controversial issue). To improve the resolution of the phylogenetic tree, it is necessary to increase the length of the alignment and the number of species.

Regarding the longer marker DNA fragment, the 5.8S+ITS2 and/or 18S region of the ribosomal operon seem to be the most appropriate at the moment (they are already available for a number of species, have certain degree of variability, and are well aligned). It is fundamentally important to focus the efforts of different researchers on the same fragment so that the set of species does not decrease with an increase in the length of the fragment. ITS1 has poor phylogeny prospects due to the presence of repeats that make alignment difficult, but it suits for species identification.

As for adding extra species to the analysis, studies from outside Europe may contribute substantially. There have already been studies from America (Assis et al., 2019; Diaz et al., 2020;

Gagnon et al., 2021) and East Asia (Izrailskaia et al., 2019; Sasaki et al., 2021). My scientific plans are, in part, to further study the “marine” fauna of notocotylids in Europe. Finally, of particular interest are the “freshwater” species, especially those developing in the molluscs Heterobranchia: do they really form one monophyletic group within the family Notocotylidae, as it appears with the current dataset?

By sequencing variable mitochondrial markers, we were able to show the distribution of *T. anatis* species in both northwestern Europe and northeastern Asia. We also found a similar transcontinental distribution for the species *N. atlanticus*, and these data were also used to test the hypothesis that samples of different geographic origin belong to the same species (with the barcode gap analysis). These examples highlight the relevance of using intraspecific genetic diversity data both to confirm the species status and to better understand distribution and phylogeography. It seems a good idea to document the diversity of notocotylids (and other trematodes) by sequencing not just a fairly long fragment of a generally accepted conservative marker (rDNA), but also of variable markers.

This study is not limited to the White Sea, but it was to a large extent based there. This region can be considered a model region for studying the diversity and life cycles of trematodes. At the moment, representatives of Notocotylidae are described more fully here than in other parts of the world.

5. Conclusions

1. The intermediate hosts for the representatives of the genus *Catatropis* that parasitize at the marita stage in the common eiders are the molluscs *O. aculeus*. These digeneans belong to a species which is new science, and it was described as *C. onobae* sp. nov.

2. Relying on the DNA sequence data and life cycle features, the species *Notocotylus atlanticus* was recorded for the first time in the Palaearctic, with distribution in both Europe and Asia.

3. The molluscs *E. ventrosa* host rediae and cercariae of two species of the genus *Paramonostomum* (*P. alveatum* and *P. anatis*) differing morphologically, molecularly, and in their ability to selectively encyst on the substratum were found in. Encystment of *Paramonostomum* spp. cercariae on living substrata can enhance their trophic transmission.

4. The first intermediate hosts of *T. anatis* are molluscs from the genus *Littorina*. *T. anatis* has amphiboreal distribution. Populations in Europe and the northern Pacific are disjunct, with the Pacific population appearing ancestral. Local hotspot of *T. anatis* transmission maintains in the Pechora Sea.

5. Morphological and DNA sequence analyses indicate that structure of the ventral organs does not characterize taxa above the species level in the family Notocotylidae. Major clades are marked by the first intermediate hosts belonging to Caenogastropoda or Heterobranchia. For the species differentiation, data on their life cycle are crucial. The specificity to the first intermediate host may vary, but is limited to the superfamily of molluscs.

6. Acknowledgements

I am grateful to my scientific advisor Kirill V. Galaktionov for freedom to act as I choose, whilst knowing that his help is available at any time; for his patience and kind support.

I am giving my thanks to the administrative and scientific staff of the two field stations: White Sea Biological Station of the Zoological Institute RAS “Kartesh” (and to Kirill Nikolaev in particular) and the Educational and Research Station “Belomorskaia” of the Saint Petersburg State University (SPbU).

It is my pleasure to thank my colleagues from the Zoological Institute: Laboratory of Parasitic Worms and Protists (in particular, Anna Solovieva) and Laboratory of evolutionary genomics and paleogenomics (in particular, Natalia I. Abramson and Semyon Yu. Bodrov).

I did molecular genetic studies in the SPbU Research Park (centre for development of cell and molecular technologies). There, Alexei E. Masharskiy and Anna E. Romanovitch have sequenced innumerable samples for me, and I thank them for this heartily.

I appreciate being part of an amazing team of like-minded people, the Department of Invertebrate Zoology SPbU, and I am grateful to all my colleagues there. Special thanks are to George S. Slyusarev and Sergey V. Bagrov for their help with sampling maritae; and to Darya Yu. Krupenko and Georgy A. Kremnev for pondering over the digeneans together.

The fact that I wish to thank our head of department, Andrei I. Granovitch, separately is just reflecting how much I owe him, the first person to inspire me with zoology and the one never seizing to serve as a benchmark.

There are no words that would suit to say how much I thank Andrei A. Dobrovolskij and miss him. It is my grief that I will not hear his criticism of this text, which would have brought up new ideas and plans.

Thanks to my mother Irina A. Gonchar for having asked me “So, when will you get your degree?” for five years (in fact, for other things). Thanks to little Fedor, at least for reminding me every single day what the true curiosity is. Thanks to my husband and fellow zoologist Peter A. Smirnov: his support at home and at work are behind every page I’ve written.

7. References

1. Adema CM, Lun C-M, Hanelt B, Seville RS. 2009. Digenean trematode infections of native freshwater snails and invasive *Potamopyrgus antipodarum* in the Grand Teton National Park/John D. Rockefeller Memorial Parkway Area. *Journal of Parasitology*. 95(1):224–227. doi:10.1645/GE-1614.1.
2. Alekseev VM. 1962. The role of shrimps in the notocotylidiasis transmission. *Zoologicheskii Zhurnal*. 41:1255–1257 (in Russian).
3. Alexander A, Steel D, Hoekzema K, Mesnick SL, Engelhaupt D, Kerr I, Payne R, Baker CS. 2016. What influences the worldwide genetic structure of sperm whales (*Physeter macrocephalus*)? *Molecular Ecology*. 25(12):2754–2772. doi:10.1111/mec.13638.
4. Assis JCA, Lopez-Hernández D, Pulido-Murillo EA, Melo AL, Pinto HA. 2019. A morphological, molecular and life cycle study of the capybara parasite *Hippocrepis hippocrepis* (Trematoda: Notocotylidae). *PLoS ONE*. 14(8):e0221662. doi:10.1371/journal.pone.0221662.
5. Bagnato E, Gilardoni C, Lauthier JJ, Cremonte F. 2022. *Paramonostomum deseado* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) parasitizing the South American black oystercatcher and their atypical life cycle from the Patagonian coast. *Parasitology*. 149(12):1642–1651. doi:10.1017/S0031182022001159.
6. Barton DP, Blair D. 2005. Family Notocotylidae Lühe, 1909. In: Jones A, Bray RA, Gibson DI, editors. *Keys to the Trematoda: Volume 2*. UK: CABI Publishing. p. 383–396.
7. Bayssade-Dufour C, Albaret J-L, Fermet-Quinet H, Farhati K. 1996. *Catatropis lagunae* n. sp., Trematoda, Notocotylidae, parasite d’oiseaux de mer. *The Canadian Field-Naturalist*. 110:392–402.
8. Belopolskaia MM. 1952. Parasite fauna of marine waterfowl. *Scientific reports of LSU*. 141(28):127–180 (in Russian).
9. van Beneden PJ. 1858. *Mémoire sur les vers intestinaux*. Paris: JB Baillièere et fils.
10. Besprozvannykh VV. 2006. Life cycle of the trematode *Catatropis hisikui* (Notocotylidae) in conditions of Primorsky region. *Vestnik Zoologii*. 40:267–270.
11. Besprozvannykh VV. 2010. Life cycle of the trematode *Notocotylus intestinalis* (Digenea, Notocotylidae) under natural conditions in Primorye Region (Russia). *Vestnik Zoologii*. 43(2):e-1-e-7.
12. Besprozvannykh V, Ngo H, Ha N, Hung N, Rozhkovan K, Ermolenko A. 2013. Descriptions of digenean parasites from three snail species, *Bithynia fuchsiana* (Morelet), *Parafossarulus*

- striatulus* Benson and *Melanoides tuberculata* Müller, in North Vietnam. *Helminthologia*. 50(3):190–204. doi:10.2478/s11687-013-0131-5.
13. Beverley-Burton M, Logan VH. 1976. The ventral papillae of notocotylid trematodes. *The Journal of Parasitology*. 62(1):148. doi:10.2307/3279079.
 14. Bisset SA. 1977. *Notocotylus tadornae* n. sp. and *Notocotylus gippyensis* (Beverley-Burton, 1958) (Trematoda: Notocotylidae) from waterfowl in New Zealand: morphology, life history and systematic relations. *Journal of Helminthology*. 51(4):365–372. doi:10.1017/S0022149X00007720.
 15. Blasco-Costa I, Cutmore SC, Miller TL, Nolan MJ. 2016. Molecular approaches to trematode systematics: ‘best practice’ and implications for future study. *Systematic Parasitology*. 93(3):295–306. doi:10.1007/s11230-016-9631-2.
 16. Boyce K, Hide G, Craig PS, Harris PD, Reynolds C, Pickles A, Rogan MT. 2012. Identification of a new species of digenean *Notocotylus malhamensis* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from the bank vole (*Myodes glareolus*) and the field vole (*Microtus agrestis*). *Parasitology*. 139(12):1630–1639. doi:10.1017/S0031182012000911.
 17. Bray RA. 1979. Digenea in marine fishes from the eastern seaboard of Canada. *Journal of Natural History*. 13(4):399–431. doi:10.1080/00222937900770331.
 18. Bray RA, Cutmore SC, Cribb TH. 2022. A paradigm for the recognition of cryptic trematode species in tropical Indo-west Pacific fishes: the problematic genus *Preptetos* (Trematoda: lepopocreadiidae). *International Journal for Parasitology*. 52(2–3):169–203. doi:10.1016/j.ijpara.2021.08.004.
 19. Brooks DR, Hoberg EP. 2001. Parasite systematics in the 21st century: opportunities and obstacles. *Trends in Parasitology*. 17(6):273–275. doi:10.1016/S1471-4922(01)01894-3.
 20. Bruun B. 1971. North American waterfowl in Europe. *British Birds*. 64(385–408).
 21. Capasso S, Servián A, Tkach VV, Diaz JI. 2020. *Notocotylus chionis* (Trematoda: Notocotylidae) and *Notocotylus* sp. From shorebirds in southern Patagonian wetlands of Argentina: morphological and molecular studies. *Polar Biology*. 43(12):1957–1966. doi:10.1007/s00300-020-02753-9.
 22. Ching HL. 1991. Lists of larval worms from marine invertebrates of the Pacific Coast of North America. *Journal of the Helminthological Society of Washington*. 58(1):57–68.
 23. Chubrik GK. 1966. Fauna and ecology of trematode larvae from molluscs in the Barents and White Seas. *Trudy MMBI* 10(14):78–166 (in Russian).
 24. Cort WW. 1914. Larval trematodes from North American fresh-water snails. *The Journal of Parasitology*. 1(2):65–84.

25. Cort WW, Ameel DJ, van der Woude A. 1948. Studies on germinal development in rediae of the trematode order Fasciolatoidea Szidat, 1936. *The Journal of Parasitology*. 34(5):428–45.
26. Cribb TH, Bray RA, Littlewood DTJ. 2001. The nature and evolution of the association among digeneans, molluscs and fishes. *International Journal for Parasitology*. 31(9):997–1011. doi:10.1016/S0020-7519(01)00204-1.
27. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 9(8):772–772. doi:10.1038/nmeth.2109.
28. Deblock S. 1980. Inventaire des trématodes larvaires parasites des mollusques *Hydrobia* (Prosobranches) des côtes de France. *Parassitologia*. 22(1):1–105.
29. Diaz JI, Gilardon C, Lorenti E, Cremonte F. 2020. *Notocotylus primulus* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae) from the crested duck *Lophonetta specularioides* (Aves, Anatidae) from Patagonian coast, southwestern Atlantic ocean. *Parasitology International*. 74:101976. doi:10.1016/j.parint.2019.101976.
30. Dönges J. 1962. Entwicklungsgeschichtliche und morphologische Untersuchungen an Notocotyliden (Trematoda). *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 22(1). doi:10.1007/BF00260165.
31. Dubois G. 1951. Etude des trématodes Nord-Américains de la collection E.L. Schiller et révision du genre *Notocotylus* Diesing, 1839. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles*. 74:41–76.
32. Dvoryadkin V. 1987. Morphology and life cycle of *Catatropis morosovi*. *Helminths and Diseases Caused by Them*. Vladivostok: Publishing house of the FESC of the USSR Academy of Sciences, 29–33 (in Russian).
33. Erkina NA. 1953. The life cycle of *Catatropis verrucosa* (Frölich, 1789). In Skrjabin KI (ed.), *Trematodes of Animals and Man. Principles of Trematodology*, Vol. 8. Moscow: Publishing House of the USSR Academy of Sciences, pp. 106–117.
34. Evans DW, Irwin SWB, Fitzpatrick SM. 1997. Metacercarial encystment and in vivo cultivation of *Cercaria lebouri* Stunkard 1932 (Digenea: Notocotylidae) to adults identified as *Paramonostomum chabaudi* van Strydonck 1965. *International Journal for Parasitology*. 27(11):1299–1304. doi:10.1016/S0020-7519(97)00102-1.
35. Evans NA. 1982. Effects of copper and zinc on the life cycle of *Notocotylus attenuatus* (Digenea: Notocotylidae). *International Journal for Parasitology*. 12(4):363–369. doi:10.1016/0020-7519(82)90040-6.
36. Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10(3):564–567. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.

37. Faltýnková A, Kudlai O, Pantoja C, Yakovleva G, Lebedeva D. 2022. Another plea for ‘best practice’ in molecular approaches to trematode systematics: *Diplostomum* sp. clade Q identified as *Diplostomum baeri* Dubois, 1937 in Europe. *Parasitology*. 149(4):503–518. doi:10.1017/S0031182021002092.
38. Faust EC. 1918. Life history studies on Montana Trematodes. *Illinois Biological Monographs*. 4(1):1–120.
39. Filimonova LV. 1985. Trematodes of the USSR Fauna. Notocotylids. Moscow: Nauka. 127 pp.
40. Flores V, Brugni N. 2003. *Catatropis chilinae* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from *Chilina dombeiana* (Gastropoda: Pulmonata) and notes on its life-cycle in Patagonia, Argentina. *Systematic Parasitology*. 54(2):89–96. doi:10.1023/A:1022593810479.
41. Flores V, Brugni N. 2006. *Catatropis hatcheri* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from *Heleobia hatcheri* (Prosobranchia: Hydrobiidae) and notes on its life-cycle in Patagonia, Argentina. *Systematic Parasitology*. 63(2):109–116. doi:10.1007/s11230-005-9004-8.
42. Fraija-Fernández N, Olson PD, Crespo EA, Raga JA, Aznar FJ, Fernández M. 2015. Independent host switching events by digenean parasites of cetaceans inferred from ribosomal DNA. *International Journal for Parasitology*. 45(2–3):167–173. doi:10.1016/j.ijpara.2014.10.004.
43. Frame GW. 1969. New definitive host, range extension, and notes on the morphology of *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953 (Trematoda, Notocotylidae) from southeast Alaska. *Canadian Journal of Zoology*. 47(2):265–266. doi:10.1139/z69-055
44. Gagnon DK, Detwiler JT. 2019. Broader geographic sampling increases extent of intermediate host specificity for a trematode parasite (Notocotylidae: *Quinqueserialis quinqueserialis*). *Journal of Parasitology*. 105(6):874. doi:10.1645/19-16.
45. Gagnon DK, Kasl EA, Preisser WC, Belden LK, Detwiler JT. 2021. Morphological and molecular characterization of *Quinqueserialis* (Digenea: Notocotylidae) species diversity in North America. *Parasitology*. 148(9):1083–1091. doi:10.1017/S0031182021000792.
46. Galaktionov KV, Nikolaev KE, Aristov DA, Levakin IA, Kozminsky EV. 2019. Parasites on the edge: patterns of trematode transmission in the Arctic intertidal at the Pechora Sea (South-eastern Barents sea). *Polar Biology*. 42(9):1719–1737. doi:10.1007/s00300-018-2413-3.
47. Galaktionov KV, Skírnisson K. 2000. Digeneans from intertidal molluscs of SW Iceland. *Systematic Parasitology*. 47(2):87–101. doi:10.1023/A:1006426117264.
48. Garkawi BL. 1968. Developmental cycle of *Paramonostomum pseudoalveatum* Price.

- In:Gagarin, et al. (Eds.), The Helminths of Humans, Animals and Plants, and Ways of Fighting Them. Nauka, Moscow, pp. 140–145 (in Russian).
49. Gonchar A, Galaktionov KV. 2016. Substratum preferences in two notocotylid (Digenea, Notocotylidae) cercariae from *Hydrobia ventrosa* at the White Sea. Journal of Sea Research. 113:115–118. doi:10.1016/j.seares.2015.07.006.
 50. Gonchar A, Galaktionov KV. 2017. Life cycle and biology of *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae): morphological and molecular approaches. Parasitology Research. 116(1):45–59. doi:10.1007/s00436-016-5260-6.
 51. Gonchar A, Galaktionov KV. 2020. Short communication: New data support phylogeographic patterns in a marine parasite *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae). Journal of Helminthology. 94:e79. doi:10.1017/S0022149X19000786.
 52. Gonchar A, Galaktionov KV. 2021. It is marine: distinguishing a new species of *Catatropis* (Digenea: Notocotylidae) from its freshwater twin. Parasitology. 148(1):74–83. doi:10.1017/S0031182020001808.
 53. Gonchar A, Galaktionov KV. 2022. The Pacific *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae). Parasitology International. 88:102559. doi:10.1016/j.parint.2022.102559.
 54. Gonchar A, Jouet D, Skirnisson K, Krupenko D, Galaktionov KV. 2019. Transatlantic discovery of *Notocotylus atlanticus* (Digenea: Notocotylidae) based on life cycle data. Parasitology Research. 118(5):1445–1456. doi:10.1007/s00436-019-06297-8.
 55. Gorbushin AM. 1992. On species composition of molluscs from the genus *Hydrobia* (Gastropoda, Prosobranchia) in the White Sea. Zoologicheskiy Zhurnal. 71 (9): 47–56.
 56. Gorbushin AM, Levakin IA. 1999. The effect of trematode parthenitae on the growth of *Onoba aculeus*, *Littorina saxatilis* and *L. obtusata* (Gastropoda: Prosobranchia). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 79(2):273–280. doi:10.1017/S0025315498000307.
 57. Gordy MA, Hanington PC. 2019. A fine-scale phylogenetic assessment of digenean trematodes in central Alberta reveals we have yet to uncover their total diversity. Ecology and Evolution. 9(6):3153–3238. doi:10.1002/ece3.4939.
 58. Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Systematic Biology. 52(5):696–704. doi:10.1080/10635150390235520.
 59. Guryanova E, Ushakov P. 1928. On the fauna of Chernaya Inlet of Novaya Zemlya. In Derjugin K (ed.), Studies of the Seas of the USSR. Leningrad: Leningrad Hydrological Institute, pp. 3–72.

60. Hanelt B. 2009. Hyperparasitism by *Paragordius varius* (Nematomorpha: gordiida) larva of monostome redia (Trematoda: Digenea). *Journal of Parasitology*. 95(1):242–243. doi:10.1645/GE-1683.1.
61. Harper WF. 1929. On the structure and life-histories of British fresh-water larval trematodes. *Parasitology*. 21(1–2):189–219. doi:10.1017/S0031182000022897.
62. Harrah EC. 1922. North American monostomes primarily from fresh water hosts. *Illinois Biological Monographs*. 7(3):7–107.
63. Harwood PD. 1939. Notes on tennessee helminths. Iv. North American trematodes of the subfamily Notocotylineae. *Journal of the Tennessee Academy of Science*. 14(3):332–340.
64. Herber EC. 1942. Life history studies on two trematodes of the subfamily Notocotylineae. *The Journal of Parasitology*. 28(3):179. doi:10.2307/3272771.
65. Herber EC. 1955. Life history studies on *Notocotylus urbanensis* (Trematoda: Notocotylineae). *Proceedings of the Pennsylvania Academy of Science*. 29:267–275. <https://www.jstor.org/stable/44109970>
66. Izrilskaia AV, Besprozvannykh VV, Tatonova YV, Nguyen HM, Ngo HD. 2019. Developmental stages of *Notocotylus magniovatus* Yamaguti, 1934, *Catatropis vietnamensis* n. sp., *Pseudocatatropis dvoryadkini* n. sp., and phylogenetic relationships of Notocotylidae Lühe, 1909. *Parasitology Research*. 118(2):469–481. doi:10.1007/s00436-018-6182-2.
67. Joyeux C. 1922. Recherches sur les Notocotyles. *Bulletins de la Société de Pathologie Exotique*. 15:331–343.
68. Kanev I, Vassilev I, Dimitrov V, Radev V. 1994. Life-cycle, delimitation and redescription of *Catatropis verrucosa* (Frölich, 1789) Odhner, 1905 (Trematoda: Notocotylidae). *Systematic Parasitology*. 29(2):133–148. doi:10.1007/BF00009809.
69. Kinsella JM. 1971. Growth, development, and intraspecific variation of *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotylidae) in rodent hosts. *The Journal of Parasitology*. 57(1):62. doi:10.2307/3277753.
70. Koch M. 2002. First record and description of *Catatropis indicus* Srivastava 1935 (Digenea: Notocotylidae) in Australia. *Memoirs of the Queensland Museum*. 48(1):147–153.
71. Køie M. 1984. Digenetic trematodes from *Gadus morhua* L. (Osteichthyes, Gadidae) from Danish and adjacent waters, with special reference to their life-histories. *Ophelia*. 23(2):195–222. doi:10.1080/00785326.1984.10426614.
72. Køie M. 1985. On the morphology and life-history of *Lepidapedon elongatum* (Lebour, 1908) Nicoll, 1910 (Trematoda, leprocreadiidae). *Ophelia*. 24(3):135–153.

- doi:10.1080/00785326.1985.10429724.
73. Krupenko D, Gonchar A. 2017a. Musculature arrangement and locomotion in notocotylid cercariae (Digenea: Notocotylidae) from mud snail *Ecrobia ventrosa* (Montagu, 1803). *Parasitology International*. 66(3):262–271. doi:10.1016/j.parint.2017.02.002
 74. Krupenko D, Gonchar A. 2017b. Ventral concavity and musculature arrangement in notocotylid *maritae* (Digenea: Notocotylidae). *Parasitology International*. 66(5):660–665. doi:10.1016/j.parint.2017.06.008.
 75. Kuklin VV. 2015. Seabird helminth fauna and parasite life cycles on the Murman coast of the Barents Sea in winter. *Doklady Biological Sciences*. 461(1):100–103. doi:10.1134/S001249661502012X.
 76. Kuklin VV, Galkin AK, Marasaev SF, Marasaeva EF. 2004. The characteristics of the helminthofauna of sea birds of the Svalbard Aarchipelago. *Doklady Biological Sciences*. 395(1–6):124–126. doi:10.1023/B:DOBS.0000025236.33003.4c.
 77. Kulachkova VG. 1954. Life cycle and pathogenic importance of the eider trematode *Paramonostomum alveatum* (Mehlis, 1846). *Transactions of General and Theme Conferences of the Zoological Institute of the USSR Academy of Sciences* 4:118–122 (in Russian).
 78. Kulachkova VG. 1961. Annual and seasonal dynamics in the prevalence of infection by *Paramonostomum alveatum* (Mehlis 1846) Luhe 1909 (Trematodes) in hydrobias. *Proceedings of the Karelian Branch of the USSR Academy of Sciences*. 30:79–89 (in Russian).
 79. Kulikova IV, Poysa H, Zhuravlev YuN. 2012. Phylogeography of the mallard *Anas platyrhynchos* from Eurasia inferred from sequencing of the mtDNA control region. *Russian Journal of Genetics*. 48(7):705–712. doi:10.1134/S1022795412070095.
 80. Leigh JW, Bryant D. 2015. POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*. 6(9):1110–1116. doi:10.1111/2041-210X.12410.
 81. Lühe M. 1909. *Parasitische plattwürmer. I. Trematodes*. Jena: Verlag von Gustav Fischer (Die Susswasserfauna Deutschlands).
 82. MacKinnon BM. 1982. The structure and possible function of the ventral papillae of *Notocotylus triserialis* Diesing, 1839. *Parasitology*. 84(2):313–332. doi:10.1017/S0031182000044875.
 83. Martin WE. 1956. The Life Cycle of *Catatropis johnstoni* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae). *Transactions of the American Microscopical Society*. 75(1):117. doi:10.2307/3223661.
 84. McDonald ME. 1981. *Key to trematodes reported in waterfowl*. Washington, D.C.: U.S. Fish

- and Wildlife Service Resource Publication Report No.: 142.
85. Murrills RJ, Reader TAJ, Southgate VR. 1985a. Studies on the invasion of *Notocotylus attenuatus* (Notocotylidae: Digenea) into its snail host *Lymnaea peregra*: the contents of the fully embryonated egg. *Parasitology*. 91(2):397–405. doi:10.1017/S0031182000057450.
 86. Murrills RJ, Reader TAJ, Southgate VR. 1985b. Studies on the invasion of *Notocotylus attenuates* (Notocotylidae: Digenea) into its snail host, *Lymnaea peregra*. *In vitro* observations on the hatching mechanism of the egg. *Parasitology*. 91(3):545–554. doi:10.1017/S0031182000062788.
 87. Murrills RJ, Southgate VR, Reader TAJ. 1988. Studies on the invasion of *Notocotylus attenuatus* (Notocotylidae: Digenea) into its snail host, *Lymnaea peregra*: *in vivo* observations 1 and 7 days post infection. *International Journal for Parasitology*. 18(2):161–166. doi:10.1016/0020-7519(88)90055-0.
 88. Naem S, Smythe AB. 2015. Tegumental ultrastructure of adult *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotylidae): an intestinal parasite of muskrat (*Ondatra zibethicus*). *Parasitology Research*. 114(7):2473–2480. doi:10.1007/s00436-015-4444-9.
 89. Nakao M, Sasaki M. 2021. Trematode diversity in freshwater snails from a stopover point for migratory waterfowls in Hokkaido, Japan: an assessment by molecular phylogenetic and population genetic analyses. *Parasitology International*. 83:102329. doi:10.1016/j.parint.2021.102329.
 90. Newton I. 2007. *The migration ecology of birds*. London, Academic Press/Elsevier, 984pp.
 91. Odening K. 1963. Das Exkretionssystem monostomer Cercarien (Tremaroda: Notocotylidae) aus Gewässern von Berlin und Umgebung. *Limnologica*. 1(5):365–373.
 92. Odening K. 1966. Physidae und Planorbidae als Wirte in den Lebenszyklen einheimischer Notocotylidae (Trematoda: Paramphistomida). *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 27(3). doi:10.1007/BF00260342.
 93. Odhner T. 1905. Die Trematoden des arktischen Gebietes. *Fauna Arctica*. IV(2):291–372.
 94. O’Dwyer K, Blasco-Costa I, Poulin R, Faltýnková A. 2014. Four marine digenean parasites of *Austrolittorina* spp. (Gastropoda: Littorinidae) in New Zealand: morphological and molecular data. *Systematic Parasitology*. 89(2):133–152. doi:10.1007/s11230-014-9515-2.
 95. O’Dwyer K, Faltýnková A, Georgieva S, Kostadinova A. 2015. An integrative taxonomic investigation of the diversity of digenean parasites infecting the intertidal snail *Austrolittorina unifasciata* Gray, 1826 (Gastropoda: Littorinidae) in Australia. *Parasitology Research*. 114(6):2381–2397. doi:10.1007/s00436-015-4436-9.
 96. Olson PD, Cribb TH, Tkach VV, Bray RA, Littlewood DTJ. 2003. Phylogeny and

- classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*. 33(7):733–755. doi:10.1016/S0020-7519(03)00049-3.
97. Pearson JC. 1972. A phylogeny of life-cycle patterns of the Digenea. *Advances in Parasitology*. 10:153–189.
98. Pike AW. 1969. Observations on the life cycles of *Notocotylus triserialis* Diesing, 1839, and *N. imbricatus* (Looss, 1893) *sensu* Szidat, 1935. *Journal of Helminthology*. 43(1–2):145–165. doi:10.1017/S0022149X00003989.
99. Podlipaev SA. 1979. Trematode parthenitae and larvae in the intertidal molluscs of the eastern Murman. In: Poljanskiy GI (ed) *Ecological and experimental parasitology*, vol. 2. Leningrad University Press, Leningrad, 47–101 (in Russian).
100. Podvyaznaya IM, Galaktionov KV. 2018. Reproduction of trematodes in the molluscan host: an ultrastructural study of the germinal mass and brood cavity in daughter rediae of *Tristriata anatis* Belopolskaia, 1953 (Digenea: Notocotylidae). *Parasitology Research*. 117(8):2643–2652. doi:10.1007/s00436-018-5956-x.
101. Polyansky YI. 1955). The parasitology of fish from the northern seas of the USSR. Parasites of fish from the Barents Sea. *Proceedings of the Zoological Institute RAS*. 19:5–170 (in Russian).
102. Poulin R, Morand S. 2004. *Parasite biodiversity*. Washington [D.C.]: Smithsonian Books, 216 pp.
103. Prokofiev VV. 2006. Strategies of infection of hosts by cercariae of trematodes: case study in the coastal ecosystems of seas and lakes in the north-western Russia. Thesis for a degree of Doctor of Science in Biology. Saint Petersburg. 478 pp.
104. Prokofiev VV, Galaktionov KV, Levakin IA. 2016. Patterns of parasite transmission in Polar seas: Daily rhythms of cercarial emergence from intertidal snails. *Journal of Sea Research*. 113:85–98. doi:10.1016/j.seares.2015.07.007.
105. Puillandre N, Brouillet S, Achaz G. 2021. ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources*. 21(2):609–620. doi:10.1111/1755-0998.13281.
106. R Core Team. 2022. *R: A language and environment for statistical computing*.
107. Radlett AJ. 1979. Excystation of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kossack, 1911 (Trematoda: Notocotylidae) and their localization in the caecum of the domestic fowl. *Parasitology*. 79(3):411–416. doi:10.1017/S0031182000053804.
108. Radlett AJ. 1980. The structure and possible function of the ventral papillae of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kossack, 1911, (Trematoda: Notocotylidae). *Parasitology*. 80(2):241–246. doi:10.1017/S0031182000000718.

109. Ramadan M, Taha N, Haroun S. 2020. Scanning electron microscopy of *Catatropis aegyptiacus* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae) from Norway brown rat, *Rattus norvegicus* (Muridae: Mammalia) from Egypt. Journal of the Egyptian Society of Parasitology. 50(1):209–214. doi:10.21608/jesp.2020.88839.
110. Rausch RL, Fay FH. 1966. Studies on the helminth fauna of Alaska. XLIV. Revision of *Ogmogaster* Jagerskiold, 1891, with a description of *O. pentalineatus* sp. n. (Trematoda: Notocotylidae). The Journal of Parasitology. 52(1):26. doi:10.2307/3276386.
111. Rees FG. 1932. An investigation into the occurrence, structure, and life-histories of the trematode parasites of four species of *Lymnæa* (*L. truncatula* (Müll.), *L. pereger* (Müll.), *L. palustris* (Müll.), and *L. stagnalis* (Linné), and *Hydrobia jenkinsi* (Smith) in Glamorgan and Monmouth. Proceedings of the Zoological Society of London. 102(1):1–32. doi:10.1111/j.1469-7998.1932.tb06198.x.
112. Rohde K, Onn L. 1967. Life cycle of *Catatropis indica* Srivastava, 1935 (Trematoda: Notocotylidae). Zeitschrift für Parasitenkunde. 29(2). doi:10.1007/BF00260201.
113. Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics. 19(12):1572–1574. doi:10.1093/bioinformatics/btg180.
114. Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic Biology. 61(3):539–542. doi:10.1093/sysbio/sys029.
115. Rothschild M. 1938. Notes on the classification of cercariae of the superfamily Notocotylidae (Trematoda), with special reference to the excretory system. Novitates Zoologicae. 16(2):75–83.
116. Rothschild M. 1941. Observations on the growth and trematode infections of *Peringia ulvae* (Pennant) 1777 in a pool in the Tamar saltings, Plymouth. Parasitology. 33(4):406–415. doi:10.1017/S0031182000024616.
117. Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. Molecular Biology and Evolution. 34(12):3299–3302. doi:10.1093/molbev/msx248.
118. Rudolphi CA. 1809. Entozoorum sive vermium intestinalium historia naturalis. Amsterdam: Symptibus Tabernae Librariae et Artium.
119. Sannia A, James BL. 1977. The Digenea in marine molluscs from Eyjafjörður, North Iceland. Ophelia. 16(1):97–109. doi:10.1080/00785326.1977.10425463.
120. Sasaki M, Kobayashi M, Yoshino T, Asakawa M, Nakao M. 2021. *Notocotylus ikutai* n. sp.

- (Digenea: Notocotylidae) from lymnaeid snails and anatid birds in Hokkaido, Japan. *Parasitology International*. 83:102318. doi:10.1016/j.parint.2021.102318.
121. Schwelm J, Kudlai O, Smit NJ, Selbach C, Sures B. 2020. High parasite diversity in a neglected host: larval trematodes of *Bithynia tentaculata* in Central Europe. *Journal of Helminthology*. 94:e120. doi:10.1017/S0022149X19001093.
 122. Shulman SS, Shulman-Albova RE. 1953. Parasites of fish of the White Sea. Publishing house of the USSR Academy of Sciences. 201 pp.
 123. Skála V, Bulantová J, Walker AJ, Horák P. 2014. Insights into the development of *Notocotylus attenuatus* (Digenea: Notocotylidae) in *Lymnaea stagnalis*: from mother sporocyst to cercariae. *Parasitology International*. 63(1):94–99. doi:10.1016/j.parint.2013.09.009.
 124. Skírnisson K, Eydal M, Gunnarsson E, Hersteinsson P. 1993. Parasites of the Arctic fox (*Alopex lagopus*) in Iceland. *Journal of Wildlife Diseases*. 29(3):440–446. doi:10.7589/0090-3558-29.3.440.
 125. Skírnisson K, Galaktionov KV. 2002. Life cycles and transmission patterns of seabird digeneans in SW Iceland. *Sarsia*. 87(2):144–151. doi:10.1080/003648202320205229.
 126. Skírnisson K, Galaktionov KV, Kozminsky EV. 2004. Factors influencing the distribution of digenetic trematode infections in a mudsnail (*Hydrobia ventrosa*) population inhabiting salt marsh ponds in Iceland. *Journal of Parasitology*. 90(1):50–59. doi:10.1645/GE-118R.
 127. Skrjabin KI. 1953. Trematodes of animals and man: fundamentals of trematodology, vol 8. USSR Academy of Sciences Publishing, Moscow. 618 pp. (in Russian)
 128. Smith SJ, Hickman JL. 1983. Two notocotylid trematodes from birds in Tasmania and their life histories. *Royal Society of Tasmania*. 117:85–103.
 129. Southgate VR. 1971. Observations on the fine structure of the cercaria of *Notocotylus attenuatus* and formation of the cyst wall of the metacercaria. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*. 120(3):420–449. doi:10.1007/BF00324901.
 130. Stunkard HW. 1932. Some larval trematodes from the coast in the Region of Roscoff, Finistère. *Parasitology*. 24(3):321–343.
 131. Stunkard HW. 1960. Studies on the morphology and life-history of *Notocotylus minutus* n. sp., a digenetic trematode from ducks. *The Journal of Parasitology*. 46(6):803–809.
 132. Stunkard HW. 1967a. Studies on the trematode genus *Paramonostomum* Lühe, 1909 (Digenea: Notocotylidae). *The Biological Bulletin*. 132(1):133–145. doi:10.2307/1539883.
 133. Stunkard HW. 1967b. The morphology, life-history, and systematic relations of the digenetic trematode, *Uniserialis breviserialis* sp. nov., (Notocotylidae), a parasite of the bursa

- Fabricius of birds. *The Biological Bulletin*. 132(2):266–276.
134. Szidat L. 1933. Über drei neue monostome Gabelschwanzcercarien der ostpreussischen Fauna. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 5(3–4):443–459. doi:10.1007/BF02121360.
135. Szidat L, Szidat U. 1935. Beiträge zur Kenntnis der Trematoden der Monostomidengattung *Notocotylus* Dies. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten Erste Abteilung*. 133:411–422.
136. Tandon V, Roy B. 1996. Stereoscan observations on the tegumental surface of *Catatropis indicus* Srivastava, 1935. *Acta Parasitologica*. 41(3):115–119.
137. Tkach VV, Pawlowski J, Mariaux J, Swiderski Z, Littlewood DTJ, Bray RA. 2001. Molecular phylogeny of the suborder Plagiorchiata and its position in the system of Digenea. In: *Interrelationships of the Platyhelminthes*. Taylor & Francis. p. 186–193.
138. Tsimbaljuk AK, Kulikov VV, Ardasheva NV, Tsimbaljuk EM. 1978. Helminths of invertebrates from the intertidal zone of the Iturup island. In: Kusakin OG (ed) *Fauna and vegetation of the shelf of the Kuril islands*. Moscow: Nauka, pp. 69–126 (in Russian).
139. Velasquez CC. 1969. Life History of *Paramonostomum philippinensis* sp. n. (Trematoda: Digenea: Notocotylidae). *The Journal of Parasitology*. 55(2):289. doi:10.2307/3277392.
140. Wilke T, Haase M, Hershler R, Liu H-P, Misof B, Ponder W. 2013. Pushing short DNA fragments to the limit: Phylogenetic relationships of ‘hydrobioid’ gastropods (Caenogastropoda: Rissooidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 66(3):715–736. doi:10.1016/j.ympev.2012.10.025.
141. Windsor DA. 1998. Most of the species on Earth are parasites. *International Journal for Parasitology*. 28(12):1939–1941. doi:10.1016/S0020-7519(98)00153-2.
142. Wittrock DD. 1978. Ultrastructure of the ventral papillae of *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotylidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 57(2):145–154. doi:10.1007/BF00927155.
143. WoRMS Editorial Board. 2022. World Register of Marine Species. Available from <https://www.marinespecies.org> at VLIZ. Accessed 2023-01-09. doi:10.14284/170.
144. Wright CA, Bennett MS. 1964. The life cycle of *Notocotylus attenuatus*. *Parasitology*. 54(4):14.
145. Yamaguti S. 1938. Zur Entwicklungsgeschichte von *Centrocestus armatus* (Tanabe) mit besonderer Berücksichtigung der Cercarie. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 10(2):293–296. doi:10.1007/BF02124953.
146. Yamaguti S. 1958. *Systema Helminthum*. Volume 1. The digenetic trematodes of vertebrates – part 1. New York: Interscience Publishers Inc.

147. Yamaguti S. 1971. Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Tokyo: Keigaku Publishing Co.
148. Zelikman EA. 1966. Some ecological and parasitological interconnections in the littoral zone of the northern part of the Kandalaksha gulf. Trudy MMBI. 10(14): 7–77 (in Russian).
149. Ždárská Z. 1970. The gland cells of the cercaria of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) and the cyst wall of its adolesecaria. Folia Parasitologica. 17(1):31–47.

8. Supplement 1

Sampling points.

Coordinates	Location		Region	
N66.31244 E33.66234	Sukhaya Salma Bay	Kandalaksha Gulf	White Sea	Republic of Karelia
N66.42416 E33.79166	Kem-ludy Archipelago	Kandalaksha Gulf	White Sea	Republic of Karelia
N66.2982 E33.46305	Levin Navolok Bay	Kandalaksha Gulf	White Sea	Republic of Karelia
N66.2943 E33.5856	Lebyazhya Bay	Kandalaksha Gulf	White Sea	Republic of Karelia
N66.28901 E33.75168	Borshovets Island	Kandalaksha Gulf	White Sea	Republic of Karelia
N59.226494 E153.732282	Shkiperov Bay	Babushkina Bay	Sea of Okhotsk	Magadan Region
N59.116615 E154.336794	Promezhutochnaya Bay	Kekurny Gulf	Sea of Okhotsk	Magadan Region
N69.820278 E59.464722	Lyamchina Bay	Vaygach Island	Barents Sea	Nenets Autonomous Region
N70.2 E58.5	Sedova Bay	Vaygach Island	Barents Sea	Nenets Autonomous Region
N69.272925 E59.09785	Dolgiy Island	Pechora Sea	Barents Sea	Nenets Autonomous Region
N69.121934 E36.080627	Nemetskiy Island	Dalniye Zelentsy	Barents Sea	Murmansk Region
N48.7415W4.00761	Île de Batz (off Roscoff)	English Channel	Celtic / North Sea	Bretagne, France
N70.2834 E30.9782	vicinity of the village of Kiberg	Varangerfjord	Barents Sea	Troms og Finnmark, Norway
N70.07057 E30.01957	Salttjern	Varangerfjord	Barents Sea	Troms og Finnmark, Norway
N70.17114 E28.56279	Varangerbotn	Varangerfjord	Barents Sea	Troms og Finnmark, Norway
N69.69825 E19.02427	vicinity of Tromsø		Norwegian Sea	Troms og Finnmark, Norway
N63.81666 W20.08333	Keldur		northern Atlantic ocean	Iceland

9. Supplement 2

Primers used to amplify marker DNA sequences.

Fragment	Primer name	Primer sequence	Reference
ITS1	F, BD1	GTCGTAACAAGGTTTCCGTA	Luton et al., 1992
	R, 4S	TCTAGATGCGTTCGAARTGTTCGATG	
D2 domain of the 28S rDNA	F, C2'B	GAAAAGTACTTTGRARAGAGA	Bayssade-Dufour et al., 2000
	R, D2	TCCGTGTTTCAAGACGGG	Vân Le et al., 1993
D1–D3 domains of the 28S rDNA	F, digl2	AAGCATATCACTAAGCGG	Tkach et al., 1999
	R, 1500R	GCTATCCTGAGGGAAACTTCC	Olson et al., 2003
fragment of the CO1 gene	F, JB3	TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT	Bowles et al., 1993
	R, JB4.5	TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG	
	R, trem.cox1.rn1	AATCATGATGCAAAAAGGTA	Králová-Hromadová et al., 2008
fragment of the ND1 gene	eND1_f1	AAGGGBCCTAAYAAGGTTG	Gonchar, Galaktionov, 2020
	eND1_r	ACMAYACATAAARCAMGCYTCAA	

F—forward primer; R—reverse primer. Sequences are 5'-end to 3'-end. References:

9. Bayssade-Dufour C, Jouet D, Rudolfova J, Horák P, Ferté H (2000) Seasonal morphological variations in bird schistosomes. *Parasite* 13:205–214.
10. Bowles J, Hope M, Tiu WU, Liu X, McManus DP (1993) Nuclear and mitochondrial genetic markers highly conserved between Chinese and Philippine *Schistosoma japonicum*. *Acta Tropica* 55:217–229.
11. Gonchar A, Galaktionov KV (2020) New data support phylogeographic patterns in a marine parasite *Tristriata anatis* (Digenea: Notocotylidae). *Journal of Helminthology* 94:e79.
12. Králová-Hromadová I, Špakulová M, Horáčková E, Turčeková L, Novobilský A, Beck R, Koudela B, Marinculić A, Rajský D, Pybus M (2008) Sequence analysis of ribosomal and mitochondrial genes of the giant liver fluke *Fascioloides magna* (Trematoda: Fasciolidae): intraspecific variation and differentiation from *Fasciola hepatica*. *Journal of Parasitology* 94(1):58–67
13. Luton K, Walker D and Blair D (1992) Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea). *Molecular and Biochemical Parasitology* 56:323–327.
14. Olson PD, Cribb TH, Tkach VV, Bray RA, Littlewood DTJ (2003) Phylogeny and classification of the Digenea. *International Journal for Parasitology* 33:733–755.
15. Tkach V, Grabda-Kazubska B, Pawlowski J, Swiderski Z (1999) Molecular and morphological evidence for close phylogenetic affinities of the genera *Macrodera*, *Leptophallus*, *Metaleptophallus* and *Paralepoderma* (Digenea, Plagiorchiata). *Acta Parasitologica* 44:170–179.
16. Vân Le HL, Lecointre G, Perasso R (1993) A 28S rRNA-based phylogeny of the gnathostomes: first steps in the analysis of conflict and congruence with morphologically based cladograms. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2:31–51.