## Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук

На правах рукописи УДК 575.1.575:595.324

### ЗУЙКОВА Елена Ивановна

# ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ФИЛОГЕНИЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ ВЕТВИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ ГРУППЫ DAPHNIA LONGISPINA SENSU LATO (CRUSTACEA: CLADOCERA) СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ

03.02.04 – зоология

### Диссертация на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН А.А. Котов

Новосибирск – 2021

### оглавление

ВВЕДЕНИЕ.		6
ГЛАВА 1 ОБ	ЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	22
1.1 Ист	ория изучения рода <i>Daphnia</i> и таксономические проблемы	22
1.2 Мол	пекулярно-генетическая диагностика и филогения видов рода	
Daphnie	<i>a</i>	28
1.3 Oco	бенности эволюционной истории и филогеография кладоцер	36
1.4 Кри	птические виды: взгляды на проблему, современные методы	
иденти	фикации	44
1.	.4.1 Проблема криптических видов	44
1.	.4.2 Современные методы изучения криптического	
pa	азнообразия	48
1.5 Сов	ременное состояние систематики рода <i>Daphnia</i>	52
ГЛАВА 2 МА	АТЕРИАЛ И МЕТОДЫ	55
2.1 Осн	ювные термины и формулировки	55
2.2 Сбо	р материала	58
2.3 Под	готовка образцов для морфологического и морфометрического	
анализо	ОВ	60
2.	.3.1 Традиционный морфологический анализ	60
2.	.3.2 Морфометрический анализ	61
2.4 Изу	чение изменчивости формы тела у близкородственных и	
крипти	ческих видов группы D. longispina s.l. с помощью метода	
геометр	рической морфометрии	61
2.	.4.1 Обработка цифровых изображений	61
2.	.4.2 Изменчивость морф <i>D. galeata</i> из географически удаленных	K
Π	опуляций	64
2.	.4.3 Популяционная и межвидовая изменчивость	
ф	оормы тела у видов группы D. longispina s.l	64
2.	.4.4 Влияние размерных различий и факторов	
Bl	нешней среды на форму тела дафний	65

2.4.5 Разграничение криптических видов группы	
D. longispina s.1	66
2.5 Молекулярно-генетический анализ	
2.5.1 Экстракция ДНК	67
2.5.2 Анализ изменчивости митохондриальных	
маркеров	68
2.5.2.1 Условия ПЦР реакций, секвенирование и	
редактирование нуклеотидных последовательностей	68
2.5.2.2 Митохондриальная филогения	. 69
2.5.2.3 Полиморфизм генов митохондриальной ДНК	73
2.5.2.4 Генетическая структура популяций	73
2.5.2.5 Эволюционная дивергенция и генетическая	
дифференциация популяций	74
2.5.2.6 Генеалогические связи между географическими	
группами митохондриальных гаплотипов	. 74
2.5.2.7 Демографическая история популяций	75
2.6.3 Анализ изменчивости ядерного гена ITS2	76
2.6.3.1 Условия ПЦР реакций, секвенирование и	
редактирование нуклеотидных последовательностей	77
2.6.3.2 Анализ предполагаемой вторичной структуры	
ITS2	77
2.6.3.3 Ядерная филогения	78
2.6.3.4 Полиморфизм гена ITS2 ядерной ДНК,	
эволюционная дивергенция популяций	79
2.6.3.5 Анализ компенсаторных замен	79
ГЛАВА З МОРФОЛОГИЯ, ПОПУЛЯЦИОННАЯ И МЕЖВИДОВАЯ	
ИЗМЕНЧИВОСТЬ	80
3.1 Диагностическая значимость морфологических признаков у	
близкородственных и криптических видов группы D. longispina s.1	83

3.2 Изменчивость формы тела между морфами D. galeata из	
географически удаленных популяций	84
3.3 Популяционная и межвидовая изменчивость формы тела у	
близкородственных видов группы D. longispina s.l.	91
3.4 Зависимость формы тела дафний группы D. longispina s.l. от размо	еров
и факторов внешней среды	95
3.5 Изменчивость формы тела у криптических видов группы	
D. longispina s.1	100
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ	102
ГЛАВА 4 МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ФИЛОГЕНИЯ И ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИ	ſΕ
СВЯЗИ ГАПЛОТИПОВ	105
4.1 Филогения группы Daphnia longispina s.l. на основе полного 12S	
блока	107
4.2 Филогения на основе оригинального 12S блока	109
4.3 Филогения на основе объединенного 12S+16S+ND2 блока	112
4.4 Генеалогические связи между гаплотипами массовых	
видов группы	114
4.5 Генеалогические связи между гаплотипами криптических и редки	IX
видов группы	119
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ	121
ГЛАВА 5 ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ, СТРУКТУРА И	
ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ ИСТОРИЯ	124
5.1 Полиморфизм митохондриальной ДНК и эволюционная	
дивергенция	125
5.2 Молекулярная дисперсия	129
5.3 Демографическая история видов D. galeata и D. longispina s.str	132
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ	137
ГЛАВА 6 ФИЛОГЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДО	В
ГРУППЫ НА ОСНОВЕ РЕГИОНА ITS2 ЯДЕРНОЙ ДНК	140
6.1 Полиморфизм ITS2 последовательностей	142

6.2 Предполагаемые модели вторичной структуры ITS2	144
6.3 Анализ компенсаторных замен	144
6.4 Филогения группы D. longispina s.l. на основе фрагмента	
ITS2 яДНК	149
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ	153
ГЛАВА 7 ФИЛОГЕОГРАФИЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ИСТОРИЯ СИБИРС	СКИХ
ТАКСОНОВ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ КЛАД	157
7.1 Географическое распространение видов	158
7.2 Эволюционная история массовых и редких видов группы	
D. longispina s.l. в Сибири	162
7.3 Влияние плейстоценового оледенения на формирование	
современного разнообразия группы D. longispina s.l. в Сибири	169
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ	173
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИИ	175
ВЫВОДЫ	183
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	185
ПРИЛОЖЕНИЯ	219

#### введение

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности. Ветвистоусые ракообразные (Crustacea: Cladocera) являются широко группой распространенной микроскопических животных зоопланктона, бентоса, прибрежной зоны разнообразных континентальных водоемов – от временных луж до глубоких озер. На протяжении многих десятилетий представители рода Daphnia O.F. Müller, 1776 (Anomopoda: Daphniidae) активно используются в качестве модельных объектов в исследованиях, затрагивающих различные области биологии: экологию, физиологию, популяционную генетику, эволюционную биологию, филогеографию, и др. (Hebert, 1987; 1990; Colbourne et al., 1997; 2011; Benzie, 2005; The non-Гиляров, cosmopolitanism..., 2009; Lampert, 2011; Smirnov, 2013; Phylogeography of the *Chydorus*..., 2016; Phylogeography of *Daphnia*..., 2018 и т.д.). Этот род включает в себя наиболее известных представителей кладоцер, однако многими исследователями отмечалось, что он наиболее сложный среди ветвистоусых ракообразных в таксономическом отношении.

Виды группы Daphnia longispina sensu lato являются одними из самых обычных и массовых представителей рода, бо́льшая часть которых характеризуется высокой морфологической изменчивостью, в связи с чем до последнего времени не прекращаются дискуссии по поводу статуса некоторых обычных, в том числе, и для Северной Евразии, таксонов. Исследования, выполненные на различных представителях этой группы видов, позволили наиболее вероятных причин высокой фенотипической вскрыть ряд пластичности как реакции на изменение условий окружающей среды (защитные реакции на присутствие беспозвоночных и позвоночных хищников, цикломорфозы под действием абиотических факторов и пр.) при заметном вкладе в нее генетической составляющей.

Именно высокая фенотипическая пластичность особей в пределах группы D. longispina s.l. в течение всей истории ее изучения оставалась основным фактором, определяющим выделение в ее пределах большого числа видов и подвидов. Широкое использование молекулярно-генетического анализа позволило решить некоторые таксономические проблемы в пределах группы. Однако ранние усилия генетиков внесли некоторую путаницу в ее систематику (Kotov, 2015). В дальнейшем было показано, что сочетание рутинного морфологического анализа отдельных партеногенетических И гамогенетических особей, изучение морфологической изменчивости на уровне популяций и видов в сочетании с оценкой генетической изменчивости способствует разрешению таксономических проблем в пределах многих видовых комплексов ветвистоусых ракообразных, в том числе и группы D. longispina s.1. Данные усилия лежат в рамках «интегративной систематики» – бурно развивающегося направления зоологических исследований. Благодаря такому подходу были проведены таксономические ревизии некоторых групп кладоцер, реконструкции филогенетических отношений на основе некоторые митохондриальных И ядерных маркеров, выявлены общие формирования закономерности современной фауны ветвистоусых ракообразных в различных географических масштабах.

Однако настоящего времени многие ДО аспекты, касающиеся разнообразия, генетической систематики, видового структуры, филогенетических отношений, филогеографии популяций и видов группы D. longispina s.l. остаются спорными и слабо изученными. Решению ключевых вопросов, связанных с механизмами формирования современного видового разнообразия этой группы видов и их распространения, препятствует крайне неравномерная изученность популяций, в частности, из водоемов российской части Евразии (по сравнению с другими регионами Голарктики – Западной и Центральной Европой, Северной Америкой). Эта причина лежит в основе низкой эффективности глобальных филогенетических И точности И филогеографических реконструкций в пределах всего рода Daphnia. Между тем, результаты последних исследований показали, что Сибирь представляет собой источник скрытого видового разнообразия в группе D. longispina s.l., при

этом популяции разных видов группы в этом регионе проявляют высокий уровень генетической дифференциации. Существующие пробелы можно устранить лишь посредством включения в морфологический и генетический анализ как можно большего числа популяций массовых, криптических и эндемичных видов группы *Daphnia longispina* s.l. из водоемов Северной Евразии.

Цель работы: выявить общие закономерности формирования и распределения современного биоразнообразия ветвистоусых ракообразных в водоемах азиатской части России на примере группы видов *Daphnia longispina* sensu lato.

Для достижения цели решались следующие задачи:

1. Выявить особенности современной фауны дафний азиатской части РФ и ее отдельных регионов.

2. Проверить диагностическую значимость традиционных и новых морфологических (морфометрических) и генетических признаков в пределах группы видов *Daphnia longispina* s.l..

3. Провести ревизию отдельных таксонов группы видов *Daphnia longispina* s.l., распространенных в азиатской России.

4. Реконструировать филогению группы видов *D. longispina* s.l. и ее отдельных таксонов на основании молекулярно-генетических данных по разным митохондриальным и ядерным генам.

5. Провести реконструкции процессов формирования фауны дафний в водоемах азиатской части РФ и Северной Евразии в целом при помощи филогеографического подхода, а именно выявить центры и пути расселения отдельных видов, локализацию возможных ледниковых рефугиумов.

Научная новизна. Впервые проведено масштабное изучение популяций ветвистоусых ракообразных группы *D. longispina* s.l. из водоемов Западной, Центральной и Восточной Сибири (бассейны рек Обь, Енисей, Лена, оз. Байкал). Особый интерес к данному региону обусловлен, во-первых, его слабой изученностью в филогеографическом отношении и, во-вторых, его статусом

территории, на которой располагается переходная зона между восточным и западным фаунистическими надкомплексами кладоцер (Котов, 2016; Barcoding reveals..., 2016).

Предыдущие филогеографические работы были сосредоточены на популяциях из отдельных регионов Евразии (Европе, Японии, Дальнем Востоке РФ). В рамках проведенного нами исследования в филогенетический и филогеографический анализ массовых и редких видов группы *Daphnia longispina* s.l. были включены данные по обширнейшему региону – Восточной Евразии, что позволило впервые в истории изучения группы выполнить глобальные исследования исторических процессов на континенте в целом. Уточнены ареалы и определена зона контакта викарирующих видов *D. dentifera* и *D. longispina* s.str., переописаны криптические виды *D. umbra* и *D. turbinata*, а также выявлен новый (предположительно древний) вид *D. cf. longispina*.

По итогам исследования впервые сделаны обобщающие выводы по систематике, филогении и филогеографии группы Daphnia longispina s.l. в Восточной Ha водоемах Евразии. основе исследования генетической изменчивости популяций одного вида из регионов с разной геологической историей плейстоцена В период **(B** частности, отличающихся ПО продолжительности и мощности оледенения) сделан вывод о том, что популяции с разной эволюционной историей вносят разный вклад в современное видовое разнообразие кладоцер.

**Теоретическая значимость**. Результаты комплексного подхода при изучении морфологии, филогении и филогеографии модельной группы *Daphnia longispina* s.l., примененного в диссертационном исследовании, вносят вклад в понимание путей и механизмов видообразования ветвистоусых ракообразных и пресноводных беспозвоночных в целом. Они представляют интерес для формирования стратегии сохранения биологического разнообразия пресноводной фауны, которое является основой стабильности экосистем. Предложенный подход дал возможность выявить различия в демографической истории массовых, и редких/эндемичных видов группы *Daphnia longispina* s.l. в водоемах азиатской

части России, что способствует развитию биогеографических представлений о Данные о современной пресноводной фауне в целом. популяционногенетической структуре видов группы *Daphnia longispina* s.l. свидетельствуют в пользу многократного чередования дисперсионных и викариантных событий в эпоху плейстоцена. Уникальность популяционно-генетической структуры у викарирующих видов *D. dentifera* и *D.* longispina s.str. объясняется неоднократными вторичными контактами между многочисленными генетически дивергентными филогруппами, выжившими в плейстоценовых рефугиумах. Образцы филогеографического разнообразия видов группы Daphnia longispina s.l. на территории Сибири, в частности, Алтае-Саянской горной страны, позволяют рассматривать данный регион как источник реликтовых таксонов и дивергентных митохондриальных линий, которые существования гипотетических плейстоценовых сохранились В местах рефугиумов. Данный вывод ставит вопрос о проверке популяций прочих ракообразных, обитающих таксонов ветвистоусых В регионе И рассматриваемых в качестве «широко распространенных в Евразии видов» на предмет их принадлежности к самостоятельным видам, представляющим собой эндемиков данного региона. То есть, наши работы открывают целый пласт новых систематико-фаунистических исследований.

Гипотеза о том, что обитание в водоемах Алтая и Саян реликтовой группы *D. longispina* s.str., которая выжила в плейстоценовых рефугиумах и быстро распространилась в постледниковый период, было основным препятствием для распространения других групп на запад и восток в период улучшения климатических условий, представляет общебиологический интерес. Таким образом, объяснено, почему зона вторичного контакта *D. longispina* s.str. и *D. dentifera* находится именно в этой части Сибири. То есть, на примере дафний показано, что старый (пре-плейстоценовый) филогенетический паттерн играет важную роль при формировании нового (современного) паттерна у кладоцер.

Автором собрана уникальная коллекция проб зоопланктона из Западной и Восточной Сибири и ряда других регионов Северной Евразии, являющейся базой для последующих генетических исследований рода *Daphnia* и других ветвистоусых ракообразных.

Практическая значимость. Наши исследования в целом повысили точность идентификации видов в пределах группы Daphnia longispina s.l. и внесли заметный вклад в развитие систематики рода, в частности, позволили с высокой степенью надежности определять редкие таксоны. В результате изучения морфологических признаков особей и генетической структуры азиатских популяций были выявлены новые для России виды группы Daphnia longispina s.l. и предварительно очерчены их ареалы. Полученные сведения могут использоваться для разработки учебных программ при подготовке специалистов-гидробиологов. Полученные данные представляют интерес для фаунистов, гидробиологов-экологов и специалистов, работающих в области рыбного хозяйства, при оценке кормовой базы водоемов, проведения экологических экспертиз, природоохранного мониторинга, и т.п. В ходе выполнения работы подготовлен материал для определительных ключей рода Daphnia longispina s.1. Северной Евразии по морфологическим признакам, что является востребованным результатом, поскольку группа включает обычнейшие виды, являющиеся объектами исследований различной направленности, в том числе, в области охраны природы и эффективного водоемов. Совершенствование менеджмента континентальных морфологических методов определения дафний призвано обеспечить востребованность полученных результатов местных V специалистовгидробиологов, по большей части не имеющих доступа к современным молекулярно-генетическим методикам.

Методология и методы исследования. Впервые при изучении группы *D.* longispina s.l. применен комплексный «интегративный» подход, подразумевающий рутинный морфологический анализ особей в сочетании с геометрической морфометрией для изучения степени изменчивости формы тела у близкородственных видов и популяционно-генетическим анализом на основе митохондриальных и ядерных маркеров. Показано, что такой подход, вопервых, является наиболее эффективным инструментом для определения морфологически близкородственными границ между сходными И криптическимивидами группы; во-вторых, позволяет получить единообразные временные и пространственные ряды морфологических и генетических данных для большого числа популяций и видов; в-третьих, сформировать стандартный подход к исследованию сложных в таксономическом отношении групп кладоцер. Целесообразность и новизна такого подхода заключается в возможности получать сопоставимые и разносторонние данные и быстро анализировать большой объем информации, а также существенно повышает достоверность полученных результатов.

### Положения, выносимые на защиту.

1. Бо́льшая часть популяций группы *D. longispina* s.l. Восточной Евразии представлена криптическими и эндемичными видами, идентификация которых возможна только с помощью комплексного подхода, включающего морфологические, морфометрические и молекулярно-генетические методы анализа. Эти виды представляют собой остатки плейстоценовой фауны.

2. Максимальное число уникальных гаплотипов обнаружено в географически удаленных, предгорных и горных, регионах юга Сибири – бассейне р. Енисей, оз. Байкал и в озерах Забайкалья, т.е. в местах существования предполагаемых плейстоценовых рефугиумов.

3. Виды группы *D. longispina* s.l. характеризуются различной эволюционной историей, которая представляет собой последовательность дисперсионных и викариантных событий, происходивших неоднократно в разные периоды плейстоцена. Чрезвычайно высокое и уникальное гаплотипическое разнообразие сибирских популяций и видов группы *D. longispina* s.l. позволяет рассматривать Сибирь как модельный регион для дальнейших филогеографических исследований.

Соответствие паспорту научной специальности. Работа соответствует Паспорту специальности 03.02.04 «Зоология», поскольку она посвящена изучению «многообразия и систематики животного мира», а также «закономерностям распространения ... и эволюции» животных. Работа лежит в областях исследования (1) Систематика животных и фаунистика и (2) Распространение и численность животных из Паспорта Специальности «Зоология» ВАК РФ.

Личный соискателя. Автором собраны пробы вклад лично зоопланктона из водоемов, расположенных в Новосибирской области, Алтайском и Красноярском крае, Республиках Алтай и Тыва в течение вегетационных сезонов 2004-2018 гг. Автор лично выполнил весь комплекс работ по проведению морфометрического и молекулярно-генетического анализа, а также первичной и статистической обработки полученных количественных данных. Большая часть рисунков выполнена лично автором. Гипотезы исследования сформулированы автором, постановка цели и задач исследования, анализ и интерпретация полученных результатов выполнены автором. Основные результаты диссертации представлены в публикациях, где диссертант является первым или единственным автором.

Степень достоверности результатов. Использование большого объема морфологических и генетических данных и применение разнообразных методов и подходов для их анализа обусловливает высокую надежность полученных результатов. Новые морфологические и генетические результаты достоверны, что подтверждается логическим обоснованием выводов И согласованностью результатов данного исследования с результатами, полученными ранее другими научными группами на схожих объектах исследования. При проведении генетических исследований применялись разнообразные статистические методы проверки достоверности результатов в соответствии с протоколами и алгоритмами из самых последних публикаций по филогенетике и филогеографии. Также достоверность полученных данных подтверждается их обнародованием в виде публикаций в международных

изданиях, где они прошли рецензирование ведущими специалистми по тематике.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены на: 9-м (Вербания, Италия, 2011 г.) 10-м (Леднице, Чехия, 2014 г.) И Международных Симпозиумах по ветвистоусым ракообразным (International Symposium on Cladocera); Международном Симпозиуме «Экология и эволюция: новые горизонты» (Екатеринбург, 2019); ряде других международных и российских конференциях – Сибирской Зоологической конференции (Новосибирск, 2004); Международной конференции «Природные условия, история и культура западной Монголии и сопредельных регионов» (Кызыл, 2005); Всероссийской конференции «Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии» (Улан-Удэ, 2006); Всероссийской конференции «Биологические аспекты рационального использования и охраны водоемов Сибири» (Томск, 2006); Всероссийской школе-конференции «Ветвистоусые ракообразные: систематика и биология» (Борок, 2007); Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию Енисейской ихтиологической лаборатории «Проблемы и перспективы использования водных биоресурсов Сибири в XXI веке» (Красноярск, 2008); Всероссийской конференции «Проблемы биологии и экологии Байкальского региона» (Иркутск, 2009); Международной конференции «Экология водных беспозвоночных» (Борок, 2010); 2-й Международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов» (Новосибирск, 2010); Всероссийской конференции, посвященной 100-летию со дня рождения Б.Г. Иоганзена, (Томск, 2011); а также на отчетных сессиях Института систематики и экологии животных СО РАН.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 31 научная работа, в том числе 16 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ и одна коллективная монография.

Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации:

Статьи в отечественных журналах:

1. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., 2009. Характеристика пелагического зоопланктона крупных озер Тоджинской котловины (Республика Тыва) // Журн. биол. внутр. вод. № 1. С. 53–61.

2. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., 2010а. Постэмбриональная морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* в водоемах различного типа // Сибирск. экол. журн. № 1. С. 41–55.

3. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н. А., 2010b. Морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* (Cladocera:Anomopoda) в озерах Тоджинской котловины (бассейн р. Большой Енисей) // Известия ИркГУ. Серия Биология. Экология. Т. 3. № 1. С. 23–26.

4. **Zuykova E.I.**, Bochkarev N.A., Semenova A.S., Katokhin A.V., 2010. Morphological differentiation, mitochondrial and nuclear DNA variability between geographically distant populations of *Daphnia galeata* and *Daphnia cucullata* (Anomopoda, Daphniidae) // J. Siberian Federal University. Biology. V. 4(3). P. 434– 453.

5. Зуйкова Е.И., Бочкарёв Н.А., 2011. Популяционная морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* (Cladocera: Anomopoda) в озерах Тоджинскойкотловины (бассейн р. Большой Енисей) // Экология. № 4. С. 280–288.

6. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., Катохин А.В. 2013. Молекулярногенетическая диагностика и филогения видов рода *Daphnia* (Crustacea: Cladocera) из водоемов бассейна озера Чаны // Генетика. Т. 49(2). С. 235–243.

7. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., Шевелева Н.Г., 2016а. Генетический полиморфизм, распространение гаплотипов и филогения видов рода *Daphnia* (Cladocera: Anomopoda) из некоторых водоемов России по результатам

секвенирования гена 16S митохондриальной ДНК // Генетика. Т. 52. № 4. С. 1– 13.

8. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., 2016b. Популяционная и межвидовая морфологическая изменчивость видов рода *Daphnia* O.F. Müller, 1785 (Cladocera, Daphniidae) // Зоологический журн. Т. 95. № 5. С. 1–10.

9. Зуйкова Е.И., Симонов Е.П., Бочкарев Н.А., 2017. Сравнительный морфологический и генетический анализ популяций и видов рода *Daphnia* O.F. Müller, 1785 (Crustacea: Daphniidae) из озер Глубокого и Чаны // Известия Ран. Серия Биологическая. № 3. С. 262–275.

10. Зуйкова Е.И., 2019. Идентификация и филогения криптических видов комплекса *Daphnia longispina* (Cladocera, Daphniidae) на основе вторичной структуры промежуточного транскрибируемого спейсера 2 (ITS2) ядерной ДНК // Генетика. Т. 55. С. 557–573.

11. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., Котов А.А., 2020. Видовая и генетическая структура группы *Daphnia longispina* s.l. (Cladocera: Daphniidae) в водоемах Южной Сибири // Зоологический журн. Т. 99. № 10. С. 1110–1123.

## Статьи в зарубежных рецензируемых журналах, индексирующихся в cucreme WOS Core Collection:

12.**Zuykova E.I.**, Bochkarev N.A., Katokhin A.V., 2013. Identification of the *Daphnia* species (Crustacea: Cladocera) in the lakes of the Ob and Yenisei River basins: morphological and molecular phylogenetic approaches // Hydrobiologia. V. 715. P. 135–150.

13. **Zuykova E.I.**, Simonov E.P., Bochkarev N.A., Taylor D.J., Kotov A.A., 2018b. Resolution of the *Daphnia umbra* problem (Crustacea: Cladocera) using an integrated taxonomic approach // Zool. J. Linn. Soc. V. 184. P. 969–998.

14. **Zuykova E.I.**, Simonov E.P., Bochkarev N.A., Abramov S.A., Sheveleva N.G., Kotov A.A., 2018a. Contrasting phylogeographic patterns in closely related species of *Daphnia longispina* group (Crustacea: Cladocera) with focus on north-eastern Eurasia // PLoS ONE. V. 13. № 11. e0207347.

15. **Zuykova E.I.**, Sheveleva N.G., Kotov A.A., 2019a. Redescription of *Daphnia turbinata* Sars, 1903 (Crustacea: Cladocera: Daphniidae) // Zootaxa. V. 4658. P. 317–330.

16. **Zuykova E.I.**, Bochkarev N.A., Taylor D.J., Kotov A.A., 2019b. Unexpected endemism in the *Daphnia longispina* complex (Crustacea: Cladocera) in Southern Siberia // PLoS ONE. V. 14. № 9. e0221527.

### Статья в коллективной монографии:

1. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., 2010. Размерно-возрастная морфологическая изменчивость некоторых видов рода *Daphnia* // Сообщества и популяции животных: экологический и морфологический анализ. Труды ИСиЭЖ СО РАН. Вып. 46. Новосибирск-Москва: Изд-во КМК. С. 212–244.

### Материалы и тезисы конференций:

1. Зуйкова Е.И. Распределение и экология зоопланктона в зависимости от морфометрии, гидрологических и гидрохимических характеристик озер Тоджинской котловины // Сибирск. Зоологич. конф. Тезисы докл. Новосибирск, 2004. С. 259.

2. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., Железнова И.В., 2005. Характеристика зоопланктона озер Тоджинской котловины в зависимости от параметров среды // Мат. VII Межд. конф. «Природные условия, история и культура западной Монголии и сопредельных регионов». Кызыл: ТувИКОПР СО РАН. С. 159–161.

3. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н. А., Железнова И.В. Морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* в зависимости от факторов внешней среды // Материалы Всероссийской конференции «Биологические аспекты рационального использования и охраны водоёмов Сибири». Томск, ТГУ. 2006. С. 26.

4. Железнова И.В. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А. Структура зоопланктонных сообществ озер Тоджинской котловины // Материалы Всероссийской конференции «Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии». Улан-Удэ, ИОЭБ СО РАН. 5-10 сентября 2006. С. 43.

**5. Зуйкова Е.И**., Бочкарев Н.А. Сезонная морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* в водоемах различного типа // Материалы Всероссийской школы-конференции «Ветвистоусые ракообразные: систематика и биология». Борок, ИБВВ РАН. 8-12 октября 2007 г. С. 255–260.

6. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., 2009. Популяционная морфологическая изменчивость *Daphnia curvirostris* Eulmann в водоемах различного типа // Материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию Енисейской ихтиологической лаборатории «Проблемы и перспективы использования водных биоресурсов Сибири в XXI веке». Красноярск, ФГНУ НИИРВЭ. 8-12 декабря 2008 г. С. 310–316.

7. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., 2009. Морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* (Cladocera: Anomopoda) в озерах Тоджинской котловины (бассейн р. Большой Енисей) // Матер. конф. «Проблемы биологии и экологии Байкальского региона». Иркутск: Изд-во Ирк. ун-та.

8. Зуйкова Е. И., Бочкарёв Н. А., Катохин А.В., 2010. Морфологическая и генетическая дифференциация некоторых видов рода *Daphnia* O.F. Müller, 1785 (Crustacea: Cladocera) из Глубокого озера и бассейна озера Чаны // Экология водных беспозвоночных. Мат-лы Междунар. конф. Борок, ИБВВ РАН. 30 октября-2 ноября 2010 г. С. 112–114.

9. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., 2010. Морфологическая и генетическая дифференциация сестринских видов *Daphnia galeata* и *Daphnia cucullata* (Anomopoda: Daphniidae) из Новосибирского водохранилища // Мат-лы 2-ой Международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов». Новосибирск, НГАУ, ФГУП «Госрыбцентр». 7-9 декабря 2010 г. С. 54.

10. **Зуйкова Е.И.**, Бочкарев Н.А., 2011. Виды рода *Daphnia* O.F. Müller, 1785 (Crustacea: Cladocera) в озере Чаны: морфология и молекулярногенетический анализ популяций // Всероссийская конференция посвященной 100-летию со дня рождения Б.Г. Иоганзена. Томск, ТГУ. 19-21 апреля 2011 г. С. 63. 11. **Zuykova E. I.**, Bochkarev N. A., Katokhin A.V., 2011. Identification of the *Daphnia* species (Crustacea: Cladocera) in the lakes of the Ob and Yenisei rivers basins: morphological and molecular phylogenetic approaches // 9<sup>th</sup> International Symposium on Cladocera. Verbania, Italy. P. 44.

12. Zuykova E., Simonov E., Abramov S., Bochkarev N., Sheveleva N., 2014.
Mitochondrial DNA diversity of the *Daphnia longispina* complex in South Siberia //
10<sup>th</sup> international Symposium on Cladocera, Lednice, Czech Republic. P. 132.

13. Зуйкова Е.И., 2019. Криптические виды комплекса *Daphnialongispina* (Cladocera): способы их идентификации, филогения и распространение в водоемах азиатской части России // Экология и эволюция: новые горизонты. Международный симпозиум, посвященный 100-летию академика С.С. Шварца. Екатеринбург, ИЭРиЖ УрО РАН. 1-5 апреля 2019 г. С. 313–315.

14. Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А., Симонов Е.П., Шевелева Н.Г., Котов А.А., 2020. Эндемичные и криптические виды группы *Daphnia longispina* s.l. (Cladocera): филогения и распространение в водоемах азиатской части России // Экология водных беспозвоночных. Тезисы всероссийской конференции, посвященной 110-летию со дня рождения Ф.Д. Мордухай-Болтовского. Борок, ИБВВ РАН. 9-13 ноября 2020 г. С. 39.

Структура и объем диссертации. Рукопись состоит из введения, семи глав, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Общий объем диссертации составляет 268 страниц машинописного текста, включая 16 таблиц, 34 рисунка и приложения А-Д. Список цитируемой литературы содержит 311 работ, в том числе 264 на иностранных языках.

Благодарности. Выражаю огромную, искреннюю благодарность своему научному консультанту – члену-корреспонденту РАН, Профессору Алексею Алексеевичу Котову (ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва) за многочисленные консультации, ценные советы и помощь, оказанную при подготовке диссертации. Особую признательность выражаю к.б.н. Н.А Бочкареву за концепции, которые послужили отправной точкой данного научного исследования, а также многолетнюю помощь при проведении полевых работ; к.б.н. А.В. Катохину (ИЦиГ СО РАН) – за организацию и обучение молекулярно-генетическим методам; к.б.н. Е.П. Симонову и к.б.н. С.А. Абрамову – за помощь в освоении и использовании методов генетического и морфологического анализа полученных данных. Хочу выразить огромную признательность коллегам из ИПЭЭ РАН им. А.Н. Северцова и МГУ им. М.В. Ломоносова – д.б.н. <u>Н.Н. Смирнову</u>, д.б.н. Н.М. Коровчинскому, д.б.н. А.Ю. Синеву за многочисленные консультации, ценные советы и обсуждение проблем изучения ветвистоусых ракообразных. Отдельную благодарность хочу выразить к.б.н. Н.Г. Шевелевой (Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск) за предоставленные многочисленные, в том числе и уникальные, пробы дафний и многолетнюю дружескую поддержку.

Выражаю огромную признательность своим учителям – преподавателям из Красноярского государственного университета, благодаря которым у меня появилась возможность заниматься научными исследованиями, в частности, профессору <u>З.Г. Гольд</u>, д.б.н. О.П. Дубовской и всем остальным преподавателям, тем, кто течение периода моего обучения (1982-1987 гг.) в той или иной мере оказал влияние на мой выбор. Особую благодарность выражаю всем коллегам, которые в разное время оказывали помощь в сборе материала.

Благодарю всех своих соавторов за участие в подготовке совместных публикаций. Благодарю своих коллег, сотрудников ИСиЭЖ СО РАН – С.А. Корниенко, В.Ю. Ковалеву, Н.Б. Миронову за конструктивные дискуссии и дружескую поддержку. Выражаю свою глубокую признательность члену-корреспонденту РАН В.И. Евсикову и члену-корреспонденту РАН В.В. Глупову за поддержку на разных этапах исследований и внимание к моей работе.

Я глубоко благодарна своим родным за поддержку и всевозможную помощь на протяжении всей моей научной карьеры.

Исследования были выполнены при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проекты №№ 14-04-00926 и 20-04-00610).

### ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1 История изучения рода *Daphnia* и таксономические проблемы

Представители рода *Daphnia* O.F. Müller, 1776 (Cladocera: Anomopoda: Daphniidae) – одни из самых распространенных и известных ветвистоусых ракообразных в составе зоопланктонных сообществ водоемов различного типа. Они населяют пелагиаль крупных и глубоких водоемов (*D. longispina* O.F. Müller, 1776s.str., *D. hyalina* Leydig, 1860, *D. galeata* Sars, 1863), мелкие пруды, а также постоянные и временные, пресные и солоноватые водоемы (*D. magna* Straus, 1820, *D. pulex* Leydig, 1860, *D. curvirostris* Eylmann, 1887, *D. similis* Claus, 1876).

Первые известные изображения дафний относятся к середине XVII в. (Svammerdam, 1669). Первое краткое описание рода выполнено О.Ф. Мюллером (O.F. Müller, 1776, 1785), и в дальнейшем систематика рода развивалась усилиями таких зоологов как Ф. Лейдиг, Г.-О. Сарс, П. Мюллер, К. Клаус (Leydig, 1860; Müller, 1867; Claus, 1876; 1877; Sars, 1885; 1916). Все имевшиеся к концу XIX в. данные по систематике рода были ревизованы в крупной монографии Ж. Ришара (Richard, 1895). Следует отметить, что результаты исследований ученых XIX в. до сих пор остаются актуальными, поскольку рисунки рачков выполнялись тщательно, с детальной прорисовкой внешних и внутренних структур (Рисунок 1.1). Таким образом, к началу XX в. морфология многих представителей рода *Daphnia* была изучена довольно подробно, особенно для того времени (учитывая уровень микроскопии того времени).

Примерно в этот же период были начаты исследования, касающиеся особенностей эмбрионального развития рачков (Lebedinsky, 1891; Wotzel, 1937; Fox, 1948), которые впоследствии, уже на рубеже XX-XXI вв. были продолжены российскими учеными А.А. Котовым и О.С. Бойковой (Котов, 1995; 2001; Kotov, 1996, 1997; Kotov, Boikova, 1998; 2001; Boikova, 2008).

Морфологические и таксономические исследования рода *Daphnia* в первой половине XX в. отошли на второй план, если не были прекращены вообще.



Рисунок 1.1 – *Daphnia lacustris* G.O. Sars, 1862 – оригинальная иллюстрация O.-Г. Capca (по Restoring *Daphnia lacustris*..., 2007)

Собственно, резкое снижение интереса к изучению морфологии и систематики коснулось всех групп ветвистоусых ракообразных, как и многих других групп пресноводных животных. Внимание гидробиологов было сконцентрировано на экосистем, преобладанием комплексном изучении водных с методов продукционной биологии (Коровчинский, 1992; 2004; Коровчинский и др. 2012). Созданные в этот период определители по фауне кладоцер России и бывшего СССР базировались, главным образом, на данных по Европейской части. Тем не менее, устаревшие к настоящему времени, определители А.Л. Бенинга «Кладоцера Кавказа» (Бенинг, 1941) Ε.Ф. Мануйловой И

«Ветвистоусые рачки фауны СССР» (Мануйлова, 1964) внесли существенный вклад в изучение кладоцер в общем и рода *Daphnia* в частности.

Между тем, определитель А.Л. Бенинга был ограничен территорией Кавказа. Автор понимал эту территорию как «...пространство, занимаемое перешейком между Каспийским и Черным морями, с северной границей в районе Кумо-Манычской впадины и южной – по нашей государственной границе до 1914 г.» (Бенинг, 1941, стр. 2). Как особо отмечал автор, систематизация кладоцер Кавказа представлялась ему возможной, в том числе, вследствие отсутствия в водоемах данного региона наиболее трудных для систематики «рас северных *Daphnia hyalina*». По-видимому, упомянутые А.Л. Бенингом «расы *Daphnia hyalina*» представляли собой не что иное, как различные формы чрезвычайно изменчивого вида *D. longispina* s.str., что впоследствии привело к выделению Е.Ф. Мануйловой (1964) помимо номинативного вида *D. longispina* s.str. еще пяти подвидов.

За пределами России наиболее полные сводки по кладоцерам, в том числе и по роду *Daphnia*, представлены в работах М. Алонсо, Д. Флеснера, А. Дюмона и С. Негри, а также И. Худеца (Alonso, 1996; Flössner, 2000; Dumont, Negrea, 2002; Hudec, 2010). Фауна кладоцер Северной Америки в середине прошлого века была подробно изучена Д. Бруксом (Brooks, 1957).

Попытка ревизии рода Daphnia в масштабе мировой фауны в начале XXI в. была выполнена Д. Бензи (Benzie, 2005). Автор подчеркивал, что молекулярно-генетические исследования обнаружили несостоятельность признаков, отдельных морфологических традиционно используемых В систематике рода, а идентификация некоторых видов рода Daphnia только на основе морфологии невозможна. Таким образом, Д. Бензи (Benzie, 2005) по итогам собственных исследований фактически подтвердил существование криптических видов в пределах рода. Несмотря на такое обилие последних сводок, в своем большинстве они представляли собой компиляцию имеющихся данных, а не детальную ревизию отдельных таксонов (Котов, 2013).

Интенсивные исследования представителей отряда Anomopoda с использованием современных подходов К изучению морфологии И, соответственно, систематики, пришлись на конец XX в. – начало XXI в., ознаменовав современный этап изучения этой обширной группы водных беспозвоночных. Большая заслуга в этом принадлежит группе отечественных морфологов-систематиков. В этот период проведены ревизии семейств Chydoridae и Ilyocryptidae, выделено отдельное семейство Eurycercidae (Stifter, 1988; Paggi, 1992; Smirnov, 1998; Cervantes-Martinez et al., 2000; Kotov, 2000a; 2000b; 2008; Kotov, Williams, 2000; Kotov, Tanaka, 2004; Kotov, Štifter, 2006; Bekker et al., 2010; 2012; Kotov, Alonso, 2010; Sinev, Elmoor-Loureiro, 2010; Sinev, 2011; Sinev, Kotov, 2014; Revision of the Old World..., 2016; Diversity of the subgenus..., 2018).

Отечественными учеными были описаны новые и переописаны уже известные виды, созданы новые идентификационные ключи (Определитель пресноводных беспозвоночных России..., 1995; Определитель зоопланктона и зообентоса..., 2010). Одним из последних является определитель, созданный группой российских и зарубежных ученых (Rogersetal., 2019). Совсем недавно была опубликована новая сводка в двух томах «Ветвистоусые ракообразные (Crustacea: Cladocera) Северной Евразии» (2021), составленная группой российских карцинологов (Н.М. Коровчинский, А.А. Котов, О.С. Бойкова, Н.Н. Смирнов). Здесь впервые собраны сведения по фауне кладоцер Северной Евразии, включающие достижения последних десятилетий по различным аспектам жизнедеятельности ветвистоусых ракообразных.

Наиболее полное исследование для наиболее распространенных видов группы *D. longispina* s.l. и рода *Daphnia* в целом, было проведено в конце XX в. С.М. Глаголевым в рамках работ над его диссертацией кандидата биологических наук (Глаголев, 1983а; 1983б; 1984; Glagolev, 1986; Glagolev, Alonso, 1990). Оно было посвящено описанию морфологии рачков и разрешению некоторых таксономических проблем. Основные результаты исследований С.М. Глаголева заключались в формировании новых стандартов

при описании новых видов, в частности, в выявлении диагностических морфологических признаков. С.М. Глаголев считал необходимым условием для верной идентификации особей выполнения включение В анализ партеногенетических и эфиппиальных самок и половозрелых самцов. В частности, было подробно исследовано строение торакальных конечностей самок и самцов у разных представителей рода, выявлены особенности строения эфиппиума. На основании полученных данных автор обосновал возможность разделения рода *Daphnia* как минимум на два подрода (Глаголев, 1983а). При этом автор отмечал, что разделение близкородственных видов группы D. longispina s.l. по строению и вооружению торакальных конечностей весьма затруднительно, а часто и невозможно. Благодаря применению новых подходов и переосмыслению диагностической ценности отдельных признаков С.М. Глаголев установил, что D. thorata и D. balchashensis представляют собой синонимы D. galeata, а также не нашел оснований для выделения таких подвидов, как D. galeata galeata и D. galeata mendotae (Glagolev, 1986).

морфологических При очевидных успехах И таксономических исследований В пределах отряда Anomopoda до настоящего времени систематика определенной части таксонов остается в неудовлетворительном состоянии (Korovchinsky, 1996; Коровчинский и др., 2012; Котов, 2013). Так, из всех представителей семейства Daphniidae всесторонняя ревизия в объеме мировой фауны была проведена только для рода Simocephalus Schödler, 1858 1995; Orlova-Bienkowskaja, (Орлова-Беньковская, 2001). Несмотря на продолжительный период изучения, особенно много проблем остается в морфологической систематике рода *Daphnia*, и до сих пор считающейся одной из самых сложных групп, особенно это касается группы Daphnia longispina s.l. (Korovchinsky, 1996; Kotov, 2015; Котов, 2016; Ветвистоусые ракообразные..., 2021).

Как было отмечено А.А. Котовым (2015), из всей массы предложенных к 2014 г. таксонов в пределах рода *Daphnia*, только незначительную их часть, а именно ~24%, можно считать валидными видами. Кроме того, он отметил, что

на протяжении длительного периода времени при описании новых видов, выделении дополнительных подродов многие авторы не придерживались правил Международной зоологической номенклатуры (ICZN, 2000). В частности, был выделен подрод *Hyalodaphnia*, который фактически представлен видами группы *D. longispina* s.1. Все это привело к дополнительной путанице в систематике рода (Kotov, 2015).

Многие виды до настоящего времени остаются не ревизованными. До сих пор нет однозначного мнения по поводу таксономического статуса некоторых представителей группы *D. longispina* s.l. Пожалуй, к самым известным из них относится вид (форма?) *D. hyalina*. Европейские исследователи считают, что *D. hyalina* представляет собой озерную форму *D. longispina* s.str., тогда как российские исследователи склоняются к видовому статусу этой дафнии (A taxonomic reappraisal..., 2008; Contribution of cyclic..., 2009; Кирдяшева, Котов, 2013; Кирдяшева, 2017).

Трудности идентификации морфологически слабо при дифференцированных видов, таких как D. longispina s.str., D. hyalina, D. *dentifera*, возникают даже у специалистов-систематиков (Dlouhá et al., 2010). Не ревизованными остаются некоторые европейские формы, такие как «Berse» и «zschokkei», отсутствует детальное морфологическое описание для обычного в Арктике и Субарктике таксона – *D. lacustris* (Restoring *Daphnia lacustris...*, 2007; A taxonomic reappraisal..., 2008). В одном из последних опубликованных ключей для определения кладоцер Палеарктики (Keys to Palaearctic fauna..., 2019) определение некоторых представителей подрода Daphnia s.str. предлагается до уровня групп видов, что свидетельствует о невозможности их идентификации до более глубокого таксономического уровня.

К настоящему времени из всех представителей рода *Daphnia* одной из наиболее изученных как в таксономическом, так и филогенетическом и филогеографическом отношении можно считать группу видов *D. curvirostris* (Kotov et al., 2006a; Juračka et al., 2010; Kotov, Taylor, 2019; A new species group..., 2021). Слабая изученность популяций и видов группы *Daphnia*  *longispina* s.l. из обширного региона – азиатской части России – очевидно, препятствует оценке реального видового разнообразия внутри этой группы и целостному пониманию путей и механизмов его формирования. Между тем, итоги фаунистических исследований указывают на высокую вероятность обнаружения эндемичных видов кладоцер на огромной территории Восточной Сибири и российской части Дальнего Востока (Котов, Синев, 2011).

### 1.2 Молекулярно-генетическая диагностика и филогения видов рода *Daphnia*

Во второй половине XX в. наряду с традиционными морфологическими методами при изучении разных таксонов кладоцер начали активно применяться генетические подходы (Hebert, 1973; 1987). От первоначального использования биохимических методов (изучения аллозимной, ферментной изменчивости) ученые перешли к определению нуклеотидных последовательностей отдельных генов митохондриальной и ядерной ДНК и полных геномов, используя для этого продукты полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Colbourne, Hebert, 1996; Schwenk et al., 2000; The scale of divergence..., 2009).

Для разрешения таксономических проблем в разных группах кладоцер стал широко использоваться анализ изменчивости разных генов митохондриальной ДНК (мтДНК). Самую большую известность из этих методов получил так называемый генетический баркодинг, или ДНКштрихкодирование. Данный подход предполагает глобальную биологическую идентификацию организмов и определение их места в уже существующей классификации. Для этой цели было предложено использовать ген первой субъединицы цитохромоксидазы СОІ мтДНК в качестве основного маркера. Полем Хебертом с соавторами был выполнен анализ этого фрагмента для 447 родов из 11 различных типов животных, в том числе и для артропод (Hebert et al., 2003). Авторы отметили высокую эффективность данного подхода,

несмотря на то, что для отдельных групп организмов его разрешающая способность на видовом уровне была невысокой.

Впоследствии помимо гена СОІ мтДНК как для идентификации видов, для реконструкции филогении рода Daphnia наиболее так И часто использовались фрагменты некодирующего 12S рРНК и белок-кодирующего ND2 генов мтДНК (Taylor et al., 1996; Schwenk et al., 2000; A taxonomic reappraisal..., 2008; Ishida, Taylor, 2007a; 2007b; и др.). Несколько реже применялись фрагмент гена 16S рРНК мтДНК (Taylor, Hebert, 1993a; Genetic markers..., 1998) и ядерные маркеры (Schwenk et al., 2000; Taylor et al., 2005). Митохондриальные маркеры хорошо зарекомендовали себя при реконструкции филогении кладоцер как на уровне рода, так и отдельных групп видов. Ранее способность гена 12S отмечалась плохая разрешающая мтДНК при реконструкции филогении подрода *Ctenodaphnia* (A hierarchical molecular..., 1995). Здесь следует отметить, что в вышеупомянутом исследовании Н. Лемана с соавторами использовался короткий (385 п.н.) фрагмент этого гена. В более поздних работах применялся уже почти в два раза больший участок гена 12S (550-600 п.н.). Кроме того, причина могла заключаться и в неверной идентификации особей. Во-первых, потому, что позже упомянутые виды D. pulex и D. pulicaria были отнесены к подроду Daphnia и, во-вторых, они сами представляют собой группы видов, нуждающихся в ревизии (Ветвистоусые ракообразные..., 2021).

Методы молекулярной генетики внесли значительный вклад в развитие систематики ветвистоусых ракообразных. Однако на начальных этапах молекулярно-генетические исследования популяций и видов кладоцер привели к дополнительной путанице в разных таксономических группах, в том числе и в роде *Daphnia* (Adamowicz et al., 2004; Colbourne et al., 2006; Petrusek et al., 2007). В первую очередь это было вызвано тем, что специалисты-генетики совершенно не учитывали морфологических признаков при исследовании отдельных особей и пренебрегали кодексом зоологической номенклатуры. На

эту проблему неоднократно указывали отечественные систематики-морфологи (Korovchinsky, 1996; Коровчинский, 2012; Котов, 2013; Kotov, 2015).

Тем не менее, впоследствии ситуация выправилась, и, благодаря совместным усилиям морфологов и генетиков, были получены новые значимые данные о таксономии и филогении некоторых групп кладоцер (Kořínek, Hebert, 1996; Kotov et al., 2006a; 2006b; 2009a; 2009b; Belyaeva, Taylor, 2009; Revision of the Old World..., 2016; и др.). Так, основываясь на генетических данных, специалистам-морфологам удалось обнаружить морфологические различия для двух дивергентных митохондриальных форм в пределах рода *Daphnia* и описать новые виды – *D. tanakai* Ishida, Kotov et Taylor, 2006 и *D. hrbačeki* Juračka, Kořínek et Petrusek, 2010, морфологически сходными с *D. curvirostris* (Kotov et al., 2006a; Juračka et al., 2010). Впоследствии выяснилось, что *D. curvirostris* фактически представляет собой группу видов, в составе которой в настоящее время насчитывается девять видов (A new species group..., 2021; Ветвистоусые ракообразные..., 2021).

Благодаря молекулярно-генетическим исследованиям была подтверждена гибридная природа некоторых популяций дафний, в том числе и для группы D. *longispina* s.l., (что раньше только предполагалось морфологами), выявлены процессы интрогрессии в симпатрических популяциях близкородственных видов D. galeata (D. galeata mendotae), D. rosea (= D. longispina s.str.), D. *dentifera* (Wolf, 1987; Wolf, Mort, 1986; Schwenk, 1993; Schwenk, Spaak, 1997; Taylor, Hebert, 1993b; Duffy et al., 2004).

Следует отметить, что изучение генетической изменчивости популяций ветвистоусых ракообразных, в том числе и дафний, крайне неравномерно охватывало различные таксоны и регионы. Изначально исследования носили ограниченный, региональный характер. Наиболее интенсивные молекулярногенетические исследования популяций рода *Daphnia* (включая группу видов *D*. longispina s.l.) проводились в Центральной и Западной Европе, Северной (Gie $\beta$ ler, Duffy Америке И Японии 2001; et al., 2004;Ecological, morphological...,2004; Ishida, Taylor, 2007a; 2007b; Restoring Daphnia lacustris...,

2007; Intra-specificr DNA-ITS..., 2007; A taxonomic reappraisal..., 2008; Jeffery et al., 2011; The long-term consequences..., 2011; Hamrová et al., 2011; At the edge..., 2013; Local and regional..., 2014; и т.д.), а несколько позже – на территории Китая (Diversity of the *Daphnia*..., 2014; The phenotypic plasticity...,2016; *Daphnia galeata* and...,2019; Lineage diversity..., 2019; *Daphnia* diversity..., 2018; Cyto-nuclear diversity..., 2018).

Несмотря на некоторую региональную ограниченность, благодаря этим были пересмотра исследованиям получены важные результаты: OT таксономического статуса и уточнения реального видового разнообразия дафний до выявления микроэволюционных процессов и реконструкции демографической истории популяций и отдельных видов. По мере накопления данных о генетической изменчивости популяций дафний одних и тех же видов из разных географических регионов, появилась реальная возможность для проведения сравнительного анализа и получения адекватных обобщающих выводов уже для более обширных территорий, а также для уточнения филогенетических схем рода.

Популяции дафний из водоемов, расположенных на территории России, в ранних генетических исследованиях были либо не представлены вовсе, либо изучались лишь отдельные и немногочисленные образцы. Пожалуй, к одной из первых работ по дафниям РФ относится небольшое исследование, касающееся генетической идентификации некоторых видов рода *Daphnia* из р. Волга (Bychek, Müller, 2003). Впоследствии исследованиями были охвачены более общирные территории российской части Евразии, что привело к появлению новых сведений о генетической структуре популяций и видов рода, их филогенетических взаимоотношениях, закономерностях распространения гаплотипов.

Первые наиболее полные и вполне адекватные филогенетические схемы рода *Daphnia* были реконструированы благодаря исследованиям групп европейских и американских ученых (Adamowicz et al., 2004; The scale of divergence..., 2009; Colbourne et al., 2006). Эти авторы выделяли в составе

дафний дополнительный подрод *Hyalodaphnia*, а также рассматривали в качестве самостоятельного род *Daphniopsis*. Последний, как указывает А.А. Котов (2015), является младшим синонимом подрода *Daphnia (Ctenodaphnia)*. Впрочем, в более поздней статье С. Адамович с соавторами (Adamowicz et al., 2009) делает ссылку на то, что представителей группы *D. longispina* s.l. иногда относят к подроду *Hyalodaphnia*. Согласно этой работе, вышеуказанная группа является монофилетичной (Рисунок 1.2).

Один из существенных результатов генетических анализов популяций дафний, проведенных Дж. Колбурном с соавторами (Colbourne et al., 2006) и С. Адамович с соавторами (The scale of divergence..., 2009), заключался в выявлении некоторых механизмов видообразования для довольно большого числа видов рода *Daphnia*. В частности, они представили убедительные доказательства для древнего аллопатрического видообразования, которое сопровождалось процессами дисперсии, а также рядом викариантных событий в период плейстоцена.

способность Между высокую дисперсионную тем. несмотря на покоящихся стадий у дафний, неоднократно отмечалось такое парадоксальное явление, как высокая степень генетического структурирования популяций даже на ограниченных территориях. Для объяснения этого феномена Л. Де Местером с соавторами была предложена «гипотеза монополизации» (The monopolization hypothesis..., 2002). В свете этой гипотезы предполагается, что совместное воздействие явлений, как, быстрая колонизация свободных таких местообитаний ограниченным числом мигрантов и локальные адаптации, в конечном результате приводящие к устойчивому эффекту основателя. В таком случае активный рост популяций, в частности, ветвистоусых ракообразных, способствует формированию значительного по объему банка покоящихся яиц,что в конечном итоге создает серьезное препятствие для инвазии новых мигрантов.



Рисунок 1.2 – Филогенетическая схема для 92 видов рода *Daphnia* на основе Байесовского анализа нуклеотидных последовательностей COI, 12S и 16S генов митохондриальной ДНК (по The scale of divergence..., 2009)

Данная гипотеза на основе анализа митохондриальных и ядерных генов была подтверждена при изучении европейских популяций *D. longispina* s.str.,

которые характеризовались высоким уровнем внутрипопуляционной генетической изменчивости на фоне высокой межпопуляционной генетической дифференциации (Contribution of cyclic..., 2009; At the edge..., 2013; Local and regional..., 2014).

Одним из важных результатов молекулярно-генетических исследований стало выявление митохондриальных суперклад и высокое криптическое разнообразие в пределах рода *Daphnia* в целом и в группе *D. longispina* s.l. в частности (Ishida, Taylor, 2007a; Petrusek et al., 2012). Так, в процессе анализа генетической изменчивости популяций дафний из водоемов Европы (в том числе и изевропейской части России) были обнаружены глубоко дивергентные митохондриальные линии (Рисунок 1.3).



Рисунок 1.3 – ML-филогенетическое дерево группы видов *D. longispina* s.l. (по Petrusek et al., 2012)

До настоящего времени нет однозначного ответа о причинах происхождения и статусе дивергентных митохондриальных линий.

Предполагается, что некоторые ИЗ них могут представлять собой потенциальные биологические виды (Котов, 2016). Для некоторых таких линий longispina s.l. показана гибридная природа, ИЗ группы D. тогда как происхождение других остается плохо изученным или вовсе неизвестным (Divergent clades..., 2017). В связи с этим, идентификация так называемых «проблемных», морфологически сильно похожих видов и гибридных особей в группе D. longispina s.l. до настоящего времени вызывает затруднения даже у специалистов (Identifying hybridizing..., 2010). Поэтому приотсутствии точных описаний морфологии (а, возможно, и реальных морфологических отличий), генетический анализ остается единственнымнадежным способом определения такими особями/видами. Здесь границ между следует отметить, что основываясь только на единственном генетическом маркере можно получить филогенетическое дерево, которое может отличаться OT данных морфологической систематики, а также такая несогласованность часто имеет место между митохондриальной и ядерной филогениями (DeSalle et al., 2005; Divergent clades..., 2017).

Впрочем, мито-нуклеарное несоответствие может быть следствием, в том числе, несовершенной таксономии. Однако в большинстве случаев оно обусловлено неполным сортингом линий, разной скоростью этого процесса в митохондриальном и ядерном геномах, гибридизацией и вторичным контактом дивергентных линий и изолированных популяций (Funk, Omland, 2003; Toews, Brelsford, 2012). В связи с этим совершенно необходимо признать, что только использование дополнительных генетических маркеров будет способствовать наиболее точной идентификации видов и реконструкции филогении в сложных с таксономической точки зрения группах кладоцер, к которым, несомненно, относится группа видов *D. longispina* s.l.

В настоящее время молекулярно-генетическая идентификация позволяет с одной стороны установить или пересмотреть таксономический статус некоторых видов группы *D. longispina* s.l., а другой стороны происходит постоянное выявление криптических видов в ее пределах. Считавшиеся раньше

отдельными виды все чаще оказываются видовыми комплексами, как, например, произошло с видом *D. curvirostris* (A new species group..., 2021). Наличие криптических и эндемичных видов, дивергентных митохондриальных линий и клад у дафний отчасти объясняется как следствие последнего плейстоценового оледенения, но, по большей части, механизмы и источники их возникновения остаются не вполне ясными. Эта проблема ожидает своего решения и требует проведения дополнительных морфологических и генетических исследований популяций дафний и охватывать более обширные географические территории.

### 1.3 Особенности эволюционной истории и филогеография кладоцер

Развитие молекулярной биологии в конце XX в. способствовало возникновению новой дисциплины – филогеографии. Впервые этот термин был предложен Дж. Эвайсом с соавторами в 1987 г. (Intraspecific phylogeography..., 1987) и уже через несколько лет был опубликован обобщающий труд «Phylogeography. The history and formation of species», где были сформулированы основные принципы этого научного направления (Avise, 2000). Новая биологическая дисциплина представляет собой учение об исторических процессах, объясняющих современное распространение особей в соответствии с данными популяционной генетики. В рамках филогеографии – на видовом уровне – описываются генетические сигналы, которые определенным образом географически структурированы.

Главное отличие филогеографии от классической популяционной генетики и филогенетики заключается в том, что здесь на первое место выступает анализ биогеографических событий, которые претерпел вид в процессе своей эволюции (Knowles, Maddison, 2002). Эти события, логически вытекающие из анализа генетической структуры вида на обширных географических пространствах, включают экспансию популяций
(демографическую и пространственную), эффект популяционного бутылочного горлышка, викариантных событий и миграций.

К настоящему времени разработаны подходы, интегрирующие информацию о географическом распределении отдельных митохондриальных линий и генеалогическими связями между митохондриальными гаплотипами (Абрамсон, 2007; Intraspecific phylogeography..., 1987). Как правило, для масштабных и адекватных реконструкций эволюционной истории популяций и видов требуется большой объем выборок (Templeton, 1998; Cruzan, Templeton, 2000). Однако достоверность филогеографических исследований на небольших выборках можно повысить путем сравнения демографической истории разных видов, обитающих на одной территории (Абрамсон, 2007).

По мере накопления молекулярно-генетических данных развивалась и филогеография ветвистоусых ракообразных. Благодаря использованию генетических методов стало возможным изучать эволюционные процессы и реконструировать филогенетические отношения для разных таксономических (Taylor et al., 1996). Один групп кладоцер ИЗ важных результатов биогеографических и филогеографических исследований кладоцер был получен еще в конце ХХ в. на основе генетических данных и заключался в отрицании космополитизма для большинства групп (Frey, 1987; Hebert, Wilson, 1994). Дальнейшие исследования в этом направлении подтвердили этот факт, и были уровне выявлены надежные доказательства 0 высоком генетической дивергенции между популяциями в разных географических масштабах – региональном и глобальном (Biological identifications..., 2003; Penton et al., 2004; The non-cosmopolitanism..., 2009; Jeffery et al., 2011; Confirmation through genetic..., 2014).

Признание факта континентального/регионального эндемизма кладоцер поспособствовало выявлению эволюционных механизмов, объясняющих высокое генетическое разнообразие и структурированность популяций кладоцер. Как уже упоминалось в предыдущей главе настоящей работы, одна

из причин высокого генетического разнообразия в региональном масштабе объясняется гипотезой монополизации (The monopolization hypothesis..., 2002).

Заметная роль также отводится и аллопатрическому видообразованию, географические преграды когда препятствуют потоку генов между популяциями одного вида (Taylor et al. 1998; Biological identifications..., 2003). Ограниченный поток генов между популяциями усиливал их дифференциацию, т.е. возрастала частота редких гаплотипов и генетическая дивергенция. Популяции редких видов в прошлом, как правило, в периоды оледенений, воздействию бутылочного подвергались жесткому горлышка 0 чем свидетельствуют низкие показатели генетического полиморфизма В современных популяциях ветвистоусых ракообразных (Avise, 2000).

He менее значимыми представляются последствия влияния на популяций эволюционную историю И видов кладоцер последнего плейстоценового оледенения. Основываясь на результатах последних, теперь уже достаточно многочисленных, исследований генетической структуры популяций для различных таксономических групп кладоцер, можно с уверенностью утверждать, что последствия последнего плейстоценового оледенения и эффект основателя представляют собой важные механизмы формирования их современного разнообразия и являются определяющими для распространения митохондриальных гаплотипов.

Популяции ветвистоусых ракообразных, как и многих других обитателей пресноводных водоемов, впериоды оледенений сохранялись в рефугиумах – водоемах, не подверженных существенному воздействию ледника. Отметим, что оледенения сопровождались катастрофической аридизацией свободных ото льда территорий, которые по большей части также становились непригодными для существования пресноводной фауны. После окончания периодов оледенений и аридизаций, численность большинства ракообразных могла сильно сокращаться (эффект бутылочного горлышка), что в дальнейшем сильно ограничивалоих способности к пространственной экспансии (Taylor et al. 1998).

На примере популяций *D. galeata* из большого числа водоемов Голарктики было показано, современное высокое генетическое разнообразие этого вида объясняется антропогенной интродукцией, реколонизацией в голоцене водоемов из многочисленных рефугиумов и интрогрессией мтДНК между рефугиальными линиями (Ishida, Taylor, 2007b). При этом авторы подчеркивают, что результаты их исследования указывают на то, что влияние оледенений четвертичного периода на популяции вида *D. galeata* было ярко выраженным и сложным.

Аналогичные процессы были обнаружены при исследовании европейских популяций D. longispina s.str. из горных озер и прудов в Пиренеях, D. dentifera из олиготрофных озер Тибета (The non-cosmopolitanism..., 2009; Diversity of the Daphnia..., 2014; Local and regional..., 2014). При этом формирование пространственного генетического разнообразия в значительной степени определяется эффектом основателя, a его влияние является весьма продолжительным по времени (на протяжении столетий). Широкое curvirostris всей Палеарктике D. распространение s.str. ПО также свидетельствует в пользу постледниковой экспансии этого вида (Kotov, Taylor, 2019).

Редкие гаплотипы кладоцер, как правило, встречаются на весьма ограниченных территориях, но при этом их ареалы могут сильно перекрываться с таковыми широко распространенных гаплотипов/видов. Тем не менее, у одних видов преобладают географически широко распространенные гаплотипы, как, например, у *D. galeata*, тогда как у других видов таких гаплотипов может не наблюдаться – например, у *D. longispina* s.str. и *D. dentifera* (Duffy et al., 2004; The long-term consequences..., 2011; Diversity of the *Daphnia*..., 2014).

Образцы высокой генетической структурированности популяций обнаруживались как в постледниковых местообитаниях, так и там, где не было покровного оледенения (Ishida, Taylor, 2007а). Большое число рефугиумов располагалось в горных и предгорных районах, которые сами по себе являются

(Kotov источником эндемичных форм et al., 2010; Котов, 2016). глубоко Предполагается, что дивергентные митохондриальные линии собой предположительно представляют репродуктивно изолированные криптические виды, которые являются остатками пре-плейстоценовой фауны (Taylor et al. 1998; Petrusek et al., 2012).

Так, редкие и/или эндемичные гаплотипы/линии/виды группы *D.* longispina s.str. были обнаружены в водоемах Западной Европы – «Berse» и «zschokkei», *D. lacustris* (Hobæk, Wolf, 1991; Taylor et al., 1996; Restoring *Daphnia lacustris...*, 2007; Petrusek et al., 2012). На территории Аляски была обнаружена эндемичная линия *D. curvirostris* s.str. (Kotov, Taylor, 2019). Или, напротив, древние гаплотипы *D. galeata* были отмечены в Японии, где покровное оледенение отсутствовало вовсе на протяжении всего плейстоцена (Ishida, Taylor, 2007b).

Выявление внутренних дивергентных митохондриальных субклад даже среди «обычных» видов кладоцер, таких как D. galeata, D. longispina s.str., D. magna, Chydorus sphaericus (O.F.Müller, 1776), Moina macrocopa (Straus, 1820) s.l., также свидетельствует в пользу «некосмополитизма» ветвистоусых ракообразных (Belyaeva, Taylor, 2009; Barcoding reveals..., 2016; Phylogeography of Daphnia..., 2018; Invasion of a Holarctic..., 2018).Это может быть также обусловлено недостаточной морфологической изученностью их популяций на обширных географических территориях. По мнению А.А. Котова (2016, стр. 760), «группа «космополитически» распространенных видов является не «фаунистическим комплексом», а искусственным временным «складом» не ревизованных таксонов». Кроме того, кажущийся космополитизм ветвистоусых ракообразных быть следствием ИХ высокой фенотипической может пластичности или морфологического стасиса (Taylor et al. 1998; The noncosmopolitanism..., 2009).

Интересные результаты принесло изучение филогеографических образцов кладоцер на всей территории Евразии – обширной территории, которая еще до недавнего времени считалась практически не исследованной,

особенно ее российская часть, в частности восток и северо-восток Палеарктики (Котов, 2016). На примере D. magna, группы C. sphaericus s.l. и рода Moina Baird, 1850, было показано, что в пределах вышеупомянутых таксонов выделяются две крупные митохондриальные суперклады – европейская и восточная, берингийская. Граница между этими суперкладами расположена на территории Центральной Сибири, примерно по бассейну р. Енисей, где в некоторых водоемах отмечалось совместное сосуществование ИХ (Phylogeography Chydorus..., 2016: Barcoding reveals..., 2016; of the Phylogeography of *Daphnia*..., 2018).

При этом были отмечены некоторые отличия между этими таксонами. Если для суперклад *D. magna* нет очевидных доказательств того, что их можно считать криптическими видами, то, напротив, в пределах группы C. Sphaericus s.l. и рода *Moina* обнаружено скрытое видовое разнообразие. В целом, эти исследования выявили общность в распределении гаплотипов у разных ветвистоусых ракообразных таксонов В восточной Палеарктике, где Сибирь Центральная представляет зону вторичного контакта между суперкладами.

Вторичный контакт между гетерогенными популяциями и генетически дивергентными линиями (в том числе из ледниковых рефугиумов) часто приводит к высокому уровню генетического полиморфизма. Это явление отмечалось для разных представителей кладоцер, в том числе и для представителей группы D. longispina s.l. (De Gelas, De Meester, 2005; Belyaeva, Taylor, 2009; Contribution of cyclic..., 2009; Congruent patterns..., 2012; Ishida, Taylor, 2007а). С другой стороны, высокая внутривидовая генетическая свидетельствовать дивергенция может 0 возможном криптическом разнообразии видов (The non-cosmopolitanism..., 2009; Barcoding reveals..., 2016). Более тщательное исследование представителей группы D. longispina s.l. митохондриальных и ядерных использованием маркеров позволило С предположить, что присутствие редких и при этом глубоко дивергентных митохондриальных линий в общем генетическом пуле обычных и широко

распространенных видов может быть следствием гибридизации и интрогрессии (Divergent clades..., 2017). Однако до конца их происхождениеостается неизвестным, что дает право признать это явление в качестве остатков древнего полиморфизма. Следовательно, каждая дивергентная группа требует тщательных исследований для выяснения истинных причин генетического полиморфизма и морфологического стасиса.

Таким образом, эволюционная история суперклад разных таксономических групп кладоцер тесно связана с ледниковым периодом и последовавшим за ним периодом восстановления пресноводной фауны после крайне неблагоприятных для нее оледенений и аридизации климата. При этом для одних филогрупп характерна быстрая пространственная экспансия с резким увеличением численности популяций, тогда как другие могут представлять собой остатки фауны эпохи позднего плиоцена – раннего плейстоцена, фактически являясь реликтами (Phylogeography of the Chydorus..., 2016). Здесь необходимо отметить, что в настоящий период невозможно с высокой степенью вероятности оценить эволюционную историю кладоцер и время дивергенции для различных митохондриальных линий и видов, поскольку отсутствует реальная возможность калибровки молекулярных часов для каждого конкретного исследования (Time dependency..., 2005; Origin of a divergent..., 2016; Phylogeography of the *Chydorus*..., 2016). Поэтому чаще всего демографическая история для популяций разных таксонов кладоцер в каждом конкретном регионе оценивается с учетом известных геологических событий в плейстоцене и голоцене.

Самые ранние находки кладоцер датируются мезозойской эрой – ископаемые эфиппиумы *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) и *Daphnia* (*Daphnia*) были обнаружены в Монголии (Kotov, Taylor, 2011; Van Damme, Kotov, 2016). Предполагается, что дивергенция дафний на два подрода (и даже выделение групп *longispina* и *pulex*) произошла не позже, чем 145 млн. лет назад, на границе юрского и мелового периодов (Kotov, Taylor, 2011). В Европе дафнии были обычными обитателями водоемов в эоцене-миоцене (Kotov, Wappler,

2015). Принимая во внимание значительный возраст кладоцер, допускается, что некоторые виды были широко распространены по всей территории Евразии в доплейстоценовые эпохи. Если участь, что эфиппиумы дафний могут сохранять жизнеспособность в течение десятилетий, или даже столетий, банк покоящихся яиц мог давать начало новым популяциям при наступлении благоприятных условий (Brendonck, De Meester, 2003; Crystalline calcium..., 2004; Zadereev, 2007). В плейстоценовых течение ледниковых циклов границы распространения кладоцер вообще и дафний в частности периодически сокращались в размерах, иногда даже ограничивались пределами небольших рефугиумов.

Аналогичные паттерны постледниковой экспансии, датированные поздним плейстоценом, были обнаружены для рода *Polyphemus* Linnaeus, 1758 (The noncosmopolitanism..., 2009) и популяций *D. galeata* из Северной Америки и Японии (Ishida, Taylor, 2007a; 2007b). Сходный сценарий установлен для популяций сигов группы *Coregonus lavaretus* (Linnaeus, 1758) s.l. в водоемах бассейнов рек Обь и Енисей (Bochkarev et al., 2011).

Кажущееся разнообразие филогеографических паттернов у кладоцер, тем не менее, уже на современном этапе позволяет выделить некоторые общие механизмы их формирования. Изучение филогеографических паттернов в разных таксономических группах кладоцер на обширных географических территориях свидетельствуют в пользу того, что их реальное биологическое разнообразие гораздо выше, чем предполагалось ранее (Belyaeva, Taylor, 2009; The scale of divergence..., 2009; Transcontinental phylogeography..., 2012; Котов, 2016). Подтверждено существование крупных дистантных филогрупп (или суперклад) в разных таксономических группах кладоцер и выявлено, что многие «обычные» виды фактически представляют собой видовые комплексы. Масштабные сравнительные филогеографические исследования популяций молекулярно-генетических кладоцер на основе данных предоставили возможность для качественной оценки микроэволюционных процессов в разных группах кладоцер. Данные о генетической структуре популяций из

разных географических регионов позволили уточнить границы распространения массовых, редких и эндемичных видов.

## 1.4 Криптические виды: взгляды на проблему, современные методы идентификации

#### 1.4.1 Проблема криптических видов

Криптическое видовое разнообразие – широко распространенный в природе феномен (Cryptic speciesas..., 2006). Криптические виды встречаются в различных таксономических группах растений и животных, особенно высокое обилие таких видов наблюдается среди водных организмов (Knowlton, 1993; Speciation in ancient..., 2002; Kordbacheh et al., 2017).

Формы, которым были присущи все признаки вида и при этом они характеризовались весьма высоким морфологическим сходством с другими видами, обратил внимание Ч. Дарвин (Darwin, 1859). В отечественных исследованиях данной проблемы упоминаются различные периоды, когда и кем этот термин был впервые предложен применительно к виду – от 1886 г. до 1940 г. (О криптических видах..., 2004; Шнеер, Коцеруба, 2014). Однако, как указывал К. Винкер (Winker, 2005)в аналитическом исследовании данной проблемы, впервые на существование в природе криптических видов птиц рода *Phylloscopus* обратил внимание У. Дерам еще в 1718 г.

Здесь, видимо, следует остановиться на современном понимании и использовании этого термина. В настоящее время большинство биологов (О криптических видах..., 2004; Knowlton, 1993; Cryptic speciesas..., 2006; Pfenninger, Schwenk, 2007; Fišer et al., 2017) в целом придерживаются определения криптических видов («sibling species»), которое было предложено Э. Майром (Mayr, 1942; Майр, 1968). Согласно этому определению, к таким видам следует относить природные популяции, которые крайне сложно (или

даже невозможно) отличить друг от друга по традиционным морфологическим признакам, но при этом они являются репродуктивно изолированными.

Э. Майр в своей работе «Зоологический вид и эволюция» (1968) уделил этой теме большое внимание, особенно обращая внимание на то, что существование криптических видов может быть признано только в рамках биологической концепции вида. Обосновывая свою позицию, автор уточняет, что выделение таких видов в рамках морфологической концепции вида сопряжено с определенными трудностями, поскольку могут существовать морфологические различия между удаленными популяциями одного вида (внутривидовая изменчивость) и в то же время морфологически идентичные «виды-двойники» характеризуются репродуктивной изоляцией (даже обитая в симпатрии) и генетически дивергентны. Отдельно автор подчеркнул огромное значение криптических видов для биологии, поскольку они дают возможность оценить биологическую концепцию вида с морфологической, играют важную роль при изучении микроэволюционных процессов – видообразования, а также имеют прикладное значение при разработке мер борьбы с вредителями сельского хозяйства (Майр, 1968).

В последние годы, однако, не прекращается дискуссия относительно терминологии и использовании термина «криптические виды» (Struck, 2017; Heethoff, 2018; Multilevel fine-scale..., 2019). Насколько можно судить из анализа литературы по данной проблеме, основанием для обсуждения морфологическое изучение послужили случаи, когда тщательное предполагаемых криптических видов позволило выявить диагностические признаки, пусть и незначительные. Как следствие, для таких видов было предложено использовать термин «псевдо-криптический» (Knowlton, 1993). В то же время Т. Коршунова с соавторами (Multilevel fine-scale..., 2019) предлагает избегать и этого термина, предлагая вместо него использовать термин «hidden species» – «скрытые виды» – для тех особей, таксономический статус которых еще не до конца установлен, считая его более нейтральным. Однако это предложение кажется нам сомнительным, поскольку еще больше

усложняет существующую терминологию. На наш взгляд эти термины (по крайней мере, в русском переводе) представляют собой не что иное, как синонимы. В данном случае «криптический» статус для некоторых видов, недостаточно изученных морфологически, следует рассматривать исключительно как временный, что, однако, представляет собой «важный этапом в ходе их изучения», как, на наш взгляд, справедливо отмечено в работе В.С. Шнеер и В.В. Коцерубы (Шнеер, Коцеруба, 2014).

Т. Страк с соавторами (Finding evolutionary..., 2017) в своей статье также всесторонне анализирует проблемы, касающиеся определения различных типов криптических видов, и их происхождения, а также предлагают ввести стандартную схему исследования этого феномена. Авторы полагают, что основными эволюционными процессами, лежащими в основе происхождения криптических видов, являются: 1) недавняя дивергенция, 2) параллельная эволюция морфологически сходных предков, 3) конвергенция морфологических признаков и 4) морфологический стасис.

При этом в случае первого и четвертого режимов отбора криптические виды представляют собой сестринские таксоны, или относятся к одному видовому комплексу. Напротив, второй и третий сценарии предполагают их происхождение от разных предков, когда морфологическое сходство объясняется гипотезой о морфологической конвергенции между эволюционно далекими видами, возникающей вследствие воздействия сходных режимов отбора (Fišer et al., 2017; Finding evolutionary..., 2017). В целом следует отметить. что познание механизмов, определяющих сохранение морфологического стасиса у таксонов при их высоком уровне генетической дивергенции, является одним из центральных вопросов при изучении криптического видообразования.

Обосновывая необходимость введения стандартной схемы при изучении криптических видов, авторы полагают, что только комплексный междисциплинарный подход, учитывающий морфологические (фенотипические) и генетические признаки, будет способствовать разрешению

спорных вопросов, касающихся терминологии и биологической значимости таких таксонов.

Сходное толкование различных типов криптических видов представлено в работе Л.Я. Боркина с соавторами (О криптических видах..., 2004). Авторы иллюстрируют три варианта филогенетических взаимоотношений между этими типами в соответствии с их происхождением/родством (Рисунок 1.4). Согласно их представлениям виды первой группы представляют собой сестринские таксоны. По сути, криптические таксоны этой группы образуются в результате недавней дивергенции предкового вида, как было описано в вышеупомянутой работе Т. Страка с соавторами (Finding evolutionary..., 2017). Если такой режим отбора реально существует, то глубоко дивергентные митохондриальные линии в представляют собой



Рисунок 1.4 – Варианты взаимоотношений между криптическими видами (черные кружки): *А* – виды-близнецы (сестринские виды), *Б* – виды-двойники, *В* – вариант «предок-потомок» (по О криптических видах..., 2004)

таксоны, находящиеся наначальных этапах видообразования. При этом необходимо обратить внимание на то, что вид должен иметь широкое географическое распространение и, возможно, характеризоваться иными различиями – экологическими, физиологическими (Шнеер, Коцеруба, 2014).

Несмотря на имеющиеся различия в обсуждаемых выше определениях криптических видов и схемах их происхождения, в целом можно отметить некую общность между ними. Большинство авторов склоняются к тому, что

существует несколько типов криптических видов, различающихся по своему происхождению и филогенетическим связям. Термин «сестринские» виды («sibling species») следует употреблять только отношении В тех морфологически сходных таксонов, которые связаны между собой монофилетическими отношениями, как отмечает Д. Бикфорд соавторами (Cryptic speciesas..., 2006). В отличие от таких таксонов «настоящие» криптические виды, как правило, немонофилетичны. Впрочем, отмечается повышенный интерес именно к видовым комплексам близкородственных криптических видов, поскольку именно эти таксоны предположительно имеют незначительный эволюционный возраст и поэтому представляют собой удобный модельный объект для изучения механизмов видообразования и микроэволюционных процессов.

Важно также отметить, что криптические виды различаются по своему географическому распространению, и, в зависимости от этого, могут представлять собой симпатрические пары; а также их распространение может соответствовать парапатрическому и аллопатрическому типам. При этом многие авторы отмечают, что симпатрия – наиболее часто встречающийся тип распространения у криптических видов (Майр, 1968; О криптических видах..., 2004; Giska et al., 2015).

#### 1.4.2 Современные методы изучения криптического разнообразия

Олним ИЗ мощных инструментов для выявления криптического разнообразия в разных группах животных в настоящее время является молекулярно-генетическая диагностика. Широкое использование этого метода привело к стремительному росту числа известных случаев существования криптических видов в разных группах животных и растений (Knowlton, 1993; Cryptic speciesas..., 2006; Pfenninger, Schwenk, 2007; Trontelj, Fišer, 2009; Fišer et на начальном al., 2017). Фактически, этапе этих исследований под криптическими видами подразумевались глубоко дивергентные

митохондриальные линии, которые обнаруживались при анализе генетической изменчивости особей из разных популяций в пределах одного (как считалось) признанного вида. Такое высокое внутривидовое генетическое разнообразие было неожиданным, что в дальнейшем потребовало разработки более тщательных методических и методологических подходов при анализе данного феномена.

Ha определенном внутривидовой этапе изучения генетической изменчивости было использование признано, ЧТО единственного митохондриального маркера, в частности, гена цитохромоксидазы I (COI), явно недостаточно для эффективной идентификации криптических видов (Лухтанов, Шаповал, 2008; Абрамсон, 2009; Swift et al., 2016; Finding evolutionary..., 2017). Во многих случаях тщательный морфологический анализ особей и/или дополнительные подходы (например, метод геометрической морфометрии) позволяют обнаружить дискриминирующие признаки между дивергентными митохондриальными линиями в разных таксономических группах животных (Giri, Collins, 2004; Ishida et al., 2006; Kotov et al., 2006a; Juračka etal., 2010; Population differentiation..., 2010).

В начале 2000-х годов в качестве одного из критериев для выделения криптических видов было предложено использовать анализ вторичной структуры второго внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 ядерной ДНК (Coleman, 2003; 2007). По сравнению с фланкирующими генами 5.8S и 28S рРНК, ITS2 представляет собой быстро эволюционирующий регион ядерной ДНК и поэтому является подходящим маркером для реконструкции филогений на видовом и родовом уровнях (A common core..., 2005; Schultz, Wolf, 2009). Кроме того, было показано, что вторичная структура ITS2 является универсальной для всех групп эукариот и, как правило, представлена четырьмя спиралями, хотя их число может варьировать, и остается консервативной за счет мотивов, формирующих гомологичные спирали (Coleman, 2009). Эта особенность данного региона ядерной ДНК была успешно использована для реконструкции филогенетических отношений между близкородственными

видами, а выявленная корреляция между наличием компенсаторных замен (CBC) в консервативных участках ITS2 и способностью к межвидовой гибридизации (в рамках биологической концепции вида) оказалась надежным критерием для выявления криптических видов (Distinguishing species..., 2007). Первоначально этот метод применялся для распознавания криптических видов водорослей и грибов. Позднее он был успешно апробирован для реконструкции филогений и идентификации криптических видов в разных группах артропод, в том числе и водных беспозвоночных (Wiemers et al., 2009; Secondary structure..., 2009; Ruhl et al., 2010; Kornobis, Pálsson, 2012; Molecular phylogeny..., 2017).

Дополнительные методы требуют больших временных (а часто и материальных) затрат и соответствующей квалификации исследователей, что сильно ограничивает их широкое применение при изучении криптического видового разнообразия. Тем не менее, как отмечает Т. Страк с соавторами (2017), стандартный подход к определению статуса криптических видов должен фенотипической (морфологической) сочетать детальное исследование дифференциации изменчивости, уровня геномной оценку И времени дивергенции. Только такая практика должна привести к более точному пониманию эволюционных механизмов, которые лежат в основе формирования скрытого видового разнообразия. В целом следует отметить, что большинство авторов, занимающихся проблемой криптических видов, придерживаются сходного мнения (О криптических видах..., 2004; Лухтанов, Шаповал, 2008; Абрамсон, 2009; Swift et al., 2016; и др.).

Криптические виды также обнаруживаются в разных группах кладоцер, при этом между глубоко дивергентными митохондриальными линиями часто регистрировался более высокий уровень генетической дифференциации, чем между известными видами (Petrusek et al., 2003; 2012; Jeffery et al., 2011; Bekker et al., 2012; Barcoding reveals...,2016; Phylogeography of the*Chydorus*..., 2016). В некоторых случаях тщательные морфологические исследования позволили выявить дискриминирующие признаки между особями дивергентных линий (Ishida et al., 2006; Kotov et al., 2006a; 2021; Juračka et al., 2010). Использование

данного подхода, однако, ограничено тем, что часто такие признаки можно выявить лишь после изучения морфологии самцов (например, вооружение торакальных конечностей и антенны I), которые часто отсутствуют в разовых сборах из природных популяций ветвистоусых ракообразных (Kotov, 2015).

Следует отметить, что использование дополнительных методов исследования не всегда свидетельствует о видовом статусе дивергентных линий. Например, анализ ядерных маркеров указал на гибридную природу некоторых дивергентных линий *D. longispina* s.str. (Divergent clades..., 2017), а использование метода геометрической морфометрии позволило выявить различия между формой тела только между крупными кладами изопод, тогда криптические линии дискриминировать не удалось (Constrained body shape..., 2016).

Несмотря на существующие разногласия по поводу некоторых вопросов, касающихся криптических видов, необходимо подчеркнуть, что большинство исследователей сходятся в одном – изучение скрытого видового разнообразия представляет собой одну из важных задач эволюционной биологии. Это связано с тем, что при кажущейся многоаспектности и обширности исследований до настоящего времени остается ряд неразрешенных вопросов, касающихся происхождения, эволюционной истории и возраста криптических видов, а требуется дополнительное изучение механизмов, также определяющих морфологический стасис особей при их глубокой генетической дивергенции. Всесторонние исследования этого феномена позволят глубже понять эволюционные механизмы, лежащие в основе криптического видообразования. Вполне могут различаться вероятно, ЧТО ЭТИ механизмы В разных таксономических группах животных. Кроме того, среди криптических видов часто выявляются эндемичные и редкие формы, характеризующиеся весьма ограниченными ареалами и находятся под угрозой исчезновения, в связи с чем возникает необходимость их охраны.

В контексте вышесказанного следует отметить, что многие представители рода *Daphnia* в целом и группы *D. longispina* s.l. в частности являются

удобными объектами для изучения скрытого видового разнообразия. В последние десятилетия в процессе исследования новых популяций регулярно выявляется множество морфологически плохо различимых форм и глубоко дивергентных митохондриальных линий, происхождение которых на данном этапе исследований часто сложно установить (Petrusek et al., 2003; 2012; Divergent clades..., 2017). Тем не менее, необходимость определения таксономического статуса и происхождения таких форм/линий очевидна для более точной оценки современного видового разнообразия. Решению данной способствовать проблемы будут планомерные всесторонние И морфологические и популяционно-генетические исследования для выявления специфики фауны дафний в отдельно взятых регионах, характеризующихся разной геологической историей.

#### **1.5** Современное состояние систематики рода *Daphnia*

Как указывалось выше, в течение достаточно продолжительного периода изучения систематика рода *Daphnia* неоднократно пересматривалась. В процессе получения новых знаний, частности, выявления В новых морфологических – диагностически значимых признаков – взгляды на систематику рода трансформировались. Помимо выделения различного числа подродов В составе ЭТОГО рода, вносились изменения, касающиеся таксономического статуса как широко распространенных представителей рода, так и вновь обнаруженных форм (видов).

На настоящий момент имеется две монографии, в которых отражены современные представления о систематике кладоцер вообще и рода *Daphnia* в частности.

Согласно недавно опубликованному определителю Д.К. Роджерса с соавторами (Keys to Palearctic fauna..., 2019) род *Daphnia* (класс Branchiopoda, надотряд Diplostraca, отряд Anomopoda, семейство Daphniidae) в Палеарктике представлен двумя подродами:

1) Daphnia s.str.;

2) Daphnia (Ctenodaphnia) Dybowski et Grochowski, 1895.

Первый подрод включает в себя 12 видов и три видовых комплекса, требующих ревизии – *D. pulex* s.l., *D. longispina* s.l. и *D. pulicaria* s.l. Из всех формально известных видов группы *D. longispina* s.l. в данном определителе выделены только два – *D.* (*D.*) galeata Sars, 1864 и *D.* (*D.*) cucullata Sars, 1862. Виды *D. hyalina*, *D. dentifera*, *D. umbra* и *D. turbinata* здесь вообще не упоминаются.

В последней опубликованной соответствии с монографией ПО ветвистоусым ракообразным Северной Евразии (Ветвистоусые ракообразные..., 2021) род*Daphnia*, как и в вышеупомянутом определителе Д.К. Роджерса с соавторами (Keys to Palearctic fauna..., 2019) также включает два подрода – (1) Daphnia (Daphnia) O.F. Müller, 1776 и (2) Daphnia (Ctenodaphnia) Dybowski et Grochowski, 1895. Однако отличие этих ключей заключается в том, что в последней сводке в подроде Daphnia выделяют две крупные надгруппы видов -D. *pulex* s.l. и *D*. *longispina* s.l., первая из которых представлена единственной группой видов. Во вторую надгруппу включены три более мелкие группы – D. longispina, D. cristata Sars, 1862 и D. longiremis Sars, 1862. Отдельно упоминается группа видов D. laevis (Birge, 1878), представители которой обитают только в водоемах Нового Света и Африке (Ветвистоусые ракообразные..., 2021).

Группа видов *D. longispina* s.l., представителям которой посвящено настоящее исследование, включает в себя следующие виды, которые относительно легко идентифицируются друг от друга по морфологическим признакам:

- 1) *D*. (*D*.) *cucullata*;
- 2) *D*. (*D*.) galeata;
- 3) D. (D.) turbinata Sars, 1903;
- 4) D. (D.) umbra Taylor, Hebert et Colbourne, 1996;
- 5) *D*. (*D*.) longispina O.F. Müller, 1776 s.l.

В свою очередь, последний таксон сформирован из криптических видов, морфологическим идентификация которых по признакам практически невозможна, например, в случае с D. dentifera Forbes, 1893, D. lacustris Sars, 1862. Таксономический статус D. hyalina продолжает оставаться неопределенным (Ветвистоусые ракообразные..., 2021).

#### ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

#### 2.1 Основные термины и формулировки

Вначале мы считаем необходимым остановиться на формулировках основных биологических терминов, которых придерживались в данной работе.

Форма и морфа. При использовании этих терминов мы придерживались трактовок, предложенных Э. Майром (Майр, 1971). Так, под «морфой» мы понимали внутрипопуляционные варианты (феноны) полиморфных видов, не имеющие и не заслуживающие номенклатурного таксономического статуса. Термин «форма», согласно Э. Майру, применялся нами для описания отдельных особей в качестве нейтрального термина к особям, таксономический статус которых вызывал сомнения.

**Популяция**. Термин «популяция» был предложен датским биологом В.Л. Иоганнсеном еще в 1903 г. (Иоганнсен, 1935). С тех пор определение термина неоднократно модифицировалось в соответствии с развитием понятия вида как совокупности множества популяций, что привело к скорейшему совершенствованию биологической концепции вида (Майр, 1971). Российские ученые, по мере становления принципов эволюционного учения, также внесли неоспоримо важный вклад в изучение популяций (Шварц, 1967; Тимофеев-Ресовский и др., 1977; Яблоков, Юсуфов, 1981; Яблоков, 1987).

По мнению С.С. Шварца «...популяция – это группа совместно обитающих особей одного вида, объединяемых единством жизнедеятельности», для чего она «...должна обладать комплексом свойств, обеспечивающих ее самостоятельное существование в течение длительного (теоретически – неограниченного) времени» (Шварц, 1967, стр. 1458). Автор подчеркивает, что последний критерий способствует обединеню идей популяционной генетики и экологии.

В понимании А.В. Яблокова популяция представляет собой «...совокупность особей определенного вида, в течение длительного времени

(большого числа поколений) населяющую определенное пространство (часть видового ареала), внутри которого практически осуществляется та или иная степень панмиксии и нет устойчивых изоляционных барьеров, и отделённая от соседних, таких же совокупностей особей одного вида той или иной степенью давления тех или иных форм изоляции» (Яблоков, Юсуфов, 1981, стр. 109).

Несмотря на некоторые разночтения, авторы единодушны в том, что природная популяция представляет собой элементарную эволюционную единицу и функционирует как единое целое в течение продолжительного периода времени.

Популяционный подход к изучению ветвистоусых ракообразных сформировался относительно недавно в рамках концепции политипического вида. Принципы подхода применительно к кладоцерам впервые детально были определены Д. Фраем (Frey, 1980; Коровчинский, 1992; Систематика Cladocera..., 2007). Основной постулат популяционного подхода заключался в обязательном исследовании достаточно большой выборки особей обоих полов, которая, по возможности, должна включать в себя разные стадии развития. Это было основным отличием от предыдущего периода исследований ветвистоусых ракообразных, когда изучались единичные особи.

Суперпопуляция. Под суперпопуляцией, согласно К.В. Беклемишеву, мы понимаем популяцию, непрерывно населяющую «...настолько большой участок среды, что самые размеры этого участка препятствуют взаимодействию удаленных друг от друга ее частей» (Беклемишев, 1969, стр.296). В пределах суперпопуляций выделяют субпопуляции различных размеров. Фактически, под суперпопуляцией следует понимать высшую иерархическую категорию популяционной структуры вида.

Вид. В рамках данного исследования мы придерживались эволюционной и когезионной концепций вида (О криптических видах..., 2004). На наш взгляд эти концепции наиболее применимы к исследуемой группе кладоцер. Биологическую концепцию вида, основным критерием которой является репродуктивная изоляция (Майр, 1968), очевидно, использовать по отношению

к кладоцерам неколько неправомочно, учитывая преимцщественно бесполый характер их размножения, а также распространенные случаи межвидовой гибридизации (Систематика Cladocera..., 2007).

Митохондриальная линия. Четкого определения этого понятия нет, но обычно под ним понимают митохондриальные гаплотипы, формирующие глубоко дивергентую группу в общей филогенетической схеме какого-либо таксона. Часто такие линии обнаруживаются в георгафически удаленных популяциях одного вида, но могут регистрироваться и в пределах одной популяции.

Что касается нижеперечисленных терминов, мы придерживались определений, представленных в монографии М. Дзунино и А. Дзуллини «Биогеография (эволюционные аспекты)» (2010).

Клада. Под кладой понимают строго монофилетическую группу организмов.

**Реликт.** В биогеографии под этим термином понимают таксоны, представляющие вследствие длительной временной изоляции остатки древней биоты (ранее широко распространенной). В систематике и филогенетике к реликтам относят представителей более богатой и разнообразной в прошлом группы организмов.

биогеографическое убежище). Рефугиум (или Это область, не подверженная существенным изменениям среды по сравнению с соседними территориями, где виды или группы видов массово вымирают. Виды сохраняются в рефугиумах в относительной изоляции (с течением времени они могут приобретать отличительные от исходных форм признаки) и переживают неблагоприятный для них период геологического времени. При наступлении благоприятных условий способны распространитьсяиз рефугиума на обширные пространства.

Викаризм. Под этим термином понимаетсябиогеографическое (по всей вероятности, катастрофическое) событие, после которого первоначально целостный ареал вида разделяется возникшим географическим барьером.

#### 2.2 Сбор материала

Сбор проб зоопланктона проводили В различных водоемах, расположенных в разных географических регионах России, преимущественно в ее азиатской части в период с 2004 по 2018 годы. Исследованиями были охвачены бассейны крупных сибирских рек Обь, Иртыш, Енисей, Лена, Амур и бассейн оз. Байкал, а также некоторые водоемы европейской части России (Рисунок 2.1, Приложение А, Таблица А.1). Водоемы различались по трофическому статусу – от олиготрофных до эвтрофных, по типу – постоянные и временные, равнинные и горные. Несколько точек сбора располагалось на территории других государств – Монголии и Австрии. Около половины проб было собрано автором в ходе различных экспедиций, в том числе, в горных районах рек Обь и Енисей, в бассейне оз. Чаны, в Новосибирской области, Алтайском и Красноярском крае. Кроме того, для морфологических и генетических исследований был использован материал из коллекции А.А. Котова (лаборатория пресноводных сообществ и инвазий экологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН) и типовых материалов Г.О. Capca (Zoological Museum of the Oslo University, Норвегия).

В целом морфологическими и генетическими исследованиями охватили около 100 популяций разных видов группы *D. longispina* s.l. и подвергли генетическому анализу более 3000 особей. Основное внимание было уделено широко распространенным видам *D. galeata* и *D. longispina* s.str. Также были исследованы популяции близкородственных видов – *D. cucullata* и *D. dentifera*; и криптических видов – *D. umbra*, *D. turbinata* и *D. cf. longispina*. В качестве внешней группы для морфологического и генетического анализов использован вид *D. cristata*.



Рисунок 2.1 – Карта сбора проб дафний. В верхней части – общая карта; А – бассейн оз. Чаны (Западная Сибирь, Новосибирская область); В – водоемы Тоджинской котловины (Восточная Сибирь, Республика Тыва). Зеленые кружки – *D. galeata*; красные – *D. longispina* s.str.; оранжевые – *D.* cf. *hyalina*; голубые – *D. dentifera*; черные – *D.* cf. *longispina*; желтые – *D. cristata* 

Пробы зоопланктона отбирали: 1) с помощью количественной сети Джеди (диаметр входного отверстия 0.27 м, размер ячеи 125 мкм) в пелагиали крупных озер; 2) с помощью качественной сети Апштейна (размер ячеи 125 и 250 мкм) в литорали крупных озер, в мелких и временных водоемах. Сразу после сбора пробы фиксировали 5% раствором формалина с сахарозой (Haney, Hall, 1973) для морфологического анализа, или 96% этанолом для генетических исследований. Спиртовые пробы зоопланктона в дальнейшем хранили при температуре -20 °C.

### 2.3 Подготовка образцов для морфологического и морфометрического анализов

Перед морфологического, выполнением всех анализов \_ морфометрического И молекулярно-генетического \_ всех особей по возможности идентифицировали до вида (или группы видов) согласно ключам, представленным в работах С.М. Глаголева (Glagolev, 1986), Д. Флосснера и К. Крауса (Flößner, Kraus, 1986), М. Алонсо (Alonso, 1996), Д. Бензи (Benzie, 2005), а также по Определителю пресноводных беспозвоночных России (1995) и Определителю зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России (2010).

#### 2.3.1 Традиционный морфологический анализ

Для изучения диагностических признаков отдельных особей дафний – партеногенетических, эфиппиальных самок и половозрелых самцов – помещали на предметное стекло в каплю смеси глицерина с водой. После фиксирования внешней формы тела, проводили препарирование беспозвоночных при помощи заточенных электрогальваническим методом вольфрамовых игл (Dumont, Negrea, 2002) для изучения отдельных структур при разном увеличении (объективы от ×4 до ×100) – внешнего и внутреннего края раковины, вооружение торакальные конечностей, антеннул, постабдомена, и т.п. Для каждой из исследованных структур видов D. longispina s.str., D. hyalina и D. dentifera выполняли рисунки при помощи рисовального аппарата, установленного на оптическом микроскопе Olympus CX 41 (Olympus, Япония) в лаборатории экологии пресноводных сообществ и инвазий ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН. Рисунки морфологических структур для вида D. turbinata выполняли на основе цифровых фотографий, полученных с помощью микроскопа с фото-видеокамерой AltamiBio 2T (Altami, Россия) в ИСиЭЖ СО PAH.

#### 2.3.2 Морфометрический анализ

Для анализа изменчивости формы тела дафний использовали метод геометрической морфометрии (Rohlf, 1998; Павлинов, Микешина, 2002; Geometric morphometrics..., 2004). Изменчивость формы тела у видов группы D.longispina s.l. изучали по партеногенетическим самкам пятой размерновозрастной группы (Зуйкова, Бочкарев, 2010а). Для этого партеногенетичских каждой исследуемой популяции в латеральном положении самок ИЗ выкладывали на предметное стекло в смесь глицерина с водой и накрывали покровным стеклом на ножках ИЗ пластилина, чтобы предотвратить деформацию раковины.

После подготовки временных препаратов фотографировали каждую особь с помощью камер, установленных на микроскопы AxioScan (CarlZeiss, Германия; объектив ×50), AltamiBio 2T (Altami, Россия; объектив ×40) и Olympus CX41 (Olympus, Япония; объектив ×40) для дальнейшего морфометрического анализа, присваивая ей уникальный идентификационный номер, содержащий информацию о водоеме. Перед морфометрическим анализом полученные цифровые изображения дафний масштабировали в программах AxioVision v. 1.0 и ImageJ v. 1.48 (http://imagej.nih.gov/ij).

# 2.4 Изучение изменчивости формы тела у близкородственных и криптических видов группы *D. longispina* s.l. с помощью метода геометрической морфометрии

#### 2.4.1 Обработка цифровых изображений

Для получения данных о форме тела цифровые изображения дафний обрабатывали с помощью пакета программ tps (Rohlf, 2004). После создания tps-файла в программе tpsUtil v. 1.26 в программе TpsDig v. 2.05 (Rolf, 2004; 2005а) расставляли метки (ландмарки, L), характеризующие форму тела

дафний. Изменчивость между морфами/видами изучали по морфологическим данным, полученным на основе 16 ландмарок (с учетом хвостовой иглы); между популяциями и видами – на основе 14 ландмарок. При выборе меток руководствовались схемами, предложенными М. Даффи с соавторами (Duffy et al., 2004), Гецлер (Gießler, 2001), и результатами собственных исследований (Зуйкова, Бочкарев, 2010а; 2010b; 2011). Ландмарки привязывали к различным структурам, и их положение было следующим: относительное положение и угол рострума (в частности, изогнутость вентрального края головы, L1-L3); самая высокая точка головы/шлема (L4); точки наибольшего изгиба дорсального края головы и раковины (L5-L8); точка прикрепления хвостовой иглы к раковине (L9; L9-L11); точки, характеризующие изгиб вентрального края раковины (L10-L13; L11-L15) и точка, характеризующая положение глаза относительно вентрального края головы (L14; L16) (Рисунок 2.2 А, Б).

конфигурации Полученные меток трансформировали И стандартизировали относительно центроидного размера и выравнивали согласно алгоритму общего прокрустова анализа (General Procrustes Analysis, GPA) в программе TpsRelw v. 1.46 (Rohlf, Slice, 1990; Rohlf, Marcus, 1993). В результате этих преобразований различия в форме тела дафний были представлены как остатки (residuals) от каждого преобразования или как единое изменение в общей форме. Данная процедура была необходима для стандартизации данных и исключения влияния различий в общих размерах на изменчивость внутри выборки. Оценку популяционной и межвидовой изменчивости формы тела дафний проводили на основе анализа относительных деформаций (RW) с помощью канонического дискриминантного анализа ковариационной матрицы частных деформаций (Rohlf, 1993). Использовали деформационные решетки для крайних вариантов формы тела дафний ( $\alpha = 0$ ), основанные на методе тонких пластин (TPS) для визуализации изменений формы вдоль дискриминантных осей (DFA scores) (Bookstein, 1989). Для всех исследованных дафний определяли центроидный размер (CS), вычисляемый

как квадратный корень из суммы квадратов расстояний между всеми метками и центром тяжести конфигурации (Bookstein, 1991).



Рисунок 2.2 – Конфигурация меток (ландмарок), описывающих общую форму тела дафний и используемых в анализе изменчивости с помощью метода геометрической морфометрии. А – конфигурация ландмарок при изучении изменчивости между морфами/видами; Б – при изучении популяционной и межвидовой изменчивости (в том числе, между криптическими видами)

Далее были получены частные деформации (PW) вместе с линейной составляющей в программе tpsRelw v. 1.46 (Rohlf, 2005б) для дальнейшего использования в статистических анализах. Метод геометрической морфометрии использовали для: 1) изучения популяционной и межвидовой изменчивости формы тела у близкородственных видов группы *D. longispina* s.l. и 2) проведения различий между криптическими видами группы *D. longispina* s.l.

Все статистические анализы выполняли в программе PAST v. 3.06 (Hammer et al., 2001).

## 2.4.2 Изменчивость морф *D. galeata* из географически удаленных популяций

В рамках изучения популяционной и межвидовой изменчивости выполняли анализ формы тела у разных морф D. galeata из географически удаленных популяций – из озер Чаны (Новосибирская область, 2007-2012 гг.) и Глубокое (Московская область, 1994-1996 гг.). При этом под термином «морфа» понимали особей одного вида, обитающих в одном водоеме и характеризующихся разными фенотипами (т.е., внешней формой тела). Дополнительно проводили сравнительный анализ изменчивости формы тела между морфами D. galeata и близкородственными видами, обитающими в этих озерах (всего 175 экз.). Различия в форме тела между морфами D. galeata помощью однофакторного непараметрического оценивали с анализа PERMANOVA; между формами/видами дафний однофакторного дисперсионного анализа MANOVA в программе PAST v. 3.06.

# 2.4.3 Популяционная и межвидовая изменчивость формы тела у видов группы *D. longispina* s.l.

Для оценки популяционной и межвидовой изменчивости формы тела использовали виды группы *D. longispina* s.l., собранные в разнотипных водоемах Северной Евразии в течение вегетационных периодов (июнь-август) в 2003-2014 гг. В анализ были включены выборки *D. galeata*, *D. cucullata*, *D. longispina* s.str., *D. hyalina*, *D.* cf. longispina, *D. umbra* и *D. cristata* (Таблица 2.1). Оценку различий в форме тела между популяциями и видами дафний выполняли с помощью однофакторного дисперсионного анализа МАNOVA.

Таблица 2.1 – Виды и популяции группы *D. longispina* s.l., используемые в анализе популяционной и межвидовой изменчивости формы тела

Вид	N	n	Водоем			
D. cristata	6	108	оз. Баунт, оз. Доронг, оз. Глубокое, оз. Капылюши, протока (г. Хабаровск), оз. Дорог-Холь			
D. cucullata	7	67	пруд Богашово, оз. Глубокое, Куршский залив, Финский залив, р. Астраханка,			
D. galeata	17	312	Новосибирское водохранилище, р. Воронеж (старица Смоляная Падь)			
			пруд Богашово, оз. Чаны, Куршский залив, оз. Доронг, оз. Глубокое, оз. Котокельское,			
		48	Новосибирское водохранилище, пруд Сокур, озера Тоджинской котловины			
D. hyalina	2		оз. Глубокое, оз. Хальштаттерзее			
D.longispina s.str.	11	159	оз. Чаны, (р. Каргат, Золотые Россыпи), р. Храпиха (приток р. Обь), временные лужи			
D. umbra	1	12	вблизи городов Камень-на-Оби, Здвинск, Барабинск, пруд вблизи оз. Тоджа, оз. Додот			
			(протока), оз. Телецкое (мелководная заводь), оз. Среднее Кедровое			
			оз. Борзу-Холь			

Примечание: N – число популяций, n – число особей

## 2.4.4 Влияние размерных различий и факторов внешней среды на форму тела дафний

Для оценки влияния размерных различий на форму тела дафний вычисляли регрессии переменных CS (центроидный размер, используемый как независимая размерная переменная формы) на канонические переменные (Павлинов, Микешина, 2002; Bornholdt et al., 2008). Для оценки влияния условий внешней среды на каждый вид дафний в качестве факторов было выбрано четыре показателя: глубина водоема, температура, прозрачность и pH. В качестве показателя глубины использовали как максимальные значения в метрах для каждого исследованного водоема, так и условное разделение водоемов на постоянные и временные. Зависимость формы тела дафний от факторов внешней среды оценивали с помощью многофакторного анализа MANOVA. Распределение видов и его визуализацию по отношению к факторам внешней среды оценивали с помощью анализа неметрического многомерного шкалирования (NMDS) (Taguchi, Oono, 2005).

#### 2.4.5 Разграничение криптических видов группы D. longispina s.l.

Анализ изменчивости формы тела применяли для разграничения криптических видов группы *D. longispina* s.l. В анализ были включены следующие выборки: 1) *D. umbra* из оз. Отванд, Норвегия (типовые экземпляры «*D. alpina*» из коллекции Г.О. Сарса, GOSF 1933b), n = 21; 2) *D. umbra* из оз. Борзу-Холь (Тоджинская котловина, бассейн р. Енисей), n = 12; 3) *D. lacustris* из неизвестного водоема в Норвегии (коллекция Г.О. Сарса, GOS 4928a; n = 7); 4) *D. dentifera* из оз. Среднее Кедровое (бассейн оз. Байкал); 5) *D. longispina* s.str. из озер Додот (бассейн р. Енисей) и Телецкого (бассейн р. Обь) и безымянного пруда из Тоджинской котловины (бассейн р. Енисей), 6) *D. hyalina* из оз. Глубокого (Московская область).

Однофакторный анализ MANOVA для оценки различий между

популяциями/видами дафний выполняли по значениям первых шести главных компонент, объясняющих бо́льшую часть изменчивости. Морфологические отношения между криптическими видами группы *D. longispina* s.l. также анализировали с помощью кластерного анализа по средним значениям относительных деформаций с помощью метода UPGMA (unweighted pair-group) в программе PAST v. 3.06.

#### 2.5 Молекулярно-генетический анализ

#### 2.5.1 Экстракция ДНК

дафний, Для молекулярно-генетического анализа образцы фиксированные очищенным 96% этанолом, хранили при температуре -20 °С. Общую геномную ДНК экстрагировали из отдельно взятых особей с помощью протеиназы K (Genetic markers..., 1998) или 5% раствора Chelex 100resin (BioRad, CША). В большинстве случаев для экстракции ДНК использовали партеногенетических самок, реже – самцов и, в отдельных случаях, эфиппиальные яйца. Перед выделением ДНК каждую особь идентифицировали по возможности до вида и, при их хорошей сохранности, фотографировали с помощью бинокулярных микроскопов с видеокамерой AxioScan (Carl Zeiss, Германия) и Альтами (Альтами, г. Санкт-Петербург, Россия) при увеличениях объектива ×4, ×5 и ×10. Фотографирование особей было необходимо для сохранения информации о внешней форме тела дафний. В некоторых случаях цифровые изображения особей использовали для анализа изменчивости формы тела с помощью метода геометрической морфометрии (см. Глава 2, п. 2.2).

#### 2.5.2 Анализ изменчивости митохондриальных маркеров

### 2.5.2.1 Условия ПЦР реакций, секвенирование и редактирование нуклеотидных последовательностей

Анализ генетической изменчивости в природных популяциях изучаемых видов дафний группы *Daphnia longispina* s.l. выполняли по данным, полученным при амплификации фрагментов двух некодирующих генов 16S и 12S pPHK и одного белок кодирующего гена ND2 (НАДН-дегидрогеназа субъединица 2) митохондриальной ДНК. Дизайн праймеров для амплификации указанных фрагментов мтДНК был как оригинальный, так и заимствованный из литературных источников (Таблица 2.2). Реакционная смесь (20 мкл) для полимеразной цепной реакции (ПЦР) состояла из 2-5 мкл общей геномной ДНК (~10-20 нг на 100 мкл гомогената), 0.2 мМ dNTPs, 2 мкл 10× ПЦР буфера (10 мМ Tris-HCl pH 8.5, 50 мМ KCl и 2.5 мМ MgCl<sub>2</sub>), 2.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0.5 мМ каждого праймера и 1 U *Taq* ДНК полимеразы. Амплификацию фрагментов проводили в программируемых термостатах M111 (ООО «БИС-Н», г. Новосибирск, Россия).

Параметры термопрофилей для генов 16S и 12S были одинаковыми, за исключением температуры отжига праймеров и заключительной элонгации – начальная денатурация 2 мин при 94 °C, следующие 35 циклов: 30 с при 94 °C, 30 с при 56 (58) °C, 1 мин 45 с при 72 °C; заключительная элонгация 2 (6) мин при 72 °C. Термопрофиль для амплификации фрагмента гена ND2 был следующим: начальная денатурация 2 мин при 94 °C, следующие 35 циклов: 45 с при 94 °C, 45 с при 52 °C, 1 мин при 72 °C; заключительная элонгация 2 мин при 72 °C.

Продукты реакции амплификации разделяли электрофорезом в 1.0% агарозном геле в ТАЕ буфере, окрашенном бромистым этидием, и фотодокументировались. В качестве маркера длины фрагментов ДНК использовали 1-2 kb ДНК ladder (ООО «Медиген», г. Новосибирск, Россия).

Полученные ПЦР продукты очищали с помощью набора реактивов «БИОСИЛИКА» (г. Новосибирск, Россия) и секвенировали по прямому и обратному праймерам с помощью автоматического анализатора ABIPrISM 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) в «Центре секвенирования ДНК» СО РАН (г. Новосибирск, Россия, http://sequest.niboch.nsc.ru) и в компании СИНТОЛ (г. Москва, Россия, www.syntol.ru). Полученные нуклеотидные последовательности редактировали вручную в программе BioEdit v. 7 (Hall, 1999) и выравнивали с помощью алгоритма ClustalW (ClustalW and ClustalX..., 2007). Затем оригинальные последовательности депонировали В международную базу данных GenBank согласно гаплотипам, номера доступа которых представлены в таблице Приложения А (Приложение А, Таблица А.1).

#### 2.5.2.2 Митохондриальная филогения

Для реконструкции филогенетических отношений между видами группы D. longispina s.l. нуклеотидные последовательности генов митохондриальной ДНК были сгруппированы в три набора данных. Первый, названный нами как «полный 12S блок» состоял из 477 оригинальных и полученных из базы данных GenBank нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 12S рРНК (Приложение A, Таблица A.2). Ортологичные последовательности из базы данных GenBank были необходимы для получения корректной информации о филогенетических отношениях и филогеографии группы D. longispina s.l. Большая часть этих образцов была собрана в водоемах Западной и Центральной Европы, Северной Америки, Японии и Китая. В качестве внешней группы выбраны последовательности D. cristata.

Второй, «оригинальный 12S блок», включал 150 исключительно последовательностей фрагмента 12S; оригинальных гена И третий, «объединенный блок», состоял 49 объединенных оригинальных ИЗ последовательностей фрагментов генов 12S+16S+ND2. Выбор моделей нуклеотидных замен, наилучшим образом описывающих эволюцию изучаемых

Название	Ген	Последовательность (5'-3')	Длина	Ссылка
			фрагмента,	
			П.Н.	
16Sin-F		TTTGTAAATGGCCGCAGTA		Morphological
16Sin-R	16S	CGGTTTGAACTCAGATCATGTA	476-477	differentiation,
				2010
12S-F	125	ATGCACTTTCCAGTACATCTAC	528-610	Colbourne, Hebert,
12S-R	120	AAATCGTGCCAGCCGTCGC		1996
MetF2	ND2	TGGGTTCATGCCCCATTTATAG	718	Ishida et al. 2006
TrpR		GAAGGTTTTTAGTTTAGTTAACTTAAATTCT		Isinda et al., 2000
5.8Fr	5 85 1752 285	CCCTGAACGGTGGATCACTA	1075-1087	Taylor et al., 2005
28SD2BR	5.05-1152-205	TTAGAAGGAGTTTACCTCCCGCTTAGG		

Таблица 2.2 – Последовательности праймеров-олигонуклеотидов, используемых в данном исследовании

последовательностей для полного и оригинального блока данных, выполняли с помощью программы jModelTest v. 2.1.7 на основе показателей правдоподобия для 88 разных моделей и информационных критериев Акаике (AIC) и Байеса (BIC) (Guindon, Gascuel, 2003; jModelTest 2..., 2012).

Для полного блока 12S нуклеотидных последовательностей мтДНК одной из лучших была General Time Reversible модель с инвариантными сайтами и гамма распределением (GTR+I+G,  $\alpha = 0.38$ ; Tavaré, 1986), а для оригинального блока – модель Тамуры-Нея с гамма распределением (TrN+G,  $\alpha = 0.25$ ; Tamura, обоих Филогенетические деревья 12S блоков 1992). для были реконструированы в программе MEGA v. 7.0 с использованием алгоритма правдоподобия (ML) с попарным удалением максимального ГЭПОВ И пропущенных сайтов (Kumar et al., 2016). Для оценки статистической достоверности в узлах ветвления филогенетических деревьев применяли бутстрэп-тест при числе репликаций равном 1000 (Saitou, Nei, 1987).

Байесовский анализ выполняли в программе MrBayes v. 3.2 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001; Ronquist, Huelsenbecke, 2003) согласно GTR+I+G (полный 12S блок) и GTR+G (оригинальный 12S блок) моделям. Две синхронных серии с четырьмя Марковскими цепями каждая вычислялись для  $1 \times 10^6$  (оригинальный 12S блок) и  $10 \times 10^6$  генераций (полный 12S блок) при частоте записи параметров равной 500. Дополнительно стационарность была подтверждена с помощью апостериорной вероятности, логарифмического правдоподобия и выполнена оценка параметров эффективного размера выборки (ESS > 500) для проверки конвергенции Марковских цепей и трассировочных графиков MCMC в программе Tracer v. 1.7 (Posterior summarization...,2018).

Лучшую эволюционную модель для объединенного (12S+16S+ND2) блока данных определяли с помощью программ PartitionFinder v. 2 (PartitionFinder 2..., 2016) и IQ-TREE v. 1.5.4 (IQ-TREE v. 1.5.4..., 2014; ModelFinder..., 2017) на основе информационных критериев AIC и BIC. Блочная схема, выбранная с помощью программы IQ-TREE впоследствии была использована для ML поиска на основе 1000 ультрабыстрых бутстрэп репликаций (Minh et al..., 2013). Под критерием AIC была выбрана следующая блочная схема для ML анализа: для 12S rDNA, 16S rDNA и 3-ей позиции кодона ND2 (HKY+F+R2); для 1-ой позиции кодона ND2 (HKY+F+I); для 2-ой позиции кодона ND2 (TN+F). Бутстрэп поддержку ветвей оценивали с помощью быстрого бутстрэп алгоритма, используя 1000 непараметрических репликаций.

Байесовский анализ для объединенного блока мтДНК выполняли в программе MrBayes v.3.2 по следующей блочной схеме: 12SrDNA (GTR+G); 16SrDNA (GTR+I+G); 1-ая позиция кодона ND2 (GTR+I); 2-ая позиция кодона ND2 (GTR); 3-я позиция кодона ND2 (GTR+G). Две синхронных серии с четырьмя Марковскими цепями каждая вычислялись для 1×10<sup>6</sup> при частоте записи параметров равной 500. Первые 25% генераций были отвергнуты как дефект. Конвергенцию серий оценивали проверкой среднего стандартного отклонения групп частот и потенциального масштаба фактора редукции. Стационарность была подтверждена как указывалось выше с помощью оценки параметров эффективного размера выборки (ESS > 500) и трассировочных графиков в программе Tracer v. 1.7.

BI Результирующие ML И были анализы визуализированы И редактированы В программе FigTree v. 1.4.3 (http://tree.bio.ed.ac.uk). Нуклеотидные последовательности D. cristata были использованы в качестве внешней группы для полной 12S филогении, а последовательности D. cf. *longispina* и *D. umbra* – в оригинальной и объединенной филогении.

В качестве альтернативного подхода для визуализации филогенетических отношений между близкородственными и криптическими видами группы *D. longispina* s.l. использовали неукорененную простирающуюся сеть (splitnetwork), реализованную в программе SplitsTree4 v. 4.10 с помощью следующих настроек: модели Neighbor Net, алгоритма «equal angle» и нескорректированных *p*-дистанций (Huson, 1998; Huson, Bryant, 2006). Надежность сети оценивали с помощью бутстрэп теста при числе репликаций
равном 1000. Простирающуюся сеть реконструировали на основе нуклеотидных последовательностей, составляющих оригинальный 12S блок.

#### 2.5.2.3 Полиморфизм генов митохондриальной ДНК

Для оценки полиморфизма полученных нуклеотидных последовательностей вычисляли следующие параметры: число полиморфных (сегрегирующих) сайтов (*S*), число гаплотипов (*h*), гаплотипическое ( $H_d$ ) и нуклеотидное разнообразие ( $\pi$ ) в программе DnaSP v. 5.10 (Librado, Rozas, 2009).

#### 2.5.2.4 Генетическая структура популяций

(AMOVA) Молекулярную дисперсию В популяциях самых распространенных видов группы D. longispina s.l. - D. longispina s.str., D. dentifera и D. galeata – оценивали на основе иерархического анализа в программе Arlequin v. 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010). Три уровня анализа AMOVA выполняли, чтобы проверить структуру генетической дифференциации (1) между географическими группами, между популяциями и внутри популяций в пределах групп; (2) между популяциями и в пределах популяций; (3) между кладами D. longispina s.str., между популяциями в пределах клад и внутри популяций.

Популяции *D. longispina* s.str. были разделены на 23 географических группы (Приложение Б, Таблица Б.1), *D. galeata* и *D. dentifera* – на восемь групп (Приложение Б, Таблицы Б.2 и Б.3). Данный анализ выполняли для популяций и клад *D. longispina* s.str. и для популяций *D. galeata* на основе трех блоков нуклеотидных последовательностей (полного и оригинального 12S, объединенного 12S+16S+ND2), а для популяций *D. dentifera*, ввиду небольшого числа оригинальных последовательностей, – только на основе полного 12S

блока. Значимость параметров Ф-статистик оценивали с помощью критерия перестановок при числе репликаций равном 10 000 в программе Arlequin v. 3.5.

## 2.5.2.5 Эволюционная дивергенция и генетическая дифференциация популяций

Эволюционную дивергенцию в пределах и между кладами *D. longispina* s.str. и массовыми видами группы *D. longispina* s.l.оценивали на основе оригинальных 12S последовательностей, используя нескорректированные *p*-дистанции в программе MEGA v. 7.0.

Для оценки генетической дифференциации популяций высчитывали парные значения индекса фиксации  $F_{ST}$  по нуклеотидным последовательностям полного 12S блока в Arlequin v. 3.5; их статистическую значимость оценивали на основе 10 000 репликаций. Результаты сравнения парных значений  $F_{ST}$  были представлены графически.

## 2.5.2.6 Генеалогические связи между географическими группами митохондриальных гаплотипов

Для связей установления генеалогических между гаплотипами использовали метод медианного связывания (median-joining, MJ; Bandeltetal., 1999), реализованный в программе Networkv. 4.5-5.0 (http://www.fluxusengineering.com/network terms.htm). Сети гаплотипов вычисляли на основе нуклеотидных последовательностей фрагментов 12S и ND2 генов мтДНК и ITS2 яДНК для массовых видов группы D. longispina s.l. – D. galeata, D. longispina s.str., D. hyalina и D. dentifera. Из редких видов группы сети гаплотипов были реконструированы только для вида *D. umbra*. Для фрагментов митохондриальной ДНК использовали как оригинальные нуклеотидные последовательности, так и из международной базы данных GenBank, для фрагмента ядерной ДНК – только оригинальные.

## 2.5.2.7 Демографическая история популяций

Реконструкцию демографической истории сибирских популяций видов группы *D. longispina* s.l. выполняли по: 1) показателям полиморфизма нуклеотидных последовательностей митохондриальных маркеров; 2) тестам на нейтральность эволюции Таджимы (Tajima's *D*; Tajima, 1989) и Фу ( $F_s$ ; Fu, 1997); 3) структуре медианных сетей гаплотипов и 4) распределению частот гаплотипов (mismatch distribution, MMD; Rogers, Harpending, 1992; Excoffier, 2004). Тесты на нейтральность эволюции проводили для всех видов и клад группы *D. longispina* s.l. в программе DnaSP v. 5.10. Значимость тестов подтверждали коалесцентной симуляцией в 1000 репликаций.

Анализ распределения частот гаплотипов (MMD) применяли для выяснения демографической истории сибирских популяций *D. galeata* и *D. longispina* s.str. в программе Arlequin v. 3.5. Как правило, мультимодальный характер MMD свидетельствует о демографическом равновесии исследуемых популяций (Slatkin, Hudson, 1991; Rogers, Harpending, 1992), а унимодальный – о недавней демографической экспансии или географической экспансии с высокой миграционной активностью соседних популяций (Ray et al., 2003; Excoffier, 2004). Для оценки временного периода, прошедшего с момента экспансии (*t*) рассчитывали параметр Tay ( $\tau$ ) согласно уравнению

## $\tau = 2ut$ ,

где  $u = M_T \mu$ ,  $M_T - число нуклеотидов в исследуемых последовательностях, а <math>\mu -$  темп мутации на генерацию (Rogers, Harpending, 1992).

Бутстрэп тест (1000 репликаций) использовали для тестирования наблюдаемого и симулированного распределения частот гаплотипов под действием демографической или пространственной экспансии посредством сравнения сумм квадратов отклонений (SSD) между наблюдаемыми (SSD<sub>obs</sub>) и симулированными (SSD<sub>sim</sub>) данными. Индекс шероховатости Харпендинга (*r*)

использовали в качестве критерия отклонения распределения частот гаплотипов от унимодальной кривой. Статистическую значимость параметров проверяли по соответствующим *P* значениям; бутстрэп тест (1000 репликаций) применяли для расчета 95% доверительного интервала для показателей τ, M и Theta.

Темпы дивергенции мтДНК для артропод были заданы как 2% на миллион лет (Brower, 1994; Knowlton, Weigt, 1998; Belyaeva, Taylor, 2009; The non-cosmopolitanism..., 2009) и три генерации в год (как показали исследования М. Вентуры с соавторами для альпийских популяций *D. longispina* s.str., Local and regional..., 2014). Чтобы избежать общих ошибок в оценке временного периода, прошедшего с момента экспансии, все расчеты проводили согласно алгоритму, предложенному в работе Т. Шенекар и С. Вайса (Schenekar, Weiss, 2011). Анализ распределения нуклеотидов для *D. galeata* выполняли на основе нуклеотидных последовательностей 12S и ND2 генов мтДНК отдельно.

Отсутствие реальной возможности для калибровки молекулярных часов для каждого конкретного исследования порождает многочисленные ошибки при оценке времени дивергенции для различных митохондриальных линий и видов (Time dependency..., 2005; Phylogeography of the *Chydorus*..., 2016; Origin of a divergent..., 2016). В связи с этим, этот параметр для сибирских популяций *D. galeata* и *D. longispina* s.str. был скорректирован с учетом известных геологических событий в данном регионе в плейстоцене.

#### 2.6.3 Анализ изменчивости ядерного гена ITS2

Для анализа изменчивости ядерной ДНК дафний использовали последовательности второго промежуточного транскрибируемого спейсера ITS2 с двумя фланкирующими генами – 5.8S и 28S. Полученная информация использовалась для 1) установления внутривидовых генеалогических связей между гаплотипами; 2) установления границ между криптическими видами

группы *D. longispina* s.l. на основе предполагаемой вторичной структуры фрагмента ITS2 и анализа компенсаторных замен; 3) реконструкции филогении.

## 2.6.3.1 Условия ПЦР реакций, секвенирование и редактирование нуклеотидных последовательностей

Состав реакционной смеси при амплификации фрагмента 5.8S-ITS2-28S ядерной ДНК был идентичным таковой для ПЦР реакции митохондриальной ДНК, последовательности олигонуклеотидов (праймеров) взяты из статьи Д. Тэйлора с соавторами (Taylor et al., 2005, Таблица 2.2). Параметры термопрофиля были следующими: начальная денатурация 2 мин при 94 °C; последующие 35 циклов: 1 мин 30 с при 94 °C, 45 с при 58 °C, 1 мин 30 с при 72 °C; финальная элонгация 6 мин при 72 °C. Секвенирование и редактирование нуклеотидных последовательностей ядерного гена ITS2 проводили по той же схеме, что и для митохондриальных маркеров. Оригинальные нуклеотидные последовательности 5.8S-ITS2-28S депонировали в международную базу данных GenBank согласно гаплотипам под номерами MH399707-MH399728, номера доступа которых представлены в таблице Приложения (Приложение А, Таблица А.1).

#### 2.6.3.2 Анализ предполагаемой вторичной структуры ITS2

Для удаления фланкирующих участков генов 5.8S и 28S в ядерном маркере, полная последовательность ITS2 была аннотирована с использованием инструмента «ITS2-Annotation» в ITS2 Database при следующих параметрах: E< 0.01, скрытой марковской модели (Hidden Markov Model, HHM) для Metazoa (The ITS2 Database III..., 2009). Как было показано Ф. Келлером с соавторами, эта процедура необходима для установления гибридизации между 5.8S и 28S генами (5.8S-28SrRNA..., 2009). Предполагаемые модели вторичной структуры ITS2, характеризующиеся минимальной свободной энергией (MFE), получали с

помощью RNAfold Web Server (http://rna.tbi.univie.ac.at/cgibin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi; настройки по умолчанию при 37 °C).

Поиск тандемных повторов в последовательностях ITS2 выполняли с помощью pecypca Microsatellite Repeat Finder с настойками по умолчанию (http://sgdp.iop.kcl.ac.uk/nikammar/repeatfinder.html). Визуализация вторичных структур ITS2 выполнена с помощью PseudoViewer v. 3 Web Application (http://pseudoviewer.inha.ac.kr/).

#### 2.6.3.3 Ядерная филогения

Филогенетический анализ для видов группы D. longispina s.l. на основе ядерной ДНК выполняли в программе ProfDistS v. 0.9.8 с использованием алгоритма «RNA/DNAstructure Profile Neighbor-Joining» при числе репликаций 1000 для модели General Time Reversible и матрицы  $Q = Q_{ITS2.txt}$  как специфической модели замен для ITS2 (ProfDist: a tool..., 2005; ProfDistS: profile distance..., 2008). Результирующее дерево визуализировали с помощью программ NJplot v. 2.4 (Perrière, Gouy, 1996) и FigTree v. 1.4.3. Для сравнения результатов дополнительные филогенетические были деревья реконструированы без учета вторичной структуры ITS2 на основе модели GTR в программах MEGA v. 7 (метод максимального правдоподобия, ML) и MrBayes v. 3.2 (Байесовский анализ, BI). Байесовский анализ реализовали при числе генераций равном 1 000 000 и частоте записи параметров 500; оценку параметров эффективного размера выборки (ESS > 500) выполнили в программе Tracer v. 1.7.

Как и в случае митохондриальной филогении, для визуализации филогенетических отношений между близкородственными и криптическими видами группы *D. longispina* s.l. в качестве альтернативного подхода применяли простирающуюся сеть (split network), реализованную в программе SplitsTree4 v. 4.10. Для ее реконструкции использовали матрицу длин ветвей между видами группы *D. longispina* s.l., полученную в программе ProfDistS v. 0.9.8 для ITS2

последовательностей. Настройки для сети были аналогичными таковым для митохондриальной филогении: модель Neighbor Net, алгоритм «equal angle» и нескорректированные *p*-дистанции. Надежность сети оценивали с помощью бутстрэп теста при числе репликаций равном 1000.

## 2.6.3.4 Полиморфизм гена ITS2 ядерной ДНК, эволюционная дивергенция популяций

Для оценки полиморфизма гена ITS2 яДНК в программе DnaSP v. 5.10 вычисляли параметры, аналогичные таковым для митохондриальной ДНК: число полиморфных (сегрегирующих) сайтов (*S*), число гаплотипов (*h*), гаплотипическое ( $H_d$ ) и нуклеотидное разнообразие ( $\pi$ ).

Генетическую дивергенцию популяций на основе гена ITS2 оценивали по нескорректированным *p*-дистанциям в пределах видов и между ними в программе MEGAv. 7. В этой же программе рассчитывали долю GC нуклеотидов, свидетельствующую о стабильности вторичной структуры ITS2.

#### 2.6.3.5 Анализ компенсаторных замен

ITS2 Выравнивание нуклеотидных последовательностей c гомологичными вторичными структурами выполняли с помощью алгоритма ClustalW, встроенного в программу 4SALE v. 1.7 (4SALE – a tool..., 2006; Synchronous visual analysis..., 2008). Матрицу компенсаторных замен (СВС, нескорректированные *p*-дистанции) также получали с помощью 4SALE v. 1.7 и CBC дополнительно анализировали В программе Analyzer v. 1.0.3 (CBCAnalyzer..., 2005). Результаты выравнивания с информацией о вторичной структуре ITS2 сохраняли для последующего филогенетического анализа (Schultz, Wolf, 2009).

# ГЛАВА З МОРФОЛОГИЯ, ПОПУЛЯЦИОННАЯ И МЕЖВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Существование разных морф у высоко морфологически вариабельных видов комплекса *Daphnia longispina* s.l. – широко известный факт, описанный еще в начале прошлого века Р. Вольтреком и получивший название цикломорфоза (Woltereck, 1909, Рисунок 3.1). Это явление в дальнейшем наложило определенный, можно даже сказать негативный, отпечаток на таксономию этого комплекса видов. Основная проблема заключалась в том, что исследователи в большинстве случаев пытались найти не общие признаки, характерные для группы в целом, а акцентировали свое внимание на изменчивых признаках (в частности, на размерах головного шлема и форме раковины). Такой подход приводил к выделению большого числа подвидов и видов (Мануйлова, 1964).



Рисунок 3.1 – Цикломорфоз у дафний (по Woltereck, 1909)

В дальнейшем, комплексное использование различных методов анализа – морфологического, морфометрического и молекулярно-генетического – позволило избежать чрезмерного дробления. Однако в ряде случаев такой подход привел к выделению большого числа видовых комплексов, таксономические проблемы в пределах которых до настоящего времени полностью не решены.

Особый интерес представляют исследования, связанные с поиском надежных диагностических признаков для идентификации близкородственных видов рода *Daphnia*. Использование исключительно морфологических признаков при определении видовой принадлежности некоторых высоко полиморфных таксонов часто не приводит к желаемым результатам (Benzie, 2005; Kotov, 2015). Гибридизация между некоторыми видами рода *Daphnia* также усложняет идентификацию особей, поскольку гибридные особи характеризуются либо промежуточными морфологическими признаками, либо признаками одной из родительских форм.

Пытаясь решить проблему, исследователи попытались использовать другие признаки, которые позволили бы более точно установить видовую принадлежность морфологически сходных особей. Так появились работы Дж. Бензи (Benzie, 1988), где он использовал линейные промеры самцов и самок дафний и на основе полученных 49 признаков выполнил многофакторные статистические анализы. Этот подход выявил пять морфологических групп, соответствующих конкретным видам дафний, тогда как особи из видовых комплексов сформировали общие группы.

Несколько позднее С. Гецлер (Gießler, 1997, 2001) проанализировала изменчивость формы тела родительских особей близкородственных видов D. galeata, D. cucullata и D. hyalina, а также их гибридов. Для этого был использован комплекс линейных промеров дафний, учитывающих форму вентрального края головы, форму рострума, шлема и некоторых других структур. Кроме того, во внимание принимались относительные пропорции головы и тела (соотношение ширины и высоты). Далее С. Гецлер предприняла корреляцию между полученными морфологическими попытку оценить данными и генетической изменчивостью, используя статистические методы. Несмотря на некоторую неоднозначность полученных результатов, ею все-таки было установлено, что, во-первых, морфологические различия между особями меняются в зависимости от возрастной стадии и, во-вторых, заметная морфологическая дивергенция (по сравнению с низкой генетической

изменчивостью) определяется местом обитания (пруд – озеро). Также она показала, что детальный анализ большого числа морфологических и аллозимных маркеров позволяет с высокой степенью надежности разрешить таксономические проблемы в пределах клонах, которые представляют собой скопления родительских видов и их гибридов (Gießler, 1997).

В дальнейшем для изучения морфологической изменчивости кладоцер, в том числе и дафний, стали применять метод геометрической морфометрии. Так, М. Даффи с соавторами (Duffy et al., 2004) выявила различия между *D. dentifera* и *D. mendotae*. М. Фаустова с соавторами (Coexisting cyclic..., 2010) с помощью метода геометрической морфометрии обнаружила различия между морфотипами *Eubosmina*.

В целом следует отметить, что использование разных молекулярногенетических маркеров в совокупности с анализом морфологической изменчивости позволило выявить некоторые признаки, присущие как видам, так и родительским и гибридным формам (Gießler et al., 1999; Gießler, Englbrecht, 2009; Identifying hybridizing taxa..., 2010; Yin et al., 2010).

В настоящем исследовании ΜЫ попытались также оценить таксономическую ценность морфологических признаков партеногенетических самок и самцов у близкородственных и криптических видов группы D. longispinas.1. Для достижения этой цели мы использовали традиционный морфологический анализ признаков, а также метод геометрической морфометрии, позволяющий количественно оценить изменчивость формы тела особей в пределах этого видового комплекса. Количественная оценка изменчивости формы тела в данном случае нам представлялась особенно важной, поскольку на определенном этапе изучения именно этот фактор являлся решающим при описании новых видов.

82

## 3.1 Диагностическая значимость морфологических признаков у близкородственных и криптических видов группы *D. longispina* s.l.

Традиционный морфологический анализ партеногенетических самок видов группы *D. longispina* s.l. не выявил для большинства признаков высокой таксономической значимости. На основании этого анализа крайне трудно идентифицировать партеногенетических самок близкородственных видов *D. longispina* s.str. – *D.* cf. *hyalina* – *D. dentifera* (Приложение B, Рисунки B.1-B3). Особи *D.* cf. *hyalina* несколько отличались по форме вентрального края головы, тогда как дифференцировать виды *D. longispina* s.str. и *D. dentifera* по диагностическим (морфологическим) признакам практически невозможно (ПриложениеB, Рисунки B.1, B.3). Затруднения возникают и при распознавании бесшлемной морфы *D. galeata* и особей *D. longispina* s.str. К тому же, высокий уровень фенотипической изменчивости (формы раковины) у видов *D. longispina* s.str. – *D. hyalina* – *D. dentifera* сильно препятствует их точной идентификации, что ранее неоднократно отмечалось другими исследователями (Glagolev, 1986; Кирдяшева, Котов, 2013).

Более заметные морфологические различия выявляются при сравнении широко распространенных видов D. longispina s.str. – D. hyalina – D. dentifera c эндемичными и криптическими видами D. umbra и D. turbinata (Приложение B, Рисунки В.4-В.5). Как отмечалось ранее, особи этих видов характеризуются более темной раковиной (Benzie, 2005, Zuykova et al., 2019). Однако этот признак нельзя считать надежным, поскольку степень его проявления может сильно варьировать (Taylor et al., 1996). Более того, в пределах группы D. longispina s.1. четкой не зарегистрировано корреляции между меланизированной раковиной у особей и их генетической дифференциацией (А taxonomic reappraisal..., 2008).

В рамках настоящего исследования были обнаружены особи *D. longispina* s.str. с характерной пигментированной раковиной (например, из временных водоемов бассейна оз. Чаны). Пигментированные особи этого вида также

встречались в альпийских популяциях (A taxonomic reappraisal..., 2008), а особи другого представителя группы *D. longispinas.l. – D. lacustris*, населяющего водоемы Норвегии, Финляндии и Польши (Татры) – также характеризуются меланизированной раковиной (Ecological, morphological..., 2004; Restoring *Daphnia lacustris...*, 2007).

Что касается отличительных морфологических признаков, партеногенетические самки *D. umbra* и *D. turbinata* имеют более развитую антенну I и расположенную на ней чувствительную щетинку по сравнению с другими представителями группы. Следовательно, эти признаки являются более перспективными при дискриминации видов группы.

Более информативными оказались морфологические признаки самцов в группе *D. longispina* s.l. (Таблица 3.1), что, впрочем, справедливо и для других групп кладоцер и рода *Daphnia* в целом (Goulden, 1968; Kotov et al., 2006b; 2006b; 2009a; 2009b; Котов, 2013; Revision of the Old World..., 2016). Так, при идентификации видов группы *D. longispina* s.l. особое внимание следует уделять длине флагеллума и относительным размерам сенсорной щетинки и эстетасков антенны I (Приложение В, Рисунки В.1-В.5). Эти признаки становятся наиболее полезными при дискриминации *D. umbra* и *D. turbinata* от широко распространенных видов *D. longispina* s.str. – *D. hyalina* – *D. dentifera*, однако для разграничения последних трех видов они все-таки остаются малопригодными.

# 3.2 Изменчивость формы тела между морфами *D. galeata* из географически удаленных популяций

В каждой из географически удаленных популяций *D. galeata* из озер Глубокого и Чаны были обнаружены по две морфы, различающиеся формой Таблица 3.1 – Основные морфологические различия между взрослыми самцами широко распространенных и криптических видов группы *D. longispina* s.l.

Признак	D. longispina	D. cf. hyalina	D. dentifera	D. lacustris	D. umbra	D. turbinata
	s.str.					
Рострум	+	_	_	+	+	_
Положение выпуклости на	дистальное	проксимальное	среднее	среднее	проксимальное	среднее
заднем крае головы						
Глаз крупный, максимально	+	_	_	+	+	_
расположен у переднего						
края головы						
Отношение длины	почти равное,	несколько	несколько	почти равное,	существенно	существенно
флагеллума к длине	или несколько	длиннее	длиннее	или несколько	длиннее	длиннее
эстетасков	длиннее			длиннее		
Чувствительная щетинка	+	+	_	+	+	+
выступает						
за верхушку антенны І						
Копуляторный крюк на IDL	короткий	короткий	длинный	длинный	длинный	длинный
ноги I						
Сетулы передней щетинки	жесткие	жесткие	жесткие	?	тонкие	относительно
на IDL ноги II						тонкие



Рисунок 3.2 – Форма тела морф *D. galeata* из озер Чаны (а) и Глубокое (б)

тела (Рисунок 3.2). Одна морфа характеризовалась высоким заостренным шлемом, другая – низким шлемом округлой формы. Сравнение формы тела этих морф выполнено по 16-ти меткам (L) и 28-ми значениям относительных деформаций (RW). Результаты сравнения показали, что основная часть изменчивости формы тела у разных морф *D. galeata* из обоих озер – Глубокого и Чаны – объясняется первыми пятью относительными деформациями (RW) (88.3%), из которых 53.0% приходилось на долю RW1, а 18.9% – на долю RW2. Вдоль оси первой относительной деформации произошло разделение морф *D*.

galeata согласно географическому расположению водоемов; вдоль оси второй относительной деформации расположились морфы, характеризующиеся разной формой головы, в частности, отмечалось наличие или отсутствие шлема. Кроме этого признака, основной вклад в изменчивость морф дафний внесли форма рострума, переднего края головы (ландмарки L1-L3) и передне-верхнего края раковины (L14, L15). Несколько меньшее влияние на изменчивость оказали признаки, характеризующие форму нижнего края раковины (L9, L11) и положение глаза (L16).

Согласно результатам однофакторного непараметрического анализа PERMANOVA статистически достоверные различия (p < 0.0001) выявлены между первой и второй морфами дафний – F = 35.44 и 41.08, соответственно.



Рисунок 3.3 – Изменчивость формы тела морф *D. galeata* в пространстве двух дискриминантных функций

Дискриминантный анализ на основе значений RW также подтвердил существование различий между морфами *D. galeata*: первая дискриминантная ось объясняла 79.4% изменчивости, вторая – 13.9% (Рисунок 3.3). При этом однофакторный анализ MANOVA, в отличие от анализа PERMANOVA на основе значений RW, не выявил достоверных различий между морфами *D. galeata* из оз. Глубокого. Однако сравнение морф из оз. Глубокого с таковыми из оз. Чаны выявило значимые различия (коэффициент лямбда Уилкса  $\lambda =$ 0.00001, *F* = 18.04, *p* < 0.001). В целом, различия между двумя разными морфами *D. galeata* вдоль первой дискриминантной оси в первую очередь объяснялись географической удаленностью выборок, а вдоль второй – формой их головы (наличием или отсутствием шлема).

Сравнительный анализ формы тела между морфами *D. galeata* и близкородственными видами *D. longispina* s.str., *D. hyalina*, *D. cucullata* и *D. cristata* показал, что основная доля изменчивости приходилась на первые семь относительных деформаций – 91.9%, из которых больше половиныобъясняли первая и вторая относительные деформации – 49.9 и 15.5% соответственно. Основной вклад в изменчивость формы тела внесли те же признаки, что и при сравнении морф *D. galeata* из разных водоемов. Для морф/видов эти значения были равны 52.4% и 24.6%, соответственно (Рисунок 3.4).

Межвидовые различия первой, как вдоль так И вдоль второйдискриминантных осей определялись изменчивостьюголовы и раковины. В этом анализе произошло почти полное перекрывание выборок двух морф *D*. galeata из оз. Чаны. Для морф из оз. Глубокого было отмечено только частичное перекрывание облаков выборок, которые расположились между выборками видов D. *cucullata* и D. longispina s.str. вдоль второй дискриминантной оси. Также значимые различия были зарегистрированы при попарном сравнении формы тела видов D. cristata и D. hyalina с остальными видами. Между значениями относительных деформаций (для каждой морфы и морфы/вида) второй И первой (DA1) И (DA2) дискриминантными функциямибыли выявлены значимые корреляции (*р* < 0.0001, Таблица 3.2).

Доля необъясненной изменчивости в данном случае указывает на то, что оставшаяся ее часть приходится на другие признаки и объясняется другими дискриминантными функциями.



Рисунок 3.4 – Изменчивость формы тела морф *D.galeata* и других видов дафний в пространстве двух дискриминантных функций

Выявленные внутрипопуляционные различия между морфами *D. galeata* из географически удаленных озер Глубокого и Чаны были обусловлены изменчивостью формы рострума, переднего края головы и передне-верхнего края раковины. Между морфами *D. galeata* из оз. Глубокого были зарегистрированы бо́льшие различия, чем между морфами из оз. Чаны. Возможно, это объясняется гибридной природой данной популяции. Анализ изменчивости формы тела между морфами и разными видами дафний из исследуемых водоемов привел к аналогичным результатам. Как было показано ранее, форма рострума, переднего края головы и передневерхнего края раковины вносят наиболее существенный вклад в изменчивость формы тела большинства видов дафний (Зуйкова, Бочкарев, 2010a; б; 2011; 2016; Morphological differentiation...,2010; Zuykova et al., 2013). Полученные

Таблица 3.2 – Оценка корреляции между переменными формы и значениями дискриминантных функций для морф *D. galeata* и видов рода *Daphnia* (*p* < 0.0001)

	Тест						
Сравниваемые							
группы	λ	df1	df2	F	%		
1.5							
Морфы – DA1	0.00000418	28	53	452908.04	53.11		
Морфы – DA2	0.00000763	28	53	248171.09	85.02		
Виды – DA1	0.00000217	28	121	1990790.4	57.57		
Виды – DA2	0.00000477	28	121	905521.05	90.06		

Примечание: DA1 и DA2 – первая и вторая дискриминантные функции;  $\lambda$  – коэффициент лямбда Уилкса, характеризующий долю дисперсии оценок дискриминантной функции; df1 и df2 – число степеней свободы; *F* – близость значений определителей ковариационных матриц; *p* – статистическая значимость; % – доля необъясненной изменчивости

данные о вкладе некоторых признаков в изменчивость формы тела дафний согласуются с даннымипроведенных ранее исследований по изучению формы тела родительских форм и гибридов некоторых видов дафний (Gieβler, 1997; 2001). Выявленные четкие различия между формой тела *D. cristata* и других видов дафний подтверждают вывод о том, что этот вид представляет собой одну из базальных ветвей комплекса *D. longispina* s.l. (Adamowicz et al., 2009).

# 3.3 Популяционная и межвидовая изменчивость формы тела у близкородственных видов группы *D. longispina* s.l.

Анализ популяционной и межвидовой изменчивости формы тела видов группы *D. longispina* s.l. выполнялся по 14 меткам (landmarks), на основе которых были получены значения для 24 относительных деформаций (RW). Значения RW в дальнейшем использовались для сравнения формы тела дафний в последующих статистических анализах.

Первая относительная деформация (RW) объясняла от 29.5% (*D. hyalina*) до 60.7% (*D. cristata*) общей изменчивости, вторая – от 12.5% (*D. cristata*) до 21.4% (*D. galeata*). Для всех видов основная доля изменчивости приходилась на первые пять RW – от 73.1% (*D. hyalina*) до 86.2% (*D. cucullata*). Для большинства видов основной вклад в изменчивость формы тела внесла форма рострума и передне-верхнего края раковины (L1, L12), для *D. cristata* наиболее значимым является форма переднего края головы (L1-L3). Для видов *D. hyalina* и *D. longispina* s.str. существенный вклад приходится на положение глаза (L14), в меньшей степени этот признак влияет на изменчивость видов *D. cristata* и *D. galeata*, а в изменчивости формы тела вида *D. cucullata* вообще играет незначительную роль.

Анализ изменчивости формы тела дафний на основе значений относительных деформаций показал, ЧТО популяции разных видов характеризуются различной степенью дифференциации (Таблица 3.3). При этом особи из разных популяций достоверно различаются по форме тела согласно результатам однофакторного анализа MANOVA (*P* < 0.001), что в значительной степени объясняется географической удаленностью выборок. Только для видов D. cucullata и D. hyalina популяционные различия были менее выражены.

Между популяциями большинства видов дафний также выявлены различия, как показал дискриминантный анализ на основе значений относительных деформаций. В некоторых случаях выборки популяций одного

Таблица 3.3 – Популяционная и межвидовая морфологическая изменчивость у близкородственных видов рода *Daphnia* по результатам однофакторного анализа MANOVA

Тест	D. cristata	D. cucullata	D. galeata	D. hyalina	D. longispina	Bce
						виды
λ	0.00006	0.00006	0.00001	0.1056	0.00003	0.00602
df1	120	144	384	24	216	120
df2	393	224	3688	23	1086	3332
F	19.77	6.63	12.64	8.12	12.30	50.82
р	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Примечание: см. Таблицу 3.1.

вида из близлежащих водоемов располагаются в непосредственной близости друг от друга. Так, выборки *D. galeata* из большинства озер Тоджинской котловины и выборки *D. longispina* s.str. из некоторых водоемов бассейна оз. Чаны формируют перекрывающиеся облака (Рисунок 3.5). Среди выборок *D.* galeata выделяется выборка популяции из оз. Котокельского, которая наиболее сильно отличается от всех остальных. В целом оба анализа (MANOVA и дискриминантный) обнаруживают достоверные различия между популяциями дафний. При этом для тех видов, которые имеют шлем (*D. cristata, D. cucullata, D. galeata*) различия вдоль первой дискриминантной оси главным образом объясняются формой головы (шлема), для других видов (*D. hyalina, D.* longispina s.str.) бо́льшую значимость приобретает форма раковины вносят наиболее значимый вклад в изменчивость формы тела всех видов дафний.



Рисунок 3.5– Популяционная изменчивость формы тела дафний в пространстве двух дискриминантных функций: а – *D. galeata*, б – *D. longispina* s.str.



Рисунок 3.6 – Популяционная изменчивость формы тела дафний в пространстве двух дискриминантных функций: а – *D. cristata*, б – *D. cucullata* 

Согласно результатам однофакторного анализа MANOVA достоверные различия в форме тела наблюдаются между всеми исследованными видами дафний (P < 0.001, Таблица 3.3). Дискриминантный анализ на основе значений относительных деформаций (RW) также выявил достоверные различия между близкородственными видами группы *D. longispina* s.str. (Рисунок 3.7). Эти различия преимущественно связаны с формой головы и раковины, которые, несомненно, характерны для каждого вида. Первая дискриминантная ось



Рисунок 3.7 – Межвидовая изменчивость формы тела видов группы *D*. *longispina*s.l.в пространстве двух дискриминантных функций

объясняет изменчивость видов *D. cristata* и *D. galeata* (56.36%); вторая – *D. longispina* s.str. – *D. hyalina* – *D. cucullata* (22.41%) (Рисунок 3.7). Между видами

*D. umbra* и *D. longispina* s.str. также отмечены значимые различия (*P* < 0.001), несмотря на то, что на графике области распределения их выборок перекрываются.

# 3.4 Зависимость формы тела дафний группы *D. longispina* s.l. от размеров и факторов внешней среды

Влияние размерных различий на форму тела дафний оценивали с помощью регрессионного анализа. Для этого переменные центроидногоразмера (CS) использовались в качестве независимой размерной переменной формы, и затем устанавливалась их связь с каноническими переменными. Значимых корреляций между значениями относительных деформаций для каждого вида и первой и второй дискриминантными функциями не выявлено.

Положительная корреляция зарегистрирована между независимой переменной CS и значениями первой дискриминантной функции (DA1 score)  $(R^2 = 0.082,$  коэффициент лямбда Уилкса  $\lambda = 0.0543;$  F = 22.89; P < 0.001,Рисунок 3.8). Самая низкая корреляция между этими величинами отмечена для вида *D. cucullata* (*P* < 0.05). При анализе межвидовой изменчивости положительная корреляция между ЭТИМИ переменными объясняется главнымобразом различиями в размерах тела при сравнении особей из популяции D.longispina s.str. из временного водоема вблизи г. Здвинска с особями из всех остальных популяций этого вида.

Значимых зависимостей между формой тела разных видов дафний и факторами внешней среды (глубиной водоема, прозрачностью, температурой и РН воды) не выявлено, на что указывают результаты регрессионного анализа (Таблица 3.4).



Рисунок 3.8 – График зависимости значений первой дискриминантной функции (DA1) от независимой переменной формы (CS) для видов группы *D. longispina* s.l.

Таблица 3.4 – Зависимость формы тела исследованных видов дафний от факторов внешней среды и от размерной составляющей (CS) по результатам анализа MANOVA

Фактор	$R^2$	F	df1	df2	р
Глубина ( <i>h</i> ), м	0.911	2.125	24	5	0.206
Температура ( $t$ ), °С	0.833	1.036	24	5	0.541
Прозрачность (S), м	0.917	2.289	24	5	0.182
рН	0.886	1.614	24	5	0.314
CS	0.457	23.880	24	681	0.001

Примечание:  $R^2$  – коэффициент корреляции; F, df1 и df2, p – см. Таблицу 3.1

96

Диаграмма Шепарда, построенная для настоящей конфигурации точек, характеризующих форму тела дафний, указывает на высокую зависимость воспроизведенных расстояний от исходных. Прослеживается некоторая тенденция к предпочтению видами *D. galeata*, *D. cristata* и *D. hyalina* глубоких постоянных водоемов с высокой прозрачностью воды (Таблица 3.3, Рисунок 3.9). Виды *D. cucullata* и *D. longispina* s.str. тяготеют к мелководным водоемам с более высокой температурой воды, при этом только последний из них встречался во временных водоемах.



Рисунок 3.9 – Зависимость распределения близкородственных и криптических видов группы *D. longispinas.*1. от условий окружающей среды по результатам неметрического многомерного шкалирования (NMDS) и диаграммы Шепарда

Таким образом, анализ морфологической изменчивости дафний с использованием метода геометрической морфометрии показал, что как между популяциями отдельных видов, так и между видами наблюдаются достоверные различия по форме их тела. В первую очередь изучение популяционной изменчивости дафний выявило наиболее значимые признаки для каждого вида, определяющие эту изменчивость. Для большинства видов наиболее важным признаком является положение рострума и форма вентрального края раковины. Существенный вклад в изменчивость вносит форма вентрального и дорсального края головы (*D. cristata*, *D. longispina* s.str.), положение глаза (*D. hyalina*, *D. longispina* s.str.) и форма вентрального края раковины (главным образом, ее верхней части).

Включение в анализ бо́льшего числа популяций и видов позволяет выявить наиболее значимые признаки, обусловливающие морфологическую изменчивость. Прослеживается сходство результатов анализа популяционной изменчивости вида *D. galeata* с использованием метода геометрической морфометрии и с использованием линейных промеров (Зуйкова, Бочкарев, 2011). Изучение популяционной изменчивости *D. longispina* s.str. показало, что особи дивергентной митохондриальной линии лонгиспино-подобных дафний из временного водоема бассейна оз. Чаны достоверно отличаются по форме тела (P < 0.001).

Спорным остается таксономический статус вида *D. hyalina*. Некоторые исследования подтверждают его видовой статус (Glagolev, 1986), другие относят его к экологической форме *D. longispina* s.str. из глубоких озер, в отличие от формы *D. rosea*, населяющей мелководные и временные водоемы (A taxonomic reappraisal..., 2008; Geßler, Englbrecht, 2009). Согласно результатам нашего исследования форма тела *D. hyalina* достоверно отличается от формы тела остальных видов (коэффициент лямбда Уилкса  $\lambda = 0.006$ , F = 50.82, P < 0.001).

В целом, собственные исследования генетической и морфологической изменчивости видов группы D. longispina s.l. и анализ литературных данных подтверждают факт, что таксономический статус многих форм и/или дивергентных митохондриальныхлиний остается проблематичным. Согласно исследованиям, настоящее время различия нашим В между ними обнаруживаются либо по форме тела, либо с помощью молекулярногенетического анализа (Zuykova et al., 2013; Contrasting phylogeographic Проведенное морфологической patterns..., 2018). нами исследование изменчивости в природных популяциях существенно дополняет сведения,

полученные ранее для клонов некоторых видов группы *D. longispina* s.l. (Gieβler, 1997; 2001).

Для исследованных видов дафний не выявлено значимой положительной корреляции между независимой переменной CS и значениями первой дискриминантной функции ( $R^2 = 0.082$ ). Наиболее существенные различия в размерах тела зарегистрированы при сравнении популяций *D. longispina* s.str., поскольку наиболее крупные особи этого вида были обнаружены во временном водоеме вблизи г. Здвинска (Новосибирская обл.). Это свидетельствует о том, что популяции одного вида в разных экологических условиях различаются по размерам тела. Слабая корреляция между переменной CS и значениями первой дискриминантной функции при сравнении разных видов указывает, главным образом, на различия в размерах тела особей *D. longispina* s.str. в разных популяциях.

Показано, что размер тела ракообразных сильно зависит от стадии жизненного цикла (в особенности, с размером тела при первом размножении) и экологических условий (Taylor, Gabriel, 1992; Richards, 1992). Результаты нашего исследования не противоречат литературным данным. Наиболее значимые различия между формой тела вида *D. cristata* и другими видами дафний подтверждают сделанный ранее вывод о том, что они представляют собой одну из базальных ветвей группы *D. longispina* s.l. (The scale of divergence..., 2009).

Несмотря на то, что оценка влияния факторов внешней среды на форму тела разных видов дафний не дала значимых результатов, отмечена тенденция в предпочтении видами определенных условий и водоемов, что подтверждает уже имеющиеся данные об их экологии (Gieβler, Englbrecht, 2009; A taxonomic reappraisal..., 2008). Анализ данных литературы показал, что оценка влияния факторов внешней среды на изменчивость формы тела водных животных не всегда приводят к значимому результату (Ross et al., 2014).

## 3.5 Изменчивость формы тела у криптических видов группы D. longispina s.l.

Анализ изменчивости формы тела между криптическими вида группы *D.* longispina s.l. выполнили на основе 24-х относительных деформаций (RW), полученных для 14 стандартных меток (ландмарок). Первая RW объясняла 28.99% общей изменчивости, вторая – 24.17% и третья – 12.05%. Вместе эти RW объясняли больше половины общей изменчивости формы тела дафний – 65.21%.

Анализ главных компонент на основе значений относительных деформаций показал, что первая ГК также объясняет 28.99% общей дисперсии, большей частью связанной со степенью изгиба вентрального края головы дафний (Рисунок 3.10). Вторая ГК (24.17%) объясняет изменчивость, связаннуюс формой вентрального края головы и раковины.

Все популяции/виды сформировали четко выраженные или частично перекрывающиеся облака в пространстве осей первых двух компонент. Оба анализа – частных деформаций и главных компонент – подтверждают факт существования изменчивости между популяциями и криптическими и близкородственными видами группы *D. longispina* s.l., которая, главным образом, связана с формой головы. Эти анализы дают основания для отделения особей вида *D. umbra* от особей *D. longispina* s.str. – *D. hyalina* – *D. dentifera* по различиям, обнаруженным в форме головы и раковины.

Кроме того, различия были выявлены и между последними тремя видами. Наиболее значимые различия установлены в относительном положении рострума, верхней части вентрального края раковины и в положении глаза относительно вентрального края головы. Степень изогнутости вентрального края головы представляет собой признак, имеющий высокий вклад в общую изменчивость формы тела. Однофакторный анализ MANOVA выявил общиезначимые различия между исследуемыми популяциями и видами *D*. *longispina* s.l.: коэффициент лямбда Уилкса  $\lambda = 0.0001$ , F = 69.7, p < 0.001.



Рисунок 3.10 – А – анализ главных компонент (РСА) и деформационные решетки с конфигурацией ландмарок для морфометрического анализа. Показаны экстремальные деформации формы тела для разных популяций близкородственных и криптических видов группы *D. longispina* s.l.; каждая деформационная решетка соответствует крайнему значению первой и второй РС. Б – анализ UPGMA (евклидово расстояние) на основе средних значений главных деформаций

Анализ UPGMA (евклидово расстояние) на основе средних значений 24 главных деформаций, полученных для каждой популяции/вида, позволил выявить три основных кластера (Рисунок 3.10 Б). Первый кластер объединил все выборки *D. umbra*. Второй кластер сформирован выборками из двух популяций *D. longispina* s.str. (озера Додот и Телецкое), а также выборками *D. lacustris* и *D. hyalina*. В этом кластере особи *D. longispina* s.str. из Телецкого

озераобъединились с особями *D. hyalina* из оз. Глубокое, а особи *D. longispina* s.str. из оз. Додот – с особями *D. lacustris* из музейной коллекции О.Г. Сарса. И, наконец, третий кластер сформирован выборками *D. dentifera* (оз. Среднее Кедровое) и *D. longispina* s.str. (пруд 2, Тоджинская котловина).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ

Изучение морфологии партеногенетических самок близкородственных и криптических видов группы *D. longispina* s.l. выявило, что большинство признаков формы тела не представляют собой ценности для их идентификации.

С традиционного морфологического помощью методов анализа чрезвычайно сложно (или практически невозможно) провести границы между партеногенетическими самками видов D. longispina s.str., D. hyalina и D. dentifera. Вид D. galeata, в случае присутствия у особей головного шлема, идентифицировать довольно легко. К тому же, согласно исследованиям А.Г. Кирдяшевой и А.А. Котова (2013), для диагностирования этого вида высокую таксономическую значимость приобретает такой признак как относительный размер медиального гребня, расположенного на заднем крае головы, а также положение гребня относительно антенны І. В то же время, в популяциях дафний могут присутствовать гибридные особи (например, D. galeata × D. longispina s.str.), что делает практически невозможным их идентификацию. Принадлежность к тому или иному родительскому виду, или признать их гибридный статус можно только с привлечением дополнительных методов анализа – морфометрических или генетических (Benzie, 1988; Gießler, 1997; Identifying hybridizing taxa..., 2010).

Тем не менее, при идентификации особей *D. longispina* s.str. и *D. hyalina* следует обращать внимание на форму переднего края головы, который у первого вида чаще всего имеет вогнутую форму, и длину рострума, который (как правило!) более короткий у второго вида. Несмотря на эти особенности,

все-таки следует признать, что эти признаки являются крайне размытыми и неопределенными, на что указывалось и ранее (Кирдяшева, Котов, 2013).

Партеногенетические самки криптических видов группы *D. longispina* s.l. – *D. umbra* и *D. turbinata* – характеризуются более развитой антенной I и расположенной на ней чувствительной щетинкой по сравнению с вышеупомянутыми видами. Однако по этому признаку затруднительно дискриминировать собственно сами эти виды. Выраженная пигментация раковины у *D. umbra* и *D. turbinata* может быть использована при их идентификации, однако необходимо отметить, что и этот признак присущ не только этим видам.

Таксономическая значимость морфологических признаков, таких как длина флагеллума и относительные размеры сенсорной щетинки и эстетасков антенны I, у самцов в группе *D. longispina* s.l., как и предполагалась, была выше, чем у партеногенетических самок. Тем не менее, и эти признаки оказались пригодными только для дискриминации *D. umbra* и *D. turbinata* от видов *D. longispina* s.str. – *D.* cf. *hyalina* – *D. dentifera*. Для идентификации каждого вида в пределах этих двух категорий их таксономическая значимость не столь очевидна и они все-таки остаются малопригодными.

Анализ изменчивости формы тела для форм и видов группы D. longispina s.l. на популяционном и видовом уровнях выявил различия между ними и позволил дать их количественную оценку. Различия в форме тела как между популяциями, так и видами группы D. longispina s.l. определяются главным образом, формой рострума, верхней части вентрального края раковины, вентрального края головы (степенью ее изогнутости) и положением глаза При относительно вентрального края головы. ЭТОМ популяционная изменчивость обусловлена, прежде всего, их географической удаленностью. Значимые различия в форме тела были выявлены между особями D. umbra и D. longispina s.str. – D. hyalina – D. dentifera. Было показано, что особи D. umbra характеризуются более прямым дорсальным краем раковины и вентральным краем головы в отличие от *D. longispina* s.str.

Факторы внешней среды не оказывают существенного влияния на форму тела дафний, однако нами отмечена тенденция к предпочтению некоторыми видами определенных экологических условий и водоемов.

В традиционный морфологический целом, анализ И метод геометрической морфометрии показали согласованность результатов. Несмотря на высокую фенотипическую пластичность изучаемых форм и видов дафний, на основе обширного фактического материала выявлены наиболее значимые признаки, обусловливающие популяционную и видовую изменчивость, и подтверждены достоверные различия в форме тела между формами/видами (в том числе и криптическими) группы D. longispina s.l. Несомненно, что традиционного морфологического совместное использование И морфометрического анализов более эффективно для идентификации разных морф, близкородственных и криптических видов группы.

# ГЛАВА 4 МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ФИЛОГЕНИЯ И ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ГАПЛОТИПОВ

Как указывалось выше (Глава 1, п. 1.3), широкое использование методов молекулярно-генетического анализа при изучении ветвистоусых ракообразных способствовало не только развитию систематики, но также позволило установить степень родства между таксонами и выявить эволюционнозначимые внутривидовые группировки (Kořínek, Hebert, 1996; Kotov et al., 2006а; 2009b; The scale of divergence..., 2009). Большинство первых филогенетических схем для видов группы Daphnia longispina s.l. было об реконструировано на основе данных изменчивости фрагментов митохондриальных генов 12S и ND2 в популяциях из регионов Центральной и Западной Европы, Северной Америки и Японии. Позднее были изучены популяции дафниий из водоемов, расположенных на территории Памира, Гималаев и Китая.

Эти исследования существенно расширили знания о филогении рода. Один из основных результатов данных исследований заключался В установлении монофилетичности филогрупп, соответствующих видам D. longispina s.str., D. galeata и D. cucullata. Кроме того, были обнаружены глубоко дивергентные митохондриальные линии в пределах вида D. longispina s.str. и выполнена переоценка таксономического статуса некоторых форм (A taxonomic reappraisal..., 2008). Изучение популяций D. galeata и D. rosea (= D. longispina s.str.) из водоемов Голарктики подтвердило гипотезу о стремительной постледниковой экспансии этих видов из рефугиумов, расположенных как Новом, так и Старом Свете, тогда как самая древняя гаплогруппа была обнаружена на территории Японии, где не было покровного оледенения (Ishida, Taylor, 2007a; 2007b). Более того, работы С. Ишиды и Д. Тэйлора подтвердили сильное влияние эффекта основателя на распространение митохондриальных гаплотипов D. longispina s.str. В дальнейшем это явление подтвердилось при исследовании популяций D. longispina s.str. из других регионов (Congruent patterns..., 2012; Local and regional..., 2014; At the edge..., 2013; Diversity of the *Daphnia*..., 2014).

В вышеуказанных исследованиях образцы дафний из водоемов, расположенных на территории РФ были представлены либо в единичных экземплярах, либо не представлены совсем. В связи с этим следует констатировать, что обширные территории Северной Евразии оставались плохо изученными. Безусловно, данный факт не мог не вызывать сомнений относительно адекватности имеющихся филогенетических реконструкций для группы видов *Daphnia longispina* s.l., а также о генеалогических связях между гаплотипами и гаплогруппами.

Чтобы в какой-то мере заполнить данный пробел, наши генетические исследования главным образом были сконцентрированы на популяциях и видах этой группы кладоцер из разнотипных водоемов Сибири. При этом важно было показать место сибирских популяций и видов в общей филогенетической схеме группы, для чего использовались все имеющиеся на данный момент нуклеотидные последовательности для фрагмента гена 12S митохондриальной ДНК в международной базе данных GenBank (полный блок).

Для сравнения реконструкцию филогении выполняли также на основе полученных в результате собственного исследования нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 12S мтДНК (оригинальный блок) и объединенных фрагментов генов 12S+16S+ND2 (объединенный блок) мтДНК. Кроме того, молекулярно-генетические исследования популяций массовых видов группы *D. longispina* s.1. – *D. galeata*, *D. longispina* s.str., *D. dentifera* – позволили выявить отдельные гаплогруппы и установить генеалогические связи между ними. Помимо массовых видов группы получены некоторые данные о митохондриальных группах для редких (криптических и эндемичных) видов – *D. umbra*, *D. turbinata* и *D.* cf. *longispina*.

## 4.1 Филогения группы Daphnia longispina s.l. на основе полного 12S блока

Все имеющиеся на момент проводимого исследования нуклеотидные последовательности фрагмента гена 12S мтДНК, по результатам двух анализов анализам – Байесовского (BI) и максимального правдоподобия (ML) – разделились на девять кластеров, соответствующих видам группы D. longispina Рисунок Γ.1). Десятый s.1. (Приложение Γ. кластер состоял ИЗ последовательностей вида *D. cristata*, используемых в качестве внешней группы. Большая часть видовых кластеров сформировала монофилетичные клады, за исключением видов D. cf. longispina и Daphnia sp. «Berse», положение которых в общей филогении группы было неопределенным. Кроме того, в каждом видовом кластере отмечались множественные дивергентные митохондриальные линии (субклады) с поддержками ветвей до 100%.

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена 12S мтДНК номинативного вида *D. longispina* s.str. четко разделились на две крупные клады, условно названными как «сибирская» (А) и «европейская» (Б) соответственно географическому распространению гаплотипов. «Сибирская» клада А сформирована главным образом гаплотипами из удаленных горных водоемов Сибири. Гаплотипы *D. dentifera* из водоемов Якутии и Байкальского региона также сгруппировались в отдельную субкладу (91%) в пределах видового кластера. Более того, гаплотипы этого вида из Якутии сформировали явно выраженную дистантную группу (100%).

Образцы D. turbinata заняли в общей филогенетической схеме базальное положение по отношению к кластеру, объединяющему близкородственные виды D. longispina s.str. – D. dentifera – D. galeata – D. cucullata. Гаплотипы видов D. umbra и D. lacustris сформировали отдельную кладу. В свою очередь, umbra объединились гаплотипы D. в несколько дивергентных митохондриальных субклад географическому соответственно ИХ распространению.



Рисунок 4.1 – ML-филогенетическое дерево для видов группы *D. longispina* на основе оригинального 12S блока данных. Показаны бутстрэп значения поддержки ветвей выше 70%. Масштаб – число ожидаемых замен на сайт (ID гаплотипов Приложение A, Таблица A.1; символы – Приложение Г, Рисунок Г.1)
#### 4.2 Филогения на основе оригинального 12S блока

Реконструкция филогенетических отношений в пределах группы D. longispina s.l. на основе блока из оригинальных 12S нуклеотидных последовательностей мтДНК выявила семь хорошо поддерживаемых кластеров, соответствующих номинативным видам (Рисунок 4.1). Этот анализ, в противоположность анализу на основе полного 12S блока, не подтвердил монофилии D. turbinata и других видов группы D. longispina s.l. Более того, была обнаружена несогласованность в топологии филогенетических деревьев, реконструированных на основе анализов BI И ML (Рисунок 4.2). Близкородственные виды D. longispina s.str. - D. dentifera, D. galeata - D. *cucullata*, так же, как и *D. umbra* – *D.* cf. *longispina* сформировали отдельные кластеры со значимой поддержкой ветвей в узлах ветвления. Кластер, объединяющий два последних вида, следует рассматривать как внешнюю группу по отношению к другим видам комплекса.

Согласно ВІ анализу, гаплотипы *D. umbra – D.* cf. longispina сформировали общую базальную кладу вместе с гаплотипами *D. turbinata* (Рисунок 4.2). Все 12S-последовательности номинативного вида *D. longispina* s.str., так же, как и в случае полной 12S-филогении, сформировали две дистантные клады. Гаплотипы в пределах клады Б разделились в несколько субклад с высокими поддержками ветвей (Рисунки 4.1, 4.2). В пределах кластера *D. galeata* гаплотипы из водоемов Монголии выделились в отдельную, явно дивергентную, субкладу. Гаплотипы *D. umbra* из разных, географически удаленных, регионов также сформировали дистантные субклады в пределах общего видового кластера.

Структура расщепленной сети для группы видов *D. longispina* s.l., построенной на основе оригинального блока данных, полностью согласовывается с топологией ML-дерева, и поддержки ветвей имеют высокие бутстрэп значения – от 92 до 100% (Рисунок 4.3). Интересно, что этот

подходуказал на более тесную связь между видами *D. turbinata* и *D. longispina*– *D. dentifera*, чем ВІ и ML филогении.



Рисунок 4.2 – ВІ-филогенетическое дерево для видов группы *D. longispina*s.l. на основе оригинального 12S блока данных. В узлах ветвления показаны значения апостериорной вероятности выше 72%. Масштаб – число ожидаемых замен на сайт (ID гаплотипов Приложение A, Таблица A.1; символы – Приложение Г, Рисунок Г.1)



Рисунок 4.3 – Сетчатые филогении между видами группы *D. longispina* s.l. на основе оригинального 12S блока данных: (I) простирающееся дерево, *p*-дистанции. Бутстрэп поддержки указаны для каждого разветвления; масштаб – число ожидаемых замен на сайт. (II) медианная сеть 12S гаплотипов для двух клад *D. longispina* s.str.; m1-m4 – медианные векторы. Размер каждого кружка пропорционален относительной частоте гаплотипов (масштаб в правом верхнем углу). Для каждой ветви указано число мутаций, если оно не равно 1. (ID гаплотипов Приложение А, Таблица А.1; символы – Приложение Г, Рисунок Г.1)

#### 4.3 Филогения на основе объединенного 12S+16S+ND2 блока

По результатам как BI, так и ML анализа, объединенные 12S+16S+ND2 нуклеотидныепоследовательности D. longispina для группы видов s.l. разделились на пять кластеров, соответствующих номинативным видам, и филогенетические деревья имели сходную топологию (Рисунок 4.4). В целом все кластеры аналогичны тем, которые были получены при реконструкции обеих 12S филогений, за исключением кластеров для D. cucullata и D. umbra, поскольку эти виды не были представлены в данном анализе. Необходимо отметить важное преимущество филогенетического дерева на основе блока фрагментов мтДНК, объединенного трех заключающегося В подтверждении монофилии клады D. longispina s.str. – D. dentifera – D. turbinata (100/96%). Этот результат полностью соответствует тому, который был получен при филогенетическом анализе полного блока 12S нуклеотидных последовательностей. Кроме того, важным результатом является очевидная монофилия этой клады и клады D. galeata.

Более того, филогенетический анализ на основе объединенного блока нуклеотидных последовательностей мтДНК подтверждает существование двух больших клад в пределах вида *D. longispina* s.str., и уровень генетической дивергенции между ними значительно выше, чем в случае обеих 12S филогений. Каждый видовой кластер, как и обе клады *D. longispina* s.str., включает в себя одну и более дивергентных митохондриальных линий (субклад) со значимыми поддержками ветвей (Рисунок 4.4). В пределах клады А одна гаплогруппа образована образцами *D. longispina* s.str. из озер Горного Алтая (верхнее течение бассейна р. Обь), а другая – образцами из оз. Додот (верхнее течение бассейна р. Енисей). В кладе Б выделяются три дивергентные группы гаплотипов, в одной из которых имеется дополнительная внутренняя



Рисунок 4.4 – Байесовское филогенетическое дерево для видов группы *D.* longispina на основе объединенного блока 12S+16S+ND2 нуклеотидных последовательностей. Значения апостериорной вероятности (BI) и бутстрэп теста (ML) выше 75% указаны для всех значимых узлов ветвления, в процентах. Масштаб – число ожидаемых замен на сайт (ID гаплотипов Приложение A, Таблица А.1; символы – Приложение Г, Рисунок Г.1)

подгруппа, включающая в себя гаплотипы из временных водоемов бассейна оз. Чаны. Вторая гаплогруппа сформирована последовательностями из географически удаленных популяций *D. longispina*: Горного Алтая, бассейна оз. Чаны и оз. Глубокого. И, наконец, третья группа объединяет гаплотипы *D. hyalina* из оз. Хальштаттерзее (Австрия). Что касается вида *D. dentifera*, дивергентная митохондриальная линия в этом видовом кластере сформирована гаплотипами из озера Среднее Кедровое (бассейн оз. Байкал).

Объединенный 12S+16S+ND2 блок митохондриальных гаплотипов D. galeata подразделяется на три дистантные субклады. Первая из них сформирована гаплотипами из Усть-Илимского водохранилища (бассейн оз. Байкал) и оз. Большого (бассейн р. Обь). Во второй субкладе объединились гаплотипы из оз. Каракуль; а в третьей – гаплотипы D. galeata из географически удаленных популяций, а именно: из оз. Кадыш (Тоджинская котловина, бассейн р. Енисей) и безымянного пруда вблизи г. Владивосток (российский Дальний Восток). Объединенные 12S+16S+ND2 фрагменты мтДНК для криптического вида D. cf.longispina из временного водоема вблизи г. Барабинск (бассейн оз. Чаны) также разделились на две субклады (Рисунок 4.4), в отличие от 12S 16S мтДНК, фрагментов генов И которые были представлены единственным гаплотипом.

## 4.4 Генеалогические связи между митохондриальными гаплотипами массовых видов группы

**Daphnia galeata.** Географическое распределение гаплотипов *D. galeata* изучалось по двум митохондриальным маркерам – некодирующему фрагменту reнa 12S pPHK и белок кодирующему фрагменту ND2. Медианная сеть для 12S гаплотипов *D. galeata* характеризовалась звездообразной структурой, в центре которой расположен гаплотип H5 (Рисунок 4.5 I), который встречается практически во всех регионах Палеарктики, включая географически удаленные территории – Западную и Восточную Европу, Сибирь, Забайкалье, российскую часть Дальнего Востока, Японию и Китай, и даже Северную Америку. Кроме этого, во всех регионах отмечались уникальные 12S гаплотипы *D. galeata*; бо́льшая часть которых зарегистрирована в Японии, Китае, Северной Америке (H1, H6, H13, H18, H20, H43) и Сибири (H24, H27-H29, H31-H38, H46).

Некоторые из этих гаплотипов были общими для Сибири и российской части Дальнего Востока (H25, H30), а также Сибири, Японии и Китая (H10).

Географическое распределение ND2 гаплотипов для *D. galeata* сильно отличалось от такового для 12S гаплотипов, что в первую очередь отразилось на структуре медианной сети, которая оказалась более сложной (Рисунок 4.5 II). ND2 гаплотипы сформировали несколько звездообразных паттернов в общей структуре сети, центральные гаплотипы которых зарегистрированы в популяциях из разных регионов Палеарктики – Сибири и Забайкалье (H25), Сибири и Европе (H27), Сибири, Западной Европе и Северной Америке (H3). Два центральных гаплотипа имеют региональное распространение: Западная Европа (H7) и Северная Америка (H17). Несколько гаплотипов из Северной Америки (H1, H11-H17) довольно далеко отстоят от остальных, формируя отдельный региональный кластер, с которым тесно связан гаплотип H37, обнаруженный в популяции *D. galeata* из пруда вблизи г. Благовещенск (российская часть Дальнего Востока).

Уникальные ND2 гаплотипы были обнаружены в каждом регионе, при этом ни одного общего гаплотипа не зарегистрировано на территории европейской части России и Западной Европы. Дистантные ND2 гаплотипы *D.* galeata отмечались в популяциях из Сибири (H10, H19, H26, H28-H30, H49) и европейской части России (H42). Максимальной частотой характеризовался гаплотип H25, обнаруженный в популяциях *D. galeata* из Сибири и Забайкалья и тесно связанный с гаплотипами из Японии, европейской части России и Западной Европы (Рисунок 4.5 II).



Рисунок 4.5 – Медианные сети 12S (I) и ND2 (II) гаплотипов для *Daphnia* galeata. Размер кружков соответствует относительной частоте гаплотипов (масштаб указан в правом верхнем углу); m1-m4 – медианные векторы. Для каждой ветви указано число мутаций, если оно не равно 1

41

H\_42

H\_39

H 44

Daphnia longispina s.str. Один из самых значимых результатов исследования географического распределения 12S гаплотипов D. longispinas.str. заключался в том, что в популяциях из Сибири и Европы не было обнаружено ни одного общего гаплотипа. Более того, с единственным исключением одного общего 12S гаплотипа H20 из удаленных регионов (Израиль и Эфиопия), все остальные гаплотипы D. longispina s.str. имели УЗКО региональное распространение (Рисунок 4.6 I). Самая высокая частота зарегистрирована для гаплотипов H10 (Западная Европа), H42 (Восточная Сибирь) и H30 (Западная и Восточная Сибирь). Наиболее дистантные 12S гаплотипы выявлены в популяциях из Западной Европы (Н8, Н9, Н45), Восточной Европы (Н21, Н34) и Западной Сибири (H43). В общей медианной сети 12S гаплотипов D. longispina s.str. отмечается несколько звездообразных структур с центральными гаплотипами из Западной Европы (H7 и H16), из Сибири (H30 и H36), и одним гипотетическим гаплотипом m2.

В целом, гаплотипы D. longispina s.str. разделились на две хорошо условно названные как «сибирская» выраженные клады, клада Α И «европейская» клада Б и соответствующие тем, которые были выявлены по результатам филогенетических анализов (Рисунки 4.1-4.4). При этом часть 12S гаплотипов из сибирских популяций этого вида относится к «сибирской» кладе, другая часть – к «европейской». Клада А с центральным гаплотипом H30 сформирована главным образом 12S гаплотипами, обнаруженными популяциях из бассейнов оз. Чаны и р. Енисей (Западная и Восточная Сибирь). Гаплотипы D. longispina s.str. из сибирских популяций, относящиеся к кладе Б, связаны с гаплотипами из Западной Европы через центральный гаплотип Н36, обнаруженный во временном водоеме бассейна оз. Чаны (Западная Сибирь). Гаплотипы обеих клад D. longispina s.str. связаны друг с другом через гаплотип Н4 из Западной Европы (оз. Бесерро, Испания) и семь мутаций.

Сеть медианного связывания, построенная на основе оригинального блока 12S гаплотипов вида *D. longispina* s.str., однозначно свидетельствует в пользу существования в его пределах двух крупных клад (Рисунок 4.3, II).

«Сибирская» клада А характеризуется звездообразной структурой с центральным 12S гаплотипом H3, который встречается в большинстве популяций из различных регионов Сибири. Однако основная часть гаплотипов



Рисунок 4.6 Медианные сети 12S гаплотипов для *Daphnia longispina* s.str. (I) и *Daphnia dentifera* (II). Обозначения соответствуют Рисунку 4.5

этой клады обнаружена в горных водоемах Алтае-Саянской горной страны и

бассейна оз. Байкал. Те 12S гаплотипы *D. longispina* s.str. изсибирских популяций, которые входят в «европейскую» кладу Б, преимущественно регистрировались в популяциях из водоемов Обь-Иртышского бассейна. Исключение составил единственный гаплотип, отмеченный в безымянном пруду Тоджинской котловины (бассейн р. Енисей, Республика Тыва). Несколько 12S гаплотипов *D. longispina* s.str. из водоемов Урала, Восточной и Центральной Европы также относятся к кладе Б. Между двумя кладами выявлено семь замен и три гипотетических гаплотипа.

**Daphnia dentifera.** Поскольку вид *D. dentifera* на территории России обнаружен совсем недавно, его ареал в настоящее время изучен недостаточно полно по сравнению с вышеупомянутыми видами группы *D. longispina* s.l. Тем не менее, нами были установлены некоторые особенности распространения митохондриальных 12S гаплотипов этого вида на территории российской части Евразии.

Так, в структуре медианной сети 12S гаплотипов *D. dentifera* можно выделить три основных группы (Рисунок 4.6 II). В первую группу с явно выраженной звездообразной структурой входят гаплотипы из Северной Америки и Японии с центральным общим для этих регионов гаплотипом H1. С этой группой через гипотетический гаплотип m1 связана другая группа гаплотипов, встречающихся исключительно в популяциях *D. dentifera* из Сибири и Монголии. Структурообразующий гаплотип этой группы H25 зарегистрирован в популяциях из бассейна оз. Байкал и Якутии, с ним связано несколько минорных гаплотипов из Монголии (H26 и H27) и Якутии (H28 и H29). Третья группа сформирована исключительно гаплотипами из водоемов Китая (H19-H24).

# 4.5 Генеалогические связи между митохондриальными гаплотипами криптических и редких видов группы

Daphnia umbra. На территории юга Сибири вид D. umbra был впервые

обнаружен с помощью молекулярно-генетического анализа в оз. Борзу-Холь (бассейн р. Енисей, Республика Тыва). Впоследствии выявлена еще одна популяция в безымянном озере на п-ве Таймыр. В структуре медианной сети 12S гаплотипов *D. umbra* обнаружена одна четко выраженная звездообразная структура с центральным гаплотипом H3, которая сформирована гаплотипами из водоемов Норвегии, Финляндии и гаплотипом H7 из Канады (Рисунок 4.7). Гаплотипы H5 и H6 (Канада) связаны с этой структурой через два гипотетических гаплотипа и три мутации. Гаплотипы *D. umbra* из двух сибирских популяций – H1 (оз. Борзу-Холь) и H10 (п-в Таймыр) формируют



Рисунок 4.7 – Медианная сеть 12S гаплотипов для *Daphnia umbra*. Обозначения соответствуют Рисунку 4.5

две дистантные ветви, связанные между собой и с остальными гаплотипами через гипотетический гаплотип m3. Эти популяции сильно дифференцированы как друг от друга, так и от американских и европейских популяций. Очевидно, что длительная временная изоляция между этими популяциями способствовала столь глубокой генетической дивергенции.

*Daphnia turbinata* и *Daphnia* cf. *longispina*. К сожалению, незначительное число образцов этих видов, доступных для молекулярно-генетических

исследований, не позволяет в полном объеме оценить степень дифференциации популяций и установить генеалогические связи между гаплотипами. К настоящему времени данные о генетической структуре имеются только для трех популяций D. turbinata и одной популяции криптического (возможно, и эндемичного) вида группы D. cf. longispina. Популяции первого ИЗ вышеупомянутых видов зарегистрированы в двух озерах Монголии (Жаахан и Харгал-Нуур) и в безымянном пруду Тоджинской котловины (бассейн р. Енисей, Республика Тыва). Для второго гипотетического вида единственнаяпопуляция обнаружена во временном водоеме Новосибирской области недалеко от г. Барабинск (бассейн оз. Чаны). В популяциях D. turbinata выявлено три 12S гаплотипа – два в Монголии и один в Республике Тыва. Для популяций из Монголии определено по два 16S и ND2 гаплотипа. В популяции D. cf. longispina зарегистрировано по одному 12S и 16S гаплотипу и два ND2 гаплотипа (Приложение А, Таблица А.1).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ

Реконструкция митохондриальной филогении для группы D. longispina s.l. на основе трех различных блоков данных (полный и оригинальный 12S блоки, объединенный 12S+16S+ND2 блок) выявила несколько крупных клад, соответствующих биологическим видам. Некоторая несогласованность в топологии трех деревьев обусловлена неопределенным положением сибирских видов D. turbinata и D. cf. longispina (также как и европейской формы Daphnia sp. «Berse») в общей филогенетической схеме группы. Мы полагаем, что наиболее адекватная филогения группы D. longispina s.l. получена на основе 12S+16S+ND2 объединенного блока. В пользу данного аргумента свидетельствуют более высокие поддержки главных ветвей, отдельных клад и внутренних дивергентных митохондриальных линий. Кроме того, реконструкция на основе объединенного митохондриального блока подтверждает монофилетические отношения между видами D. longispina – D.

*dentifera – D. turbinata – D. galeata*. Необходимо отметить, что образцы гипотетически нового вида *D.* cf. *longispina* образуют дистантный кластер, совершенно не связанный с другими видами группы *D. longispina* s.l., но можно предположить более близкую филогенетическую связь между ним и видами *D. umbra* и *D. lacustris*.

Обобщение результатов исследования генеалогических связей между митохондриальными гаплотипами у массовых видов группы D. longispina s.l. позволило выявить некоторые особенности и закономерности. Медианная сеть 12S galeata гаплотипов вида D. характеризуется выраженной ярко звездообразной структурой. В противоположность 12S сети, медианная сеть ND2 гаплотипов этого вида имеет более сложную структуру с несколькими слабо выраженными звездообразными структурами. Причины такой несогласованности заключаются в разном уровне полиморфизма этих генов мтДНК, соотношении транзиций и трансверсий, числе полиморфных сайтов и обшей последовательностей, выборок, длине нуклеотидных размере эффективном популяционном размере, и т.п. (DeSalle et al., 1987; Mitochondrial mismatch analysis..., 1996; Schneider, Excoffier, 1999; Grant, 2015).

Совершенно иная структура медианных сетей 12S гаплотипов отмечена для двух других массовых видов группы – D. longispina s.str. и D. dentifera. Обе сети состоят из нескольких звездообразных структур, центральные гаплотипы которых имеют узко региональное распространение. При этом все гаплотипы *D. longispina* s.str. четко разделились на две крупные митохондриальные клады, характеризующиеся разной степенью генетической дифференциации. Гаплотипы «сибирской» клады А генетически более однородны и частота их встречаемости наиболее высока в горных и предгорных регионах Южной Сибири. Напротив, гаплотипы «европейской» клады Б встречаются на всем протяжении западной части Евразии – от Западной Европы до бассейна р. Енисей (за исключением одного гаплотипа, выявленного в единственной популяцииD. longispina s.str. из пруда в Тоджинской котловине, бассейн р. Большой Енисей). «Европейская» митохондриальная клада этого

характеризуется высокой генетической структурированностью, поскольку в нее входит большое число дивергентных внутренних субклад.

Гаплотипы D. umbra из сибирских популяций сильно дифференцированы от североамериканских и скандинавских популяций, что предполагает продолжительный период их изоляции. Незначительное число известных к настоящему моменту популяций двух других криптических таксонов D. turbinata и D. cf. longispina не позволяет в полной мере охарактеризовать генеалогические связи между гаплотипами и степень их дифференциации. Можно лишь отметить, что к настоящему времени популяции первого вида локализованы в водоемах Алтае-Саянской горной страны. Для второго таксона зарегистрирована популяция временного только одна ИЗ водоема Новосибирской области.

# ГЛАВА 5 ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ, СТРУКТУРА И ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ ИСТОРИЯ

Помимо филогенетических реконструкций, популяционно-генетические методы исследования способствовали изучению демографической истории популяций, получению сведений об уровне генетической дифференциации внутри них и между ними, а также факторах, их определяющих. Особенности генетической структуры популяций, как правило, представляют собой результат последовательных исторических событий (Avise, 2000). Выявление общих закономерностей формирования генетического разнообразия в пределах видов или видовых комплексов в мировом масштабе – довольно сложная задача, решению которой зачастую препятствует полное отсутствие информации о генетической структуре популяций, или она может быть ограничена региональными масштабами. Чтобы избежать этого недостатка, необходимо изучать популяционно-генетическую структуру для каждого таксона на обширных географических территориях, в идеале – в мировом масштабе. Очевидно, что подобные исследования будут способствовать лучшему пониманию причин формирования разного уровня генетического полиморфизма И дивергенции между отдельными филогенетическими группами и видами.

Как указывалось В предыдущей главе, первые популяционногенетические исследования разных таксонов кладоцер были ограничены территориально, что не могло не сказываться на выяснении истинных причин и источников того или иного уровня генетической дифференциации популяций. Обширные территории азиатской части России оставались в этом плане совершенно не исследованными на протяжении длительного времени. Соответственно, отсутствовала информация об уровне генетического полиморфизма, о генетической структуре и степени дивергенции популяций разных видов и видовых групп кладоцер. Поскольку эти данные необходимы событий, оказывающих ДЛЯ реконструкции исторических влияние на

формирование современного разнообразия кладоцер, нами была изучена генетическая структура и полиморфизм в популяциях массовых и редких видов группы *D. longispina* s.l.

## 5.1 Полиморфизм митохондриальной ДНК и эволюционная дивергенция

Уровень генетического полиморфизма для объединенного фрагмента 12S+16S+ND2 в целом был выше, чем для фрагмента гена 12S мтДНК для всех исследованных видов группы *D. longispina* s.l. (Таблица 5.1, Приложение Г, Таблица Г.1). Наиболее заметные различия между двумя блоками данных выявлены при анализе уровня гаплотипического разнообразия ( $H_d$ ) у *D. dentifera*. Высокие значения нуклеотидного разнообразия ( $\pi$ ) отмечены для клады Б вида *D. longispina* s.str., а также для *D. dentifera* и *D. galeata*. Виды *D. longispina* (особенно клада Б), *D. galeata* и *D. umbra* характеризовались высоким числом гаплотипов (h) и полиморфных сайтов (S) (Таблица 5.1, Приложение Г, Таблица Г.1). Также высокие значения  $H_d$  и  $\pi$  обнаружены для *D. umbra*.

Эволюционная дивергенция (нескорректированные *p*-дистанции) для всех пар оригинальных нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 12S мтДНК в пределах и между изучаемыми видами и кладами группы *D. longispina* s.l. были высокими – 7.3-12.5% (Таблица 5.2). В пределах конкретных видов наиболее высокие значения *p*-дистанций зарегистрированы для *D. umbra* – 1.4%. Явная генетическая дивергенция обнаружена между популяциями *D. longispina* s.str., относящимся к разным кладам (Приложение Г, Таблица Г.2). Генетические дистанции для *D. dentifera* указывают на высокий уровень дивергенции между популяциями из бассейна оз. Байкал и популяциями из Монголии, Китая (Непала), Канады и США при их попарном сравнении

Таблица 5.1 – Полиморфизм мтДНК на основе оригинального 12S и объединенного 12S+16S+ND2 блоков данных для видов и клад группы *D. longispina* s.l.

Вилы		n		h		5	$H_{ m d}\pm$	st.d.	$\pi \pm \text{st.d.}$	
	12 <b>S</b>	con	12S	con	12 <b>S</b>	con	12 <b>S</b>	con	12S	con
<i>D. longispina</i> клада А	46	11	17	9	22	32	0.768±0.059	0.945±0.066	0.0024±0.0005	0.0045±0.0011
<i>D. longispina</i> клада Б	24	8	19	8	28	73	0.971±0.024	1.000±0.063	$0.0088 \pm 0.0011$	$0.0149 \pm 0.0630$
D. dentifera	21	4	5	4	6	4	0.352±0.131	$1.000 \pm 0.177$	$0.0015 \pm 0.0006$	$0.0013 \pm 0.0004$
D. turbinata	7	3	3	1	2	0	$0.667 \pm 0.160$	0	$0.0014 \pm 0.0004$	0
D. cucullata	9	—	5	—	7	—	$0.861 \pm 0.087$	—	$0.0049 \pm 0.0008$	—
D. galeata	28	19	12	14	22	64	0.831±0.063	0.936±0.047	$0.0046 \pm 0.0012$	$0.0060 \pm 0.0011$
D. umbra	7	—	4	—	17	—	0.810±0.130	—	$0.0150 \pm 0.0033$	_
D. cf. longispina	5	4	1	2	0	1	0	$0.667 \pm 0.204$	0	$0.0004 \pm 0.0001$

Примечание: con – объединенный 12S+16S+ND2 блок; *n* – число проанализированных экземпляров; *S* – число полиморфных сайтов; *h* – число гаплотипов; *H*<sub>d</sub> – гаплотипическое разнообразие; π – нуклеотидное разнообразие; st.d. – стандартное отклонение

Таблица 5.2 – Оценка эволюционной дивергенции (нескорректированные *p*-дистанции, %) на основе попарного сравнения оригинальных 12S нуклеотидных последовательностей мтДНК в пределах и между исследованными видами *D*. *longispina* s.l. и кладами *D. longispina* s.str. Над диагональю указана стандартная ошибка

Виды	В пределах	D. longispina	D. longispina	D. dentifera	D. turbinata	D. cucullata	D. galeata	D. umbra	<i>D</i> . cf.
	вида/клады	клада А	клада Б						longispina
D. longispina клада А	0.2±0.1	_	0.5	0.7	1.0	1.2	1.1	1.3	1.2
<i>D. longispina</i> клада Б	0.9±0.2	2.2	_	0.7	1.0	1.2	1.1	1.2	1.3
D. dentifera	0.1±0.1	3.6	3.6	_	0.9	1.2	1.1	1.2	1.3
D. turbinata	0.1±0.1	7.0	7.2	6.8	-	1.3	1.2	1.2	1.3
D. cucullata	0.5±0.2	10.3	10.2	10.0	11.2	_	1.0	1.5	1.4
D. galeata	$0.4{\pm}0.1$	7.7	8.5	8.5	9.5	7.9	_	1.3	1.3
D. umbra	$1.4{\pm}0.4$	11.7	11.9	11.4	11.5	14.9	13.1	_	1.2
D. cf. longispina	0	9.4	10.3	10.7	10.9	12.6	11.3	11.1	_



Рисунок 5.1 – Графики матриц парных *F*<sub>ST</sub> дистанций между географическими популяциями *D. longispina*s.str. (I), *D. dentifera* (II) и *D. galeata* (III). Коды для географических популяций даны в Приложении Б, Таблицы Б.1-Б.3

(Приложение Г, Таблица Г.3). Высокая эволюционная дивергенция отмечена практически между всеми географическими популяциями *D. galeata*, заисключением популяций из регионов бассейна оз. Байкал и Забайкалья, Сибири, Европейской части России и Западной Европы при их попарном сравнении.

Парные значения индекса фиксации  $F_{ST}$  между географическими популяциями *D. longispina* s.str. указывают на высокую степень генетической дифференциации между некоторыми из них. Как и ожидалось, самые высокие

128

значения индекса (до 1.0), указывающие на практически полноеотсутствие потока генов, выявлены между географически удаленной популяцией из оз. Додот (верхнее течение р. Хамсара, правый приток р. Большой Енисей, Республика Тыва) и всеми остальными (Рисунок 5.1, Приложение Г, Таблица Г.2). Поток генов ограничен между популяциями *D. dentifera* из бассейна оз. Байкал и популяциями из Монголии, Канады и США, что в целом согласуется с результатами, полученными при расчете *p*-дистанций (Рисунок 5.1 II, Приложение Г, Таблица Г.3). Существенная дифференциация на основе индекса фиксации  $F_{ST}$  обнаружена для популяций *D. galeata* из Сибири, Забайкалья и Восточной Европы с популяциями из Китая (Рисунок 5.1 III, Приложение Г, Таблица Г.4).

## 5.2 Молекулярная дисперсия

Иерархический AMOVA подтвердил генетическую анализ дифференциацию популяций массовых видов D. longispina s.str., D. dentifera и D. galeata, которая согласуется с топологией реконструированных филогенетических отношений в пределах группы. В целом, результаты этих анализов однозначно свидетельствуют 0 высоком уровне внутрипопуляционного структурирования. При анализе иерархических уровней «географические области» и неструктурированного блока данных результаты AMOVA показали значимо более высокую молекулярную изменчивость «внутрипопуляционной» компоненты – 53.97-55.22% для D. longispina s.str. (Таблица 5.3), 75.75-77.93% для *D. dentifera* (Таблица 5.4) и 65.51-66.20% для *D.* galeata (Таблица 5.5). На иерархическом уровне «клады D. longispina» основная часть молекулярной изменчивости сконцентрирована В компоненте

Таблица 5.3 – Результаты анализа молекулярной изменчивости AMOVA на основе полного 12S блока и объединенного 12S+16S+ND2 блока данных мтДНК для вида *D. longispina* s.str. и его двух клад

Иерархический уровень	Источник изменчивости		df		чивости	Ф-статистики	
		12S	con	12S	con	12S	con
Географические области	Между областями	7	-	24.81	-	$\Phi_{SC} = 0.282^{**}$	-
	Между популяциями в пределах области		-	21.21	-	$\Phi_{ST} = 0.460^{**}$	-
	В пределах популяций	187	-	53.97	-	$\Phi_{CT} = 0.248^{**}$	-
Неструктурированные	Между популяциями	25	-	44.78	-	$\Phi_{s_T} = 0.448 * *$	_
данные	В пределах популяций	187	_	55.22	_	-51 -51	
Клады <i>D. longispina</i> s.str.	Между кладами	1	1	73.39	71.77	$\Phi_{\rm SC} = 0.213^{**}$	$\Phi_{\rm SC} = 0.389^{**}$
	Между популяциями в пределах клады	9	4	5.68	10.98	$\Phi_{ST} = 0.791^{**}$	$\Phi_{ST} = 0.827*$
	В пределах популяций	46	10	20.93	17.26	$\Phi_{\rm CT} = 0.734^{**}$	$\Phi_{\rm CT}=0.718$

Примечание: con – объединенный блок данных, df – число степеней свободы, \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.001; жирным

шрифтом указаны статистически незначимые значения (Р > 0.05).Статистическая значимость Ф-статистик

оценивалась с помощью критерия перестановки и 10 000 репликаций

Таблица 5.4 – Результаты анализа молекулярной изменчивости AMOVA на основе полного 12S блока мтДНК для *D. dentifera* 

Иерархический уровень	Источник изменчивости	df	% изменчивости	Ф-статистики
Географические области	Между областями	2	10.57	$\Phi_{SC} = 0.153^{**}$
	Между популяциями в пределах области	5	13.68	$\Phi_{ST} = 0.242^{**}$
	В пределах популяций	79	75.75	$\Phi_{\rm CT} = 0.106$
Неструктурированные	Между популяциями	7	22.07	$\Phi_{\rm ST} = 0.221 * *$
данные	В пределах популяций	79	77.93	+31 - 0.221

Примечание: см. Таблицу 5.3

Габлица 5.5 – Результаты анализа молекулярной изменчивости AMOVA на основе полного 12S блока мтД	ĮНК
для D. galeata	

Иерархический уровень	Источник изменчивости	df	% изменчивости	Ф-статистики	
Географические области	Между областями	8	10.22	$\Phi_{SC} = 0.270*$	
	Между популяциями в пределах области	23	24.27	$\Phi_{ST} = 0.345*$	
	В пределах популяций	122	65.51	$\Phi_{\rm CT} = 0.102^{**}$	
Неструктурированные	Между популяциями	31	33.80	$\Phi_{s_T} = 0.338^*$	
данные	В пределах популяций	122	66.20	-51 0.000	

Примечание: см. Таблицу 5.3; \**P* < 0.001, \*\**P* < 0.01

«между кладами» (71.77-73.39%), тогда как значение молекулярной дисперсии в популяциях в пределах этих двух клад существенно снизилось до 5.68%. Все параметры  $\Phi$ -статистик для каждого уровня были достоверными (P < 0.001, P < 0.05), за исключением внутрипопуляционной компоненты на уровне двух клад *D. longispina* s.str. и неструктурированном наборе данных для *D. dentifera* (Таблицы 5.3-5.5).

## 5.3 Демографическая история видов D. galeata и D. longispina s.str.

Бо́льшая часть популяций исследованных видов рода Daphnia характеризовалась отрицательными значениями тестов на нейтральность эволюции – Фу F<sub>S</sub> и Таджимы D (Таблица 5.6). Положительные, хотя и не значимые, значения теста Таджимы для *D. umbra* зарегистрированы при анализе данных из оригинального 12S блока данных, и для D. cf. longispina – из объединенного 12S+16S+ND2 блока (Таблица 5.6). Тесты на нейтральность эволюции, определенные для полного 12S блока данных характеризовались отрицательными значениями для всех видов рода Daphnia, которые были статистически значимыми для двух клад D. longispina s.str. и видов D. dentifera, D. galeata и D. cristata.

Анализ распределения частот гаплотипов (mismatch distribution, MMD) выполнялся только для массовых видов группы *D. longispina* s.l. из сибирских популяций – *D. galeata* и *D. longispina* s.str. – на основе оригинальных нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 12S и ND2 мтДНК. Для *D. galeata* выявлены существенные различия в значениях основных показателей MMD и характере кривой распределения частот гаплотипов по этим генам. Одномодальная кривая распределения частот гаплотипов на основе фрагмента гена 12S хорошо коррелировала с моделью демографической экспансии (SSD<sub>obs</sub> = 0.000036, Таблица 5.7, Рисунок 5.2 a, b). Напротив, распределение частот гаплотипов на основе фрагмента белок кодирующего гена ND2 носило бимодальный характер и в большей

Таблица 5.6 – Тесты на нейтральность эволюции на основе полного и оригинального 12S и объединенного 12S+16S+ND2 блоков митохондриальной ДНК для видов группы *D. longispina* s.l.и клад *D. longispina* s.str.

Виды/клады		$\Phi$ y, $F_{S}$		Таджима, D				
	полный 12S	оригинальный	объединенный	полный 12S	оригинальный	объединенный		
		12S	12S+16S+ND2		12S	12S+16S+ND2		
D. longispina s.str. клада А	-9.982**	-14.983**	-1.492	-2.309**	-2.398**	-1.322		
D. <i>longispina</i> s.str. клада Б	-257.959**	-11.596**	-0.537	-2.199**	-1.321	-0.608		
D. dentifera	-71.153*	-1.539	-1.741	-2.225**	-1.580	-0.065		
D. turbinata	-0.438	-0.438	_	-0.275	-0.275	_		
D. cucullata	-8.457	-0.167	_	-1.748	0.254	_		
D. galeata	-50.778*	-5.473**	-2.024*	-1.988*	-1.973*	-1.771		
D. umbra	-1.579	2.815	_	-0.271	0.775	_		
D. lacustris	-1.256	_	_	-0.829	_	_		
D. cristata	-0.027**	_	_	-2.276**	_	_		
D. cf. longispina	0	0	0.540	0	0	1.633		

Примечание: \**P* < 0.05; \*\**P* < 0.01

степени соответствовало модели пространственной экспансии (SSD<sub>obs</sub> = 0.00667, Рисунок 5.2 с, d).

Распределение частот гаплотипов на основе фрагмента 12S гена для всех сибирских популяций *D. longispina* s.str. (Рисунок 5.3 a, b) имело бимодальный характер и хорошо соответствовало модели пространственной



Рисунок 5.2 – Графики распределения частот гаплотипов для сибирских популяций *Daphnia galeata* на основе фрагментов 12S (a, b) и ND2 (c, d) генов мтДНК. Черные линии – наблюдаемое распределение; а и с – модели демографической экспансии, b и d – модели пространственной экспансии. Пунктирная линия – ожидаемое распределение; серая линия – 95% доверительный интервал

экспансии (SSD<sub>obs</sub> = 0.05036). Однако для двух клад *D. longispina* s.str. характер

этого распределения был различным – одномодальный для «сибирской» клады А (Рисунок 5.3 е) и мультимодальный для клады Б (Рисунок 5.3 с, d).

Примечательно, что для «сибирской» клады А параметры демографической и пространственной экспансии были практически идентичными (Таблица 5.7). Следовательно, к «сибирской» кладе А применимы



Рисунок 5.3 – Графики распределения частот гаплотипов для сибирских популяций *Daphnia longispina* s.str. на основе фрагментов 12S гена мтДНК; а и b – все сибирские популяции; с и d – «европейская» клада Б; е – «сибирская» клада А; а, с – модели демографической экспансии; b, d и е – модели пространственной экспансии. Обозначения соответствуют Рисунку 5.2

обе модели (SSD<sub>obs</sub> = 0.01335), тогда как демографическая история «европейской» клады Б, очевидно, в большей степени соответствует модели пространственной экспансии (SSD<sub>obs</sub> = 0.01687).

Расчетное время дивергенции для вида *D. galeata* (с 95% доверительным интервалом) оказалось около 101 325 (50 189-315 341) лет

Параметр D.		eata	D. longispina s.str.	D. longispina s.str. (12S)					
	128	ND2	128	Клада А	КладаБ				
Модельдемографической экспансии									
SSD <sub>obs</sub> (P)	0.000026 (0.984)	0.00989 (0.287)	0.06489 (0.101)	0.01335 (0.210)	0.01935 (0.690)				
<i>r</i> ( <i>P</i> )	0.04188 (0.059)	0.02363 (0.289)	0.05318 (0.405)	0.1247 (0.160)	0.02942 (0.928)				
τ (95% CI)	1.590 (0.832-2.379)	7.086 (3.777-10.008)	13.387 (2.553-86.388)	1.328 (0.328-2.518)	3.992 (1.604-7.504)				
Theta 0 (95% CI)	0 (0-0.875)	0 (0-2.257)	0 (0-4.205)	0 (0-0.032)	0.025 (0-2.791)				
Theta 1 (95% CI)	313.153 (2.442-84.558)	25.0 (14.417-99999.0)	6.802 (2.719-35.620)	99999.0 (3.673-	6.787 (3.328-99999.0)				
				99999.0)					
		Модель простра	анственной экспансии						
SSD <sub>obs</sub> (P)	0.00077 (0.600)	0.00667 (0.781)	0.05036 (0.149)	0.01335 (0.170)	0.01687 (0.750)				
<i>r</i> ( <i>P</i> )	0.04189 (0.185)	0.02363 (0.797)	0.05318 (0.731)	0.12476 (0.180)	0.02942 (0.930)				
τ (95% CI)	1.073 (0.527-3.328)	6.010 (3.166-9.240)	10.710 (0.922-89.820)	1.327 (0.493-2.152)	1.787 (0.500-10.056)				
Theta (95% CI)	0.622 (0.001-2.351)	0.745 (0.001-3.449)	3.524 (0.001-7.762)	0.001 (0.001-1.056)	2.406 (0.001-5.799)				
M	3972.772 (2.587-	9.917 (4.421-35.333)	0.916 (0.242-3498.822)	99999.0 (9.912-	8.107 (0.669-99999.0)				
	4814.642)			99999.0)					

Таблица 5.7 – Параметры моделей экспансии для сибирских популяций Daphnia galeata и клад Daphnia longispina s.str.

Примечание: SSD<sub>obs</sub> – сумма квадрата отклонений; *r* – индекс шероховатости Харпендинга; τ – время экспансии; Theta, Theta 0, Theta 1 – параметры мутаций; *M* – число мигрантов; P – уровень статистической значимости; CI – 95% доверительный интервал назад на основе фрагмента 12S гена и 493 524 (263 231-697 075) лет назад на основе белок кодирующего фрагмента ND2 гена мтДНК. Время дивергенции на основе фрагмента 12S гена мтДНК для популяций *D. longispina* s.str. «сибирской» клады A составило 125 947 (31 250-238 636), а для «европейской» клады Б – 169 508 (47 348-952 652) лет назад.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ

Полученные результаты позволяют заключить, что уровень полиморфизма митохондриальных генов в сибирских популяциях массовых видов группы D. longispina s.l. – D. galeata, D. longispina s.str.и D. dentifera – в целом согласуется с зарегистрированным в популяциях из водоемов Европы, Азии и Северной Америки (A taxonomic reappraisal..., 2008; Gießler, Englbrecht, 2009; The long-term consequences..., 2011; The phenotypic plasticity..., 2016; At the edge..., 2013). Популяции этих видов из разнотипных водоемов Сибири, так же как и криптических/эндемичных таксонов D. umbra и D. turbinata, характеризуются высоким уровнем гаплотипического и/или нуклеотидного разнообразия по фрагменту гена 12S и/или объединенному 12S+16S+ND2 фрагменту мтДНК.

Явная генетическая дивергенция (р-дистанции) наблюдается между географически удаленными популяциями в пределах массовых видов группы*D*. longispina s.1. – D. longispina s.str., D. dentifera и D. galeata. Значимо высокий уровень этого показателя, соответствующий статусу биологического вида, отмечен при сравнении двух крупных клад D. longispina s.str. Максимально глубокая зарегистрирована сравнении дивергенция при попарном последовательностей митохондриальной ДНК видов D. umbra и D.cf. longispina с таковыми массовых видов группы. Для всех видов группы (D. longispina s.str., D. dentifera и D. galeata) выявлена высокая степень генетического этом основная доля структурирования. При молекулярной дисперсии приходится на «внутрипопуляционную» компоненту, что опять же наиболее

четко проявляется при анализе двух клад *D. longispina* s.str.

Вышеизложенные результаты молекулярно-генетических анализов в значительной мере подтверждаются значениями индекса фиксации  $F_{ST}$ , которые четко указывают на ограниченный поток генов между географически удаленными популяциями массовых видов группы D. longispina s.l. Ограниченный поток генов между популяциями делает их генетическую дифференциацию более ярко выраженной, поскольку частота уникальных гаплотипов увеличивается со временем. Следует обратить внимание на то, что высокий уровень внутрипопуляционной изменчивости, выявленный ДЛЯ массовых видов группы D. longispina s.l., в комбинации с высокой межпопуляционной генетической дифференциацией хорошо согласуется с логикой «гипотезы монополизации» (The monopolization hypothesis..., 2002).

Параметры, позволяющие проанализировать демографическую историю – тесты на нейтральность эволюции и характер распределения частот гаплотипов – указывают на то, что в прошлом виды группы D. longispina s.l. подвергались воздействию различных исторических событий, в результате которых и сформировалась современная генетическая Уровень ИХ структура. генетического полиморфизма популяций и модели распределения частот гаплотипов совместно со значениями индексов фиксации F<sub>ST</sub> и тестов на нейтральность эволюции Таджимы D и Фу F<sub>s</sub> свидетельствуют о том, что эволюция видов этой группы кладоцер на одной и той же территории проходила согласно разным сценариям. Демографическая история D. galeata сильно отличается от таковой у викарирующих видов D. dentifera и D. longispina s.str. Так, основные генетические показатели для D. galeata свидетельствуют в пользу недавней и быстрой пространственной экспансии всей Палеарктике. Популяционно-генетическая этого вида по структурасибирских популяций видов D. dentifera и D. longispina s.str. и их демографическая история имеют определенное сходство. Генетическая структура популяций этих видов, скорее всего, сформировалась в результате вторичного (вероятно, неоднократного) контакта большого числа дивергентных

филогрупп, выживших в различных плейстоценовых рефугиумах. Результаты генетического анализа в большей степени указывают на относительно недавнюю демографическую экспансию «сибирской» клады А, тогда как для «европейской» клады Б в большей степени соответствует модель демографического равновесия входящих в нее популяций.

Южно-сибирские эндемичные таксоны *D. turbinata*, *D.* cf. *longispinau D. umbra* претерпели жесткое и продолжительное «бутылочное горлышко». Эти виды, по всей видимости, представляют собой остатки реликтовой фауны доледникового периода, когда были распространены на обширных территориях азиатской части России. Этот вопрос более подробно будет обсуждаться ниже.

## ГЛАВА 6 ФИЛОГЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ НА ОСНОВЕ РЕГИОНА ITS2 ЯДЕРНОЙ ДНК

Для установления филогенетических отношений и выявления случаев гибридизации в пределах рода Daphnia часто используются первый и второй внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS1 и ITS2) ядерной ДНК (Reproductive isolation..., 2007; Gießler, Englbrecht, 2009). Однако при этом часто обнаруживаются неразрешенная политомия с неопределенными взаимосвязями внутри отдельных клад, или даже целых видов, либо несогласованность филогений, реконструированных по маркерам митохондриальной и ядерной ДНК. несогласованность, правило, объясняют Такую как процессами интрогрессии, неполным сортингом (ISL), и т.п. (Identifying hybridizing taxa..., 2010; clades.... 2017). Тем Divergent не менее, второй внутренний транскрибируемый спейсер ITS2, по сравнению с фланкирующими генами 5.8S и 28S рРНК, представляет собой быстро эволюционирующий регион ядерной ДНК. считаетсяподходящим И поэтому маркером реконструкции для филогений на видовом и родовом уровнях (Coleman, 2003; A common core..., 2005; Schultz, Wolf, 2009).

Генотипирование североамериканских популяций *D. galeata* и *D. dentifera* на основе внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 позволило также установить гибридное происхождение *D. mendotae* (*D. galeata mendotae*) после интродукции евразийских популяций на америанский континент (Taylor et al., 2005). Также были получены доказательства постледниковой экспансии *D. galeata* в Голарктике из ледниковых рефугиумов и вторичного контакте между двумя митохондриальными линиями (Ishida, Taylor, 2007b).

Вторичная структура ITS2 является универсальной для всех групп эукариот и обычно представлена четырьмя спиралями, хотя их число может варьировать. Несмотря на то, что некоторые признаки последовательностей ITS2 являются высоко вариабельными (в том числе и их длина), их вторичная структура остается консервативной за счет мотивов, формирующих гомологичные спирали (A common core..., 2005; Coleman, 2007; Schultz, Wolf, 2009). Такая особенность фрагментов ITS2 яДНК была успешно использована для установления филогенетических отношений между близкородственными видами.

Кроме того, была обнаружена корреляция между наличием компенсаторных замен (CBC) в консервативных участках ITS2 и способностью организмов к межвидовой гибридизации (в рамках биологической концепции вида). Это свойство ITS2 оказалось надежным критерием для выделения криптических видов (Coleman, 2003; 2007; Distinguishing species..., 2007; Schultz, Wolf, 2009). Изначально этот подход применялся для распознавания криптических видов среди водорослей и грибов. Позднее он был успешно апробирован на разных группах артропод, в том числе и на морских копеподах (Hlinka et al., 2002; Secondary structure..., 2009; Ruhl et al., 2010; Kornobis, Pálsson, 2012; Molecular phylogeny..., 2017). Благодаря этим исследованиям также было показано, что использование информации о вторичной структуре ядерного региона ITS2 оказывается чрезвычайно полезно для реконструкции филогении эвоюционно молодых видов (Wiemers et al., 2009). В целом следует отметить, что дискриминирующие свойства данного маркера возрастают, если прибегнуть к анализу предполагаемой вторичной структуры.

До настоящего времени метод не использовался для выявления криптических видов в пределах группы *D. longispina* s.l., несмотря на то, она представляет собой удобный объект для подобного рода исследований в связи с наличием довольно большого числа морфологически сходных форм. По этой причине в данном исследовании была предпринята попытка применить данные о вторичной структуре второго внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 ядерной ДНК для реконструкции филогенетических отношений и определения видовых границ для криптических (лонгиспино-подобных) дафний, относящихся к группе *D. longispina* s.l.

## 6.1 Полиморфизм ITS2 последовательностей

Длина нуклеотидных последовательностей сильно различалась как в пределах форм/видов дафний, так и между ними. Общая длина полученных последовательностей составила 1006-1038 п.н. при длине аннотированного фрагмента ITS2 624-693 п.н. Участки фланкирующих генов 5.8S и 28S длиной по 25 п.н. каждый были высоко консервативными, и все последовательности соответствовали критерию гибридизации (5.8S-28S rRNA interaction..., 2009). ними Такое взаимодействие между свидетельствует 0 способности образовывать аннотированный участок ITS2 на основе скрытой Марковской модели (hidden Markov model, HMM), и о том, что ITS2 последовательности не являются псевдогенами (Wiemers et al., 2009).

Последовательности ITS2 с вариабельной длиной отмечены для *D.* longispina s.str., а самые длинные – для *D. hyalina* (Таблица 6.1). Длина последовательностей ITS2 зависела от числа тандемных повторов в мотивах: GAGAGA, CGCGCG, UUUUUU, UCUCUC, GUGUGU и UAUAUA (Приложение Д, Таблица Д.1). Доля GC нуклеотидов варьировала в пределах 48.9-51.1%, и последовательности ITS2 для *D. umbra* характеризовались более высоким их содержанием (Таблица 6.1).

Высокое число ITS2-гаплотипов зарегистрировано для вида *D. longispina* s.str., который был представлен бо́льшим числом популяций из разных регионов Сибири (Таблица 6.1). Этот вид также характеризуется высокими значениями гаплотипического и нуклеотидного разнообразия. Высокие значения этих показателей зарегистрированы для всех видов, кроме *D. umbra*, а для *D. hyalina* отмечен высокий уровень гаплотипического разнообразия при низком нуклеотидном разнообразии.

Вид	Водоем	Длина оперона	GC%	n	h	S	k	$H_{ m d}$	π
D. longispina s.str.	бассейн оз. Чаны, Телецкое	624-687	48.9-49.8	24	12	63	6.043	0.717±0.103	0.0099±0.0277
	озеро, озера Тоджинской								
	котловины								
D. hyalina	оз. Глубокое	691-693	49.5-49.8	5	3	3	1.200	$0.700 \pm 0.218$	$0.0017 \pm 0.0007$
D. umbra	оз. Борзу-Холь	675-681	50.3-51.1	8	2	4	1	$0.250 \pm 0.180$	0.0015±0.0011
D. cf. longispina	бассейн оз. Чаны	665-666	49.6-49.8	4	4	10	5.667	$1.000 \pm 0.177$	$0.0085 \pm 0.0082$

Таблица 6.1 – Полиморфизм фрагмента ITS2 яДНК у криптических видов группы D. longispina s.l.

Примечание: Примечание: GC% – доля G и C нуклеотидов, *n* – число образцов, *h* – число гаплотипов, *S* – число

полиморфных (сегрегирующих сайтов), *k* – число нуклеотидных различий, *H*<sub>d</sub> – гаплотипическое разнообразие, *π* – нуклеотидное разнообразие

#### 6.2 Предполагаемые модели вторичной структуры ITS2

Анализ вторичных структур последовательностей ITS2 выявил несколько типов предполагаемых моделей, соответствующих разным формам/видам дафний группы *D. longispina* s.l. (Рисунки 6.1-6.3). Для образцов вида *D. longispina* s.str. выявлено три типа моделей вторичной структуры ITS2, и их изменчивость проявлялась в числе и длине отдельных спиралей (Рисунок 6.1). Тип вторичной структуры ITS2 для *D. hyalina* практически полностью соответствовал самому распространенному типу предполагаемые модели вторичной структуры для ITS2-последовательностей *D. umbra* соответствовали двум, слабо различающимся типам (Рисунок 6.2). Для образцов дивергентной митохондриальной линии *D. cf. longispina* выявлено три типа таких моделей, при этом первая модель (Рисунок 6.3 А) наиболее сильно отличалась от остальных (Рисунок 6.3 Б, В). В целом различия между всеми предполагаемыми моделями вторичных структур ITS2 для каждой формы/вида дафний были обусловлены длиной тандемных повторов.

#### 6.3 Анализ компенсаторных замен

Как и предполагалось, компенсаторные замены были обнаружены при попарном сравнении моделей вторичных структур ITS2 *D. longispina* s.str. с предполагаемыми моделями *D. umbra* и *D.* cf. *longispina* (Таблица 6.2, Рисунок 6.4 A, B). Число CBC замен при сравнении *D. umbra* с другими формами/видами варьировало от одной (*D. umbra – D. hyalina*) до пяти (*D. umbra – D.* cf. *longispina*) (Рисунки 6.1-6.3). Кроме того, во всех моделяхчеткоможно было определить только две канонические структурные единицы – вторую (по наличию пиримидин-пиримидинового несоответствия) и третью (с характерным мотивом в верхней части) спирали, а для образца Brb2-
L2 D. longispina s.str. вторая спираль также была плохо различимой (Рисунок 6.1 Д).

Общее Таблица 6.2 \_ число компенсаторных (CBC) замен между вторичными ITS2 предполагаемыми структурами анализируемых для форм/видов группы D. longispina s.l.

Образцы	DL	Brb2-L2	PL17	DH	DU	Brb1-Dsp2	Brb1-Dsp10
DL							
Brb2-L2	0						
PL17	0	0					
DH	0	1	0				
DU	2	2	1	1			
Brb1-Dsp2	4	4	3	3	4		
Brb1-Dsp10	5	5	4	3	5	0	
Brb1-Dsp12	3	3	3	3	4	0	0

Примечание: DL – *D. longispina* s.str.; BrbL2-2 – *D. longispina* s.str.; PL17 – *D. longispina* s.str.; DH – *D. hyalina*; DU – *D. umbra*; Brb1-Dsp2 – *D.* cf. *longispina*; Brb1-Dsp10 – *D.* cf. *longispina*; Brb1-Dsp12 – *D.* cf. *longispina* 



Рисунок 6.1 – Схемы предполагаемых вторичных структур ITS2 для *D.* longispina s.str./*D. hyalina* из разных популяций: A – PL16 (пруд №1, Тоджинская котловина, тип 1), Б – PL15 (пруд №2, Тоджинская котловина, тип 2), В – GlH1 (*D. hyalina*, оз. Глубокое, тип 1), Г – DdL13 (оз. Додот, тип 1), Д – Brb2-L2 (временная лужа, бассейн оз. Чаны, тип 3). II и III – 2-я и 3-я спирали; стрелки – пиримидин-пиримидиновые совпадения для 2-й спирали



Рисунок 6.2 – Схемы предполагаемых вторичных структур ITS2 *D. umbra*: A – BrU15 (оз. Борзу-Холь, Тыва), Б – *D. umbra* (GenBank #AY730403). Обозначения см. Рисунок 6.1



Рисунок 6.3 – Схемы предполагаемых вторичных структур ITS2 *D*. cf. longispina: A – Brb1-Dsp2, Б – Brb1-Dsp10, В – Brb1-Dsp12. Обозначения см. Рисунок 6.1



Рисунок 6.4 – CBC анализ для вторичных структур ITS2: A – D. umbra c D. longispina s.str./D. hyalina и D. cf. longispina (показана структура D. umbra), Б – D. hyalina c D. longispina s.str. (показана структура D. hyalina), В – D. cf. longispinas.str. c D. umbra и D. longispina s.str./D. hyalina (показана структура (показана структура D. cf. longispina Brb1-Dsp2; a, б – участки структур Brb1-Dsp2 и Brb1-Dsp12/Brb1-Dsp10, соответственно).

Наибольшее число CBC замен зарегистрировано при попарном сравнении моделей вторичных структур ITS2 *D. longispinas.str.u D. hyalina* с *D.* cf. *longispina* (Рисунок 6.4 В). CBC замены при попарном сравнении вторичных структур ITS2 обнаружены либо во 2-й и 3-й спиралях одновременно, либо только в 3-й спирали (*D. longispina* s.str. – *D. hyalina*); а при сравнении структур *D. longispina* s.str. и *D.hyalina* – найдены только в одном образце *D. longispina* s.str. Brb2-L2 (Рисунок 6.4 Б).

## 6.4 Филогения группы D. longispina s.l. на основе фрагмента ITS2 яДНК

Филогения, реконструированная для видов группы *D. longispina* s.l. на основе последовательностей ITS2 яДНК без учета вторичной структуры, не выявила четкого разграничения между близкородственными видами *D. galeata* – *D. cucullata* – *D. longispina* s.str., демонстрируя неразрешенную политомию (Рисунок 6.5 A). В случае использования информации о предполагаемой вторичной структуре фрагмента ITS2 яДНК было обнаружено несколько смешанных клад, сформированных гаплотипами *D. galeata* – *D. cucullata* – *D. longispina* s.str., которые разделились на две крупные филогруппы. Вполне вероятно, такая неразрешенность может свидетельствовать в пользу гибридного происхождения некоторых особей вышеупомянутых видов. Явно выраженные клады с высокой степенью поддержки ветвей были сформированы только гаплотипами криптических видов, а именно – *D. turbinata*, *D. umbra* и *D. cf. longispina* (Рисунок 6.5 Б).

Реконструкция филогенетических взаимоотношений с использованием информации о предполагаемой вторичной структуре последовательностей ITS2 яДНК только для криптических видов *D. hyalina*, *D. umbra* и *D.* cf. *longispina* показала, что их образцы сформировали отдельные кластеры со значимыми поддержками ветвей (Рисунок 6.6). Следует особо отметить, что их дистантное положение в филогении группы очевидно как с учетом вторичной структуры ITS2 яДНК, так и без нее (Рисунки 6.5 и 6.6).



Рисунок 6.5 – Филогения видов группы *D. longispina* s.l. на основе ITS2 яДНК. А – ML-дерево без учета вторичной структуры ITS2, бутстрэп поддержка ветвей выше 61%; Б – с учетом вторичной структуры ITS2, реконструированная в программе ProfDistS v. 0.9.8 с помощью профиля присоединения ближайшего соседа (PNJ) и модели GTR при 1000 репликаций. Дерево визуализировано в программах NJplot v. 2.4 и FigTree v. 1.4.4. Профили созданы на основе: «Pi» – идентичности пороговой величины (identity threshold) и «Po» – предыдущих итераций (previous iteration). Светло-серым цветом отмечены смешанные клады *D. longispina* s.str. и *D. galeata*; темно-серым – *D. galeata* и *D. cucullata*; кружок – *D. galeata* из оз. Большое (бассейн р. Обь). Масштаб – число ожидаемых замен на сайт Простирающаяся сеть на основе длин ветвей между ITS2 гаплотипами (также с учетом вторичной структуры) подчеркнула явную удаленность от остальных видов группы D. longispina s.l. лонгиспино-подобных особей D. cf. longispina из временного водоема бассейна 03. Чаны (окрестности г. Барабинск, Новосибирская обл.) (Рисунок 6.6 Б). Этот результат хорошо согласуется с данными об эволюционной дивергенции между последовательностями ITS2, поскольку самые высокие значения зарегистрированы при попарном сравнении всех видов группы D. longispina s.l. с D. cf. longispina, значения нескорректированных *р*-дистанций в этих случаях варьировали от 19.9% до 18.0% (Таблица 6.3). Результаты анализов однозначно подтверждают целесообразность использования информации о вторичной структуре ITS2 для реконструкции филогенетических отношений в пределах группы D. longispina s.l. Однако в бо́льшей степени этот подход применим для установления границ между криптическими видами группы.

Таблица 6.3 – Эволюционная дивергенция в пределах и между группами последовательностей ITS2 яДНК для форм/видов группы *D. longispina* s.l. (нескорректированные *p*-дистанции, %)

Вид	В пределах	D.	<i>D</i> .	_	<i>D</i> . cf.	
	группы	longispina	hyalina	D.	longispina	D. galeata
		s.str.		umbra		
D. longispina s.str.	1.0±0.1	_	0.4	0.6	1.6	0.6
D. hyalina	0.2±0.1	1.3	—	0.6	0.4	0.5
D. umbra	0.2±0.1	3.0	2.5	—	1.6	0.6
D. cf. longispina	0.9±0.3	18.0	16.9	17.2	_	1.6
D. galeata	2.0±0.6	2.8	2.3	2.7	17.2	—

Примечание: над диагональю показана стандартная ошибка



6.6 филогения Рисунок А видов группы D. longispina s.l., реконструированная с учетом вторичной структуры ITS2 с помощью профиля PNJ на основе модели GTR в программе ProfDistS v. 0.9.8. Дерево визуализировано в программе NJplot v. 2.4, показаны бутстрэп значения при 1000 репликаций. «Pb» – пороговое бутстрэп значение (bootstrap threshold). Профили: profile 1 – D. galeata (KgG28, ShG11); profile 2 – D. hyalina (GlH1-GlH3); profile 3 – D. longispina s.str. (DdL14, DdL15, TlL9, TlL11, KgL, ZdL1, ZdL2, Brb1-L9, Brb2-L2, Brb2-L4, PL15); profile 4 - D. umbra (BrU15, BrU18-BrU20); profile 5 – D. cf. longispina (Brb1-Dsp2, Brb1-Dsp16). Б – простирающееся филогенетическое дерево, визуализированное в программе SplitsTree4 с помощью алгоритма «equal angle» на основе значений длин ветвей и с учетом вторичной структуры ITS2. Масштаб – число ожидаемых замен на сайт

152

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ

промежуточного спейсера ITS2 Анализ изменчивости второго У криптических и близкородственных видов группы D. longispina s.l. в первую очередь выявил его высокую вариабельность. Последовательности различались по уровню полиморфизма и длине, которая зависела от числа тандемных повторов. Наиболее вариабельными оказались последовательности типичных особей D. longispina s.str. (идентифицированных морфологическим ПО митохондриальной ДНК). Длина CG признакам И насыщение И последовательностей ITS2 у дафний оказались сопоставимыми с таковыми у некоторых других артропод, например, клещей (Hlinka et al., 2002) и амфипод (Kornobis, Pálsson, 2012), но сильно отличается по этим показателям от ITS2 копепод (Molecular phylogeny..., 2017; Phylogenetic information..., 2014). Очевидно, вследствие высокой вариабельности последовательностей ITS2 основные четыре спирали, характеризующие вторичную структуру эукариот, оказались плохо распознаваемыми, что, впрочем, отмечалось в некоторых подобных исследованиях вторичной структуры артропод (A common core..., 2005; Hlinka et al., 2002; Kornobis, Pálsson, 2012).

Один из главных результатов проведенного исследования заключается в том, что информация о вторичной структуре спейсера ITS2 яДНК и алгоритма Profile Neighbor-Joining значительно повышает уровень разрешения между кладами при реконструкции филогении в пределах группы D. longispina s.l. При этом, однако, необходимо отметить некоторую ограниченность применения В филогенетические подхода. частности, отношения данного между близкородственными видами D. galeata – D. cucullata – D. longispina s.str. даже с учетом вторичной структуры ITS2 остаются неразрешенными, и их гаплотипы формируют смешанные клады. Поскольку факт гибридизации между этими близкородственными видами группы D. longispina s.l. считается доказанным (Gießler, 2001; Cyto-nuclear diversity..., 2010; Parental and hybrid *Daphnia*..., 2016;

и др.), мы полагаем, что выявленная неразрешенность ядерной филогении представляет собой результат гибридной природы некоторых особей.

Более показательной представляется филогения, реконструированная только для криптических видов группы – D. longispina s.str., D. hyalina, D. *umbra* и D. cf. longispina – на основе предполагаемой вторичной структуры спейсера ITS2 яДНК и алгоритма Profile Neighbor-Joining. Полученная таким образом схема согласуется с результатами анализа СВС замен во вторичных структурах ITS2. В целом СВС анализ подтверждает гипотезу о видовой самостоятельности форм/видов, которые не отличаются, или слабо отличаются (Глава 3, п. 3.1) от *D. longispina* s.str. по морфологическим признакам. Ранее отмечалось, что даже одна СВС замена указывает на видовой статус особей с точностью до 93%, но при этом и отсутствие таких замен во вторичной структуре ITS2 не является признаком принадлежности особей к одному виду (Distinguishing species..., 2007; Ruhl et al., 2010). Так, сравнение вторичных структур ITS2 у видов D. longispina s.str. и D. hyalina выявило единственную полукомпенсаторную замену в одном попарном сравнении. Возможно, такое сходство является следствием недавнего видообразования, или неполного сортинга, что также отмечалось для морскихкопепод (Molecular phylogeny..., 2017). Мы также не можем исключать влияние процессов гибридизации и последующей интрогрессии яДНК, которые весьма часто встречаются в пределах группы D. longispina s.l. (The long-term consequences..., 2011; Divergent clades..., 2017).

Однако в филогенетических деревьях, реконструированных как с учетом вторичной структуры ITS2, так и без нее (Приложение Д, Рисунок Д.1), все образцы *D. hyalina* формируют отдельный, хорошо поддерживаемый кластер. Таким образом, несмотря на морфологическое сходство, слабо выраженную митохондриальную дивергенцию (Глава 4, п. 4.1; Зуйкова и др., 2013; 2016; Zuykova et al., 2013) и способность к гибридизации, мы склонны считать, что виды *D. longispina* s.str. и *D. hyalina* находятся на начальной стадии эволюционной радиации. Здесь, вероятно, уместно вспомнить о мнении европейских исследователей, что *D. hyalina* представляет собой озерную форму вида *D. longispina* s.str. (A taxonomic reappraisal..., 2008; Contribution of cyclic..., 2009), тогда как отечественные карцинологии все-таки считают их самостоятельными видами (Кирдяшева, Котов, 2013; Кирдяшева, 2017) (Глава 1, п. 1.2).

По всей видимости, эти точки зрения не противоречат друг другу, поскольку незначительные морфологические различия между ними И способность к гибридизации с одной стороны не позволяют считать их «хорошими» видами. Но, с другой стороны, адаптация к разным экологическим нишам в водоемах, выявленные нами некоторые различия во вторичной структуре ITS2 и формирование обособленной клады D. hyalina на ее основе – указывают на их видовую самостоятельность. В таком случае, предлагаемую нами эволюционную радиацию между таксонами D. longispina s.str. и D. hyalina следует считать адаптивной, но не слишком быстрой, чтобы привести к явным (Colbourne al., 1997; Chin, Cristescu, 2020). Сходные различиям et эволюционные процессы отмечены в других группах артропод (Wiemers et al., 2009; Molecular phylogeny..., 2017).

Совсем другая картина отмечена при попарном сравнении вторичных структур ITS2 лонгиспиноподобной дафнии *D*. cf. *longispina* c другими видами группы *D*. *longispina* s.l. Большое число CBC замен однозначно указывает на видовую самостоятельность особей этой дивергентной митохондриальной линии из временного водоема бассейна оз. Чаны (Новосибирская область), обитающей в симпатрии с типичной формой *D*. *longispina* s.str. Явных морфологических различий, за исключением формы тела (Зуйкова и др., 2013; Зуйкова, Бочкарев, 2016), между партеногенетическими самками этих видов в настоящее время не обнаружено.

Более того, обнаруженные нами особи потенциально нового вида *D*. cf. *longispina* не состоят в близкородственных отношениях с другими видами группы *D. longispina* s.l., поскольку монофилия между ними не поддерживается ни анализом митохондриальной, ни ядерной ДНК. На этом основании следует

признать их видовую самостоятельность. Морфологическое сходство между *D*. longispina s.str. и криптическим видом D. cf. longispina вполне объясняется гипотезой морфологической конвергенции между эволюционно далекими видами, возникающей вследствие воздействия сходных режимов естественного отбора (Fišer et al., 2017). Здесь, однако, необходимо уточнить, что вышеизложенные выводы сделаны результатам по анализов партеногенетических самок D cf. *longispina*, а самцы этой дафнии к настоящему времени не обнаружены. Не исключено, что различия между таксонами будут найдены, поскольку морфологические признаки взрослых самцов обычно оказываются более «полезными» для систематики разных групп кладоцер, в том числе и дафний (Kotov, 2015; Resolution of the Daphnia..., 2018).

Таким образом, информация о вторичной структуре ITS2 яДНК с последующей реконструкцией филогении может с успехом использоваться для дифференциации криптических видов в пределах группы *D. longispina* s.l. и, вероятно, других видовых комплексов кладоцер. Полученные результаты подтверждают эффективность данного подхода даже на начальной стадии эволюционной радиации форм/видов (Wiemers et al., 2009; Accurate and efficient..., 2009).

## ГЛАВА 7 ФИЛОГЕОГРАФИЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ ИСТОРИЯ СИБИРСКИХ ТАКСОНОВ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ КЛАД

Как уже отмечалось выше (Глава 1, п. 1.4), информация о генетической структуре популяций позволяет реконструировать ряд исторических событий, которые вид претерпевает в процессе эволюции (Intraspecific phylogeography..., Templeton, 2000; Knowles, Maddison, 2002). 1987; Cruzan, Данные о географическом распространении отдельных генотипов (или аллелей), предоставляют возможность с достаточно высокой степенью точности определить основные процессы и механизмы, в результате которых сформировались современные филогеографические паттерны отдельных видов.

Закономерности формирования этих образцов, полученных в результате изучения генетической структуры популяцийна ограниченной территории, часто очень сложно экстраполировать на вид в целом. Это обусловлено тем, что популяции одного и того же вида, обитающие в разных регионах, подвергались совершенно различному влиянию климатических явлений в разные фазы четвертичного периода. Например, известно, что, даже в разных регионах Палеарктики периодичность плейстоценовых потеплений и похолоданий, а также мощность покровного оледенения, сильно различались (Гросвальд, Котляков, 1989; Гросвальд, 1999; Ice-dammed lakes..., 2004). То есть, мы должны признать, что достоверность оценки исторических событий, влияющих на формирование современных филогеографических паттернов, значительно повышается, если исследовать генетическую структуру популяций одного вида в мировом масштабе, либо выполнять сравнительный анализ эволюционной истории для нескольких разных видов, обитающих в одном регионе.

Подробно о развитии филогеографии кладоцер уже было изложено выше (Глава 1, п. 1.4), поэтому здесь мы только повторно отметим основные достижения. В результате исследований был установлен этих факт континентального/регионального эндемизма для большинства групп кладоцер, получены надежные доказательства генетической дивергенции между популяциями в разных географических масштабах, обусловленной эффектом основателя и аллопатрическим видообразованием. И, наконец, было показано, что огромное влияние на эволюционную историю разных таксонов кладоцер оказали события, произошедшие в период последнего плейстоценового оледенения.

В настоящей главе мы представляем данные о филогеографических паттернах и эволюционной истории массовых и редких видов группы *D. longispina* s.l., которые были выявлены в результатате изучения генетической структуры и полиморфизма популяций, генеалогических связей между митохондриальными гаплотипами, особенностями и закономерностями их распространения на территории российской части Евразии.

#### 7.1 Географическое распространение видов

*Daphnia galeata*. Один из важных результатов исследования заключался в выявлении широко распространенного 12S гаплотипа *D. galeata*. Этот гаплотип занимал центральное место в медианной сети гаплотипов и встречался в популяциях от Западной Европы и Европейской части России через Западную и Восточную Сибирь, Забайкалье до российского Дальнего Востока (Рисунок 7.1 А). В водоемах Сибири, российской части Дальнего Востока, Японии, Китая и Западной Европы одновременно с центральным гаплотипом обнаружено некоторое число общих периферийных гаплотипов.

Тем не менее, ни одного общего гаплотипа не обнаружено в водоемах Сибири, Японии и Северной Америки; только единственный гаплотип из Сибири был наиболее тесно связан с группой гаплотипов из этих регионов (см. Глава 4, Рисунок 4.5 I). Среди ND2 гаплотипов *D. galeata* зарегистрировано три структурообразующих гаплотипа, которые были обнаружены в нескольких регионах – Сибири, Западной и Восточной Европе (в том числе и в российской части) и в Японии.



Рисунок 7.1 – Географическое распространение 12S гаплотипов на территории Евразии. А – массовый 12S гаплотип *D. galeata*; Б – *D. dentifera* и две клады *D. longispina* s.str.: красные треугольники – «сибирская» клада А; черные треугольники – «европейская» клада Б; белые треугольники – *D. dentifera* 

В некоторых водоемах зарегистрировано совместное обитание вида *D.* galeata с близкородственными видами *D. cucullata* и *D. longispina* s.str., а также с видом *D. cristata*, занимающим базальное положение в общей филогенетической схеме по отношению к видам группы *D. longispina* s.l. До настоящего времени не выявлено ни одного случая сосуществования *D. galeata*  и D. dentifera в водоемах азиатской части России.

Daphnia longispina s.str. и D. dentifera. Относительно D. longispina s.str., в необходимо первую очередь, подчеркнуть разницу в географическом распространении гаплотипов, формирующих две крупные клады «сибирскую» и «европейскую». Основа «сибирской» клады А состоит из гаплотипов, которые были обнаружены в популяцях, населяющих водоемы Алтае-Саянской горной страны (Рисунок 7.1 Б). В противоположность этому, гаплотипы «европейской» клады Б (в которую также входят гаплотипы D. *hyalina*) имеют более широкое географическое распространение – от Западной Европы до бассейна р. Енисей. Отличительная черта этой митохондриальной клады – высокая генетическая структурированность, то есть, она состоит из множества внутренних, в большинстве глубоко дивергентных, субклад. Необходимо, однако, отметить, что единственный гаплотип из «европейской» клады Б к настоящему времени был обнаружен в единственном водоеме юга Сибири – безымянном пруду Тоджинской котловины (бассейн р. Большой Енисей).

В отличие от *D. galeata*, ни одной популяции *D. longispina* s.str. не обнаружено в водоемах, расположенных в Забайкалье и российской части Дальнего Востока (Рисунок 7.1 Б). Все популяции, расположенные восточнее бассейна р. Енисей были представлены сестринским таксоном *D. dentifera*. Следовательно, мы полагаем, что бассейн р. Енисей, включая оз. Байкал и р. Ангару, представляет собой переходную зону между видами *D. longispina* s. str. (проникает на восток до 104 °E) и *D. dentifera* (проникает на запад до 96 °E). Опираясь наполученные результаты, мы считаем, что виды *D. longispina* s.str. и *D. dentifera* являются викарирующими.

Необходимо, тем не менее, отметить, что на данном этапе исследований на территории российской части Евразии вид *D. dentifera* зарегистрирован только в двух горных озерах бассейна оз. Байкал и одном временном водоеме Усть-Алданского района Якутии. При этом пока не обнаружено ни одного водоема с их совместным обитанием. Однако детальное исследование генетической структуры популяций из разных регионов Сибири, скорее всего, будет способствовать получению новой информации о распространении *D. dentifera* на территории северо-восточной части Сибири и, возможно, о его сосуществовании с другими видами группы *D. longispina* s.l.

**Daphnia umbra, D. turbinata и D. cf. longispina.** Ограниченный объем материала для криптических и редких видов группы *D. longispina* s.l. позволяет на данном этапе исследований только констатировать их приуроченность к горным районам юга Сибири. Исключение составляет потенциально новый криптический вид *D.* cf. *longispina* из временного водоема Западной Сибири (бассейн оз. Чаны, Новосибирская область) (Рисунок 7.2). При этом также



Рисунок 7.2 – Географическое распределение 12S гаплотипов криптических и эндемичных видов группы *Daphnia longispina* s.l. на территории Евразии: коричневый кружок – *D. umbra*, розовые кружки – *D. turbinata*, черный кружок – *D. cf. longispina*.

можно отметить, что эти виды в большинстве водоемов обитают совместно с массовыми видами группы *D. longispina* s.l. – *D. galeata* и *D. longispina* s.str.

## 7.2 Эволюционная история массовых и редких видов группы D. longispina s.l. в Сибири

Изучение генетической структуры популяций позволило реконструировать эволюционную историю массовых, редких и эндемичных видов группы *D. longispina* s.l. на территории Северной Евразии. Показатели генетического полиморфизма, структура медианных сетей гаплотипов и модели распределения частот гаплотипов совместно со значениями индексов фиксации  $F_{ST}$  и тестов на нейтральность эволюции Таджимы *D* и Фу  $F_S$  указывают на специфичность эволюционных сценариев, применимых к разным видам этой группы кладоцер, несмотря на обитание на одной и той же территории.

Тесты на нейтральность эволюции для клад *D. longispina* s.str. и большинства видов группы *D. longispina* s.l. демонстрируют статистически значимые отрицательные значения. Такие значения обычно объясняются как следствие трех процессов: 1) недавней, вероятно, послеледниковой, пространственной экспансией; 2) отрицательным отбором; 3) генетическим хитчхайкингом (Tajima, 1989; Fu, 1997).

Daphnia galeata. Результаты нескольких анализов, а именно: (1) весьма характерная звездообразная структура сети 12S гаплотипов, (2) одномодальный характер кривой распределения частот гаплотипов и (3) значения тестов на нейтральность эволюции Фу F<sub>s</sub> и Таджимы D подтверждают недавнюю, постледниковую пространственную экспансию вида D. galeata по всей Северной Палеарктике. В свою очередь, пространственная экспансия D. galeata сопровождалась демографической экспансией, то есть происходил быстрый рост численности из предковой популяции с изначально низким эффективным размером, обеспечивающим ее успешное выживание и размножение (Avise, 2000). Ha демографическую экспансию указывают значения высокие гаплотипического разнообразия *H*<sub>d</sub> при относительно низких значениях нуклеотидного разнообразия л. Данный процесс должен был быть достаточно времени, продолжительным ПО чтобы произошло восстановление

гаплотипического разнообразия в пределах популяций *D. galeata* посредством мутаций, но недостаточным для накопления значительных различий в нуклеотидных последовательностях (Avise, 2000).

В то же время, структура медианной сети ND2 гаплотипов для D. galeata демографического равновесия свидетельствует В пользу (прекращение демографической экспансии) популяций *D. galeata*. Вероятно, структура ND2 сети отражает более современный уровень генетической дифференциации между популяциями и филогруппами, поскольку этот белок кодирующий ген сравнению с геном 12S эволюционирует быстрее ПО мтДНК. На демографическое равновесие В популяциях D. galeata указывает И распределения мультимодальный характер частот гаплотипов (Rogers. Harpending, 1992; Marjoram, Donnelly, 1994; Ray et al., 2003), по крайней мере, на территории Сибири.

**Daphnia longispina s.str. и D. dentifera.** Сибирские популяции викарирующих видов D. longispina s.str. и D. dentifera в целом характеризуются сходной эволюционной историей, что подтверждается структурой медианных сетей 12S гаплотипов, значениями тестов на нейтральность эволюции и характером распределения частот гаплотипов. При этом гаплотипы «европейской» и «сибирской» клад D. longispina s.str. явно находились под воздействием различных исторических событий.

Широкое географическое распределение гаплотипов *D. longispina* s.str. «европейской» клады Б, их высокое число, высокие значения гаплотипического ( $H_d$ ) и нуклеотидного ( $\pi$ ) разнообразия, результаты тестов на нейтральность (особенно необычайно высокое значения теста Фу  $F_s$ ) свидетельствуют о недавней пространственной экспансии. Однако более вероятно, что высокие значения показателей  $H_d$  и  $\pi$ , являются следствием смешения исторически гетерогенных и географически дифференцированных популяций, в результате чего и сформировался современный облик клады Б (Avise, 2000), а не указанием на стабильную популяцию с высоким эффективным размером. Вывод о дополнительном внутреннем структурировании, а не равновесном

163

статусе «европейской» клады *D. longispina* s.str. подтверждает и глубокая генетическая дивергенция (*p*-дистанции) между географическими популяциями, и бимодальный характер распределения частот гаплотипов (MMD).

На недавнюю пространственную экспансию «сибирской» клады А указывают отрицательные и значимые значения тестов  $\Phi y F_S$  и Таджимы D, как и звездообразная структура сети 12S гаплотипов. Однако низкое число гаплотипов, высокое значение  $H_d$  при низких значениях  $\pi$  и *p*-дистанций (по сравнению с кладой Б) с бо́льшей вероятностью отражают результат колонизации водоемов Сибири одной ИЛИ несколькими генетически однообразными линиями. Данный факт указывает на то, что географические популяции, формирующие «сибирскую» кладу D. longispina s.str., произошли из одной древней популяции с низким эффективным размером в течение относительно непродолжительного временного периода.

Поскольку гаплотипы клады А доминируют в водоемах Алтая и Саян, с высокой долей вероятности можно утверждать, что в периоды оледенений в плейстоцене здесь существовало множество рефугиумов, где и сохранялась древняя популяция. Эффективный размер этой популяции мог быть довольно большим, поскольку до настоящего времени в современных популяциях, составляющих «сибирскую» кладу *D. longispina* s.str., сохранилось уникальное гаплотипическое разнообразие. В такой ситуации «эффект основателя» в популяциях *D. longispina* s.str. из горных водоемов Алтае-Саянской горной страны проявляется очень сильно, поскольку доля гаплотипов клады Б в этом регионе ничтожна.

Вероятно, что пики пространственной и демографической экспансии для «сибирской» и «европейской» клад *D. longispina* s.str. приходились на разный временной период, даже принимая во внимание возможные ошибки в оценке расчетного времени дивергенции этих клад (Time dependency..., 2005). Одномодальный характер распределения частот гаплотипов (MMD) для клады А и мультимодальный для клады Б служат доказательством их различной эволюционной истории.

Более ранняя дифференциация клады Б подтверждается экстремально высоким значением теста Фу  $F_s$ , мультимодальным характером кривой MMD и широким географическим распределением гаплотипов, хотя на современном этапе пространственная экспансия гаплотипов этой клады скорее всего, очень ограничена, или даже полностью прекратилась. Значения показателей MMD для «европейской» клады свидетельствуют в пользу демографического равновесия входящих в нее популяций.

Однако высокая генетическая дифференциация и структурированность «европейской» клады D. longispina s.str. указывают на продолжающуюся в настоящее время дивергенцию внутренних групп, которая началась после достижения некоего равновесного статуса этой суперпопуляции. Генетическая дивергенция, скорее всего, обусловлена географической изоляцией отдельных митохондриальных линий и/или популяций, что привело к возникновению локальных адаптаций к определенным условиям обитания. Ранеесходный сценарий обсуждался при исследовании генетической структуры европейских популяций D. longispina s.str., обнаружилось множество где также дивергентных митохондриальных линий (Local and regional..., 2014).

Дальнейшей пространственной экспансии «европейской» клады *D. longispina* s.str. может препятствовать, как минимум, три фактора.

Во-первых, проникновению гаплотипов клады Б в водоемы Алтае-Саянской горной препятствует страны ИХ заселение популяциями, составляющими кладу А. Звездообразная структура сети 12S гаплотипов вместе со значениями тестов на нейтральность эволюции и одновершинная кривая MMD свидетельствуют о недавней (видимо, постледниковой) демографической экспансии клады А. Резкая вспышка численности в популяциях «сибирской» клады неизбежно должна была привести доминированию ее гаплотипов в водоемах этого региона. Весьма вероятно, к популяциям «сибирской» клады применимы и такие явления как эффект основателя, наличие банка покоящихся яиц, которые сохранялись в рефугиальных водоемах юга Сибири довольно

продолжительный период времени (или даже периоды), а также возникновение локальных адаптаций. В таком случае, популяционно-генетические показатели «сибирской» клады *D. longispina* s.str. согласуются с закономерностями «гипотезы монополизации». Несомненно, что все эти факторы в конечном итоге и послужили мощным препятствием для вселения в водоемы Алтае-Саянской горной страны гаплотипов «европейской» клады. Обитание в водоемах Алтая и Саян реликтовой группы *D. longispina* s.str., которая выжила в плейстоценовых рефугиумах и быстро распространилась в постледниковый период, было основным препятствием для колонизации этих водоемов родственными видами с запада и востока в период улучшения климатических условий. Старый (пре-плейстоценовый) филогеографический паттерн играл важную роль при формировании нового (современного) паттерна, и, в частности, определил положение современной переходной зоны между «западной» и «восточной» фаунами.

Во-вторых, распространение гаплотипов «европейской» клады D. longispina s.str. в восточном направлении от бассейна р. Енисей с большой вероятностью затруднено тем, что здесь подходящие для ее обитания водоемы заняты видом D. dentifera. Высокое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие, значения тестов на нейтральность эволюции, Фу  $F_S$  и Таджимы Dв популяциях этого вида сходно с таковым в популяциях «европейской» клады, что, вероятно, предполагает сходные же эволюционные стратегии и служит причиной конкурентных отношений этих таксонов.

И, в-третьих, барьером для заселения новых водоемов «европейской» кладой *D. longispina* s.str. могут служить популяции широко распространенного в Голарктике вида *D. galeata*. Показано, что этот таксон обладает высоким адаптивным потенциалом и способен успешно конкурировать с родственными таксонами, благодаря чему его пространственная экспансия продолжается до сих пор (The long-term consequences..., 2011; Diversity of the *Daphnia*..., 2014; Invasion of a Holarctic..., 2018). Интересно, что некоторые гаплотипы *D. galeata* из водоемов Сибири также формируют дивергентные митохондриальные

166

клады, являющиеся весьма локально распространенными эндемичными митохондриальными линиями в отдельных, в основном горных, районах.

**Daphnia umbra, D. turbinata и D. cf. longispina.**Тесты на нейтральность эволюции Фу  $F_S$  и Таджимы D для сибирских популяций видов D. umbra и D. cf. longispina принимали положительные (хотя и статистически незначимые) значения. Отрицательные, также статистически незначимые значения тестов получены для вида D. turbinata. Вероятно, причина недостоверных значений кроется в относительно малом числе изученных проб, поскольку адекватность анализа неизбежно возрастает для больших наборов данных. Тем не менее, основываясь на значениях тестов на нейтральность эволюции для сибирских популяций редких и эндемичных видов, в случае с D. umbra и D. cf. longispina следует предположить недавнее прохождение популяций через «бутылочное горлышко», или о явлении сверхдоминирующего отбора. В случае с D. turbinata

Об особенностях эволюционной истории популяций можно судить и на основе других генетических показателей, таких как гаплотипическое  $H_d$  и нуклеотидное  $\pi$  разнообразие. Для *D. umbra* оба показателя принимают высокие значения, что более характерно для стабильной популяции с большим и стабильным эффективным размером. Кроме того, такие значения этих показателей могут свидетельствовать о смешанной выборке особей из исторически разделенных популяций. Учитывая разорванность ареала *D. umbra* в Сибири, следует предположить большую применимость второго эволюционного сценария для этого таксона.

Основываясь на низких значениях показателей  $H_d$  и  $\pi$  для западносибирского *D*. cf. *longispina* и азиатского *D. turbinata* эндемиков мы должны практически однозначно редположить, что их популяции подвергались воздействию продолжительного или жесткого «бутылочного горлышка» в недавнем прошлом (Avise, 2000). Возможно, этот эффект имел место даже в период последнего ледникового максимума MIS2 (Морская Изотопная Стадия 2), или в предшествующий холодный период плейстоцена MIS4, который характеризовался еще более низкими температурами и более континентальными, аридными условиями.

В результате изучения популяций группы D. longispina s.l. из водоемов азиатской части России было показано, что сестринские виды, D. dentifera и D. longispina s.str., являются викарирующими по отношению друг к другу с транзитной зоной в бассейне р. Енисей. В водоемах Восточной Евразии вид D. longispina s.str., скорее всего, полностью отсутствует, замещаясь на D. dentifera (Contrasting phylogeographic..., 2018). Данная гипотеза подтверждается выявлением гаплотипов D. dentifera в водоемах Якутии (бассейн р. Лена). Примечательно, что аналогичная ситуация отмечена в водоемах Китая, где D. dentifera представляет собой доминирующий вид, тогда как D. longispinas.str. встречается крайне редко (At the edge..., 2013; Diversity of the Daphnia..., 2014; Daphnia galeata and..., 2019; Daphnia diversity..., 2018). К сожалению, существование переходной зоны между этими двумя видами не обсуждалось авторами предыдущих публикаций на основании находок из Китая. При этом меридиональная дифференциация с переходной зоной между западными и восточными таксонами или филогруппами в бассейне р. Енисей отмечалась и для других родов кладоцер (Barcoding reveals..., 2016; Phylogeography of the *Chydorus*..., 2016).

Ранее отмечалось, что виды *D. longispina* s.str. и *D. galeata* предпочитают водоемы с разным трофическим статусом и гидрологическими особенностями (Spatial, environmental..., 2008; Congruent patterns..., 2012; Spaak et al., 2012; Local and regional..., 2014). Исследование сибирских популяций подтверждает эту точку зрения только частично. Более того, в пелагиали озер Тоджинской котловины доминирует *D. galeata*, тогда как *D. longispina* s.str. встречается только в мелководных, хорошо прогреваемых заливах или небольших прудах (Зуйкова, Бочкарев, 2009). В то же время, в мелких временных водоемах бассейна оз. Чаны эти виды сосуществуют. Различные экологические условия могут быть причиной различных адаптаций, которые усиливают генетическую дивергенцию между географически удаленными популяциями (Nosil, 2007;

Costanzo, Taylor, 2010; The role of selection..., 2013).

# 7.3 Влияние плейстоценового оледенения на формирование современного разнообразия группы *D. longispina* s.l. в Сибири

При оценке эволюционной истории отдельных митохондриальных линий и видов исследователи довольно часто сталкиваются с определенными трудностями и неизбежными ошибками, бо́льшей частью обусловленными отсутствием объективной возможности для калибровки молекулярных часов в каждом конкретном случае (Time dependency..., 2005; Origin of a divergent..., 2016; Phylogeography of the *Chydorus...*, 2016). Поскольку скорость мутаций как в разных генах, так и у разных организмов может быть неравномерной, или сильно различаться, в такой ситуации исключительную важность для исследователя приобретает знание о климатических особенностях и основных геологических событиях, которые происходили в районе исследования в плейстоцене.

В настоящем исследовании мы также не располагали данными о реальной скорости мутаций в используемых для анализа фрагментах генов мтДНК (12S, 16S и ND2) для видов группы *D. longispina* s.l., населяющих водоемы азиатской части России. В связи с этим, оценка эволюционной истории и механизмы формирования филогеографических паттернов для массовых и редких видов изучаемой группы дафний была скорректирована с учетом известных геологических событий, произошедших в регионе в период плейстоцена.

Во время самых холодных фаз плейстоцена, северный сток крупных сибирских рек прерывался континентальным ледником, что в результате приводило к значительному повышению уровня воды в их среднем течении и, как следствие, к возникновению огромных приледниковых озер на севере (Гросвальд, 1999; Ice-dammed lakes..., 2004; Волков, Казьмин, 2007). В позднем плейстоцене крупные сибирские реки были подпружены ледниковыми щитами, в результате чего в северной части Евразии сформировались огромные

приледниковые озера, объединяющие западные и восточные гидрологические системы (включающие бассейны рек Волга, Обь, Енисей и Лена) от Альп до современной Якутии (Гросвальд, Котляков, 1989; Гросвальд, 1999). В Западной Сибири в это время существовало крупное Мансийское озеро, которое охватывало территорию современного бассейна оз. Чаны. Оледенение на территории Горного Алтая, Саян и Восточносибирской низменности было только частичным (Гросвальд, 1999; Природная обстановка..., 2010). Распространение горных ледников в южных регионах Центральной и Восточной Сибири коррелировало с направлением основных воздушных масс зимой: самый общирный ледник располагался в Алтае-Саянской горной области, и его толщина постепенно уменьшалась с запада на восток.

В результате многочисленных исследований было выявлено, что юг Сибири, в том числе и Алтае-Саянская горная страна, представлял собой важный плейстоценовый рефугиум для выживания наземной фауны (Kuzmin, 2008; Schmitt, Varga, 2012; Řičánková et al., 2014; Chlachula, 2017). В это же время такие крупные озера как Телецкое, а также подпрудные озера Чуйское и Уймонское, служили рефугиумами для пресноводной фауны в Алтайских горах (Гросвальд, Котляков, 1989; Высоцкий, 2001). Основные рефугиумы в бассейне р. Енисей располагались в Тоджинской и Дархатской котловинах, где размер озер претерпевал значительные изменения в течение гляциальных циклов плейстоцена (Природная обстановка..., 2010). В периоды таяния ледника периодически происходилподъем уровня воды и в котловинах возникали озера. В последний раз в Тоджинской котловине такое озеро сформировалось около 10000-12000 лет назад.

Колонизация южных сибирских озер дафниями могла произойти уже после исчезновения ледника, т.е. около 10-15 000 лет назад, но такой сценарий кажется нам менее вероятным, если принять во внимание вышеупомянутые оценки времени дивергенции для сибирских популяций *D. galeata* и *D. longispina* s.str. Скорее всего, у дафний была возможность выжить в рефугиумах (как в активной фазе, тик и в виде банка покоящихся яиц). В дальнейшем эти

эволюционные линии имели значительныеадаптивные преимущества перед линиями «вселенцев», если следовать логике «гипотезы монополизации» (The monopolization hypothesis..., 2002).

Геологическая и климатическая ситуация в Сибири в течение позднего плейстоцена могла быть причиной низких генетических дистанций между популяциями D. longispina s.str. «европейской» клады из водоемов Урала, бассейна оз. Чаны и Западной Европы. Скорее всего, в этот период и происходило смешение разных митохондриальных линий D. longispina s.str., на этапе формирующих «европейскую» кладу. Современные современном популяции *D. longispina* s.str., формирующие «европейскую» кладу Б, возникли результате вторичного и неоднократного на обширных в контакта географических территориях многочисленных митохондриальных линий, частично (или полностью?) изолированных друг от друга в течение некоторого временно́го промежутка.

В противоположность этому популяции, в настоящее время составляющие «сибирскую» кладу, были изолированы в течение довольно продолжительного временного интервала в рефугиумах, расположенных на территории Алтае-Саянской горной страны. Такая длительная изоляция неизбежно должна была привести к сильной генетической дифференциации между между кладами. Очевидно, что гаплотипы *D. longispina* s.str., составляющие ядро «сибирской» клады А, представляют собой остатки древней фауны, выжившей в рефугиумах в течение нескольких ледниковых циклов.

Исходя из результатов генетического анализа популяций, можно с высокой долей вероятности предположить, что продолжительная географическая изоляция привела к сильной генетической дивергенции гаплотипов «сибирскую» клады, поскольку в настоящее время в водоемах юга Сибири отмечается уникальный комплекс гаплотипов *D. longispina* s.str.

Изменения климата и, как результат, гидрологического режима сибирских рек, происходили в течение плейстоцена неоднократно. В течение теплых фаз плейстоцена возобновлялся сток рек в Северный Ледовитый океан (Гросвальд, Котляков, 1989; Волков, Казьмин, 2007), что давало возможность для распространения покоящихся стадий дафний (эфиппиумов с покоящимися яйцами) из рефугиумов (Figuerola, Green, 2002; Havel, Shurin, 2004; Figuerola et al., 2005). Эфиппиумы ветвистоусых ракообразных могли распространяться пассивно – самими реками вниз по течению.

Эта геологическая ситуация объясняет появление гаплотипов клады А в водоемах бассейна оз. Чаны и Ямало-Ненецкого округа (среднее и нижнее течение р. Обь). Находка единственного известного на данный момент времени гаплотипа «европейской» клады D. longispina s.str. в Тоджинской котловине (концентрация гаплотипов «сибирской» клады), вероятно, связана С распространения эфиппиумов кладоцер возможностью перелетными водоплавающими птицами, которые легко переносят их на оперении и при своих перелетах часто следуют вдоль долин крупных рек.

Известно, что самые древние остатки кладоцер датируются ранней юрой, также предполагается возможное широкое распространение этой группы еще до начала юрского периода. (Kotov, 2009; VanDamme, Kotov, 2016). Принимая во внимание значительный возраст кладоцер, мы допускаем, что некоторые виды группы *D. longispina* s.l. были широко распространены по всей территории Северной Евразии в плиоцене. Очевидно, что в течение плейстоценовых ледниковых циклов границы распространения большинства групп кладоцер периодически сокращались в размерах, а иногда даже ограничивались пределами небольших рефугиумов.

Идентичный сценарий показан для популяций *D. longispina* s.str. из горных районов Пиренеев и Татр, которые также характеризовались ограниченным потоком генов и сильным влиянием эффекта основателя (Congruent patterns..., 2012; Local and regional..., 2014). Сходный сценарий установлен для популяций сигов группы *Coregonus lavaretus* s.l. в водоемах бассейнов рек Обь и Енисей (Bochkarev et al., 2011). Аналогичные модели постледниковой экспансии, датированные поздним плейстоценом, были обнаружены для рода *Polyphemus* (The non-cosmopolitanism..., 2009) и

172

популяций *D. galeata* из Северной Америки и Японии (Ishida, Taylor, 2007a; 2007b).

В связи с вышесказанным мы полагаем, что данный регион также имел важное значение для сохранения здесь специфичной фауны ветвистоусых ракообразных (а, возможно, и всей пресноводной фауны) в холодные фазы плейстоцена. На основании вышесказанного с высокой долей вероятности можно заключить, что все редкие и эндемичные таксоны группы *Daphnia longispina* s.1. – *D. turbinata*, D. *umbra* и *D.* cf. *longispina* – представляют собой реликтовые остатки древней пресноводной фауны.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ГЛАВЫ

популяций Результаты изучения генетической структуры свидетельствуют о том, что эволюция массовых видов группы D. longispina s.l. территории северо-восточной Евразии проходила согласно разным на сценариям. На данный факт указывают специфические особенности структуры сетей митохондриальных гаплотипов, образцы ИХ географического распространения, характер распределения частот гаплотипов, значения индексов фиксации  $F_{ST}$  и тестов на нейтральность эволюции у видов *D. galeata*, D. longispina s.str. и D. dentifera. Так, эволюционные процессы в популяциях викарирующих видов D. dentifera и D. longispina s.str. соответствовали сходному сценарию, который, в свою очередь, отличался от такового для D. galeata. Результаты генетического анализа популяций D. galeata свидетельствуют об относительно недавней (постледниковой) и быстрой пространственной экспансии этого вида.

Значения генетических показателей в популяциях D. dentifera и D. longispina s.str. «сибирской» клады согласуются с процессом длительной изоляции дивергентных митохондриальных генетически групп В плейстоценовых рефугиумах Сибири. юга Область распространения «сибирской» клады ограничена Алтае-Саянским гаплотипов регионом.

Гаплотипы D. longispina s.str. «европейской» клады не проникают в горные водоемы, что объясняется влиянием «эффекта основателя» и соответствует принципам «гипотезы монополизации». Дальнейшей экспансии гаплотипов клады А в восточном направлении от бассейна р. Енисей препятствует встречное расселение и конкурентные отношения с викарирующим видом D. dentifera. По всей вероятности, зона вторичного контакта между видами D. longispina s.str. и D. dentifera расположена в Енисейско-Байкальском регионе. Для всех исследованных видов группы D. longispina s.l. в сибирских обнаружены популяциях уникальные гаплотипы, И максимальное гаплотипическое разнообразие отмечено В географически удаленных, предгорных и горных регионах – водоемах бассейнов рек Енисей и Обь, оз. БайкалиЗабайкалья (Contrasting phylogeographic..., 2018: Unexpected endemism..., 2019; Zuykova et al., 2019).

Южно-сибирские эндемичные таксоны, горный вид D. turbinata, D. cf. longispina из бассейна оз. Чаны, и D. umbra (одна популяция в Южной Сибири, географически удаленная от арктических популяций вида), прошли через жесткое или продолжительное «бутылочное горлышко». Эти виды, очевидно, представляют собой остатки реликтовой фауны доледникового периода. Сложная геологическая и климатическая история Алтае-Саянской горной системы способствовала формированию здесь уникального видового и *D. longispina* s.l. Полученные данные гаплотипического состава группы позволяют рассматривать данный регион как источник новых, еще не идентифицированных таксонов В пределах рода Daphnia И других пресноводных беспозвоночных. Это предполагает необходимость проведения дальнейших, более обширных, исследований генетического полиморфизма сибирских популяций и видов рода Daphnia, в частности, группы D. longispina s.l.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Комплексное исследование популяций и видов группы D. longispina s.l. из пресноводных водоемов азиатской части России убедительно доказывает факт существования В ee пределах нескольких криптических таксонов, характеризующихся высоким морфологическим сходством. Из всех известных в настоящее время видов этой группы кладоцер только два – D. galeata и D. *сисиllata* – относительно легко идентифицируются по морфологическим признакам, однако только в том случае, если эти особи не гибридного происхождения (Gießler et al., 1999; Gießler, 2001; Identifying hybridizing taxa..., 2010). Высокое морфологическое сходство наблюдается между массовыми видами D. longispina s.str., D. hyalina, D. dentifera и предположительно новым видом (западносибирским эндемиком) D. cf. longispina. Идентификация по морфологическим признакам редких видов группы D. longispina s.l. – D. turbinata и D. umbra – также в большинстве случаев вызывает трудности ввиду их высокого сходства с номинативным видом D. longispina s.str..

В целом вышеупомянутых видов обнаружена для всех низкая диагностическая ценность морфологических признаков, причем это относится как к партеногенетическим самкам, так и к взрослым самцам. Между видов взрослыми самцами массовых и редких группы обнаружены незначительные морфологических отличия, которые не позволяют точно диагностировать видовую принадлежность. Следует признать, что самцов видов группы D. longispina s.l. нельзя рассматривать в качестве перспективных объектов для выявления дискриминирующих признаков, как это было обнаружено для других групп кладоцер (Kotov, 2015).

Дополнительные возможности для идентификации видов группы *D.* longispina s.l. на основе морфологии предоставил анализ изменчивости формы тела особей с помощью метода геометрической морфометрии. Совместно с традиционными морфологическими методами этот способ показал высокую результативность при оценке степени различий между массовыми и криптическими видами группы, позволил выявить пределы популяционной и видовой изменчивости. С помощью метода геометрической морфометрии были продемонстрированы признаки, вклад которых в общую изменчивость формы тела дафний оказался самым весомым. Согласно результатам морфометрического анализа, при идентификации криптических таксонов в пределах группы *D. longispina* s.l. следует обращать внимание на форму переднего края головы, рострума, верхней и нижней частей дорсо-вентрального края раковины. Эти признаки могут оказаться полезными для распознавания партеногенетических самок таких видов, как *D. hyalina*, *D. umbra* и *D. turbinata*.

Исследование генетической изменчивости популяций и видов группы D. longispina s.l. из водоемов азиатской части России внесло значительный вклад в понимание глобальной филогении и филогеографии этих ветвистоусых ракообразных. Филогения, реконструированная блоках на различных нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК (полный 12S блок, оригинальный 12S блок и объединенный 16S+12S+ND2 блок), подтверждает существование нескольких видовых кластеров в пределах группы. Массовые виды группы D. longispina s.l. – D. galeata, D. cucullata, D. longispina s.str./D. D. dentifera – связаны между собой монофилетическими hvalina и отношениями. Положение в общей филогенетической схеме группы редких видов – D. umbra, D. turbinata и D. cf. longispina – кажется более неопределенным и неустойчивым, однако в данном случае может сказываться незначительное число имеющихся и подвергнутых генетическому анализу особей (и популяций). Впрочем, не вызывает сомнения тот факт, что D. turbinata группируется с массовыми видами, тогда как D. cf. longispina и D. *umbra* не связаны с ними близкородственными отношениями и в общей филогении группы D. longispina s.l. занимают базальное положение. Последний факт указывает на то, что D. cf. longispina и D. umbra не имеют общего предка со всеми остальными видами группы.

Учитывая особенности филогенетических отношений между видами группы *D. longispina* s.l. и принимая во внимание современные представления о

типах криптических видов (О криптических видах..., 2004; Fišer et al., 2017; Finding evolutionary..., 2017), мы полагаем, что криптическое разнообразие в пределах этой группы возникло в результате воздействия различных эволюционных процессов. Такие виды как *D. longispina* s.str., *D. hyalina* и *D. dentifera* состоят в монофилетических отношениях и представляют собой сестринские таксоны, которые произошли от общего предка. Тогда, согласно работе Т. Страка с соавторами (Finding evolutionary..., 2017) можно предположить такие режимы естественного отбора как недавняя дивергенция, либо морфологический стасис. Скорее всего, процесс недавней дивергенции применим для пары *D. hyalina* и *D. longispina* s.str., тогда как для *D. longispina* s.str. и *D. dentifera*, учитывая более глубокую генетическую дистанцию между ними, более приемлем режим морфологического стасиса.

Редкие эндемичные и криптические виды группы D. longispina s.l. – D. turbinata, D. umbra и D. cf. longispina, очевидно, произошли в результате воздействия совершенно других эволюционных процессов, поскольку монофилия между ними и массовыми видами не очевидна, или полностью отсутствует. И если для D. turbinata, D. longispina s.str. и D. dentifera мы можем предположить существование общего предка, то D. umbra и D. cf. longispina не состоят с ними в близкородственных отношениях. В данном случае, морфологическое сходство между этими видами объясняется морфологической конвергенцией между эволюционно далекими видами, которая возникла вследствие воздействия сходных режимов отбора, или параллельной эволюцией морфологически сходных предков (Fišer et al., 2017; Finding evolutionary..., 2017).

Филогения группы *D. longispina* s.l. на основе второго промежуточного транскрибируемого спейсера ITS2 ядерной ДНК демонстрирует неразрешенную политомию, свидетельствующую о гибридной природе некоторых особей *D. galeata*, *D. cucullata* и *D. longispina* s.str. Однако использование информации о предполагаемой вторичной структуре спейсера ITS2 и анализ компенсаторных замен CBC оказались весьма полезными для

разграничения криптических видов в пределах группы. Данный подход подтвердил видовую самостоятельность *D. longispina* s.str., *D. hyalina*, *D. umbra* и *D.* cf. longispina. При этом CBC анализ указывает на недавнюю эволюционную радиацию между видами *D. longispina* s.str. и *D. hyalina* и на отсутствие близкородственных отношений между *D.* cf. longispina и другими видами группы. Эти результаты подтверждают выводы о разных режимах отбора, лежащих в основе происхождения криптических видов группы *D. longispina* s.l., сделанные нами на основе анализа митохондриальной филогении.

Анализ генетической структуры популяций позволяет говорить о том, что наблюдаемые филогеографические паттерны для массовых видов группы *D.* longispina s.l. (*D. galeata*, *D. longispina* s.str. и *D. dentifera*) в водоемах Сибири представляют собой результат комбинированного воздействия на популяции как минимум двух процессов – дисперсии и викариантных событий, происходивших неоднократно в разные периоды плейстоцена. Более того, разные структуры сетей гаплотипов для *D. galeata*, реконструированных по разным митохондриальным маркерам – 12S и ND2, скорее всего, отражают события, происходившие в разные временные интервалы их эволюционной истории. То есть, сеть 12S гаплотипов (как более консервативного участка мтДНК по сравнению с ND2) свидетельствует о более древних эволюционных процессах.

Проведенное исследование подтверждает факт широкого распространения митохондриальных гаплотипов вида *D. galeata* в водоемах разного типа по всей территории Северной Палеарктики, от Западной Европы и Европейской части России через Западную и Восточную Сибирь, Забайкалье до российского Дальнего Востока. Полученная картина указывает на недавнюю и быструю пространственную экспансию вида, которая, скорее всего, произошла в постледниковый период. Сходные выводы были сделаны при изучении генетической структуры популяций *D. galeata* в отдельных регионах. Тем не менее, они были более уязвимы для критики в том плане, что экстраполяция

результатов этих исследований на более обширные территории могла быть неадекватной (Diversity of the *Daphnia*..., 2014; Özdemir et al., 2017; Confirmation through genetic..., 2017).

Масштабные молекулярно-генетические исследования азиатских популяций номинативного вида *D.longispina* s.str. способствовали выявлению многочисленных дивергентных митохондриальных линий, которые формируют две крупные клады 12S гаплотипов (Глава 4, п. 4.4). Предположительно, эти клады имеют разную эволюционную историю, на что указывают показатели генетического полиморфизма популяций и характер распределения частот гаплотипов. Уровень молекулярной дисперсии между кладами D. longispina s.str. значительно выше, чем внутри клад. На это указывают результаты анализа (AMOVA), иерархического выполненного на уровне клад И показавшего существенное снижение уровня внутривидовой генетической изменчивости с 55.22 до 20.93% при анализе компоненты «на уровне клад». Аналогичное разделение на две крупные клады было обнаружено при изучении распространения ND2 гаплотипов «D. rosea s.l.» С. Ишидой и Д. Тэйлором (Ishida, Taylor, 2007а). Принимая во внимание тот факт, что D. longispina s.str. была ошибочно идентифицирована авторами как «D. rosea», вероятно, что выделенные нами «европейская» и «сибирская» клады D. longispina s.str. соответствуют их «европейской» и сибирской» кладам D. rosea s.l. Таким образом, вышесказанное служит неоспоримым доказательством реального существования двух крупных митохондриальных клад D. longispina s.str. на территории Северной Евразии.

Гаплотипы *D. dentifera* из водоемов бассейна оз. Байкал, Якутии и Монголии тесно связаны с гаплотипами из Японии и даже Северной Америки. Такое сходство гаплотипов ранее было обнаружено при сравнении популяций *D. dentifera* из Японии и Китая (The long-term consequences..., 2011; Diversity of the *Daphnia*..., 2014). Вероятно, этот факт свидетельствует в пользу проникновения этого вида на территорию Евразии с американского континента через Берингию.

В настоящее время не обнаружено ни одного случая сосуществования *D.* galeata и *D.* longispina s.str. с *D.* dentifera в водоемах Сибири. Аналогичная ситуация отмечалось в водоемах Китая, где также не было зарегистрировано случаев совместного обитания этих видов (At the edge..., 2012; Diversity of the Daphnia..., 2014). Тем не менее, в водоемах Японии и Северной Америки *D.* galeata и *D.* dentifera обитают совместно и даже образуют гибриды (Duffy et al., 2004; The long-term consequences..., 2011). На данный момент причины такого распространения этих видов на территории Евразии неизвестны, однако мы можем предположить, что дальнейшее изучение популяций из азиатской части России приведет к выявлению их совместного обитания. Это предположение основано на том, что в бассейне оз. Байкал и в Якутии, где были выявлены популяции *D.* dentifera, встречаются также популяции *D.* galeata и *D.* longispina s.str., только в других водоемах.

Особенности генетической структуры (показатели полиморфизма генов мтДНК, тесты на нейтральность эволюции) в популяциях D. dentifera и «сибирской» клады D. longispina s.str. указывают на продолжительную временную отдельных митохондриальных линий, которые ИЗОЛЯЦИЮ плейстоценовых рефугиумах. Область сохранялись распространения В гаплотипов «сибирской» клады D. longispina s.str. ограничена водоемами Алтае-Саянского региона.

Экспансии гаплотипов этой клады в восточном направлении от бассейна р. Енисей препятствует встречное расселение викарирующего вида *D. dentifera*, с которым, по-видимому, у *D. longispina* s.str. складываются конкурентные отношения. В связи с этим мы полагаем, что зона вторичного контакта между видами *D. longispina* s.str. и *D. dentifera* расположена в Енисейско-Байкальском регионе. Необходимо отметить, что существование переходной зоны между видами *D. dentifera* и *D. longispina* s.str., очевидно, представляет собой не уникальное явление, а закономерность в распределении митохондриальных гаплотипов ветвистоусых ракообразных на территории Северной Евразии. Этот вывод подтверждается обнаруженной ранее меридиональной дифференциацией
в бассейне р. Енисей между западными и восточными таксонами или филогруппами для других таксономических групп кладоцер (Barcoding reveals..., 2016; Phylogeography of *Daphnia*..., 2018; Phylogeography of the *Chydorus*..., 2016).

Южно-сибирские эндемичные таксоны, горные виды D. turbinata и D. umbra, западносибирский эндемик D. cf. longispina (не ревизованный к настоящему времени) прошли через жесткое или продолжительное «бутылочное горлышко» (Avise, 2000). Разорванный ареал и низкая численность их популяций служат доказательством того, что эти виды представляют собой остатки реликтовой пресноводной фауны. Уникальный видовой и гаплотипический состав группы D. longispina s.l. на территории Алтае-Саянской горной системы сформировался благодаря особому сочетанию геологических и климатических событий в период плейстоцена. В периоды похолодания и аридизации Алтае-Саянская горная страна представляла собой систему рефугиумов, пригодных для выживания ветвистоусых ракообразных, которые во влажные периоды расселялись по доступным водоемам.

Подводя итог вышесказанному, следует отметить высокую эффективность комплексного подхода с использованием различных методов анализа при изучении сложных в таксономическом отношении таксонов ветвистоусых ракообразных, таких как группа видов D. longispina s.l. Изучение популяций группы позволило убедительно массовых И редких видов доказать уникальность гаплотипического и видового разнообразия на территории азиатской части России. Особенно четко эта особенность проявляется в географически удаленных, предгорных и горных областях – Алтае-Саянской горной страны, Республики Тыва, бассейне оз. Байкал и в Забайкалье. Основываясь на результатах исследования, мы полагаем, что территория российской части Евразии представляет собой модельный регион для дальнейших филогеографических исследований группы *D. longispina* s.l. Принимая во внимание обширность данного региона, разнообразие ландшафтов и обилие водоемов, сложную геологическую историю, нельзя исключать

возможность для выявления здесь новых филогеографических паттернов для массовых видов группы *D. longispina* s.l., новых находок редких и эндемичных видов. Важно отметить, что выявленные на территории российской части Евразии эндемичные виды, дивергентные митохондриальные линии могут представлять собой как результат микроэволюционных процессов, так и остатки древней фауны. В конечном итоге, различная эволюционная история отдельных представителей группы *D. longispina* s.l. оказывает существенное влияние на современный облик фауны ветвистоусых ракообразных, населяющих пресноводные водоемы.

## выводы

1. Партеногенетические самки близкородственных видов группы *Daphnia longispina* s.l. характеризуются высокой степенью морфологического сходства. Диагностические морфологические признаки половозрелых самцов этих видов в целом малоинформативны, однако, они более выражены у эндемичных видов *D. umbra* и *D. turbinata*.

2. Использование метода геометрической морфометрии для изучения изменчивости формы тела на популяционном и видовом уровнях позволяет выявить основные дискриминирующие признаки для партеногенетических самок близкородственных и криптических видов группы *Daphnia longispina* s.l.

3. Реконструкция филогенетических взаимоотношений в пределах группы D. longispina s.l., выполненная на основе фрагментов генов 16S, 12S и ND2 митохондриальной ДНК выявляет несколько крупных клад. биологическим соответствующих видам. Митохондриальная филогения подтверждает устойчивые монофилетические отношения между видами D. galeata – D. cucullata и D. longispina s.str. – D. dentifera.

4. При изучении популяций массовых и редких видов группы *Daphnia longispina* s.l. с помощью методов молекулярно-генетического анализа на территории азиатской части РФ впервые обнаружены популяции видов *D. dentifera* и *D. umbra*, а также *D.* cf. *longispina*, новый для науки биологический вид, формально не описанный к настоящему времени.

5. Положение редких видов *D. turbinata*, *D. umbra* и *D.* cf. longispina в общей митохондриальной филогении группы *D. longispina* s.l. неустойчиво. Однако реконструкция филогенетических отношений на основе объединенного блока фрагментов генов 12S, 16S и ND2 мтДНК свидетельствует о более тесной связи между *D. turbinata* и массовыми видами группы. Гипотетически новый вид *D.* cf. longispina не относится к группе *D. longispina* s.l., формируя дистантную кладу.

6. Филогения longispina s.l. группы D. на основе второго транскрибируемого спейсера ITS2 ДНК промежуточного ядерной демонстрирует плохо разрешимую политомию и представляет собой результат гибридного происхождения некоторых особей близкородственных видов D. galeata – D. cucullata – D. longispina s.str., формирующих смешанные клады.

7. Использование информации о предполагаемой вторичной структуре спейсера ITS2 ядерной ДНК и анализ полукомпенсаторных замен подтверждают видовую самостоятельность форм/видовгруппы *D. longispina* s.l., которые практически не отличаются от *D. longispina* s.str. по морфологическим признакам.

8. Плейстоценовые циклы похолодания и аридизации климата в южной части азиатского региона РФ способствовали формообразованию разобщения частности, путем отдельных популяций кладоцер, В В приледниковых рефугиумах. Впоследствии сохранившиеся с доплейстоценовых времен немногочисленные формы и их непосредственные потомки вторично колонизировали водоемы Сибири, в результате чего на этой территории сформировался уникальный комплекс реликтовых видов группы *D*. longispina s.l.

9. Обитание в водоемах Алтая и Саян реликтовой группы D. longispina которая плейстоценовых рефугиумах быстро s.str., выжила В И распространилась в постледниковый период, было основным препятствием для колонизации этих водоемов родственными видами с запада и востока в период улучшения климатических условий. «Старый» филогеографический паттерн играл важную роль при формировании современного паттерна, в частности, определил положение современной переходной зоны между «западной» и «восточной» фаунами.

184

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абрамсон, Н.И. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы / И.Н. Абрамсон // Вестник ВОГиС. – 2007. – Т. 11 (2). – С. 307–331.
- Беклемишев, К.В. Экология и биогеография пелагиали / К.В. Беклемишев. Москва : Наука, 1969. – 296 с.
- Бенинг, А.Л. Кладоцера Кавказа / А.Л. Бенинг. Тбилиси : Грузмедгиз, 1941. – 384 с.
- Ветвистоусые ракообразные (Crustacea: Cladocera) Северной Евразии / Н.М. Коровчинский, А.А. Котов, О.С. Бойкова, Н.Н. Смирнов. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2021. – 481 с.
- Волков, И.А. Сток вод последнего оледенения севера Евразии / И.А. Волков, С.П. Казьмин // География и природные ресурсы. – 2007. – № 4. – С. 7–10.
- Высоцкий, Е.М. Геоморфология бассейна Телецкого озера / Е.М. Высоцкий // Физико-географическая характеристика Телецкого озера. 2001. С. 164–181.
- Гиляров, А.М. Популяционная экология / А.М. Гиляров. Москва : МГУ, 1990. – 191 с.
- Глаголев, С.М. Морфология конечностей некоторых видов рода *Daphnia* и ее значение для систематики рода / С.М. Глаголев // Биоценозы мезотрофного озера Глубокого – Москва : Наука, 1983а. – С. 61–93.
- Глаголев, С.М. Структура поверхности эфиппиума Daphniidae (Crustacea, Cladocera) по данным сканирующей электронной микроскопии / С.М. Глаголев // Зоологический журнал. – 19836. – Т. 62 (9). – С. 1422–1425.
- Глаголев, С.М. Половой диморфизм и морфологическая продвинутость ветвистоусых (Cladocera, Crustacea) / С.М. Глаголев // Журнал общей биологии. – 1984. – Т. 45 (1). – С. 59–65.
- Гросвальд, М.Г. Евразийские гидросферные катастрофы и оледенение Арктики / М.Г. Гросвальд. – Москва : Научный мир, 1999. – 120 с.

- Гросвальд, М.Г. Великая приледниковая система стока Северной Азии и её значение для межрегиональных корреляций / М.Г. Гросвальд, В.М. Котляков // Четвертичный период. Палеография и литология: Сборник научных трудов. – Кишинев : Штииница, 1989. – С. 5–13.
- Дзунино, М. Биогеография (эволюционные аспекты) / М. Дзунино, А. Дзуллини. – Москва, 2010. – 3 1 7 с.
- 14. Зуйкова, Е.И. Характеристика пелагического зоопланктона крупных озер Тоджинской котловины (Республика Тыва) / Е.И. Зуйкова, Н.А. Бочкарев // Биология внутренних вод. – 2009. – № 1. – С. 53–61.
- Зуйкова, Е.И. Постэмбриональная морфологическая изменчивость *Daphnia* galeata Sars в водоемах различного типа / Е.И. Зуйкова, Н.А. Бочкарев // Сибирский экологический журнал. – 2010а. – № 1. – С. 41–55.
- 16. Зуйкова, Е.И. Морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* (Cladocera: Anomopoda) в озерах Тоджинской котловины (бассейн р. Большой Енисей)
  / Е.И. Зуйкова, Н.А. Бочкарев // Известия Иркутского государственного университета. Серия биология, экология. 2010б. Т. 3. Вып. 1. С. 23–26.
- 17. Зуйкова, Е.И. Популяционная морфологическая изменчивость *Daphnia galeata* (Cladocera: Anomopoda) в озерах Тоджинской котловины (бассейн р. Большой Енисей) / Е.И. Зуйкова, Н.А. Бочкарев // Экология. 2011. № 4. С. 280–288.
- 18. Зуйкова, Е.И. Молекулярно-генетическая диагностика и филогения видов рода *Daphnia* (Crustacea: Cladocera) из водоемов бассейна озера Чаны / Е.И. Зуйкова, Н.А. Бочкарев, А.В. Катохин // Генетика. 2013. Т. 49 (2). С. 235–243.
- Зуйкова, Е.И. Генетический полиморфизм, распространение гаплотипов и филогения видов рода *Daphnia* (Cladocera: Anomopoda) из некоторых водоемов России по результатам секвенирования гена 16S мтДНК / Е.И. Зуйкова, Н.А. Бочкарев, Н.Г. Шевелева // Генетика. – 2016. – Т. 52 (6). – С. 672–684.

- 20. Зуйкова, Е.И. Популяционная и межвидовая морфологическая изменчивость видов рода *Daphnia* O.F. Müller. 1785 (Cladocera, Daphniidae) / Е.И. Зуйкова, Н.А. Бочкарев // Зоологический журнал. 2016. Т. 95 (5). С. 1–10.
- Иоганнсен, В.Л. О наследовании в популяциях и чистых линиях / В.Л. Иоганнсен. – Москва-Ленинград : ОГИЗ-СЕЛЬХОЗГИЗ, 1935. – 77 с.
- Кирдяшева, А.Г. Морфология и возрастная изменчивость *Daphnia galeata* Sars (Cladocera: Daphniidae) в двух близлежащих водоемах Кольского полуострова / А.Г. Кирдяшева, А.А. Котов // Известия РАН, Серия биология. 2013. № 2. С. 174–185.
- 23. Кирдяшева, А.Г Закономерности изменения морфологии ветвистоусых ракообразных подрода *Daphnia* (*Daphnia*) О.F. Müller (Cladocera: Daphniidae) при переходе к пелагическому образу жизни: спец. 03.02.10 «Гидробиология» : автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.Г. Кирдяшева. Борок, 2017. 25 с.
- 24. Коровчинский, Н.М. Современное состояние проблемы систематики ветвистоусых ракообразных / Н.М. Коровчинский // Современные проблемы изучения ветвистоусых ракообразных. – Санкт-Петербург : Гидрометеоиздат, 1992. – С. 4–45.
- 25. Коровчинский, Н.М. Ветвистоусые ракообразные отряда Ctenopoda мировой фауны (морфология, систематика, экология, зоогеография) / Н.М. Коровчинский. – Москва : КМК, 2004. – 410 с.
- 26. Коровчинский, Н.М. Краткий очерк систематико-фаунистических исследований ракообразных внутренних водоемов России / Н.М. Коровчинский // Актуальные проблемы изучения ракообразных континентальных вод: материалы лекций и докладов международной школы-конференции. Борок : Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (5-9 ноября 2012 г.), 2012. С. 38–54.

- 27. Котов, А.А. Развитие головных и торакальных придатков в позднем эмбриогенезе *Eurycercus lamellatus* (Daphniiformes, Chydoridae) / А.А. Котов // Зоологический журнал. – 1995. – Т. 74 (9). – С. 39–50.
- Котов, А.А. Перспективы применения методов сканирующей электронной микроскопии для изучения эмбрионов Anomopoda (Crustacea, Branchiopoda, Cladocera) / А.А. Котов // Зоологический журнал. 2001. Т. 80 (8). С. 929–936.
- Котов, А.А. Cladocera (Crustacea, Branchiopoda) бассейна реки Зеи (Амурская область, Российская Федерация).
   Описания новых таксонов / А.А. Котов, А.Ю. Синев // Зоологический журнал. – 2011. – Т. 90 (3). – С. 272–284.
- 30. Котов, А.А. Морфология и филогения Anomopoda (Crustacea: Cladocera) / А.А. Котов. – Москва : КМК, 2013. – 638 с.
- Котов, А.А. Фаунистические комплексы Cladocera (Crustacea, Branchiopoda) Восточной Сибири и Дальнего Востока России / А.А. Котов // Зоологический журнал. – 2016. – Т. 95 (7). – С. 748–768.
- 32. Лухтанов, В.А. Выявление симпатрично обитающих видов-двойников бабочек из комплекса Agrodiaetus kendevani (Lepidoptera, Lycaenidae) с помощью популяционного анализа несцепленных генетических маркеров / В.А. Лухтанов, Н.А. Шаповал // Доклады Академии наук. 2008. Т. 423 (3). С. 421–426.
- Майр, Э. Зоологический вид и эволюция / Э. Майр. Москва : Мир, 1968. 598 с.
- 34. Майр, Э. Принципы зоологической систематики / Э. Майр. Москва : Мир, 1971. – 454 с.
- 35. Мануйлова, Е.Ф. Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР: монография / Е.Ф. Мануйлова. – Москва-Ленинград : Наука, 1964. – 329 с.
- 36. О криптических видах (на примере амфибий) / Л.Я. Боркин, С.Н. Литвинчук, Ю.М. Розанов, Д.В. Скоринов // Зоологический журнал. – 2004. – Т. 83 (8). – С. 936–960.

- 37. Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России
   / под ред. В.Р. Алексеева, С.Я. Цалолихина. Москва : Товарищество научных изданий КМК, 2010. Т. 1. 495 с.
- Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Ракообразные / под ред. С.Я. Цалолихина. – Санкт-Петербург : Зоологический институт РАН, 1995. – Т. 2. – 627 с.
- Орлова-Беньковская, М.Я. Ревизия группы видов Simocephalus serrulatus (Crustacea, Anomopoda, Daphniidae) / М.Я. Орлова-Беньковская // Зоологический журнал. – 1995. – Т. 74 (8). – С. 57–71.
- 40. Павлинов, И.Я. Принципы и методы геометрической морфометрии / И.Я. Павлинов, Н.Г. Микешина // Журнал общей биологии. 2002. Т. 63 (6). С. 473–493.
- 41. Природная обстановка в Голоцене в западной части Тоджинской впадины на примере разреза Мерзлый Яр / С.Г. Аржанников, С.В. Алексеев, А.В. Глызин [и др.] // Проблемы реконструкции климата и природной среды голоцена и плейстоцена Сибири. — Новосибирск : Издательство Института археологии и этнографии СО РАН, 2000. – Вып. 2. – С. 18–29.
- 42. Систематика Cladocera: современное состояние и перспективы развития / Н.Н. Смирнов, Н.М. Коровчинский, А.А. Котов, А.Ю. Синев // Ветвистоусые ракообразные: систематика и биология: материалы Всероссийской школы-конференции. Борок :Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина. 8-12 октября 2007 г. – Нижний Новгород : Вектор ТиС. – 2007. С. 5–73.
- 43. Тимофеев-Ресовский, Н.В. Краткий очерк теории эволюции / Н.В. Тимофеев-Ресовский, Н.Н. Воронцов, А.В. Яблоков. Москва : Наука, 1977. 299 с.
- 44. Шварц, С.С. Популяционная структура вида / С.С. Шварц // Зоологический журнал. 1967. Т. 46 (10). С. 1456–1467.

- 45. Шнеер, В.С. Криптические виды растений и их выявление по генетической дифференциации популяций / В.С. Шнеер, В.В. Коцеруба // Экологическая генетика. – 2014. – Т. 12 (3). – С. 12–31.
- 46. Яблоков, А.В. Эволюционное учение / А.В. Яблоков, А.Г. Юсуфов. –
   Москва : Высшая школа, 1981. 343 с.
- 47. Яблоков, А.В. Популяционная биология / А.В. Яблоков. Москва : Высшая школа, 1987. 303 с.
- 48. Accurate and efficient reconstruction of deep phylogenies from structured RNAs / R.R. Stocsits, H. Letsch, J. Hertel [et al.] // Nucleic Acids Research. 2009. V. 37 (18). P. 6184–6193.
- 49. A common core of secondary structure of the internal transcribed spacer 2 (ITS2) throughout the Eukaryota / J. Schultz, S. Maisel, D. Gerlach [et al.] // RNA. 2005. V. 11. P. 361–364.
- 50. A hierarchical molecular phylogeny within the genus *Daphnia* / N. Lehman, M.E. Pfrender, P.A. Morin [et al.] // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 1995. – V. 4 (4). – P. 395–407.
- Adamowicz, S.J. Species diversity and endemism in the *Daphnia* of Argentina: a genetic investigation / S.J. Adamowicz, P.D.N. Hebert, M.C. Marinone // Zoological Journal of the Linnean Society. 2004. V. 140. P. 171–205.
- 52. Alonso M., 1996. Crustacea, Branchiopoda. Fauna Iberica 7. Crustacea Branchiopoda. – Madrid : Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, 486 p.
- 53. A new species group from the *Daphnia curvirostris* species complex (Cladocera: Anomopoda) from the Eastern Palearctic: taxonomy, phylogeny and phylogeography / A.A. Kotov, P.G. Garibian, D.P. Karabanov [et al.] // Zoological Journal of the Linnean Society. 2021. V. 191. P. 772–822.
- 54. A taxonomic reappraisal of the European Daphnia longispina complex (Crustacea, Cladocera, Anomopoda) / A. Petrusek, A. Hobæk, J.P. Nilssen [et al.] // Zoologica Scripta. – 2008. – V. 37 (5). – P. 507–519.

- 55. At the edge and on the top: molecular identification and ecology of *Daphnia dentifera* and *D. longispina* in high-altitude Asian lakes / M. Möst, A. Petrusek, R. Sommaruga [et al.] // Hydrobiologia. 2013. V. 715. P. 51–62.
- Avise, J.C. Phylogeography: the History and Formation of Species / J.C. Avise, Cambridge : Harvard University Press, 2000, 464 p.
- 57. Bandelt, H-J. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. / H-J. Bandelt, P. Forster, A. Röhl // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 1999. – V. 16. – P. 37–48.
- Barcoding reveals high cryptic diversity in the North Eurasian *Moina* species (Crustacea: Cladocera) / E.I. Bekker, D.P. Karabanov, Ya.R. Galimov, A.A. Kotov // PLoS ONE. – 2016. – V. 11. e0161737.
- Bekker, E.I. The genus *Eurycercus* Baird, 1843 (Cladocera: Eurycercidae) in the Neotropics / E.I. Bekker, A.A. Kotov, I. Elmoor-Loureiro // Journal of Natural History. – 2010. – V. 44. – P. 2481–2508.
- Bekker, E.I. A revision of the subgenus *Eurycercus (Eurycercus)* Baird, 1843 emend. nov. (Cladocera: Eurycercidae) in the Holarctic with the description of a new species from Alaska / E.I. Bekker, A.A. Kotov, D.J. Taylor // Zootaxa. 2012. V. 3206. P. 1–40.
- Belyaeva, M., Cryptic species within the *Chydorus sphaericus* species complex (Crustacea: Cladocera) revealed by molecular markers and sexual stage morphology / M. Belyaeva, D.J. Taylor // Molecular Phylogenetetics and Evolution. – 2009. – V. 50 (3). – P. 534–546.
- 62. Benzie, J.A.H. The systematics of Australian *Daphnia* (Cladocera: Daphniidae). Multivariate morphometrics / J.A.H. Benzie // Hydrobiologia. – 1988. – V. 166. – P. 163–182.
- 63. Benzie, J.A.H. The genus *Daphnia* (including *Daphniopsis*) (Anomopoda: Daphniidae) // Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world 21 / J.A.H. Benzie Leiden : Kenobi Prod., Ghent and Backhuys Publ., 2005. 376 p.

- 64. Biological identifications through DNA barcodes / P.D.N. Hebert, A. Cywinska, S.L. Ball, J.R. deWaard// Proceedings of the Royal Society of London B: Biological sciences. 2003. V. 270 (1512). P. 313–321.
- 65. Bochkarev, N.A. Morphology and mitochondrial DNA variation of the Siberian whitefish *Coregonus lavaretus pidschian* (Gmelin) in the upstream water bodies of the Ob and Yenisei rivers / N.A. Bochkarev, E.I. Zuykova, A.V. Katokhin. – Evolutionary Ecology. – 2011. – V. 25. – P. 557–572.
- 66. Boikova, O.S. 2008. Comparative investigation of the late embryogenesis of *Leptodora kindtii* (Focke, 1844) (Crustacea: Branchiopoda), with notes on types of embryonic development and larvae in Cladocera / O.S. Boikova // Journal of Natural History. – V. 42. – P. 2389–2416.
- 67. Bookstein, F.L. Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations / F.L Bookstein // IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. – 1989. – V. 11. – P. 567–585.
- Bookstein, F.L. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology (section on landmarks) / F.L Bookstein. – Cambridge : Cambridge University Press. – 1991. – P. 435 p.
- 69. Bornholdt, R. Size and shape variability in the skull of *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Chiroptera: Vespertilionidae) from two geographic areas in Brazil / R. Bornholdt, L.R. Oliveira, M.E. Fabián // Brazilian Journal of Biology. 2008. V. 68 (3). P. 623–631.
- Brendonck, L. 2003. Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment / L. Brendonck, L. De Meester. – Hydrobiologia. – 2003. – V. 491. P. 65–84.
- 71. Brooks, J.L. The systematics of North American *Daphnia* / J.L. Brooks // Memoirs of the Connecticut Academy of Arts and Sciences. – 1957. – V. 13. 180 p.
- 72. Brower, A.V.Z. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA

evolution / A.V.Z. Brower // Proceedings of the Natural Academy of Sciences of the USA. – 1994. – V. 91. – P. 6491–6495.

- Bychek, E.A. Molecular genetic diagnostic of some *Daphnia* species (Crustacea, Cladocera) from the Volga River / E.A. Bychek, J. Müller // Russian Journal of Genetics. – 2003. – V. 39 (3). – P. 439–441.
- 74. CBCAnalyzer: inferring phylogenies based on compensatory base changes in RNA secondary structures / M. Wolf, J. Friedrich, T. Dandekar, T. Müller // In Silico Biology. – 2005. – V. 5. – P. 291–294.
- 75. Cervantes-Martinez, A. Description of *Ilyocryptus nevadensis* (Branchiopoda, Anomopoda), a new species from a high altitude crater lake in the volcano Nevado de Toluca, Mexico / A. Cervantes-Martinez, M. Gutierrez-Aguirre, M. Elias-Gutierrez // Crustaceana. 2000. V. 73. P. 311–321.
- 76. Chin, T. Speciation in *Daphnia* / T. Chin, M. Cristescu. 2020. DOI: 10.22541/au.160037730.03234137/
- 77. Chlachula, J. Chronology and environments of the Pleistocene peopling of North Asia / J. Chlachula // Archaeological Research in Asia. 2017. V. 12. P. 33–53.
- Claus, C. Zur Kenntnis der Organisation und des feineren Baues der Daphniden und verwandter Cladoceren / C. Claus // Zeitschrift f
  ür wissenschaftliche Zoologie. – 1876. – V. 27. – P. 362–402.
- 79. Claus, C. Zur Kenntnis des Baues und der Organisation der Polyphemiden / C. Claus // Denkschriften der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften Wien. 1877. V. 37. P. 137–160.
- ClustalW and ClustalX version 2 / M.A. Larkin, G. Blackshields, N.P. Brown [et al.] // Bioinformatics. 2007. V. 23. P. 2947–2948.
- 81. Coexisting cyclic parthenogens comprise a Holocene species flock in *Eubosmina* / M. Faustová, V. Sacherová, H.D. Sheets [et al.] //PLoS One. 2010. V. 5(7).e11623.
- 82. Colbourne, J.K. The systematic of North American *Daphnia* (Crustacea: Anomopoda): a molecular phylogenetic approach/ J.K. Colbourne, P.D.N.

Hebert // Philosophical Transactions of the Royal Societyof London B: Biological sciences. – 1996. – V. 351. – P. 349–360.

- Colbourne, J.K. Evolutionary origins of phenotypic diversity in *Daphnia* / J.K. Colbourne, P.D.N. Hebert, D.J. Taylor // Molecular Evolution and Adaptive Radiation. Cambridge : Cambridge University Press. 1997. P. 163–189.
- 84. Colbourne, J.K. The systematics of Australian *Daphnia* and *Daphniopsis* (Crustacea: Cladocera): a shared phylogenetic history transformed by habitatspecific rates of evolution / J.K. Colbourne, C.C. Wilson, P.D.N. Hebert // Biological Journal of the Linnean Society. – 2006. – V. 89. – P. 469–488.
- Coleman, A.W. ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons / A.W. Coleman // Trends Genetics. – 2003. – V. 19. – P. 370–375.
- Coleman, A.W. Pan-eukaryote ITS2 homologies revealed by RNA secondary structure / A.W. Coleman // Nucleic Acids Research. – 2007. – V. 35 (10). – P. 3322–3329.
- Coleman, A.W. Is there a molecular key to the level of «biological species» in eukaryotes? A DNA guide / A.W. Coleman // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2009. – V. 50. – P. 197–203.
- 88. Confirmation through genetic analysis of the existence of many local phyloclades of the genus *Simocephalus* (Crustacea, Cladocera) in China / X. Huang, X. Shi, A.A. Kotov, F. Gu // PLoS ONE. 2014. V. 9 (11). e112808.
- Congruent patterns of lineage diversity in two species complexes of planktonic crustaceans, *Daphnia longispina* (Cladocera) and *Eucyclops serrulatus* (Copepoda), in East European mountain lakes / E. Hamrová, M. Krajicek, T. Karanovic [et al.] // Zoological Journal of the Linnean Society. 2012. V. 166. P. 754–767.
- 90. Contrasting phylogeographic patterns in closely related species of *Daphnia longispina* group (Crustacea: Cladocera) with focus on North-Eeastern Eurasia / E.I. Zuykova, E.P. Simonov, N.A. Bochkarev [et al.] // PLoS ONE. 2018. V. 13 (11). e0207347.

- 91. Contribution of cyclic parthenogenesis and colonization history to population structure in *Daphnia* / A. Thielsch, N. Brede, A. Petrusek [et al.] // Molecular Ecology. – 2009. – V. 18. – P. 1616–1628.
- Costanzo, K.S. Rapid ecological isolation and intermediate genetic divergence in lacustrine cyclic parthenogens. / K.S. Costanzo, D.J. Taylor // BMC Evolutionary Biology. – 2010. – V. 10 (166). DOI: 10.1186/1471-2148-10-166.
- 93. Constrained body shape among highly genetically divergent allopatric lineages of the supralittoral isopod *Ligia occidentalis* (Oniscidea) / C.A. Santamaria, M. Mateos, T.J. DeWitt, L.A. Hurtado // Ecology and Evolution. 2016. V. 6. P. 1537–1554.
- 94. Cruzan, M.B. Paleoecology and coalescence: phylogeographic analysis of hypotheses from the fossil record / M.B. Cruzan, A.R. Templeton // Trends in Ecology and Evolution. – 2000. – V. 15 (12). – P. 491–496.
- 95. Cryptic species as a window on diversity and conservation / D. Bickford, D.J. Lohman, N.S. Sodhi [et al.] // Trends in Ecology and Evolution. 2006. V. 22(3). P. 148–155.
- 96. Cyto-nuclear diversity and shared mitochondrial haplotypes among *Daphnia* galeata populations separated by seven thousand kilometers / M. Yin, X. Wang, X. Ma [et al.]// BMC Evolutionary Biology. –2018. V. 18. https://DOI.org/10.1186/s12862-018-1256-4
- 97. Daphnia galeata and D. dentifera are geographically and ecologically separated whereas their hybrids occur in intermediate habitats: a survey of 44 Chinese lakes / X. Ma, W. Hu, P. Smilauer [et al.] // Molecular Ecology. 2019. V. 28 (4). P. 785–802.
- 98. Daphnia diversity on the Tibetan Plateau measured by DNA taxonomy / L. Xu,
  Q. Lin, S. Xu [et al.] // Ecology and Evolution. 2018. V. 8. P. 5069–5078.
- 99. Daphnia in the Tatra Mountain lakes: multiple colonization and hidden species diversity revealed by molecular markers / A. Petrusek, M. Černý, J. Mergeay, K. Schwenk // Fundamental and Applied Limnology. Archiv für Hydrobiologie. – 2007. – V. 169 (4). – P. 279–291.

- 100. Darwin, C. On the origin of the species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life / C. Darwin. London : John Murray, 1859. 502 p.
- 101. De Gelas, K. Phylogeography of *Daphnia magna* in Europe / K. De Gelas, L. De Meester // Molecular Ecology. 2005. V. 1. P. 753–764.
- 102. DeSalle, R. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding / R. DeSalle, M.G. Egan, M. Siddal // Philosophical Transactions of the Royal Societyof London B: Biological sciences. 2005. V. 360. P. 1905–1916.
- 103. Distinguishing species / T. Müller, N. Philippi, T. Dandekar [et al.] // RNA. 2007. V. 13. P. 1469–1472.
- 104. Divergent clades or cryptic species? Mito-nuclear discordance in a *Daphnia* species complex / A. Thielsch, A. Knell, A. Mohammadyar [et al.] // BMC Evolutionary Biology. 2017. V. 17 (227). DOI: 10.1186/s12862-017-1070-4.
- 105. Diversity of the Daphnia longispina species complex in Chinese lakes: a DNA taxonomy approach / X. Ma, A. Petrusek, J. Wolinska [et al.] // Journal of Plankton Research. 2014. V. 37 (1). P. 56–65.
- 106. Diversity of the subgenus *Disparalona (Mixopleuroxus)* Hudec, 2010 (Crustacea: Cladocera) in the New and Old World / A.N. Neretina, P.G. Garibian, A.Y. Sinev, A.A. Kotov // Journal of Natural History. 2018. V. 52 (3-4). P. 155–205.
- 107. Duffy, M.A. Testing the ecological relevance of *Daphnia* species / M.A. Duffy,
  A.J. Tessier, M.A. Kosnik // Freshwater Biology. 2004. V. 49. P. 55–64.
- 108. Dumont, H.J.Introduction to the class Branchiopoda / H.J. Dumont, S.V. Negrea //Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world 19. Leiden : Backhuys Publishers,2002. –398 p.
- 109. Ecological, morphological, and genetic differentiation of *Daphnia* (*Hyalodaphnia*) from the Finnish and Russian subarctic / K. Schwenk, P.

Junttila, M. Rautio [et al.] // Limnology and Oceanography. – V. 49 (2). – 2004. – P. 532–539.

- 110. Excoffier, L. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model / L. Excoffier // Molecular Ecology. – 2004. – V. 3. – P. 853–864.
- 111. Excoffier, L. Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows / L. Excoffier, H.E.L. Lischer // Molecular Ecology Resources. 2010. V. 10. P. 564–567.
- 112. Figuerola, J. Dispersal of aquatic organisms by waterbirds: a review of past research and priorities for future studies / J. Figuerola, A.J. Green // Freshwater Biology. – 2002. – V. 47. – P. 483–494.
- 113. Figuerola, J. Invertebrate eggs can fly: evidence of waterfowl-mediated gene flow in aquatic invertebrates / J. Figuerola, A.J. Green, T.C. Michot // The American Naturalist. – 2005. – V. 165 (2). – P. 274–280.
- 114. Finding evolutionary processes hidden in cryptic species / T.H.Struck, J.L. Feder, M. Bendiksby [et al.] // Trends in Ecology and Evolution. 2017. V. 33 (3). P. 153–163.
- 115. Fišer, C. Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept / C. Fišer, C.T. Robinson, F. Malard // Molecular Ecology. 2017. V. 27 (3). P. 613–635.
- 116. Flössner, D. Krebstiere, Crustacea. Kiemen- und Blattfuer, Branchiopoda, Fischlause, Branchiura / D. Flössner // Die Tierwelt Deutschlands 60, 1972. 499 p.
- 117. Flössner, D. On taxonomy of the *Daphnia hyalina/galeata* complex (Crustacea: Cladocera) / D. Flössner, K. Kraus // Hydrobiologia. 1986. V. 137. P. 97–115.
- 118. Flössner, D. Die Haplopoda und Cladocera (ohne Bosminidae) Mitteleuropas / Flössner D. – Leiden : Backhuys, 2000. – 428 p.
- 119. Fox, H.M. The haemoglobin in *Daphnia* / H.M. Fox // Proceedings of the Royal Society of London B: Biological sciences. – 1948. – V. 135. P. 195–212.

- 120. Frey, D.G. On the plurality of *Chydorus sphaericus* (O.F. Müller) Cladocera, Chydorinae) and designation of a neotype from Sjaelsø, Denmark / D.G. Frey // Hydrobiologia. – 1980. V. 69. – P. 83–123.
- 121. Frey, D.G. The non-cosmopolitanism of chydorid Cladocera: implications for biogeography and evolution / D.G. Frey // Crustacean biogeography (Crustacean issues 4). – Rotterdam: A.A. Balkema. – 1987. – P. 237–256.
- 122. Fu, Y.X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection / Y.X. Fu // Genetics. – 1997. – V. 147 (2). – P. 915–925.
- 123. Funk, D.J. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with Insights from animal mitochondrial DNA / D.J. Funk, K.E.Omland // Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. 2003. V. 34 (1). P. 397–423.
- 124. Gene conversion and evolution of daphniid hemoglobins (Crustacea, Cladocera)
  / P.D.N. Hebert, Y.M Um, C.D. Prokopowich, D.J. Taylor // Journal of Molecular Evolution. – 1999. – V. 49. – P. 769–779.
- 125. Genetic markers, genealogies and biogeographic patterns in the Cladocera / K. Schwenk, A. Sand, M. Boersma [et al.] // Aquatic Ecology. 1998. V.32. P. 37–51.
- 126. Geometric morphometrics for biologists: a primer / M.L. Zelditch, D.L. Swiderski, H.D. Sheets, W.L. Fink // Amsterdam etc. : 2004. Elsevier Academic Press. 443 p.
- 127. Gießler, S. Analysis of reticulate relationships within the *Daphnia longispina* species complex. Allozyme phenotype and morphology / S. Gießler // Journal of Evolutionary Biology. 1997. V. 10. P. 87–105.
- 128. Gießler, S. Morphological evolution and genetic differentiation in *Daphnia* species complexes / S. Gießler, E. Mader, K. Schwenk // Journal of Evolutionary Biology. 1999. V. 12. P. 710–723.
- 129. Gießler, S. Morphological differentiation within the *Daphnia longispina* group /
   S. Gießler // Hydrobiologia. 2001. V. 442. P. 55–66.

- 130. Gießler, S. Dynamic reticulate evolution in a *Daphnia* multispecies complex / S. Gießler, C.C. Englbrecht // Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology. 2009. V. 311. P. 531–549.
- 131. Giri, F. A geometric morphometric analysis of two sympatric species of the family Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura) from the La Plata basin / F. Giri, P.A. Collins // Italian Journal of Zoology. – 2004. – V. 71. – P. 85–88.
- 132. Giska, I.Deeply divergent sympatric mitochondrial lineages of the earthworm *Lumbricus rubellus* are not reproductively isolated / I. Giska, P. Sechi, W. Babik// BMC Evolutionary Biology. 2015. V. 15 (1). DOI: 10.1186/s12862-015-0488-9.
- 133. Glagolev, S.M. Species composition of *Daphnia* in Lake Glubokoe with notes on the taxonomy and geographical distribution of some species / S.M. Glagolev // Hydrobiologia. – 1986. – V. 141. – P. 55–82.
- 134. Glagolev, S.M.Daphnia (Ctenodaphnia) hispanica sp. nov., a new daphnid (Cladocera) from Spain / S.M. Glagolev, M. Alonso // Hydrobiologia. 1990.
   V. 194. P. 149– 162.
- 135. Goulden, C.E. The systematics and evolution of the Moinidae / C.E. Goulden // Transactions of the American Philosophical Society. – 1968. – V. 58. – P. 1–101.
- 136. Grant, W.S. Problems and cautions with sequence mismatch analysis and Bayesian Skyline Plots to infer historical demography / W.S. Grant // Journal of Heredity. – 2015. – V. 106 (4). – P. 333–346.
- 137. Guindon, S. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood / S. Guindon, O. Gascuel // Systematic Biology. 2003.
   V. 52. P. 696–704.
- 138. Hall, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T.A. Hall // Nucleic Acids Symposium Series. – 1999. – V. 41. – P. 95–98.
- 139. Hammer, Ø. PAST: Paleontological Statistics Software Package, for education and data analysis / Ø. Hammer, D.A.T. Harper, P.D. Ryan // Palaeontologia Electronica. – 2001. – V. 4. – 9 p.

- 140. Hamrová, E. Strong differences in the clonal variation of two *Daphnia* species from mountain lakes affected by overwintering strategy / E. Hamrová, J. Mergeay, A. Petrusek // BMC Evolutionary Biology. 2011. V. 11 (231). http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/231.
- 141. Haney, J.F. Sugar-coated *Daphnia*: a preservation technique for Cladocera / J.F. Haney, D.J. Hall // Limnology and Oceanography. 1973. V. 18 (2). P. 331–333.
- 142. Haplotype diversity and genetic differentiation of dormant and active populations of *Daphnia galeata* in Liuxihe Reservoir of Guangdong Province, Southern China / Q. Huang, S.L. Xu, L. Xu, B.P. Han // Journal of Lake Science. – 2017. – V. 29 (5). – P. 1209–1216.
- 143. Havel, J.E. Mechanisms, effects, and scales of dispersal in freshwater zooplankton / J.E. Havel, J.B. Shurin // Limnology and Oceanography. – 2004. – V. 49. – P. 1229–1238.
- 144. Hebert, P.D.N. Phenotypic variability of lactate dehydrogenase in *Daphnia* magna / P.D.N. Hebert // Journal of Experimental Zoology. 1973. V. 286. –
  P. 33–38.
- 145. Hebert, P.D.N. Genetics of *Daphnia* / P.D.N. Hebert // Memorie dell' Istituto Italiano di Idrobiologia. – 1987. – V. 45. – P. 439–460.
- 146. Hebert, P.D.N. Provincialism in plankton: endemism and allopatric speciation in Australian *Daphnia* / P.D.N. Hebert , C.C. Wilson // Evolution. – 1994. – V. 48. – P. 1333–1349.
- 147. Hebert, P.D.N. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species / P.D.N. Hebert, S. Ratnasingham, J.R. deWaard // Proceedings of the Royal Society of London. Series B (Supplement). 2003. V. 270. S96–S99.
- 148. Heethoff, M. Cryptic species conceptual or terminological chaos? A response to Struck et al. / M. Heethoff // Trends in Ecology and Evolution. 2018 V. 33 (5). P. 310. DOI: 10.1016/j.tree.2018.02.006.

- 149. Hlinka, O. Evolution of the secondary structure of the rRNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) in hard ticks (Ixodidae, Arthropoda) / O. Hlinka, A. Murrell, C. Barker // Heredity. – 2002. – V. 88. – P. 275–279.
- 150. Hobæk, A. Ecological genetics of Norwegian *Daphnia*. II. Distribution of *Daphnia longispina* genotypes in relation to short–wave radiation and water colour / A. Hobæk, H.G. Wolf // Hydrobiologia. – 1991. – V. 225. – P. 229–243.
- 151. Hudec, I. Anomopoda, Ctenopoda, Haplopoda, Onychopoda (Crustacea: Branchiopoda) /I. Hudec // Fauna Slovenska III. – Bratislava: 2010, VEDA. – 496 p.
- 152. Huelsenbeck, J.P. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny / J.P. Huelsenbeck, F. Ronquist // Bioinformatics. 2001. V. 17. P. 754–755.
- 153. Huson, D.H. Splits Tree: Analyzing and visualizing evolutionary data / D.H. Huson // Bioinformatics. – 1998. – V. 14. – P. 68–73.
- 154. Huson, D.H. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies / D.H. Huson, D. Bryant // Molecular Biology and Evolution. 2006. V. 23. P. 254–267.
- 155. Ice-dammed lakes and rerouting of the drainage of Northern Eurasia during the Last Glaciation / J. Mangerud, M. Jakobsson, H. Alexanderson [et al.] // Quaternary Science Reviews. – 2004. – V. 23. – P. 1313–1332
- 156. Identifying hybridizing taxa within the *Daphnia longispina* species complex: a comparison of genetic methods and phenotypic approaches / Ś. Dlouhá, A. Thielsch, R.H.S. Kraus [et al.] // Hydrobiologia. 2010. V. 643. P. 107–122.
- 157. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximumlikelihood phylogenies / L.T.Nguyen, H.A.Schmidt, A.von Haeseler, B.Q.Minh
   // Molecular Biology and Evolution. – 2014. – V. 32. – P. 268–274.
- 158. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics / J.C. Avise, J. Arnold, R.M. Ball [et al.] // Annual Review of Ecology and Systematics. – 1987. – V. 18. – P. 489–522.

- 159. Intra-specific rDNA-ITS restriction site variation and an improved protocol to distinguish species and hybrids in the *Daphnia longispina* complex / M. Skage, A. Hobæk, Š. Ruthová [et al.] // Hydrobiologia. – 2007. – V. 594. – P. 19–32.
- 160. Invasion of a Holarctic planktonic cladoceran *Daphnia galeata* Sars (Crustacea: Cladocera) in the Lower Lakes of South Australia / D.P. Karabanov, E.I. Bekker, R.J. Shiel, A.A. Kotov // Zootaxa. 2018. V. 4402. P. 136–148.
- 161. Ishida, S. A new divergent lineage of *Daphnia* (Cladocera: Anomopoda) and its morphological and genetical differentiation from *Daphnia curvirostris* Eylmann, 1887 / S. Ishida, A.A. Kotov, D.J. Taylor // Zoological Journal of the Linnean Society. 2006. V. 146. P. 385–405.
- 162. Ishida, S. Mature habitats associated with genetic divergence despite strong dispersal ability in an arthropod. / S. Ishida, D.J. Taylor // BMC Evolutionary Biology. – 2007a. – V. 7. – P. 52. http://DOI.org/10.1186/1471-2148-7-52.
- 163. Ishida, S. Quaternary diversification in a sexual Holarctic zooplankter, *Daphnia galeata*. / S. Ishida, D.J. Taylor // Molecular Ecology. 2007b. V. 16. P. 569–582.
- 164. Jeffery, N.W. Species diversity and phylogeographical affinities of the Branchiopoda (Crustacea) of Churchill, Manitoba, Canada / N.W. Jeffery, M. Elias-Gutierrez, S.J. Adamowicz // PLoS ONE. – 2011. – V. 11 (5). e18364.
- 165. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing / D. Darriba,
  G.L. Taboada, R. Doallo, D. Posada // Nature Methods. 2012. V. 9. P. 772.
- 166. Juračka, P.J. A new Central European species of the *Daphnia curvirostris* complex, *Daphnia hrbaceki* sp. nov. (Cladocera, Anomopoda, Daphniidae) / P.J. Juračka, V. Kořínek, A. Petrusek // Zootaxa. 2010. V. 2718. P. 1–22.
- 167. Crystalline calcium phosphate and magnetic mineral content of *Daphnia* resting eggs / T. Kawasaki, H. Yoshimura, T. Shibue [et al.] // Zoological Science. 2004. V. 21. P. 63–67.
- 168. Keys to Palaearctic fauna. Chapter 16.2: Arthropoda: Class Branchiopoda / D.C.
  Rogers, A.A. Kotov, A.Y. Sinev [et al.] // Thorp and Covich's Freshwater
  Invertebrates (Fourth Edition). 2019. V. 4. Publisher: Elsevier. P. 643–724.

- 169. Knowles, L.L. Statistical phylogeography / L.L. Knowles, W.P. Maddison
   // Molecular Ecology. 2002. V. 11 (12). P. 2623–2635.
- 170. Knowlton, N. Sibling species in the sea / N. Knowlton // Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. 1993. V. 24. P. 189–216.
- 171. Knowlton, N. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama / N. Knowlton, L.A. Weigt // Proceedings of the Royal Society of London. Series B. – 1998. – V. 265. – P. 2257–2263.
- 172. Kordbacheh, A. Population structure and cryptic species in the cosmopolitan rotifer *Euchlanis dilatata* / A. Kordbacheh, G. Garbalena, E.J. Walsh // Zoological Journal of the Linnean Society. – 2017. – V. 20. – P. 1–21.
- 173. Kořínek, V. A new species complex of *Daphnia* (Crustacea, Cladocera) from the Pacific Northwest of the United States / V. Kořínek, P.D.N. Hebert // Canadian Journal of Zoology. – 1996. – V. 74. – P. 1379–1393.
- 174. Kornobis, E. The ITS region of groundwater amphipods: length, secondary structure and phylogenetic information content in Crangonyctoids and Niphargids / E. Kornobis, S. Pálsson // Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research. – 2012. DOI:10.1111/jzs.12006.
- 175. Korovchinsky, N.M. How many species of Cladocera are there? / N.M. Korovchinsky // Hydrobiologia. 1996. V. 321. P. 191–204.
- 176. Kotov, A.A. Fate of the second maxilla during embryogenesis in some Anomopoda Crustacea (Branchiopoda) / A.A. Kotov // Zoological Journal of the Linnean Society. – 1996. – V. 116. – P. 393–405.
- 177. Kotov, A.A. A special moult after the release of the embryo from the brood pouch of Anomopoda (Branchiopoda, Crustacea): a return to an old question / A.A. Kotov // Hydrobiologia. 1997. V. 354. P. 83–88.
- 178. Kotov, A.A. Comparative analysis of the late embryogenesis of *Sida crystallina* (O.F. Müller, 1776) and *Diaphanosoma brachyurum* (Liévin, 1848) (Crustacea: Branchiopoda: Ctenopoda) / A.A. Kotov, O.S. Boikova // Hydrobiologia. 1998. V. 380. P. 103–125.

- 179. Kotov, A.A. Analysis of *Kozhowia* Vasiljeva et Smirnov, 1969 (Chydoridae, Anomopoda, Branchiopoda), and a description of *Parakozhowia* n. gen. / A.A. Kotov // Hydrobiologia. 2000a. V. 437. P. 17–56.
- 180. Kotov, A.A. Morphology and variability of *Eurycercus lamellatus* (O. F. Muller, 1776) (Branchiopoda: Anomopoda: Eurycercidae) from Lake Glubokoe, Moscow Area, Central Russia / A.A. Kotov // Arthropoda Selecta. 2000b. V. 9 (3). P. 159–173.
- 181. Kotov, A.A. *Ilyocryptus spinifer* Herrick 1882 (Anomopoda, Branchiopoda): a redescription based on North American material and designation of a neotype from Minnesota / A.A. Kotov, J.L. Williams // Hydrobiologia. 2000. V. 428. P. 67–84.
- 182. Kotov, A.A. Study of the late embryogenesis of *Daphnia* (Anomopoda, Cladocera, Branchiopoda) and a comparison of development in Anomopoda and Ctenopoda / A.A. Kotov, O.S. Boikova // Hydrobiologia. 2001. V. 442. P. 127–143.
- 183. Kotov, A.A. *Ilyocryptus uenoi* sp. nov. (Anomopoda, Cladocera, Branchiopoda) from Japan / A.A. Kotov, S. Tanaka // Hydrobiologia. – 2004. – V. 518. – P. 111–121.
- 184. Kotov, A.A. A new species in the *Daphnia curvirostris* (Crustacea : Cladocera) complex from the Eastern Palearctic with molecular phylogenetic evidence for the independent origin of neckteeth / A.A. Kotov, S. Ishida, D.J. Taylor // Journal of Plankton Research. 2006a. V. 28. P. 1067–1079.
- 185. Kotov, A.A. Ilyocryptidae of the world / A.A. Kotov, P. Stifter // Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. 2006b. V. 22 Kenobi Productions, Ghent & Backhuys Publishers, Leiden. 172 p.
- 186. Kotov, A.A. Finding of *Pleuroxus smirnovi* sp. nov. from the Pamir region revealed today's imperfect state of systematics and biogeography of the Chydorinae (Cladocera: Chydoridae) / A.A. Kotov // International Review of Hydrobiology. – 2008. – V. 93. – P. 200–209.

- 187. Kotov, A.A. New finding of Mesozoic ephippia of the Anomopoda (Crustacea: Cladocera) / A.A. Kotov // Journal of Natural History. – 2009a. – V. 43. – P. 523–528.
- 188. Kotov, A.A. Revision of the genus *Bosmina* Baird, 1845 (Cladocera: Bosminidae), based on evidence from male morphological characters and molecular phylogenies / A.A. Kotov, S. Ishida, D.J. Taylor // Zoological Journal of the Linnean Society. 2009b. V. 156. P. 1–51.
- 189. Kotov, A.A. The Cladocera (Crustacea : Branchiopoda) of six high altitude water bodies in the North Chilean Andes, with discussion of Andean endemism / A.A. Kotov, A.Y. Sinev, V.L. Berrios // Zootaxa. – 2010. – V. 2430. – P. 1–66.
- 190. Kotov, A.A. Two new species of *Leydigia* Kurz, 1875 (Chydoridae, Cladocera) from Spain / A.A. Kotov, M. Alonso // Zootaxa. 2010. V. 2673. P. 39–55.
- 191. Kotov, A.A. Mesozoic fossils (>145 Mya) suggest the antiquity of the subgenera of *Daphnia* and their coevolution with chaoborid predators / A.A. Kotov, D.J. Taylor // BMC Evolutionary Biology. 2011. V. 11 (129). http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/129.
- 192. Kotov, A.A. A critical review of the current taxonomy of the genus *Daphnia* O.F. Muller, 1785 (Anomopoda, Cladocera) / A.A. Kotov // Zootaxa. 2015. V. 3911 (2). P. 184–200.
- 193. Kotov, A.A. Findings of *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) Dybowski et Grochowski (Branchiopoda: Cladocera) in Cenozoic volcanogenic lakes in Germany, with discussion of their indicator value / A.A. Kotov, T. Wappler // Palaeontologia Electronica. – 2015. – 18.2.40A:1-9. palaeo-electronica.org/content/2015/1290cenozoic-daphnia-from-germany.
- 194. Kotov, A.A. Contrasting endemism in pond-dwelling cyclic parthenogens: the *Daphnia curvirostris* species group (Crustacea: Cladocera) / A.A. Kotov, D.J. Taylor // Science Reports. 2019. V. 9. (6812). https://DOI.org/10.1038/s41598-019-43281-9.

- 195. Kuzmin, Y.V. Siberia at the Last Glacial Maximum: environment and archaeology / Y.V. Kuzmin // Journal of Archaeological Research. – 2008. – V. 16. – P. 163–221.
- 196. Kumar, S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. – 2016. – V. 33. – P. 1870–1874.
- 197. Lampert, W. *Daphnia*: development of a model organism in ecology and evolution / W. Lampert // Excellence in Ecology. 2011. V. 21. P. 1–250.
- 198. Lebedinsky, J. Die Entwicklung der *Daphnia* aus dem Sommereie / J. Lebedinsky // Zoologischer Anzeiger. 1891. V. 14. S. 149–152.
- 199. Leydig, F. Naturgeschichte der Daphniden / F. Leydig. Tübingen : H. Laupp'sche Buchhandlung, Laupp & Siebeck 1860. 252 p.
- 200. Librado, P. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data / P. Librado, J. Rozas // Bioinformatics. 2009. V. 25 (11). P. 1451–1452.
- 201. Lineage diversity and reproductive modes of the *Daphnia pulex* group in Chinese lakes and reservoirs / X. Ma, A. Petrusek, J. Wolinska [et al.] // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2019. – V. 130. – P. 424–433.
- 202. Local and regional founder effects in lake zooplankton persist after thousands of years despite high dispersal potential / M. Ventura, A. Petrusek, A. Miró [et al.]
  // Molecular Ecology. 2014. V. 23. P. 1014–1027.
- 203. Marjoram, P. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implications for early human evolution / P. Marjoram, P. Donnelly // Genetics. – 1994. – V. 136. – P. 673–683.
- 204. Mayr, E. Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist / E. Mayr. New York (Columbia University Press), 1942. 334 p.
- 205. Minh, B.Q. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap / B.Q. Minh, M.A.T. Nguyen, A. von Haeseler // Molecular Biology and Evolution. – 2013. – V. 30. – P. 1188–1195.

- 206. Mitochondrial mismatch analysis is insensitive to the mutational process / A.R.
  Rogers, A.E. Fraley, M.J. Bamshad [et al.] // Molecular Biology and Evolution.
   1996. V. 13 (7). P. 895–902.
- 207. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates / S. Kalyaanamoorthy, B.Q. Minh, T.K.F. Wong [et al.] // Nature Methods. 2017.
   V. 14. P. 587–589.
- 208. Molecular phylogeny of Oncaeidae (Copepoda) using nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS rDNA) / I. Di Capua, F. Maffucci, R. Pannone [et al.] // PLoS ONE. – 2017. DOI.org/10.1371/journal.pone.0175662
- 209. Morphological differentiation, mitochondrial and nuclear DNA variability between geographically distant populations of *Daphnia galeata* and *Daphnia cucullata* (Anomopoda, Daphniidae) / E.I. Zuykova, N.A. Bochkarev, A.S. Semenova, A.V. Katokhin, // Journal Siberian Federal University. Biology. – 2010. – V. 4 (3). – P. 434–453.
- 210. Müller, P.E. Danmarks Cladocera / P.E. Müller // Naturhistorisk Tidsskrift. 1867. V. 3. P. 53–240.
- 211. Multilevel fine-scale diversity challenges the «cryptic species» concept / T. Korshunova, B. Picton, G. Furfaro [et al.] // Scientific Reports. 2019. V. 9 (1). P. 6732. DOI: 10.1038/s41598-019-42297-5.
- 212. Nosil, P. Divergent host plant adaptation and reproductive isolation between ecotypes of *Timema cristinae* walking sticks / P. Nosil // American Naturalist. – 2007. – V. 169. – P. 151–162.
- 213. Origin of a divergent mtDNA lineage of a freshwater snail species, *Radix balthica*, in Iceland: cryptic glacial refugia or a postglacial founder event? / I.N. Bolotov, J.V. Aksenova, Y.V. Bespalaya [et al.]. Hydrobiologia. 2017. V. 787. P. 73–98.
- 214. Orlova-Bienkowskaja, M.Ya. Daphniidae: genus simocephalus / M.Ya. Orlova-Bienkowskaja // Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the World 17. Leyden : Backhuys, 2001. 130 p.

- 215. Özdemir, E. Molecular diversity of some species belonging to the genus *Daphnia* O. F. Müller, 1785 (Crustacea: Cladocera) in Turkey / E. Özdemir, A. Altındağ, I. Kandemir // Mitochondrial DNA. Part A, DNA mapping, sequencing, and analysis. – 2017. – V. 28 (3). – P. 424–433.
- 216. Paggi, J.C. A new species of *Ilyocryptus* (Anomopoda : Macrothricidae) from Argentina / J.C. Paggi // Hydrobiologia. 1992. V. 231. P. 141–151.
- 217. Parental and hybrid *Daphnia* from the *D. longispina* complex: long-term dynamics in genetic structure and significance of overwintering modes / J. Griebel, S. Gießler, M. Yin, J. Wolinska // Journal ofEvolutionary Biology. 2016. V. 29. P. 810–823.
- 218. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses / R. Lanfear, P.B. Frandsen, A.M. Wright, T. Senfeld, B. Calcott // Molecular Biology and Evolution. 2016. V. 34. P. 772–773.
- 219. Penton, E.H. Mitochondrial DNA variation in North American populations of *Daphnia obtusa*: continentalism or cryptic endemism? / E.H. Penton, P.D.N. Hebert, T.J. Crease // Molecular Ecology. 2004. V. 13. P. 97–107.
- 220. Perrière, G. WWW-Query: an on-line retrieval system for biological sequence banks / G. Perrière, M. Gouy // Biochimie. – 1996. – V. 78. – P. 364–369.
- 221. Petrusek, A. Analysis of Cladoceran cryptic species: what approaches can we take? / A. Petrusek, V. Kořínek, M. Černý // Acta Facultatis Ecologiae. 2003. V. 10 (1). P. 105–107.
- 222. Petrusek, A. Mitochondrial sequence variation suggests extensive cryptic diversity within the Western Palearctic *Daphnia longispina* complex / A. Petrusek, A. Thielsch, K. Schwenk // Limnology and Oceanography. 2012. V. 57 (6). P. 1838–1845.
- 223. Pfenninger, M. Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions / M. Pfenninger, K. Schwenk // BMC Evolutionary Biology. 2007. V. 7 (121). https://DOI.org/10.1186/1471-2148-7-121.

- 224. Phylogeography of *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera) in Northern Eurasia: Evidence for a deep longitudinal split between mitochondrial lineages / E.I. Bekker, D.P. Karabanov, Y.R. Galimov [et al.]. // PLoS ONE. 2018. V. 13 (3): e0194045.
- 225. Phylogeography of the *Chydorus sphaericus* group (Cladocera: Chydoridae) in the Northern Palearctic / A.A. Kotov, D.P. Karabanov, E.I. Bekker [et al.] // PLoS ONE. 2016. 11 (12): e0168711.
- 226. Population differentiation of the shore crab *Carcinus maenas* (Brachyura : Portunidae) on the Southwest English coast based on genetic and morphometric analyses / I.C. Silva, M.J. Alves, J. Paula, S.J. Hawkins // Scientia Marina. 2010. V. 74 (3). P. 435–444.
- 227. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7 / A. Rambaut, A.J. Drummond, D. Xie [et al.] // Systematic Biology. 2018. V. 67. P. 901–904.
- 228. ProfDist: a tool for the construction of large phylogenetic trees based on profile distances / J. Friedrich, T. Dandekar, M. Wolf, T. Muller // Bioinformatics. – 2005. – V. 21. – P. 2108–2109.
- 229. ProfDistS: profile distance based phylogeny on sequence-structure alignments / M. Wolf, B. Ruderisch, T. Dandekar [et al.] // Bioinformatics. 2008. V. 24. P. 2401–2402.
- 230. Phylogenetic information content of copepoda ribosomal DNA repeat units: ITS1 and ITS2 / M.V. Zagoskin, I.L. Lazareva, A.K. Grishanin, D.V. Mukha // BioMed Research International. – 2014. 2014:926342. DOI: 10.1155/2014/926342.
- 231. Ray, N. Intra-deme molecular diversity in spatially expanding populations / N.
  Ray, M. Currat, L. Excoffier // Molecular Biology and Evolution. 2003. V.
  20. P. 76–86.
- 232. Reproductive isolation keeps hybridizing *Daphnia* species distinct / B. Keller, J. Wolinska, C. Tellenbach, P. Spaak // Limnology and Oceanography. 2007. V. 52 (3). P. 984–991.

- 233. Resolution of the *Daphnia umbra* problem (Crustacea: Cladocera) using an integrated taxonomic approach / E.I. Zuykova, E.P. Simonov, N.A. Bochkarev [et al.] // Zoological Journal of the Linnean Society. 2018. V. 184. P. 969–998.
- 234. Restoring *Daphnia lacustris* G.O. Sars, 1862 (Crustacea, Anomopoda): a cryptic species in the *Daphnia longispina* group / J.P. Nilssen, A. Hobæk, A. Petrusek, M. Skage // Hydrobiologia. 2007. V. 594. P. 5–17.
- 235. Revision of the Old World Daphnia (Ctenodaphnia) similis group (Cladocera: Daphniidae) / E.V. Popova, A. Petrusek, V. Korinek [et al.] // Zootaxa. 2016.
   V. 161 (1). P. 1–40.
- 236. Řičánková, V.P. Ecological structure of recent and last glacial mammalian faunas in Northern Eurasia: the case of Altai-Sayan refugium / V.P. Řičánková, J. Robovský, J. Riegert // PLoS ONE. 2014. V. 9 (1): e85056.
- 237. Richard, J. Description d'un nouveau Cladocère, *Bosminopsis deitersi*, n. gen.,
  n. sp. / J. Richard // Bulletin de la Societe Zoologique de France. 1895. V.
  20. P. 96–98.
- 238. Richards, R.A. Habitat selection and predator avoidance: ontogenetic shifts in habitat use by the Jonah crab *Cancer borealis* (Stimpson) / R.A. Richards // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 1992. – V. 156. – P. 187–197.
- 239. Rogers, A.R. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. / A.R. Rogers, H. Harpending // Molecular Biology and Evolution. – 1992. – V. 9. – P. 552–569.
- 240. Rohlf, F.J. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks / F.J. Rohlf, D. Slice // Systematic Zoology. – 1990. – V. 39. – P. 40–59.
- 241. Rohlf, F.J. A revolution morphometrics / F.J. Rohlf, L.F. Marcus // Trends in Ecology and Evolution. 1993. V. 8. P. 129–132.
- 242. Rohlf, F.J. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny / F.J. Rohlf // Systematic Biology. 1998. V. 47. P. 147–158.

- 243. Rohlf, F.J. TpsUtil. Version 1.26. File utility program / F.J. Rohlf // Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook (program). 2004.
- 244. Rohlf F.J. TpsDig. Version 2.05. Digitize landmarks and outlines / F.J. Rohlf // Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook (program). – 2005a.
- 245. Rohlf, F.J. TpsRelw. Version 1.42. / F.J. Rohlf // Department of Ecology and Evolution, State University at Stony Brook, New York (program). 2005b.
- 246. Ronquist, F. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models /
  F. Ronquist, J.P. Huelsenbeck // Bioinformatics. 2003. V. 19. P. 1572– 1574.
- 247. Ross, B. Does variation in morphology correspond with variation in habitat use in freshwater gastropods? / B. Ross, S.J. Jacquemin, M. Pyron // Hydrobiologia. 2014. V. 736. P. 179–188.
- 248. 5.8S-28S rRNA interaction and HMM–based ITS2 annotation / F. Keller, T. Schleicher, J. Schultz [et al.] // Gene. 2009. V. 430. P. 50–57.
- 249. Ruhl, M.W. Compensatory base changes illuminate morphologically difficult taxonomy / M.W. Ruhl, M. Wolf, T.M. Jenkins // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2010. – V. 54. – P. 664–669.
- 250. Saitou, N. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees / N. Saitou, M. Nei // Molecular Biology and Evolution. 1987. V. 4. P. 406–425.
- 251. 4SALE a tool for synchronous RNA sequence and secondary structure alignment and editing / P.N. Seibel, T. Müller, T. Dandekar [et al.] // BMC Bioinformatics. – 2006. – V. 7. – P. 498.
- 252. Sars, G.O. On some Australian Cladocera raised from dried mud / G.O. Sars //
   Forh. Vidensk-Selskab. Christiania. 1885. P. 1–46.
- 253. Sars, G.O. The fresh-water Entomostraca of the Cape Province (Union of South Africa). Part 1: Cladocera / G.O. Sars // Annals of the South African Museum. 1916. V. 15. P. 303–351.

- 254. Schenekar, T. High rate of calculation errors in mismatch distribution analysis results in numerous false inferences of biological importance / T. Schenekar, S. Weiss // Heredity. – 2011. – V. 107. – P. 511–512.
- 255. Schmitt, T. Extra-Mediterranean refugia: the rule and not the exception? / T. Schmitt, Z. Varga // Frontiers in Zoology. 2012. V. 9. P. 22.
- 256. Schneider, S. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA / S. Schneider, L. Excoffier // Genetics. – 1999. – V. 152. – P. 1079–1089.
- 257. Schultz, J. ITS2 sequence-structure analysis in phylogenetics: a how-to manual for molecular systematics / J. Schultz, M. Wolf // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2009. – V. 52. – P. 520–523.
- 258. Schwenk, K. Interspecific hybridization in *Daphnia*: distinction and origin of hybrid matrilines / K. Schwenk // Molecular Biology and Evolution. 1993. V. 10 (6). P. 1289–1302.
- 259. Schwenk, K. Ecology and genetics of interspecific hybridization in *Daphnia* / K.
  Schwenk, P. Spaak // Ecology and Evolution of Freshwater Animals. –
  Birkhäuser Verlag, Basel, 1997. P. 199–229.
- 260. Schwenk, K. Molecular systematics of European *Hyalodaphnia*: the role of contemporary hybridization in ancient species / K. Schwenk, D. Posada, P. Hebert // Proceedings of the Royal Society of London B: Biological sciences. 2000. V. 267. P. 1833–1842.
- 261. Secondary structure and phylogenetic analysis of the internal transcribed spacers
  1 and 2 of bush crickets (Orthoptera: Tettigoniidae: Barbitistini) / B. Ullrich, K.
  Reinhold, O. Niehuis, B. Misof // Journal of Zoological Systematics and
  Evolutionary Research. 2009. DOI: 10.1111/j.1439-0469.2009.00553.x.
- 262. Sinev, A.Y. Three new species of chydorid cladocerans of subfamily Aloninae (Branchipoda: Anomopoda: Chydoridae) from Brazil / A.Y. Sinev, L.M.A. Elmoor-Loureiro // Zootaxa. – 2010. – V. 2390. – P. 1–25.

- 263. Sinev, A.Y. Redescription of the rheophilous cladocera *Camptocercus vietnamensis* Than, 1980 (Cladocera: Anomopoda: Chydoridae) / A.Y. Sinev // Zootaxa. 2011. V. 2934. P. 53–60.
- 264. Sinev, A.Y. Revision of the Holarctic genus *Rhynchotalona* Norman, 1903 (Anomopoda: Chydoridae) / A.Y. Sinev, A.A. Kotov // Zootaxa. 2014. V. 384 (2). P. 188–210.
- 265. Slatkin, M. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations / M. Slatkin, R. Hudson // Genetics. – 1991. – 129. – P. 555–562.
- 266. Smirnov, N.N. A revision of the genus *Camptocercus* (Anomopoda, Chydoridae, Aloninae) / N.N. Smirnov // Hydrobiologia. – 1998. – V. 386. – P. 63–83.
- 267. Smirnov, N.N. Physiology of the Cladocera / N.N. Smirnov. London : Academic Press, 2013. – 352 p.
- 268. Spaak, P. Modes and mechanisms of a *Daphnia* invasion / P. Spaak, J. Fox,
  N.G. Hairston // Proceedings of the Royal Society of London. Series B. 2012.
   V. 279. P. 2936–2944.
- 269. Spatial, environmental and anthropogenic effects on the taxon composition of hybridizing *Daphnia* / B. Keller, J. Wolinska, M. Manca, P. Spaak // Philosophical transactions of the Royal Society. B. 2008. V. 363. P. 2943–2952.
- 270. Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera) / A. Gómez, M. Serra, G.R. Carvalho, D.H. Lunt // Evolution. 2002. V. 56. P. 1431–1444.
- 271. Stifter, P. Two new species of the genus *Ilyocryptus* (Cladocera, Crustacea) confused with *I. sordidus* Lievin / P. Stifter // Věstník Československé společnosti zoologické. 1988. V. 52. S. 290–301.
- 272. Swammerdam, J. Historia Insectorum Generalis, ofte Algemeene Verhandeling der Bloedeloose Dierkens / J. Swammerdam. – Utrecht : Meinardus van Dreunen, 1669. – 216 p.

- 273. Swift, H.F. Three routes to crypsis: Stasis, convergence, and parallelism in the *Mastigias* species complex (Scyphozoa, Rhizostomeae) / H.F. Swift, L. Gómez Daglio, M.N. Dawson // Molecular Phylogenetics and Evolution, 2016. V. 99. P. P. 103-115.
- 274. Synchronous visual analysis and editing of RNA sequence and secondary structure alignments using 4SALE / P.N. Seibel, T. Müller, T. Dandekar, M. Wolf // BMC Research Notes. – 2008. – V. 1. – P. 91.
- 275. Taguchi, Y.-H. Relational patterns of gene expression via non-metric multidimensional scaling analysis / Y.-H. Taguchi, Y. Oono // Bioinformatics. – 2005. – V. 21. – P. 730–740.
- 276. Tajima, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism / F. Tajima // Genetics. – 1989. – V. 123 (3). – P. 585– 595.
- 277. Tamura, K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C-content biases / K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. – 1992. – V. 9. – P. 678–687.
- 278. Tavaré, S. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. Some mathematical questions in biology / S. Tavaré // DNA Sequence Analysis. Providence : 1986. American Mathematical Society. P. 57–86.
- 279. Taylor, B.E. To grow or not to grow: optimal resource allocation for *Daphnia* / B.E. Taylor, W. Gabriel // The American Naturalist. 1992. V. 139. P. 248–266.
- 280. Taylor, D.J. Habitat-dependent hybrid parentage and differential introgression between neighboringly sympatric *Daphnia* species / D.J. Taylor, P.D.N. Hebert // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993a. – V. 90. – P. 7079–7083.
- 281. Taylor, D.J. Cryptic intercontinental hybridization in *Daphnia* (Crustacea): the ghost of introductions past / D.J. Taylor, P.D.N. Hebert // Proceedings of the Royal Society of London. Series B. 1993b. V. 254. P. 163–168.

- 282. Taylor, D.J. Phylogenetics and evolution of the *Daphnia longispina* group (Crustacea) based on 12S rDNA sequence and allozyme variation / D.J. Taylor, P.D.N. Hebert, J.K. Colbourne //Molecular Phylogenetics and Evolution. 1996. V. 5 (3). P. 495–510.
- 283. Taylor, D.J. Biogeography of a widespread freshwater crustacean: Pseudocongruence and cryptic endemism in the North American *Daphnia laevis* complex / D.J. Taylor, T.L. Finston, P.D.N. Hebert // Evolution. – 1998. – V. 52(6). – P. 1648–1670.
- 284. Taylor, D.J. Geographic and phylogenetic evidence for dispersed nuclear introgression in a daphniid with sexual propagules / D.J. Taylor, H.L. Sprenger, S. Ishida // Mol. Ecol. – 2005. – V. 14. – P. 525–537.
- 285. Templeton, A.R. Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history / A.R. Templeton // Molecular Ecology. – 1998. – V. 7. – P. 381–397.
- 286. Templeton A.R. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes / A.R. Templeton // Molecular Ecology. – 2001. – V. 10. – P. 779–791.
- 287. Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian Drosophila / R. DeSalle, T. Freedman, E.M. Prager, A.C. Wilson // Journal of Molecular Evolution. – 1987. – V. 26. – P. 157–164.
- 288. The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex* / J.K. Colbourne, M.E. Pfrender,
  D. Gilbert D. [et al.] // Science. 2011. V. 331. P. 555–561.
- 289. The ITS2 Database III sequences and structures for phylogeny / C. Koetschan, F. Förster, A. Keller [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2009. – V. 38. – D275– D279.
- 290. The long-term consequences of hybridization between the two *Daphnia* species, *D. galeata* and *D. dentifera*, in mature habitats / S. Ishida, A. Takahashi, N. Matsushima [et al.] // BMC Evolutionary Biology. 2011. V. 11. DOI: 10.1186/1471-2148-11-209.

- 291. The monopolization hypothesis and the dispersal gene flow paradox in aquatic organisms. / L. De Meester, A. Gómez, B. Okamura, K. Schwenk // Acta Oecologica. 2002. V. 23. P. 121–135.
- 292. The non-cosmopolitanism paradigm of freshwater zooplankton: insights from the global phylogeography of the predatory cladoceran *Polyphemus pediculus* (Crustacea, Onychopoda) / S. Xu, P.D.N. Hebert, A.A. Kotov, M.E. Cristescu // Molecular Ecology. – 2009. – V. 18. – P. 5161–5179.
- 293. The phenotypic plasticity in Chinese populations of *Daphnia similoides* sinensis: recurvate helmeted forms are associated with the presence of predators / X. Ma, J. Wolinska, A. Petrusek [et al.] // Journal of Plankton Research. 2016. V. 38 (4). P. 855–864.
- 294. The role of selection in driving landscape genomic structure of the waterflea Daphnia magna / L. Orsini, J. Mergeay, J. Vanoverbeke, L. De Meester // Molecular Ecology. – 2013. – V. 22. – P. 583–601.
- 295. The scale of divergence: a phylogenetic appraisal of intercontinental allopatric speciation in a passively dispersed freshwater zooplankton genus / S.J. Adamowicz, A. Petrusek, J.K. Colbourne [et al.] // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. V. 50. P. 423–436.
- 296. Time dependency of molecular rate estimates and systematic overestimation of recent divergence times / S.Y.W. Ho, M.J. Phillips, A. Cooper, A.J. Drummond // Molecular Biology and Evolution. – 2005. – V. 22. – P. 1561–1568.
- 297. Toews, D.P.L. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals / D.P.L. Toews, A. Brelsford // Molecular Ecology. – 2012. – V. 21 (16). – P. 3907–3930.
- 298. Transcontinental phylogeography of the *Daphnia pulex* species complex / T.J. Crease, A.R. Omilian, K.S. Costanzo, D.J. Taylor // PLoS ONE. 2012. 7 (10): e46620.
- 299. Trontelj, P. Cryptic species diversity should not be trivialized / P. Trontelj, C. Fišer // Systematics and Biodiversity. 2009. V. 7 (1). P. 1–3.
- 300. Unexpected endemism in the *Daphnia longispina* complex (Crustacea: Cladocera) in Southern Siberia / E.I. Zuykova, N.A. Bochkarev, D.J. Taylor, A.A.Kotov // PLoS ONE. – 2019. – V.14 (9): e0221527.
- 301. Van Damme, K. The fossil record of the Cladocera (Crustacea: Branchiopoda): Evidence and hypotheses / K. Van Damme, A.A. Kotov // Earth-Science Reviews. – 2016. – V. 163. – P. 162–189.
- 302. Wiemers, M. ITS2 secondary structure improves phylogeny estimation in a radiation of blue butterflies of the subgenus *Agrodiaetus* (Lepidoptera: Lycaenidae: Polyommatus) / M. Wiemers, A. Keller, M. Wolf // BMC Evolutionary Biology. – 2009. – V. 9 (300). https:// DOI: 10.1186/1471-2148-9-300.
- 303. Winker, K. Sibling species were first recognized by William Derham (1718) / K. Winker // The Auk. 2005. V. 122 (2). P. 706–707.
- 304. Wolf, H.G. Interspecific hybridization underlies phenotypic variability in Daphnia populations / H.G. Wolf, M.A. Mort // Oecologia. – 1986. – V. 68. – P. 507–511.
- 305. Wolf, H.G. Interspecific hybridization between *Daphnia hyalina*, *Daphnia galeata*, and *Daphnia cucullata* and seasonal abundances of these species and their hybrids / H.G. Wolf // Hydrobiologia. 1987. V. 145. P. 213–217.
- 306. Woltereck, R. Weitere experimentelle Untersuchungen über Artveränderung, speziel über das Wesen quantitativer Artunterschiede bei Daphniden. [Further experimental investigations about species change, especially about the essense of quantitative differences in *Daphnia*] / R. Woltereck // Verhandlungen der deutschen zoologischen. – Gesellschaft. – 1909. – V. 19. – S. 110–173.
- 307. Wotzel, R. Zur Entwicklung des Sommereies von *Daphnia pulex* / R. Wotzel //
  Zoologische Jahrbücher Anatomy Ont. 1937. V. 63. S. 455–470.
- 308. Yin, M. Clonal diversity, clonal persistence and rapid taxon replacement in natural populations of species and hybrids of the *Daphnia longispina* complex / M. Yin, J. Wolinska, S. Gießler // Molecular Ecology. 2010. V. 19. P. 4168–4178.

- 309. Zadereev, E.S. The role of within trophic level chemical interactions in diapause induction: basic and applied aspect / Diapause in aquatic invertebrates. Theory and human use. // V.R. Alekseev, B.T. DeStasio, J.J. Gilbert (eds.), Dordrecht : Springer, 2007. – P. 197–206.
- 310. Zuykova, E.I. Identification of the *Daphnia* species (Crustacea: Cladocera) in the lakes of the Ob and Yenisei River basins: morphological and molecular phylogenetic approaches / E.I. Zuykova, N.A. Bochkarev, A.V. Katokhin // Hydrobiologia. – 2013. – V. 715. – P. 135–150.
- 311. Zuykova, E.I. Redescription of *Daphnia turbinata* Sars, 1903 (Crustacea: Cladocera: Daphniidae) / E.I. Zuykova, N.G. Sheveleva, A.A. Kotov // Zootaxa. 2019. V. 4658. P. 317–330.

приложения

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Оригинальныенуклеотидныепоследовательностифрагментов генов 12S, 16S, ND2 мтДНК для видов группы *Daphnia longispina* s.l., использованных в популяционно-генетическом анализе и реконструкции филогении

щц	n	m	IC	ада Страна:Регион N, °	N. ° E. °	N, ° E, °	GenBank Acc. No.			
##	Вид	ID	Клада	Страна:Регион	N, °	E, °	128	168	ND2	ITS2
1	D. longispina	BL1	Α	Россия: Иркутская обл.	55,424	109,526	as KgL			
2	D. longispina	IZ2	Α	Россия: Иркутская обл.	54,040	108,100	as KgL			
3	D. longispina	IZ3	Α	Россия: Иркутская обл.	54,040	108,100	MK930474			
4	D. longispina	AAK-M-0782.4	Α	Монголия	48,548	88,469	MK930476			
5	D. longispina	AAK-M-0782.5	Α	Монголия	48,548	88,469	MK930477			
6	D. longispina	AAK-M-3428.1	Α	Россия: Республика Алтай	51,189	86,564	MK930478	MK930485	MK930499	
7	D. longispina	AAK-M-3428.2	Α	Россия: Республика Алтай	51,189	86,564	as KgL			
8	D. longispina	AAK-M-3428.4	Α	Россия: Республика Алтай	51,189	86,564	as KgL	MK930486	MK930500	
9	D. longispina	AAK-M-3430.1	Α	Россия: Республика Алтай	51,189	86,564	MK930479	MK930487	MK930501	
10	D. longispina	AAK-M-3430.4	Α	Россия: Республика Алтай	51,189	86,564	as KgL	as AAK-M-3431.3	MK930503	
11	D. longispina	AAK-M-3431.2	Α	Россия: Республика Алтай	51,189	86,564	as KgL	MK930489	MK930502	
12	D. longispina	AAK-M-3431.3	Α	Россия: Республика Алтай	51,189	86,564	as KgL	MK930490	as AAK-M-3428.1	
13	D. longispina	TIL9	Α	Россия: Республика Алтай	51,780	87,320	JQ861663			MH399721
14	D. longispina	TIL10	Α	Россия: Республика Алтай	51,780	87,320	JQ861664			
15	D. longispina	KO1	Α	Россия: Республика Алтай	53,810	81,340	as KgL			
16	D. longispina	KO2	Α	Россия: Республика Алтай	53,810	81,340	as KgL			
17	D. longispina	Khr1	Α	Россия: Республика Алтай	53,980	81,320	MK930472			
18	D. longispina	Khr2	Α	Россия: Республика Алтай	53,980	81,320	as KgL			
19	D. longispina	Khr3	Α	Россия: Республика Алтай	53,980	81,320	as KgL			
20	D. longispina	AAK-M-1646.3	Α	Россия: Хакасия	53,559	91,301	as KgL			
21	D. longispina	Ton1	Α	Россия: Республика Тыва	52,540	96,210	MK930473			
22	D. longispina	PL15	В	Россия: Республика Тыва	52,440	96,280	JQ861665			MH399715
23	D. longispina	PL16	Α	Россия: Республика Тыва	52,440	96,280	JQ861666			MH399716
24	D. longispina	SpL7	Α	Россия: Республика Тыва	52,440	96,290	JQ861667			MH399718

Продолжение Таблицы А.1 ...

25	D. longispina	SpL8	A	Россия: Республика Тыва	52,440	96,290	JQ861668			MH399719
26	D. longispina	DdL12	A	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	AsDdL14			
27	D. longispina	DdL14	A	Россия: Респуолика Тыва	52,820	98,100	JQ861669	10061506		
28	D. longispina	DdL15	Α	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	JQ861670	JQ861596		
29	D. longispina	DdL23	A	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	JQ861671	JQ861597		
30	D. longispina	DdL24	Α	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	JQ861672	JQ861598	KP253089	
31	D. longispina	DdL25	A	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	JQ861673	JQ861599	as DdL24	
32	D. longispina	DdL26	Α	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	JQ861674	JQ861600	as DdL25	
33	D. longispina	DdL27	Α	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	JQ861675	JQ861601		
34	D. longispina	DdL28	Α	Россия: Республика Тыва	52,820	98,100	JQ861676	JQ861602		
35	D. longispina	NoT6	Α	Россия: Новосибирская обл.	55,210	78,280			KP253100	
36	D. longispina	KgL	Α	Россия: Новосибирская обл.	54,220	78,220	JN903662	JN874583	KP253096	
37	D. longispina	KgL1	Α	Россия: Новосибирская обл.	54,220	78,220	JN903663			
38	D. longispina	KgL12	Α	Россия: Новосибирская обл.	54,220	78,220	JN903664			
39	D. longispina	KgL14	Α	Россия: Новосибирская обл.	54,220	78,220	JN903665	JN874586		
40	D. longispina	Brb1L5	Α	Россия: Новосибирская обл.	55,300	78,370	JN903675	JN874596	KP253093	
41	D. longispina	Brb1L9	Α	Россия: Новосибирская обл.	55,300	78,370	JN903676	JN874597	KP253094	
42	D. longispina	Brb2L2	В	Россия: Новосибирская обл.	55,280	78,280	JN903677	JN874598	KP253091	
43	D. longispina	Brb2L4	Α	Россия: Новосибирская обл.	55,280	78,280	JN903678	JN874599	KP253095	
44	D. longispina	Brb2L5	В	Россия: Новосибирская обл.	55,280	78,280	JN903679	JN874600	KP253092	
45	D. longispina	Brb2L6	В	Россия: Новосибирская обл.	55,280	78,280	JN903680			
46	D. longispina	ZdL1	В	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903666	JN874587		
47	D. longispina	ZdL2	В	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903667	JN874588		
48	D. longispina	ZdL3	В	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903668	JN874589	KP253097	
49	D. longispina	ZdL4	Α	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903669	JN874590	KP253098	
50	D. longispina	ZdL5	В	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903670	JN874591	KP253099	
51	D. longispina	ZdL6	Α	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903671	JN874592		
52	D. longispina	ZdL7	Α	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903672	JN874593		
53	D. longispina	ZdL8	В	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903673	JN874594		MH399723
54	D. longispina	ZdL9	В	Россия: Новосибирская обл.	54,610	78,420	JN903674	JN874595		

Продолжение Таблицы А.1 ...

55	D. longispina	AAK-M-3179.1	B	Россия: Тюменская обл.	55,685	69,190	MK951805			
56	D. longispina	AAK-M-3179.2	В	Россия: Тюменская обл.	55,685	69,190	MK951806			
57	D. longispina	AAK-M-3179.3	В	Россия: Тюменская обл.	55,685	69,190	MK930475			
58	D. longispina	AAK-M-0573_5a	Α	Россия: ЯНАО	66,060	72,006	as KgL			
59	D. longispina	AAK-M-0573_5b	Α	Россия: ЯНАО	66,060	72,006	as KgL			
60	D. longispina	AAK-M-0576_5c	Α	Россия: ЯНАО	66,060	72,002				
61	D. longispina	AAK-M-0576_5d	Α	Россия: ЯНАО	66,060	72,002	as KgL			
62	D. longispina	AAK-M-0309_1c	В	Россия: Челябинская обл.	54,927	59,220				
63	D. longispina	AAK-M-0309_1d	В	Россия: Челябинская обл.	54,927	59,220				
64	D. longispina	AAK-M-0312_1f	В	Россия: Челябинская обл.	54,834	58,357				
65	D. longispina	AAK-M-0312_1e	В	Россия: Челябинская обл.	54,834	58,357	as AAK-M-0312_1f			
66	D. longispina	AAK-M-0315_1g	В	Россия: Челябинская обл.	54,741	58,211				
67	D. longispina	AAK-M-0315_1h	B	Россия: Челябинская обл.	54,741	58,211				
68	D. longispina	AAK-M-0595_6a	B	Россия: Псковская обл.	58,636	27,790				
69	D. longispina	AAK-M-0595_5h	В	Россия: Псковская обл.	58,636	27,790				
70	D. hyalina	GlH9	B	Россия: Московская обл.	55,750	36,510	KP253085	KT372045	KP253101	
71	D. hyalina	HlsH1	В	Австрия	47,610	13,640	KX027454	KT372047	KP253103	
72	D. hyalina	HlsH2	В	Австрия	47,610	13,640	KP253084	as HlsH1	KP253104	
73	D. dentifera	SK1		Россия: Иркутская обл.	54,400	108,490	KP253083	KT372020	KP253115	
74	D. dentifera	SK2		Россия: Иркутская обл.	54,400	108,490	KP253083	KT372021	as SK1	
75	D. dentifera	SK3		Россия: Иркутская обл.	54,400	108,490	KP253083	KT372022	as SK1	
76	D. dentifera	SK4		Россия: Иркутская обл.	54,400	108,490	KP253083			
77	D. dentifera	SK5		Россия: Иркутская обл.	54,400	108,490	KP253083			
78	D. dentifera	SK6		Россия: Иркутская обл.	54,400	108,490	KP253083			
79	D. dentifera	KuzD1		Россия: Иркутская обл.	51,660	101,370	KP253083	KT372026	as SK1	
80	D. dentifera	SgM1		Россия: Иркутская обл.	54,100	108,280	KP253083			
81	D. dentifera	SgM3		Россия: Иркутская обл.	54,100	108,280	KP253083			
82	D. dentifera	SgM4		Россия: Иркутская обл.	54,100	108,280	KP253083			
83	D. dentifera	SgM5		Россия: Иркутская обл.	54,100	108,280	KP253083			

Продолжение Таблицы А.1 ...

84	D. dentifera	SgM6	Россия: Иркутская обл.	54,100	108,280	KP253083			
85	D. dentifera	Zh2	Монголия	48,320	96,050	KP253081			
86	D. dentifera	Zh3	Монголия	48,320	96,050	KP253082			
87	D. dentifera	AAK-M-2317_11a	Россия: Якутия	62,791	130,056	as SK1			
88	D. dentifera	AAK-M-2317_11b	Россия: Якутия	62,791	130,056	as SK1			
89	D. dentifera	AAK-M-2317_11c	Россия: Якутия	62,791	130,056				
90	D. dentifera	AAK-M-2317_11cc	Россия: Якутия	62,791	130,056				
91	D. dentifera	AAK-M-2317_11d	Россия: Якутия	62,791	130,056	as SK1			
92	D. dentifera	AAK-M-2317_10g	Россия: Якутия	62,791	130,056	as SK1			
93	D. dentifera	AAK-M-2317_10h	Россия: Якутия	62,791	130,056	as SK1			
94	D. turbinata	AAK-M-1322.2	Монголия	49,938	102,723	MK951810	as AAK-M-	as AAK-M-	
95	D turbinata	AAK-M-1322 3	Монголия	49 938	102 723	as AAK-M-1322.2	1322.5 MK930492	1322.5 MK930504	
96	D turbinata	AAK-M-1322.5	Монголия	49.938	102,723	as AAK-M-1322.2	MK930493	MK930505	
97	D turbinata	AAK-M-1322.6	Монголия	49.938	102,723	MK930481	1111950195	1111/30303	
98	D. turbinata	ThSh1	Монголия	48.334	96.062	as AAK-M-1322.2			
99	D. turbinata	TP2	Россия: Республика Тыва	52.430	96,300	MK930482			
100	D. turbinata	TP3	Россия: Республика Тыва	52.430	96,300	as TP2			
101	D. galeata	TmbG1	Россия: г. Благовешенск	50,100	128,100	KX027452	KT372037	KX027477	
102	D. galeata	TmbG2	Россия: г. Благовешенск	50,100	128,100	KX027452	KT372038	KX027478	
103	D. galeata	Bur1	Россия: Бурятия	52.330	111.340	KX027448			
104	D. galeata	DgG1	Россия: Забайкалье	55.280	112.290		MK930508	KX027473	
105	D. galeata	DgG2	Россия: Забайкалье	55.280	112.290	KX027449	MK930509	KX027474	
106	D. galeata	DgG3	Россия: Забайкалье	55.280	112.290	KX027449	MK930510	KX027475	
107	D. galeata	DgG4	Россия: Забайкалье	55,280	112,290		MK930511		
108	D. galeata	DgG5	Россия: Забайкалье	55,280	112,290		MK930512		
109	D. galeata	GsG1	Россия: бассейн оз. Байкал	51,125	106,250	MK951807			
110	D. galeata	GsG4	Россия: бассейн оз. Байкал	51,125	106,250	as GsG1			
111	D. galeata	ChB1	Россия: Иркутская обл.	53,670	109,030	MK951808			
	5		1 5						

Продолжение Таблицы А.1 ...

112	D. galeata	ChB2	Россия: Иркутская обл.	53,670	109,030	MK930469		
113	D. galeata	Kt2	Россия: Иркутская обл.	52,480	108,090	KX027450		
114	D. galeata	Kt3	Россия: Иркутская обл.	52,480	108,090	KX027451		
115	D. galeata	UIG1	Россия: Иркутская обл.	57,420	102,350	as KgG	as NRG5	KX027476
116	D. galeata	UIG2	Россия: Иркутская обл.	57,420	102,350	as KgG		
117	D. galeata	UIG3	Россия: Иркутская обл.	57,420	102,350	as KgG	as NRG5	
118	D. galeata	AAK-M-1746.2	Монголия	46,700	96,700	MK930470	MK930494	MK930507
119	D. galeata	AAK-M-1746.4	Монголия	46,700	96,700	MK930471		
120	D. galeata	PrG1	Россия: Красноярский край	55,250	89,270		JQ861549	
121	D. galeata	PrG2	Россия: Красноярский край	55,250	89,270		JQ861550	
122	D. galeata	PrG3	Россия: Красноярский край	55,250	89,270	JQ861633		
123	D. galeata	PrG4	Россия: Красноярский край	55,250	89,270	JQ861634		KX844622
124	D. galeata	PrG6	Россия: Красноярский край	55,250	89,270	JQ861635	JQ861551	as PrG4
125	D. galeata	PrG7	Россия: Красноярский край	55,250	89,270	JQ861636	JQ861552	as PrG4
126	D. galeata	PrG8	Россия: Красноярский край	55,250	89,270	JQ861637	JQ861553	as PrG4
127	D. galeata	PrG9	Россия: Красноярский край	55,250	89,270	JQ861638	JQ861554	as PrG4
128	D. galeata	PrG11	Россия: Красноярский край	55,250	89,270	JQ861639	JQ861556	KX844623
129	D. galeata	KrG7	Россия: Красноярский край	51,980	88,670	JQ861624		
130	D. galeata	KrG8	Россия: Красноярский край	51,980	88,670	JQ861625		
131	D. galeata	KrG10	Россия: Красноярский край	51,980	88,670	JQ861626	JQ861568	KX027463
132	D. galeata	KrG11	Россия: Красноярский край	51,980	88,670	JQ861627	JQ861569	KX027464
133	D. galeata	KrG12	Россия: Красноярский край	51,980	88,670	JQ861628	JQ861570	as KrG11
134	D. galeata	KrG13	Россия: Красноярский край	51,980	88,670	JQ861629	JQ861571	as KrG13
135	D. galeata	KrG14	Россия: Красноярский край	51,980	88,670	JQ861630		
136	D. galeata	DdG9	Россия: Республика Тыва	52,490	98,060	JQ861649		
137	D. galeata	DdG16	Россия: Республика Тыва	52,490	98,060			KX027471
138	D. galeata	DdG17	Россия: Республика Тыва	52,490	98,060	JQ861650	JQ861583	KX027472
139	D. galeata	KdG10	Россия: Республика Тыва	52,620	96,990	JQ861647		KX027461

Продолжение Таблицы А.1 ...

1 1		1							
140	D. galeata	KdG11	Россия: Республика Тыва	52,620	96,990	JQ861648	JQ861563	KX027462	
141	D. galeata	ShG10	Россия: Республика Тыва	52,670	96,750	JQ861643	JQ861576	KP253112	
142	D. galeata	ShG11	Россия: Республика Тыва	52,670	96,750	JQ861644			MH399727
143	D. galeata	NoG10	Россия: Республика Тыва	52,750	97,070	JQ861631		KX027470	
144	D. galeata	NoG11	Россия: Республика Тыва	52,750	97,070	JQ861632			
145	D. galeata	ErG7	Россия: Республика Тыва	52,390	96,490	JQ861645			
146	D. galeata	ErG8	Россия: Республика Тыва	52,390	96,490	JQ861646			
147	D. galeata	MnG2	Россия: Республика Тыва	52,320	96,480	JQ861621	JQ861585		
148	D. galeata	MnG3	Россия: Республика Тыва	52,320	96,480	JQ861622	JQ861586		
149	D. galeata	MnG6	Россия: Республика Тыва	52,320	96,480	JQ861623	JQ861589		
150	D. galeata	BrG16	Россия: Республика Тыва	52,380	96,440	JQ861657			
151	D. galeata	BrG17	Россия: Республика Тыва	52,380	96,440	JQ861658			
152	D. galeata	BrG24	Россия: Республика Тыва	52,380	96,440	JQ861659			
153	D. galeata	DLG5	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861651	JQ861558		
154	D. galeata	DLG6	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861652	JQ861559		
155	D. galeata	DLG9	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861653		KX027466	
156	D. galeata	DLG10	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861654		KX027469	
157	D. galeata	DLG16	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861656			
158	D. galeata	DLG17	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861655			
159	D. galeata	TdG11	Россия: Республика Тыва	52,250	96,350	JQ861640			
160	D. galeata	TdG15	Россия: Республика Тыва	52,250	96,350	JQ861641			
161	D. galeata	TdG13	Россия: Республика Тыва	52,250	96,350	JQ861642		KX027468	
162	D. galeata	NRG1	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100087	HM067430		HM161698
163	D. galeata	NRG2	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100088	HM067431		HM161699
164	D. galeata	NRG3	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100089	HM067432		HM161700
165	D. galeata	NRG4	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100090	HM067433		HM161701
166	D. galeata	NRG5	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100091	HM067434		HM161702
167	D. galeata	NRG6	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100092	HM067435		HM161703

Продолжение Таблицы А.1 ...

168	D. galeata	NRG7	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000		HM067436		HM161704
169	D. galeata	Bgsh1	Россия: Томская обл.	56,210	85,070	KX027446			
170	D. galeata	Bgsh4	Россия: Томская обл.	56,210	85,070	KX027447			
171	D. galeata	NoT6-2	Россия: Новосибирская обл.	55,210	78,280			KX027485	
172	D. galeata	KgG10	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903650		KP253113	
173	D. galeata	KgG11	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903651			
174	D. galeata	KgG12	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903652			
175	D. galeata	KgG13	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903653			
176	D. galeata	KgG14	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903654			
177	D. galeata	KgG15	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903655			
178	D. galeata	KgG16	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903656			
179	D. galeata	KgG17	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903657			
180	D. galeata	KgG18	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903658			
181	D. galeata	KgG19	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903659			
182	D. galeata	KgG20	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130	JN903660			
183	D. galeata	KgG36	Россия: Новосибирская обл.	54,370	78,130			KP253113	
184	D. galeata	Brb2-G1	Россия: Новосибирская обл.	55,170	78,170	JN903661	N874582	KX027460	
185	D. galeata	AAK-M-0343_3g	Россия: Тюменская обл.	55,647	69,222	as GsG1			
186	D. galeata	AAK-M-0343_3f	Россия: Тюменская обл.	55,647	69,222	as GsG2			
187	D. galeata	AAK-M-0363_4d	Россия: Тюменская обл.	56,021	69,364				
188	D. galeata	RbRM1	Россия: Ярославская обл.	58,280	37,480	KP253088			
189	D. galeata	RbRM2	Россия: Ярославская обл.	58,280	37,480			KX027479	
190	D. galeata	RbRNv2	Россия: Ярославская обл.	58,280	37,480			KX027480	
191	D. galeata	RbRPv1	Россия: Ярославская обл.	58,280	37,480			KX027481	
192	D. galeata	RbRYa1	Россия: Ярославская обл.	58,280	37,480			KX027483	
193	D. galeata	GlG10	Россия: Московская обл.	55,450	36,300	KP253087			
194	D. galeata	GlG15	Россия: Московская обл.	55,450	36,300		KT372031	KP253106	
195	D. galeata	GlG16	Россия: Московская обл.	55,450	36,300			KP253107	
196	D. galeata	CoLG1	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM161705	HM067413		HM161688

Продолжение Таблицы А.1 ...

197	D. galeata	CoLG2	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM161706	HM067414		HM161689
198	D. galeata	CoLG3	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM161707	HM067415		HM161690
199	D. galeata	CoLG4	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM161708	HM067416		HM161691
200	D. galeata	CoLG5	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM161709	HM067417		HM161692
201	D. galeata	CoLG7	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100093	HM067418		HM161693
202	D. galeata	CoLG8	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100102	HM067419		
203	D. galeata	CoLG9	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100094			
204	D. galeata	CoLG10	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100095	HM067420		
205	D. galeata	CoLG11	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100096	HM067421		
206	D. galeata	CoLG14	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100103	HM067422		
207	D. galeata	CoLG18	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100097	HM067423		
208	D. galeata	CoLG19	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100104	HM067424		
209	D. galeata	CoLG20	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100098	HM067425		HM161694
210	D. galeata	CoLG21	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100099	HM067426		
211	D. galeata	CoLG22	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100105	HM067427		HM161695
212	D. galeata	CoLG23	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100100	HM067428		HM161696
213	D. galeata	CoLG24	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100101	HM067429		HM161697
214	D. galeata	CoLG25	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400			KP253108	
215	D. galeata	CoLG26	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400			KP253109	
216	D. galeata	HlsG3	Австрия	47,360	13,380	KX027453	KT372032	KX027484	
217	D. cucullata	OrdCu1	Россия: Новосибирская обл.	54,350	81,840	MK930467			
218	D. cucullata	OrdCu2	Россия: Новосибирская обл.	54,350	81,840	MK951809			
219	D. cucullata	NRCu1	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100080	HM067407		HM161684
220	D. cucullata	NRCu2	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100081	HM067408		HM161685
221	D. cucullata	NRCu3	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100082	HM067409		HM161686
222	D. cucullata	NRCu4	Россия: Новосибирская обл.	54,480	83,000	HM100083			HM161687
223	D. cucullata	AAK-M-0356_3h	Россия: Омская обл.	57,644	71,168	as AAK-M-0326_2c			
224	D. cucullata	UphCu1	Россия: Челябинская обл.	56,030	60,130	MK930468			

Продолжение Таблицы А.1 ...

225	D. cucullata	UphCu2	Россия: Челябинская обл.	56,030	60,130	as OrdCu2			
226	D. cucullata	UphCu3	Россия: Челябинская обл.	56,030	60,130	as OrdCu2			
227	D. cucullata	AAK-M-0326_2d	Россия: Челябинская обл.	55,178	60,079	as AAK-M-0326_2e			
228	D. cucullata	AAK-M-0326_2e	Россия: Челябинская обл.	55,178	60,079				
229	D. cucullata	AAK-M-0326_2c	Россия: Челябинская обл.	55,178	60,079				
230	D. cucullata	ColCu15	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100084	HM067410		HM161681
231	D. cucullata	ColCu16	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100085	HM067411		HM161682
232	D. cucullata	ColCu17	Россия: Калининградская обл.	54,580	20,400	HM100086	HM067412		HM161683
233	D. cf. longispina	Brb1Dsp2	Россия: Новосибирская обл.	55,300	78,370	JN903687	JN874608	as Brb1-Dsp10	
234	D. cf. longispina	Brb1Dsp10	Россия: Новосибирская обл.	55,300	78,370	JN903688	JN874609	KP253116	
235	D. cf. longispina	Brb1Dsp12	Россия: Новосибирская обл.	55,300	78,370	JN903689	JN874610	as Brb1-Dsp16	
236	D. cf. longispina	Brb1Dsp16	Россия: Новосибирская обл.	55,300	78,370	JN903690	JN874611	KP253117	
237	D. umbra	AAK-M-3054.1	Россия: п-в Камчатка	57,624	160,627	MK930484			
238	D. umbra	AAK-M-3054.2	Россия: п-в Камчатка	57,624	160,627	as AAK-M-3054.1			
239	D. umbra	BrU1	Россия: Республика Тыва	52,630	96,730		JQ861590		
240	D. umbra	BrU15	Россия: Республика Тыва	52,630	96,730	JQ861660	JQ861591	MH399707	
241	D. umbra	BrU18	Россия: Республика Тыва	52,630	96,730	JQ861661	JQ861592		
242	D. umbra	BrU19	Россия: Республика Тыва	52,630	96,730	JQ861662			
243	D. umbra	BrU21	Россия: Республика Тыва	52,630	96,730		JQ861593		
244	D. umbra	AAK-M-2187.3	Россия: п-в Таймыр	71,322	103,100	MK930483			
245	D. umbra	AAK-M-2185.10	Россия: п-в Таймыр	71,322	103,100	KY706500			
246	D. umbra	AAK-M-2185.11	Россия: п-в Таймыр	71,322	103,100	as AAK-M-2185.10			
247	D. umbra	AAK-M-2185.12	Россия: п-в Таймыр	71,322	103,100	as AAK-M-2185.10			
248	D. cristata	Khb1	Россия: г. Хабаровск	48,300	135,030	KX027439			
249	D. cristata	Khb2	Россия: г. Хабаровск	48,300	135,030			KX027457	
250	D. cristata	Khb3	Россия: г. Хабаровск	48,300	135,030	KX027440			
251	D. cristata	BRs1	Россия: Амурская обл.	50,110	130,080	KX027438		KX027458	
252	D. cristata	BRs3	Россия: Амурская обл.	50,110	130,080			KX027459	

Продолжение Таблицы А.1 ...

253	D. cristata	Bnt1	Россия: Забайкалье	55,110	113,010		KT372007		
254	D. cristata	Bnt2	Россия: Забайкалье	55,110	113,010	KX027443	KT372008	KX027455	
255	D. cristata	Bnt3	Россия: Забайкалье	55,110	113,010	KX027444			
256	D. cristata	Bnt5	Россия: Забайкалье	55,110	113,010	KX027445			
257	D. cristata	DgCr1	Россия: Забайкалье	55,280	112,290	KX027441	KT372009		
258	D. cristata	DgCr2	Россия: Забайкалье	55,280	112,290				
259	D. cristata	DgCr4	Россия: Забайкалье	55,280	112,290		KT372010		
260	D. cristata	Kap1	Россия: Забайкалье	54,490	112,160			KX027456	
261	D. cristata	DLC15	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	KX027442			
262	D. cristata	DLCr7	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861677	JQ861594		
263	D. cristata	DLCr8	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861678	JQ861595		
264	D. cristata	DLCr15	Россия: Республика Тыва	52,340	96,160	JQ861679			
265	D. cristata	AAK-M-0577_5e	Россия: ЯНАО	66,060	72,006				
266	D. cristata	AAK-M-0577_5f	Россия: ЯНАО	66,060	72,006				
267	D. cristata	AAK-M-0326_2a	Россия: Челябинская обл.	55,178	60,079	as DgCr1			
268	D. cristata	AAK-M-0326_2b	Россия: Челябинская обл.	55,178	60,079				
269	D. cristata	GlCr3-GlCr5	Россия: Московская обл.	55,450	46.30	as DgCr1			
270	D. cristata	GlCr1	Россия: Московская обл.	55,450	46.30		KT372012		
271	D. cristata	GlCr6	Россия: Московская обл.	55,450	46.30		KT372013		

##	Вид	Клада	Номер доступа	Местоположение	Ссылка
1.	D. longispina	В	KF977622-KF977624	Spain: Pond Llong Gerber 3, Pyrenees	Local and regional, 2014
2.	D. longispina	В	KF977625	Spain: Pond Llong Gerber 5, Pyrenee	Local and regional, 2014
3.	D. longispina	В	KF977626-KF977629	Spain: Pond Llong Gerber 6, Pyrenees	Local and regional, 2014
4.	D. longispina	В	KF977630-KF977637	Spain: Lake Aparellats de dalt, Pyrenees	Local and regional, 2014
5.	D. longispina	В	KF977638-KF977643	Spain: Pond Engorgs, Pyrenees	Local and regional, 2014
6.	D. longispina	В	KF977644-KF977647	Spain: Lake Mariola, Pyrenees	Local and regional, 2014
7.	D. longispina	В	KF977648-KF977651	Spain: Lake Romedo de Dalt, Pyrenees	Local and regional, 2014
8.	D. longispina	В	KF977652-KF977660	Spain: Lake Illa, Pyrenees	Local and regional, 2014
9.	D. longispina	В	KF977661-KF977666	Spain: Lake Gerber, Pyrenees	Local and regional, 2014
10.	D. longispina	В	KF977667-KF977671	Spain: Lake Mal, Pyrenees	Local and regional, 2014
11.	D. longispina	В	KF977672, KF977673	Spain: Lake Manhera, Pyrenees	Local and regional, 2014
12.	D. longispina	В	KF977674-KF977676	Spain: Lake Llarg, Pyrenees	Local and regional, 2014
13.	D. longispina	В	KF977677, KF977678	Spain: Lake Aparellats de dalt, Pyrenees	Local and regional, 2014
14.	D. longispina	В	KF977679, KF977680	Spain: Lake Port d Aula, Pyrenees	Local and regional, 2014
15.	D. longispina	В	KF977681	Spain: Lake Becero, Pyrenees	Local and regional, 2014
16.	D. longispina	В	KF977682	Spain: Lake Cloto de Naut, Pyrenees	Local and regional, 2014
17.	D. longispina	В	KF977683	Czech Republic: pool near Jeleni, Bohemian	Local and regional, 2014
18.	D. longispina	В	KF977684	Czech Republic: Lake Prasilske, Bohemian Forest	Local and regional, 2014
19.	D. longispina	В	KF977685	Czech Republic: Rijiste wetland, Bohemian	Local and regional, 2014
20.	D. longispina	В	KF977686	Czech Republic: Slapy reservoir	Local and regional, 2014
21.	D. longispina	В	KF977687	Denmark: Erikadam	Local and regional, 2014
22.	D. longispina	В	KF977688	Germany: Helgoland	Local and regional, 2014
23	D. longispina	В	KF977689	Morocco: D aova	Local and regional, 2014
24	D. longispina	В	KF977690	Norway: Hurdalsvatn	Local and regional, 2014
25	D. longispina	В	KF977691	Norway: Lake Molandsvann	Local and regional, 2014
26	D. longispina	В	KF977692	Spain: Laguna del Sopeton, Donana	Local and regional, 2014
27	D. longispina	В	KF977693	Spain: Pond Dulce, Donana	Local and regional, 2014
28	D. longispina	В	KF977694	Spain: Pond Taraje, Donana	Local and regional, 2014

Таблица А.2 – Номера доступа в международной базе данных нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 12S мтДНК для видов группы *Daphnia longispina* s.l., использованных в генетическом анализе и реконструкции филогении

Продолжение Таблицы А.2 ...

	1	,			
29	D. longispina	В	KF977695	Sweden: Koarp	Local and regional, 2014
30	D. longispina	В	KF977696	Sweden: Koarp	Local and regional, 2014
31	D. longispina	В	JX13432-JX134324	Bulgaria: Lake Sulzata, Rila Mts.	Congruent patterns, 2012
32	D. longispina	В	JX134325, JX134326	Bosnia and Herzegovina: Lake Veliko, Treskavica	Congruent patterns, 2012
33	D. longispina	В	JX134327	Montenegro: Lake Valovito, Durmitor Mts.	Congruent patterns, 2012
34	D. longispina	В	JX134328, JX134329	Bosnia and Herzegovina: Lake Jugovo, Zelengora Mts.	Congruent patterns, 2012
35	D. longispina	В	JX134330, JX134331	Romania: Lake Bucura, Retezat Mts.	Congruent patterns, 2012
36	D. longispina	В	JX134332	Montenegro: Lake Hridsko, Prokletije Mts.	Congruent patterns, 2012
37	D. longispina	В	JX134333-JX134335	Montenegro: Lake Malo Sisko, Bjelasica Mts.	Congruent patterns, 2012
38	D. longispina	В	JX134336-JX134338	Montenegro: Lake Modro, Durmitor Mts.	Congruent patterns, 2012
39	D. longispina	В	JX134339-JX134342	Bulgaria: Lake Ribno Banderishko, Pirin Mts.	Congruent patterns, 2012
40	D. longispina	В	JX134343-JX134346	Albania: Lake Dashit, Prokletije Mts.	Congruent patterns, 2012
41	D. longispina	В	JX134347, JX134348	Albania: Lake Jezerce 7, Prokletije Mts.	Congruent patterns, 2012
42	D. longispina	В	JX134349	Slovakia: Lake Vysne Jamnicke, Tatra Mts.	Congruent patterns, 2012
43	D. longispina	В	JX134350, JX134351	Slovakia: Lake Vysne Rackove, Tatra Mts.	Congruent patterns, 2012
44	D. longispina	В	JX134352, JX134353	Slovakia: Lake Horne Rohacske, Tatra Mts.	Congruent patterns, 2012
45	D. longispina	В	JX134354, JX134355	Slovakia: Lake Tretie Rohacske, Tatra Mts.	Congruent patterns, 2012
46	D. longispina	В	JX134356-JX134358	Slovakia: Lake Dolne Rohacske, Tatra Mts.	Congruent patterns, 2012
47	D. longispina	В	JX134359	Slovakia: LakeNizneZabieBielovodske, TatraMts.	Congruent patterns, 2012
48	D. longispina	В	JX457151	Germany: Heidelberg	At the edge, 2012
49	D. longispina	В	JX457152	Spain: Dulce Pond, Donana	At the edge, 2012
50	D. longispina	В	EF375827	Austria: Mondsee	A taxonomic reappraisal, 2008
51	D. longispina	В	EF375828	Ethiopia: Lake Tana	A taxonomic reappraisal, 2008
52	D. longispina	В	EF375829, EF375830	Germany: Lake Constance	A taxonomic reappraisal, 2008
53	D. longispina	В	EF375831	Germany: Stechlinsee	A taxonomic reappraisal, 2008
54	D. longispina	В	EF375832	Norway: Lake Goksjo	A taxonomic reappraisal, 2008
55	D. longispina	В	EF375833	Russia: Lake Glubokoje	A taxonomic reappraisal, 2008
56	D. longispina	В	EF375834	Czech Republic: Zidak pond, Drouzkovice	A taxonomic reappraisal, 2008
57	D. longispina	В	EF375835	Czech Republic: Zdarske Lake	A taxonomic reappraisal, 2008
58	D. longispina	В	EF375836	Denmark: Brededam	A taxonomic reappraisal, 2008
59	D. longispina	В	EF375837	Denmark: Pernilleso	A taxonomic reappraisal, 2008
60	D. longispina	В	EF375838	Germany: Ismaninger Fischteiche	A taxonomic reappraisal, 2008

## Продолжение Таблицы А.2 ...

61	D. longispina	В	EF375839	Germany: Frankfurt am Main	A taxonomic reappraisal, 2008
62	D. longispina	В	EF375840	Israel: Lake Hula	A taxonomic reappraisal, 2008
63	D. longispina	В	EF375841	Norway: Lake Mildevatn	A taxonomic reappraisal, 2008
64	D. longispina	В	EF375842	Norway: Lake Trollvann	A taxonomic reappraisal, 2008
65	D. longispina	В	EF375843	Spain: Zahillo pond, Donana	A taxonomic reappraisal, 2008
66	D. longispina	В	EF375844	Spain: Villar del Rey reservoir	A taxonomic reappraisal, 2008
67	D. longispina	В	EF375845	Sweden: pond in Laerjeholm, Goteborg	A taxonomic reappraisal, 2008
68	D. longispina	В	EF375846	Switzerland: Unterer Arosasee	A taxonomic reappraisal, 2008
69	D. longispina	В	EF375847	Switzerland: Great St. Bernard pass	A taxonomic reappraisal, 2008
70	D. longispina	В	DQ337929	Slovakia: Lake Vysne Furkotske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
71	D. longispina	В	DQ337930	Slovakia: Lake Vysne Rakytovske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
72	D. longispina	В	DQ337931	Slovakia: Lake Nizne Rakytovske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
73	D. longispina	В	DQ337932	Slovakia: Lake Jamske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
74	D. longispina	В	DQ337933	Slovakia: Lake Male Cierne pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
75	D. longispina	В	DQ337934	Slovakia: Lake Vysne Rackove pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
76	D. longispina	В	DQ337935	Slovakia: Lake Dolne Rohacske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
77	D. longispina	В	DQ337936	Slovakia: Lake Horne Rohacske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
78	D. longispina	В	DQ337937	Slovakia: Lake Nizne Jamnicke pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
79	D. longispina	В	DQ337938	Slovakia: Lake Dankovo, Spisska Magura	Daphnia in the Tatra, 2007
80	D. longispina	В	DQ337939	Slovakia: Lake Satanie pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
81	D. longispina "Berse"		EF375848	Norway: Lake Berse	A taxonomic reappraisal, 2008
82	D. galeata		AB641989	Japan	The long-term consequences, 2011
83	D. galeata		AB641994	Japan	The long-term consequences, 2011
84	D. galeata		AB642002	Japan	The long-term consequences, 2011
85	D. galeata		AB642009	Japan	The long-term consequences, 2011
86	D. galeata		AB642022	Japan	The long-term consequences, 2011
87	D. galeata		AB642029	Japan	The long-term consequences, 2011
88	D. galeata		AB642031	Japan	The long-term consequences, 2011
89	D. galeata		AB642037	Japan	The long-term consequences, 2011
90	D. galeata		AB642038	Japan	The long-term consequences, 2011
91	D. galeata		AB642042	Japan	The long-term consequences, 2011
92	D. galeata		KM555340	China	Diversity of the Daphnia, 2014

		1			
93	D. galeata		KM555341	China	Diversity of the Daphnia, 2014
94	D. galeata		KM555342	China	Diversity of the Daphnia, 2014
95	D. galeata		KM555343	China	Diversity of the Daphnia, 2014
96	D. galeata		KM555344	China	Diversity of the Daphnia, 2014
97	D. galeata		KM555345	China	Diversity of the Daphnia, 2014
98	D. galeata		KM555346	China	Diversity of the Daphnia, 2014
99	D. galeata		KF214462	USA	Wooller et al., unpublished
100	D. galeata		KF214463	USA	Wooller et al., unpublished
101	D. galeata		KF214464	USA	Wooller et al., unpublished
102	D. galeata		KF214465	USA	Wooller et al., unpublished
103	D. galeata		KF214466	USA	Wooller et al., unpublished
104	D. galeata		FJ943776	Germany: Hartsee	Giessler, Englbrecht, 2009
105	D. galeata		FJ943777	Netherlands: Grote Brekken	Giessler, Englbrecht, 2009
106	D. galeata		FJ943779	Germany: Obinger See	Giessler, Englbrecht, 2009
107	D. galeata		FJ943780	Germany: pond2 Ismaning	Giessler, Englbrecht, 2009
108	D. galeata		EF375851	Netherlands: Lake Tjeukemeer	A taxonomic reappraisal, 2008
109	D. galeata		EF375852	Norway: Lake Torkelvatn	A taxonomic reappraisal, 2008
110	D. galeata		DQ337926	Slovakia: Lake Nizne Temnosmrecianske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
111	D. galeata		DQ337927	Poland: Lake Morskie Oko, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
112	D. galeata		DQ337928	Slovakia: Lake Strbske pleso, Tatra Mountains	Daphnia in the Tatra, 2007
113	D. galeata		FJ178301-FJ178303	Netherlands: Delftse Houd	Thielsch et al., 2009
114	D. galeata		FJ178304, FJ178305	Czech Republic: Stanovice	Thielsch et al., 2009
115	D. galeata		DGU34651		Taylor et al., 1996
116	D. galeata		DGU34646-DGU34650		Taylor et al., 1996
117	D. galeata		AY730359	Japan: Lake Biwa	Taylor et al., 2005
118	D. galeata		AY730360	England: Ullswater	Taylor et al., 2005
119	D. galeata		AY730361		Taylor et al., 2005
120	D. galeata		AY730362	Scotland: Loch Oich	Taylor et al., 2005
121	D. galeata		AY730363	USA: Alder Pond	Taylor et al., 2005
122	D. galeata		AY730364	Canada: Loch Lomond, NB	Taylor et al., 2005
123	D. galeata		AY730365	USA: Mirror Lake	Taylor et al., 2005
124	D. galeata		AY730366	USA: Weiner Lake	Taylor et al., 2005

Продолжение Таблицы А.2 ...

125	D. galeata	AY730367		Taylor et al., 2005
126	D. galeata	AY730368		Taylor et al., 2005
127	D. galeata	AY730369	USA: Baseline Lake	Taylor et al., 2005
128	D. galeata	JX134359	Slovakia: LakeNizneZabieBielovodske, TatraMts.	Congruent patterns, 2012
129	D. galeata	AF277265	Spain	Schwenk et al., 2000
130	D. galeata	AF277266	Finland	Schwenk et al., 2000
131	D. galeata	AF277268	Germany	Schwenk et al., 2000
132	D. galeata	MH052570	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
133	D. galeata	MH052571	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
134	D. galeata	MH052572	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
135	D. galeata	MH052573	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
136	D. galeata	MH052574	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
137	D. galeata	MH052575	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
138	D. galeata	MH052576	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
139	D. galeata	MH052577	China	Cyto-nuclear diversity, 2018
140	D. cucullata	FJ943782	Germany: Klostersee	Gießler, Englbrecht, 2009
141	D. cucullata	FJ943783	Germany: Thalersee	Gießler, Englbrecht, 2009
142	D. cucullata	FJ943784	Netherlands: Tjeukemeer	Gießler, Englbrecht, 2009
143	D. cucullata	FJ943785	Germany: Bansee	Gießer, Englbrecht, 2009
144	D. cucullata	FJ943786	Germany: Thalersee	Gießler, Englbrecht, 2009
145	D. cucullata	EF375854	Norway: Lake Akersvann	A taxonomic reappraisal, 2008
146	D. cucullata	AF277269	Slovenia	Schwenk et al., 2000
147	D. cucullata	AF277270	Czech Republic	Schwenk et al., 2000
148	D. cucullata	AF277272	Russia	Schwenk et al., 2000
149	D. cucullata	FJ178309	Germany: Usingen, Hattstein Weiher	Contribution of cyclic, 2009
150	D. cucullata	FJ178306	Czech Republic: Brno	Contribution of cyclic, 2009
151	D. cucullata	FJ178308	Germany: Usingen, Hattstein Weiher	Contribution of cyclic, 2009
152	D. cucullata	DCU34652	Germany: Schierensee	Contribution of cyclic, 2009
153	D. dentifera	AB641975	Japan	The long-term consequences, 2011
154	D. dentifera	AB641976	Japan	The long-term consequences, 2011
155	D. dentifera	AB641977	Japan	The long-term consequences, 2011

Продолжение Таблицы А.2 ...

156	D. dentifera	AB641978	Japan	The long-term consequences, 2011
157	D. dentifera	AB641979	Japan	The long-term consequences, 2011
158	D. dentifera	AB641980	Japan	The long-term consequences, 2011
159	D. dentifera	AB641981	Japan	The long-term consequences, 2011
160	D. dentifera	AB641982	Japan	The long-term consequences, 2011
161	D. dentifera	AB641983	Japan	The long-term consequences, 2011
162	D. dentifera	AB641984	Japan	The long-term consequences, 2011
163	D. dentifera	AB641985	Japan	The long-term consequences, 2011
164	D. dentifera	AB641986	Japan	The long-term consequences, 2011
165	D. dentifera	AB641987	Japan	The long-term consequences, 2011
166	D. dentifera	AB641988	Japan	The long-term consequences, 2011
167	D. dentifera	AB641990	Japan	The long-term consequences, 2011
168	D. dentifera	AB641991	Japan	The long-term consequences, 2011
169	D. dentifera	AB641992	Japan	The long-term consequences, 2011
170	D. dentifera	AB641995	Japan	The long-term consequences, 2011
171	D. dentifera	AB641996	Japan	The long-term consequences, 2011
172	D. dentifera	AB641997	Japan	The long-term consequences, 2011
173	D. dentifera	AB641998	Japan	The long-term consequences, 2011
174	D. dentifera	AB641999	Japan	The long-term consequences, 2011
175	D. dentifera	AB642000	Japan	The long-term consequences, 2011
176	D. dentifera	AB642001	Japan	The long-term consequences, 2011
177	D. dentifera	AB642003	Japan	The long-term consequences, 2011
178	D. dentifera	AB642004	Japan	The long-term consequences, 2011
179	D. dentifera	AB642005	Japan	The long-term consequences, 2011
180	D. dentifera	AB642006	Japan	The long-term consequences, 2011
181	D. dentifera	AB642007	Japan	The long-term consequences, 2011
182	D. dentifera	AB642008	Japan	The long-term consequences, 2011
183	D. dentifera	AB642010	Japan	The long-term consequences, 2011
184	D. dentifera	AB642011	Japan	The long-term consequences, 2011
185	D. dentifera	AB642012	Japan	The long-term consequences, 2011
186	D. dentifera	AB642013	Japan	The long-term consequences, 2011
187	D. dentifera	AB642014	Japan	The long-term consequences, 2011

Продолжение Таблицы А.2 ...

		1			
188	D. dentifera		AB642015	Japan	The long-term consequences, 2011
189	D. dentifera		AB642016	Japan	The long-term consequences, 2011
190	D. dentifera		AB642017	Japan	The long-term consequences, 2011
191	D. dentifera		AB642018	Japan	The long-term consequences, 2011
192	D. dentifera		AB642019	Japan	The long-term consequences, 2011
193	D. dentifera		AB642020	Japan	The long-term consequences, 2011
194	D. dentifera		AB642021	Japan	The long-term consequences, 2011
195	D. dentifera		AB642023	Japan	The long-term consequences, 2011
196	D. dentifera		AB642024	Japan	The long-term consequences, 2011
197	D. dentifera		AB642025	Japan	The long-term consequences, 2011
198	D. dentifera		AB642030	Japan	The long-term consequences, 2011
199	D. dentifera		AB642034	Japan	The long-term consequences, 2011
200	D. dentifera		AB642036	Japan	The long-term consequences, 2011
201	D. dentifera		AB642039	Japan	The long-term consequences, 2011
202	D. dentifera		AB642040	Japan	The long-term consequences, 2011
203	D. dentifera		AB642041	Japan	The long-term consequences, 2011
204	D. dentifera		AB642044	Japan	The long-term consequences, 2011
205	D. dentifera		AB642045	Japan	The long-term consequences, 2011
206	D. dentifera		AB642046	Japan	The long-term consequences, 2011
207	D. dentifera		AB642047	Japan	The long-term consequences, 2011
208	D. dentifera		KM555347	China: Tibet	Diversity of the Daphnia, 2014
209	D. dentifera		KM555348	China: Tibet	Diversity of the Daphnia, 2014
210	D. dentifera		KM555349	China: Tibet	Diversity of the Daphnia, 2014
211	D. dentifera		KM555350	China: Tibet	Diversity of the Daphnia, 2014
212	D. dentifera		KM555351	China: Tibet	Diversity of the Daphnia, 2014
213	D. dentifera		JX446618	Nepal	At the edge, 2012
214	D. dentifera		DDU34732	Canada: British Columbia, Canal Flats pond	Taylor et al., 1996
215	D. dentifera		DDU34733	Canada: British Columbia, Canal Flats pond	Taylor et al., 1996
216	D. dentifera		AY730372	USA: Conners Lake	Taylor et al., 2005
217	D. dentifera		AY730373	USA: Conners Lake	Taylor et al., 2005
218	D. dentifera		AY730374	USA: Teller6 Pond	Taylor et al., 2005
219	D. umbra		DQ864520	Norway: Bjornesfjord	Restoring Daphnia., 2007

Продолжение Таблицы А.2 ...

220	D. umbra	EF375850	Norway: Lake Sarsvatn	A taxonomic reappraisal, 2008
221	D. umbra	EF375849	Finland: pond Mallalampi A	A taxonomic reappraisal, 2008
222	D. umbra	U34640	Canada: Pond near Richards Bay N.W.T.	Taylor et al., 1996
223	D. umbra	U34639	Canada: Igloolik Lake N.W.T.	Taylor et al., 1996
224	D. umbra	FJ427422	Canada: pond near Richards Bay, Northwest Territories	The scale of divergence, 2009
225	D. umbra	FJ943796	Norway: alpine pond	Giessler, Englbrecht, 2009
226	D. umbra	FJ943797	Norway: Nordmanslaagen	Giessler, Englbrecht, 2009
227	D. umbra	AF277276	Norway	Schwenk et al., 2000
228	D. lacustris	DQ864521	Norway: Lake Gavalivatn	Restoring Daphnia., 2007
229	D. lacustris	DQ864522	Norway: Lake Litl Jonsvatn	Restoring Daphnia., 2007; Daphnia in the Tatra, 2007
230	D. lacustris	DQ337940	Poland: Lake Nizny Toporowy Staw, Tatra Mountains	Restoring Daphnia., 2007; Daphnia in the Tatra, 2007
231	D. lacustris	DQ337950	Finland: Hillalampi	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
232	D. lacustris	DQ337953	Finland: Muotkantaka	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
233	D. lacustris	DQ337954	Finland: Salmivaaralampi	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
234	D. lacustris	DQ337955	Finland: Sierkisvaara	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
235	D. lacustris	DQ337956	Finland: Siilasvuo	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
236	D. lacustris	DQ337957	Finland: Tielammikko	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
237	D. lacustris	DQ337958	Finland: Tsahkallampi	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
238	D. lacustris	DQ337959	Finland: Tsahkallampi	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
239	D. lacustris	DQ337960	Finland: Tsahkallampi	Ecological, morphological, 2004; Restoring Daphnia., 2007
240	D. cristata	EF375857	Finland: Lake Maseh	A taxonomic reappraisal, 2008
241	D. cristata	EF375858	Sweden: Lake Vassbotten	A taxonomic reappraisal, 2008
242	D. cristata	AF277281	Belarus	Schwenk et al., 2000

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Список регионов (географических популяций), выделенных на основе полного 12S блока нуклеотидных последовательностей для *D. longispina* s.s. и использованных в анализах AMOVA и *F*<sub>ST</sub>

##	Регион	Аббревиатура	Группы
1.	Монголия	MON	1
2.	Байкал	BAI	1
3.	оз. Додот	DOD	2
4.	Тоджинская котловина	TOD	2
5.	Горный Алтай	AM	2
6.	Равнинный Алтай	AP	3
7.	Барабинск	BAR	3
8.	Здвинск	ZDV	3
9.	Каргат	KAR	3
10.	Тюмень	TYU	4
11.	Ямал	YAM	4
12.	Урал	UR	4
13.	Европейская часть России	RE	5
14.	Дания + Финляндия	DF	5
15.	Норвегия	NOR	5
16.	Болгария	BUL	6
17.	Румыния	ROM	6
18.	Албания	ALB	6
19.	Словения	SLO	6
20.	Чехия	CZ	5
21.	Монтенегро	MNT	6
22.	Босния	BOS	6
23.	Германия + Австрия	GA	7
24.	Швейцария	SW	7
25.	Испания + Марокко	SM	8
26.	Эфиопия + Израиль	EI	8

Таблица Б.2 – Список регионов (географических популяций), выделенных на основе полного 12S блока нуклеотидных последовательностей для *D. dentifera*и использованных в анализах AMOVA и *F*<sub>ST</sub>

##	Регион	Аббревиатура	Группы
1.	Якутия	YAK	1
2.	Байкал: Среднее Кедровое	BSK	1
3.	Байкал: Саган-Морян	BSM	1
4.	Монголия	MON	2
5.	Китай + Непал	CHN	2
6.	Япония	JAP	2
7.	Канада	CAN	3
8.	США	USA	3

Таблица Б.3 – Список регионов (географических популяций), выделенных на основе полного 12S блока нуклеотидных последовательностей для *D. galeata*и использованных в анализах АМОVA и *F*<sub>ST</sub>

##	Регион	Аббревиатура	Группы
1.	США + Канада	NA	1
2.	Япония	JAP	1
3.	Китай	СН	1
4.	Дальний Восток (Россия)	FE	2
5.	Байкал + Забайкалье	ВТ	2
6.	Европейская часть России	ER	2
7.	Сибирь	SIB	3
8.	Западная Европа	WE	3

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

Рисунок В.1а – Daphnia longispina из безымянного пруда ( $\mathbb{N}$  2), регион Фредериксдал в окрестностях Копенгагена, Дания, ААК 2008-052. А – партеногенетическая самка; В – эфиппиальная самка; С – голова самки; D – взрослый самец; Е – голова самца; F– лябрум, самец; G – вооружение верхнего края верхней части вентрального края створок; H – вооружение средней части вентральногокрая; I – вооружение нижней части вентрального края створок; L – постабдомен самки, М – его коготок. Масштаб: 1 мм для A, B, D, L; 0.1 мм для C, E-K, M



Рисунок В.16 – *Daphnia longispina*, самец из безымянного пруда (№ 2), регион Фредериксдал в окрестностях Копенгагена, Дания, ААК 2008-052. А – постабдомен самца; В – его коготок; С – антенна I самца; D – нога I самца; Е – ее дистальная часть. F –жесткая щетинка ноги II самца; G – нога V самца. Масштаб: 0.1 мм



Рисунок В.2а – *Daphnia* cf. *hyalina* из оз. Шармютцельзее, Бранденбург, Германия, ААКМ-0468. А – партеногенетическаясамка (A-G); В – рострум; С – вооружение дорсального края створки; D – постабдомен; Е – абдоминальные выросты; F – постанальные зубчики; G – коготок постабдомена; Н – взрослый самец (H-M); I – его голова; J –вооружение вентрального края створки; К – вооружение нижней части вентрального края створки; L – вооружение нижнего края створки; М – антенна I самца. Масштаб: 1 мм для A, D, H; 0.1 мм для B, C, E-G, I-M



Рисунок В.26 – *Daphnia* cf. *hyalina*, самец из оз. Шармютцельзее, Бранденбург, Германия, ААКМ-0468. А – постабдомен; В – абдоминальные выросты; С – постанальные зубчики; D – дистальная часть постабдомена; Е – коготок постабдомена; F – ногаI самца; G – ее дистальная часть; Н – жесткая щетинка ноги II самца; I – нога V самца. Масштаб: 0.1 мм



244

артеногенетическая самка (А, Е-П), В – эфинпиальная самка (В-D), С – сс рострум, D – дорсальный участок эфиппиальной пластинки; Е – дорсальный край партеногенетической самки; F – постабдомен; G – абдоминальные выросты; Н – коготок постабдомена; I – взрослый самец (I-Q); J – его голова; К – вентральный край створки; L – нижняя часть вентрального края створки; М – постабдомен; N – абдоминальные выросты; О – постанальные зубчики; Р – коготок постабдомена; Q – антенна I. Масштаб: 1 мм для A, B, F, I; 0.1 мм для C-E, G, H, J-Q



Рисунок В.36 – *Daphnia dentifera*, взрослый самец из оз. Силвер, Индиана, США, ААКМ-1129.А – нога I; В – ее дорсальнаячасть; С – жесткая щетинка ноги II; D – нога V. Масштаб 0.1 мм



Рисунок В.4а – *Daphnia umbra* из пруда 4-7 (местонахождение неотипа), о-в Мелвилл, Канада, DJT 10-201. А – партеногенетическаясамка; В, С – голова; D – рострум; Е, F – вооружение вентрального и нижнего края створки; G – постабдомен; Н – абдоминальные выросты; I, J – коготок постабдомена (рисунки А.А. Котова). Масштаб: 1 мм дляА; 0.1 мм для В-J



Рисунок В.46. – *Daphnia umbra* из небольшого безымянного пруда вблизи Центра альпийских исследований Финсе, Норвегия, DJT 3-472.А – эфиппиальная самка; В – голова; С – дорсальный участок эфиппиальной пластинки; D – вооружение нижней части вентрального края створки; Е – постабдомен; F – коготок постабдомена (рисунки А.А. Котова). Масштаб: 1 мм для А; 0.1 мм для B–F



Рисунок В.4в – *Daphnia umbra*, придатки головы и торакальных конечностей партеногенетической самки из небольшого безымянного пруда вблизи Центра альпийских исследований Финсе, Норвегия, DJT 3-472. А – антенна II; В – дистальная часть ее дистального сегмента; С – нога I; D – ее дистальная часть; Е – нога II; F – внутренняя дистальная доля ноги III; G – средняя доля гнатобазы III; Н – нога IV; I – нога V (рисунки А.А. Котова). Масштаб: 1 мм для А; 0.1 мм для В-I



Рисунок В.4г – *Daphnia umbra*, взрослый самец из пруда 4-7 (местонахождение неотипа), о-в Мелвилл, Канада, DJT 10-201.А – общий вид; В – вооружение края створки; С – постабдомен; D – дистальная часть постабдомена; Е – антенна I; F – дистальная часть ноги I; G – внутренняя дистальная часть ноги II (рисунки А.А. Котова). Масштаб: 1 мм для А; 0.1 мм для В-G. IDL – внутренняя дистальная часть ноги I; ODL – внешняя дистальная часть ноги I



Рисунок В.4д. – *Daphnia umbra*, взрослый самец из небольшого безымянного пруда вблизи Центра альпийских исследований Финсе, Норвегия, DJT 3-472. А – общий вид; В – голова; С – вооружение створки; D, Е – щетинки в средней части створки; F– вооружение нижней части вентрального края створки; G – вооружение нижнего края створки; H –постабдомен; I – абдоминальные выросты; J – постанальные зубчики постабдомена; К – внешняя сторона коготка постабдомена; L – его внутренняя сторона. Масштаб: 1 мм дляА; 0.1 мм для B-L



Рисунок В.4е – *Daphnia umbra*, взрослый самец из небольшого безымянного пруда вблизи Центра альпийских исследований Финсе, Норвегия, DJT 3-472. А – антенна I; В – нога I; С – ее внутренняя дистальная часть; D – жесткая щетинка ноги II; Е – нога V. Масштаб: 0.1 мм



Рисунок В.5а – *Daphnia* (*D.*) *turbinata* из оз. Жаахан-Нуур, Монголия. А-В – партеногенетическая самка; С-D – эфиппиальная самка; Е – голова; F – рострум; G – нижняя часть вентрального края створки; Н – нижний край створки; I – нижний вентральный и дорсальный край в основании хвостовой иглы; J – постабдомен; К – вооружение анального края; L – коготок постабдомена; М – антенна II; N – апикальная щетинка антенны II. Масштаб: 1 мм для А-Е, J; 0.1 мм для F-I, L-N; 0.01 мм для К


Рисунок В.56 – *Daphnia* (*D.*) *turbinata*, торакальные конечности партеногенетической самки из оз. Жаахан-Нуур, Монголия. А – нога I; В – нога II; С – нога III; D-Е – внутренняя дистальная часть ноги III; F – нога IV; G – внутренняя дистальная часть ноги IV; H – нога V. Масштаб: 0.1мм



Рисунок В.5в – *Daphnia* (*D*.) *turbinata*, взрослый самец из оз. Жаахан-Нуур, Монголия. А – общий вид; В – голова; С – лябрум; D-Е – передняя часть вентрального края створки; F-G – вентральный край, нижняя часть; Н – внутренняя сторона самой нижней части вентрального края створки; I – постабдомен; J – дистальная часть постабдомена с коготком; К – антенна I; L – антенна II. Масштаб: 1 мм для А-В, J; 0.1 мм для С-L



Рисунок В.5г – *Daphnia* (*D*.) *turbinata*, торакальные конечности взрослого самца из оз. Жаахан-Нуур, Монголия. А – нога I; В – внутренняядистальная доля ноги I; С – нога II; D – жесткая щетинка на внутренней дистальной части ноги II; Е – нога III. F – внутренняя дистальная часть ноги III. G – нога IV. Н – внутренняя дистальная часть ноги IV. I – нога V. Масштаб: 0.1 мм



Рисунок Г.1 – ВІ-филогенетическое дерево для видов группы *D. longispina* s.l. на основе полного 12S блока данных. В узлах ветвления показаны значения апостериорной вероятности и бутстрэп поддержкиветвей выше 72%



Примечание: фигуры соответствуют разным видам: закрашенные круги – *D. longispina* s.str., открытые круги – *D. dentifera*, треугольники – *D. cucullata*, перевернутые треугольники – *D. turbinata*, закрашенные квадраты – *D. galeata*, открытые квадраты – *D. cf. longispina*, ромбы – *D. umbra*, звездочки – *D. cristata*. Географические регионы: темно-синий – Камчатка, ярко-зеленый – бассейн оз. Байкал, темно-зеленый – Якутия, бордовый – Монголия, бирюзовый – Горный Алтай, желтый – равнинный Алтай, ярко-красный – бассейн р. Енисей, розовый – Обь-Иртышский бассейн, серый – Урал, белый – европейская часть России

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Таблица Г.1 – Нуклеотидный состав, положение и длина тандемных повторов в
последовательностях ITS2 для форм/видов группы D. longisping s.l.

Вид (образец)	Позиция	Число повторов	Мотив
D. longispina s.str.	78	3	GAGAGA
(PL15)	114	3	CGCGCG
	177	3	UUUUUU
	298	3	GCGCGC
	307	3	UCUCUC
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	7	GAGAGAGAGAGAGA
	449	3	GAGAGA
	529	3	GUGUGU
<i>D. longispina</i> s.str. (PL16)	611	3	UAUAUA
	78	3	GAGAGA
	114	3	CGCGCG
	177	3	UUUUUU
	296	3	GCGCGC
	305	3	UCUCUC
	326	5	CUCUCUCUCU
	342	3	GUGUGU
	394	4	AGAGAGAG
	419	6	GAGAGAGAGAGA
D. longispina s.str.	445	3	GAGAGA
(PL17)	525	3	GUGUGU
	601	3	AUAUAU
	78	3	GAGAGA
	114	3	CGCGCG
	177	3	UUUUUU
	298	3	GCGCGC
	307	3	UCUCUC
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	6	GAGAGAGAGAGA
	438	3	CGCGCG
	449	3	GAGAGA
	529	3	GUGUGU
	605	3	AUAUAU

Продолжение Таблицы Г.1 ...

D. longispina s.str.	78	3	GAGAGA
(SpL7)	114	3	CGCGCG
	177	3	UUUUUU
	298	3	GCGCGC
	307	3	UCUCUC
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	6	GAGAGAGAGAGA
	447	3	GAGAGA
	601	3	AUAUAU
	001	C	
D. longispina s.str.	78	3	GAGAGA
(SpL8)	114	3	CGCGCG
	177	3	UUUUUU
	296	3	GCGCGC
	326	5	CUCUCUCUCU
	342	3	GUGUGU
	394	3 4	AGAGAGAG
	410	7	GAGAGAGAGAGAGA
	417	2	GAGAGA
	447	3	CUCUCU
	479	3	
	527	3	
	603	3	AUAUAU
D. longispina s.str.	79	2	CACACA
(SpL9)	/8	3	GAGAGA
	114	3	CGCGCG
	177	3	000000
	298	3	GCGCGC
	307	3	UCUCUC
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	7	GAGAGAGAGAGAGA
	449	3	GAGAGA
	529	3	GUGUGU
	605	3	AUAUAU
D. longispina s.str.			
(DdL13, DdL14,	78	3	GAGAGA
DdL15, TlL9, KgL,	114	3	CGCGCG
ZdL1, ZdL2, ZdL4,	177	3	UUUUUU
ZdL5, ZdL6, ZdL7,	298	3	GCGCGC
Brb1-L9)	307	3	UCUCUC
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	6	GAGAGAGAGAGA
	447	3	GAGAGA
	527	3	GUGUGU
	603	3	AUAUAU

Продолжение Таблицы Г.1 ...

D. longispina s.str.	78	3	GAGAGA
(ZdL8)	114	3	CGCGCG
	177	3	UUUUUU
	298	3	GCGCGC
	307	3	UCUCUC
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	371	3	CUGCUGCUG
	396	4	AGAGAGAG
	421	6	GAGAGAGAGAGA
	447	3	GAGAGA
	527	3	GUGUGU
	603	3	AUAUAU
D longisping s str	005	5	
(TIL 10)	78	3	GAGAGA
(11210)	114	3	CCCCCC
	177	3	
	208	3	
	298	3	GCGCGC
	307	3	
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	6	GAGAGAGAGAGA
	447	3	GAGAGA
	528	3	GUGUGU
	604	3	AUAUAU
D. longispina s.str.			
(TIL11)	78	3	GAGAGA
	114	3	CGCGCG
	171	3	AAAAAA
	178	3	UUUUUU
	292	3	GCGCGC
	301	3	UCUCUC
	322	5	CUCUCUCUCU
	338	3	GUGUGU
	390	4	AGAGAGAG
	415	9	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGA
	447	3	GAGAGA
	527	3	GUGUGU
	603	3	
D longisping s str	005	5	nonono
(Brb2 I 2)	78	3	GAGAGA
(BI02-L2)	114	3	CCCCCC
	114	3	
	1//	3	000000
	298	3	GCGCGC
	307	3	
	528	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	6	GAGAGAGAGAGA
	527	3	GUGUGU
	603	3	AUAUAU

Продолжение Таблицы Г.1 ...

D. longispina s.str.	78	3	GAGAGA
(Brb2-L4)	114	3	CGCGCG
	171	3	AAAAAA
	178	3	UUUUUU
	298	3	GCGCGC
	307	3	UCUCUC
	328	5	CUCUCUCUCU
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
	421	6	GAGAGAGAGAGA
	447	3	GAGAGA
	527	3	GUGUGU
D longisping s str	603	3	
(Brb2-L5)	005	5	nonono
	78	3	GAGAGA
	114	3	CGCGCG
	177	3	UUUUUU
	238	3	UGUGUG
	256	3	UGUGUG
	263	3	GUGUGU
	298	3	GCGCGC
	307	3	UCUCUC
	323	7	UCUCUCUCUCUCUC
	344	3	GUGUGU
	396	4	AGAGAGAG
D. cf. hyalina	421	6	GAGAGAGAGAGA
(GIH1, GIH2, GIH3,	447	3	GAGAGA
GIH7)	527	3	GUGUGU
	603	3	AUAUAU
	78	3	GAGAGA
	114	3	CGCGCG
	171	3	AAAAAA
	178	3	UUUUUU
	235	3	GUGUGU
	303	3	GCGCGC
	312	3	UCUCUC
	333	5	CUCUCUCUCU
	349	3	GUGUGU
	401	4	AGAGAGAG
	426	5	GAGAGAGAGA
	441	3	CGCGCG
	452	3	GAGAGA
	534	3	GUGUGU
	610	3	AUAUAU
	-		

Продолжение Таблицы Г.1 ...

D. cf. hyalina	78	3	GAGAGA
(GlH6)	114	3	CGCGCG
	171	3	AAAAAA
	178	3	UUUUUU
	235	3	GUGUGU
	303	3	GCGCGC
	312	3	UCUCUC
	333	5	CUCUCUCUCU
	349	3	GUGUGU
	401	4	AGAGAGAG
	426	5	GAGAGAGAGA
	441	3	CGCGCG
	452	3	GAGAGA
D umbra	536	3	GUGUGU
(BrU15 BrU20	612	3	AUAUAU
BrU21 $BrU22$	012	5	
BrU23)	25	4	
<b>D</b> (023)	80	3	GAGAGA
	116	3	CGCGCG
	173	3	
	180	3	
	228	3	GUGUGU
	230	5	CCCCCCCCCC
	222	5	
	249	3	
	348	5	
	400	4	
D	423	4	GAGAGAGA
D. umbra A 1750405	442	3	CGCGCG
	451	3	GAGAGA
	603	3	
	607	0	AUAUAUAUAUAU
	25	4	UUUUUUUU
	71	3	AAAAAA
	84	3	GAGAGA
	120	3	CGCGCG
	177	3	AAAAAA
	184	3	UUUUUU
	242	3	GUGUGU
	305	5	CGCGCGCGCG
	336	5	CUCUCUCUCU
	352	3	GUGUGU
	406	4	AGAGAGAG
	431	4	GAGAGAGA
	448	3	CGCGCG
	457	3	GAGAGA
	609	3	AUAUAU
	663	6	AUAUAUAUAUAU

Продолжение Таблицы Г.1 ...

D. cf. longispina	76	5	AGAGAGAGAG
(Brb1-Dsp2, Brb1-	116	3	CGCGCG
Dsp12)	247	3	UGUGUG
	280	3	UUUUUU
	308	3	GUGUGU
	350	3	GUGUGU
	400, 401	5	AGAGAGAGAG
	425, 526	6	GAGAGAGAGAGA
	647, 428	3	AAAAAA
D. cf. longispina	76	5	AGAGAGAGAG
(Brb1-Dsp10)	116	3	CGCGCG
	235	4	GUGUGUGU
	247	3	UGUGUG
	280	3	UUUUUU
	307	3	GUGUGU
	349	3	GUGUGU
	400	5	AGAGAGAGAG
	425	6	GAGAGAGAGAGA
D. cf. longispina	646	3	AAAAAA
(Brb1-Dsp16)			
	76	5	AGAGAGAGAG
	116	3	CGCGCG
	235	4	GUGUGUGU
	247	3	UGUGUG
	280	3	UUUUUU
	307	3	GUGUGU
	400	5	AGAGAGAGAG
	425	6	GAGAGAGAGAGA
	646	3	AAAAAA

Рисунок Д.1 – Филогения криптических видов группы D. longispina s.l., реконструированная без учета вторичной структуры фрагментаITS2 яДНК: А – Байесовский метод, ВІ; Б – метод максимального правдоподобия, ML. В узлах ветвления указаны значения апостериорной вероятности (BI, %) и бутстрэп поддержки (ML, %). Масштаб – число ожидаемых замен на сайт

264



Б