

На правах рукописи

ЗАЙДЫКОВ
Игорь Юрьевич

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОПУЛЯЦИОННО-ВИДОВОЙ СТРУКТУРЫ
АЗИАТСКИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *EPISCHURA* FORBES, 1882
(CALANOIDA, COPEPODA)**

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Иркутск – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук, доцент **Суханова Любовь Васильевна**

Научный консультант:

кандидат биологических наук **Наумова Елена Юрьевна**

Официальные оппоненты:

Политов Дмитрий Владиславович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, главный научный сотрудник, зав. лабораторией популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова

Туранов Сергей Викторович, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, старший научный сотрудник лаб. молекулярной систематики

Ведущая организация:

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

Защита диссертации состоится «24» июня 2022 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета 24.1.191.01 (Д 005.008.01) при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук по адресу: 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17.

Факс: (423)2310-900, e-mail: nscmb@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук: <http://www.wimb.dvo.ru/misc/dissertations/index.php/sovet-d-005-008-01/58-zajdykov-igor-yurevich>

Отзывы просим присылать на e-mail: mvaschenko@mail.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Ващенко

М.А. Ващенко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы Планктонные формы ракообразных, составляющие основную массу зоопланктона, играют важную роль в морских и пресноводных экосистемах [Монаков, 1976]. Известно, что веслоногие ракообразные (подкласс Copepoda) имеют морское происхождение. Представители морской фауны преобладают почти во всех 10 отрядах этого подкласса [Монченко, 2001].

Отряд Calanoida, относящийся к подклассу Copepoda, состоит из свободноживущих морских и пресноводных видов. Семейство Temoridae, относится к отряду Calanoida, его представители обитают в северном полушарии, входят в зоопланктонные сообщества прибрежных морских вод (род *Temora*), эстуарных и солоноватых вод (*Eurytemora*) и пресных вод (*Epischura* и *Heterocope*) [Boxshall, Halsey, 2004], где могут занимать важное место в водном сообществе. Представители рода *Epischura* Forbes, 1882 обитают на территории Азии и Северной Америки, являются хорошей моделью для изучения экологических и генетических различий видов, механизмов расселения и приспособления видов, филогенетических построений, поскольку обитают в различных по размеру, трофности и температурному режиму пресноводных водоемах северного полушария. Встречаются они от небольших мелководных озер и прудов, это – *Epischura massachusettsensis* и *Epischura nordenskioldi*, и до глубочайшего озера Байкал, где обитает *E. baikalensis*.

Разорванность ареалов представителей рода может свидетельствовать о ранее более широком его распространении в пресных водах северного полушария. Актуальным остается вопрос о путях расселения и причинах, приведших к подобной разорванности. Центром видообразования рода предлагается считать Северную Америку [Смирнов, 1936], так как там обитает основная масса видов. В данной работе акцент делается на азиатских представителях рода *Epischura*, а именно *E. baikalensis* и *E. chankensis*, чью общность отмечал еще С.С. Смирнов [1936], предлагая относить обитающие в Азии виды к подроду *Epischurella*, в противоположность американским видам, которые предлагалось относить к подроду *Epischura*. Некоторые современные исследователи обсуждали даже возможность выделения азиатских видов в отдельный род *Epischurella* [Bowman et al., 2019].

Epischura baikalensis Sars, 1900 – эндемик Байкала, обитающий в пелагиали озера в течение всего года. Данный рачок, один из главных объектов в питании рыб и хищных беспозвоночных пелагического комплекса, является важнейшим звеном в биотическом круговороте вещества и энергии в Байкале. По некоторым расчетам, в процессе своей жизнедеятельности эпишура использует за год около 30% первичной продукции озера [Вотинцев, Афанасьева, 1968; Афанасьева, 1977].

Epischura chankensis Rylov, 1928 занимает важное место в озере Ханка, где составляет основу зимнего зоопланктона, иногда достигая 100% в его составе. Доля этого вида в количественном соотношении среди планктонных животных в период открытой воды составляет в среднем 31–37%, а от биомассы зоопланктона – 45–60% [Барабанщиков, 2001]. Распространен вид также в бассейне реки Амур и пойменных озерах Амура, встречается в пресных водоемах Китая [Боруцкий и др., 1991].

Популяционная структура вида, процессы скрытого видообразования активно исследуются многими учеными в мире. Благодаря широкому применению молекулярных методов в последние десятилетия в этом вопросе произошла серьезная активизация исследований организмов многих таксономических групп. Сравнительный анализ облика видов и поиск генетических и морфологических маркеров, которые могли бы уточнить систематическое положение видов и степень их родства между собой, являются актуальными не только для экологических, но и для таксономических и эволюционных задач. Актуальным остается и поиск методов интегративной оценки воздействия на окружающую среду, в частности на озеро Байкал, что особенно актуально в свете вопроса о глобальных климатических изменениях. *E. baikalensis* и *E. chankensis* являются ключевыми представителями планктонных сообществ. Понимание особенностей их жизнедеятельности, популяционной структуры, эволюционной истории будет полезным для дальнейшего моделирования воздействий на экосистемы уникальных озер.

Степень разработанности темы. В настоящее время таксономическая структура и филогенетические отношения веслоногих ракообразных – вопрос дискуссионный [Dussart, Defaye, 2001].

Филогенетические отношения представителей рода *Epischura*, история происхождения были описаны ранее только на основании морфологических признаков [Смирнов, 1936; Боруцкий и др., 1991; Huys, Voxshall 1991; Dussart, Defaye, 2001]. В недавнее время вопрос систематики и филогении группы начал подниматься вновь, с применением молекулярно–генетического и междисциплинарного подходов [Bowman et al., 2019]. Дискуссионным остается вопрос о наличии популяционной подразделенности *E. baikalensis* внутри озера Байкал [Афанасьева, 1977; Боруцкий и др., 1991, Bowman et al., 2018]. Популяционная структура *E. chankensis* в озере Ханка ранее не рассматривалась. Реконструкций популяционной истории обозначенных видов ранее не проводилось.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы – исследование популяционно-видовой структуры и эволюционной истории азиатских представителей рода *Epischura*: *E. baikalensis* и *E. chankensis* с помощью молекулярно-генетических и морфологических методов.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Подобрать генетические и морфологические маркеры для анализа внутри- и межвидового полиморфизма.
2. Провести анализ внутривидового и межвидового полиморфизма с использованием морфологических и независимо наследуемых генетических маркеров.
3. Сопоставить результаты молекулярно-генетического и морфологического анализов с эколого-биологическими особенностями исследуемых видов.
4. Провести филогенетические реконструкции и оценить время дивергенции исследуемых видов с применением молекулярных часов.

Научная новизна. Впервые для трех видов рода *Epischura* (*E. baikalensis*, *E. chankensis* и *E. nordenskioldi*) определены нуклеотидные последовательности митохондриальной ДНК (мтДНК) – фрагмента гена первой субъединицы цитохромоксидазы (COI), ядерной ДНК (ядДНК) – гена 18S рибосомной РНК (рРНК) и фрагмента первого межгенного спейсера рРНК, называемого также первым внутренним транскрибируемым спейсером (ITS1) рибосомной ДНК (рДНК). Все уникальные последовательности помещены в GenBank. С использованием полученных последовательностей проведены популяционно-генетические и филогенетические исследования. На основе анализа полиморфизма гаплотипов фрагмента COI определены приблизительные датировки основных филогенетических и демографических событий для *E. baikalensis* и *E. chankensis*. Впервые проведен анализ расположения микроструктур интегумента *E. baikalensis* с применением световой микроскопии, показавший высокий полиморфизм по данному признаку. Изучено строение ротовых конечностей с применением световой и электронной микроскопии, которое показало высокую приспособленность видов к жизни в местах их обитания. Впервые для *E. baikalensis* и *E. chankensis* с помощью приставки рентгеновского микроанализа EDAX к сканирующему электронному микроскопу Quanta 200 определено относительное содержание кремния в коронках вентральных зубов мандибул.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные являются вкладом в развитие комплексных подходов к изучению ключевых видов уникальных водоемов. Уникальные последовательности (всего 101) трех видов *Epischura* внесены в GenBank и систему баркодирования организмов, что особенно актуально для фрагмента COI, который является одним из признанных молекулярных маркеров для баркодирования организмов. Сконструированы новые видоспецифичные праймеры на фрагмент COI: LCOI *Epischura* (L-TTGGAACTCTTTATTTACTTGCTG) и HCOI *Epischura* (R-CAAAATAAATGTTGGTATAAAATAG) для *E. baikalensis*, а также LCOI_ECh (L-

GGGACAGGGTTAAGGATAAT) и HCOI_ECh (R-TCCAGGGTGACCAAAAAAATC) для *E. chankensis*. Для фрагмента гена 18S сконструированы универсальные для Calanoida праймеры 18L_323 (L-GTTCGATTCCGGAGAGGGAGC и 18R_1426 (R-GTGTGCGGCCCAAGAATCT). Исследование внесло вклад в понимание процессов формирования видов и приспособления к меняющимся условиям обитания. Результаты данной работы могут быть использованы для моделирования последствий антропогенного влияния на водные экосистемы. Полнота информации о структуре и функциях компонентов биоценоза на всех уровнях его организации (в том числе, сведения о генетической структуре видов) имеет практическое значение для мониторинга экосистемы, прогнозирования путей ее развития, разработки подходов по снижению антропогенного воздействия и разумного использования ее ресурсов.

Теоретические положения и результаты проведенных исследований использованы при подготовке научно-исследовательских отчетов по темам ЛИН СО РАН «Молекулярная экология и эволюция живых систем Центральной Азии на примере рыб, губок и ассоциированной с ними микрофлоры» (0345–2014–0002, № гос. регистрации 01201353444) и «Молекулярная экология и эволюция живых систем Центральной Азии в условиях глобальных экологических изменений» (0345–2016–0002, № гос. регистрации АААА-А16-116122110066-1), «Исследования трансформаций состояния водоемов и водотоков Восточной Сибири в сезонных и долговременных аспектах в контексте изменений климата, геологической среды и антропогенных нагрузок» (0279-2021-0005, № гос. регистрации 121032300224-8).

Методология и методы диссертационного исследования. Для исследования внутривидового и межвидового генетического полиморфизма в данной работе были использованы независимо наследуемые генетические маркеры: определены нуклеотидные последовательности мтДНК (фрагмент COI) и ядДНК (ген 18S рРНК и межгенный спейсер рРНК – ITS1). Морфологический анализ проводили с использованием методов световой и сканирующей электронной микроскопии, а также методики просветления и окрашивания интегумента ракообразных. Анализ полиморфизма последовательностей участков ДНК и расположения структур интегумента проводили с использованием современных компьютерных программ. Для проанализированных данных были построены филогенетические деревья, диаграммы, таблицы и графики.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Реконструкция филогенетических событий для двух родственных видов веслоногих ракообразных, *E. baikalensis* и *E. chankensis*, являющихся ключевыми видами зоопланктона в

местах своего обитания, свидетельствует о продолжительном, не менее 8 млн. лет, существовании представителей рода *Epischura* на территории Азии.

2. *E. baikalensis* представлена в озере единой панмиксной популяцией. В ныне единой популяции *E. chankensis* обнаружены следы некогда существовавшей генетической подразделенности, вероятно, возникшей в периоды регрессии озера, вследствие образования в его долине изолированных водоемов. Оба вида претерпели в прошлом резкие изменения эффективного размера популяций, соотносимые с климатическими и геологическими изменениями в регионах обитания: появлением в Ханкайской котловине единого водоема и максимальным из зафиксированных на Байкале в среднем плейстоцене оледенений.

3. При исследовании биологии видов рода *Epischura* (Copepoda, Calanoida) целесообразно использовать несколько методов (морфологических, генетических) для выявления особенностей внутривидовой и межвидовой изменчивости.

Степень обоснованности и достоверности полученных данных. Достоверность результатов обеспечена использованием современных молекулярно-генетических методов, дополненных использованием морфологических методов. Применялись актуальные статистические методы обработки данных, в том числе такие, как Байесовский подход. Для подтверждения результатов исследования приведены табличные данные, рисунки, филогенетические деревья, графики и карты.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы представлены на международных и российских конференциях: Пятой Международной Верещагинской Байкальской конференции (Иркутск, 2010); II Международной научной конференции «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии» (Улан-Удэ, 2011); Международном рабочем совещании и научной конференции «Исследование биоразнообразия и криптического видообразования у организмов водных экосистем России и Украины с применением баркодинга» (Санкт-Петербург, 2011); V Всероссийском с международным участием медико-биологическом конгрессе «Симбиоз-Россия 2012» (Тверь, 2012); XI Съезде Гидробиологического общества при РАН (Красноярск, 2014); VI Международной Верещагинской Байкальской конференции (Иркутск, 2015); Международной конференции «Пресноводные экосистемы – современные вызовы» (Иркутск, 2018).

Публикации. Результаты исследования опубликованы в 14 научных работах, из них 7 статей, 5 из которых в журналах списка ВАК, и 7 – тезисы и материалы конференций.

Личный вклад автора. Диссертационная работа – результат исследований автора, выполненных в соответствии с планами исследовательских работ в группе эволюционной

генетики ЛИН СО РАН. Автор принимал непосредственное участие в экспедиционных работах, отборе и обработке проб, анализе полученных данных и написании научных статей.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, списка сокращений, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 110 страницах, содержит 6 таблиц, 22 рисунка и 8 приложений с таблицами. Список литературы включает 207 наименований, из которых 63 российских и 144 зарубежных издания.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность научному руководителю к.б.н., доценту Л.В. Сухановой и научному консультанту к.б.н. Е.Ю. Наумовой за грамотное руководство, помощь в организации и проведении исследований, зав. лабораторией ихтиологии к.б.н. Дзюба Е.В. и руководителю группы эволюционной генетики к.б.н. Кирильчику С.В. – за ценные замечания и консультации, зав. лабораторией «Ресурсов континентальных водоемов и рыб эстуарных систем» ТИНРО-Центра к.б.н. Барабанщикову Е.И. – за предоставленные образцы *E. chankensis*, доктору Ларри Боуману из Исследовательского института морских ресурсов (Marine Resources Research Institute) в Чарлстоне (Южная Каролина, США) – за предоставленные образцы *E. nordenskioldi*, а также ЦКП «Электронная микроскопия» ЛИН СО РАН, сотрудникам лаборатории ихтиологии, иных лабораторий и подразделений ЛИН СО РАН.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В главе приводится современная систематика рода *Epischura*, а также связанные с ней спорные вопросы. Описывается биология исследуемых видов, особенности питания и распределение в водоемах. Кратко приводятся геоморфологические, гидрологические и сезонные особенности мест обитания, их палеогеологические и палеоклиматические реконструкции. Представлен обзор молекулярно-генетических и морфологических методов, применяемых в исследовании веслоногих ракообразных.

Глава 2. Материалы и методы

Для молекулярно-генетического анализа использовали половозрелых самок *E. baikalensis* из проб, отобранных в 2010–2011 гг. на станциях в Южной, Центральной и Северной котловинах озера Байкал (Рис. 1). Сбор проводили тотальной сетью ДжОМ, в сентябре 2010 г. с глубин 400–0 м в Южной (м. Толстый) и 600–0 м в Центральной (м. Орсо) котловинах, а также тотальной сетью Джели с горизонта 50–0 м в марте 2010 г. в Южной котловине (пос. Листвянка), в июне 2010 г. – в Северной котловине (центр разреза м. Елохин

– бух. Давша), в феврале 2011 г. – в Южной котловине (центр разреза пос. Листвянка – пос. Танхой). Для анализа строения ротового аппарата использовали самок из проб, отобранных на центральных станциях разрезов м. Елохин – бух. Давша (Северный Байкал) и пос. Листвянка – пос. Танхой (Южный Байкал) в июне 2009 года с горизонта 50–0 м сетью Джели. При исследовании структур интегумента использовали особей, отобранных totally сетью Джели с горизонта 50–0 м в марте 2010 г. в Южной котловине (пос. Листвянка) и в июне 2010 г. в Северной котловине (м. Елохин – бух. Давша).

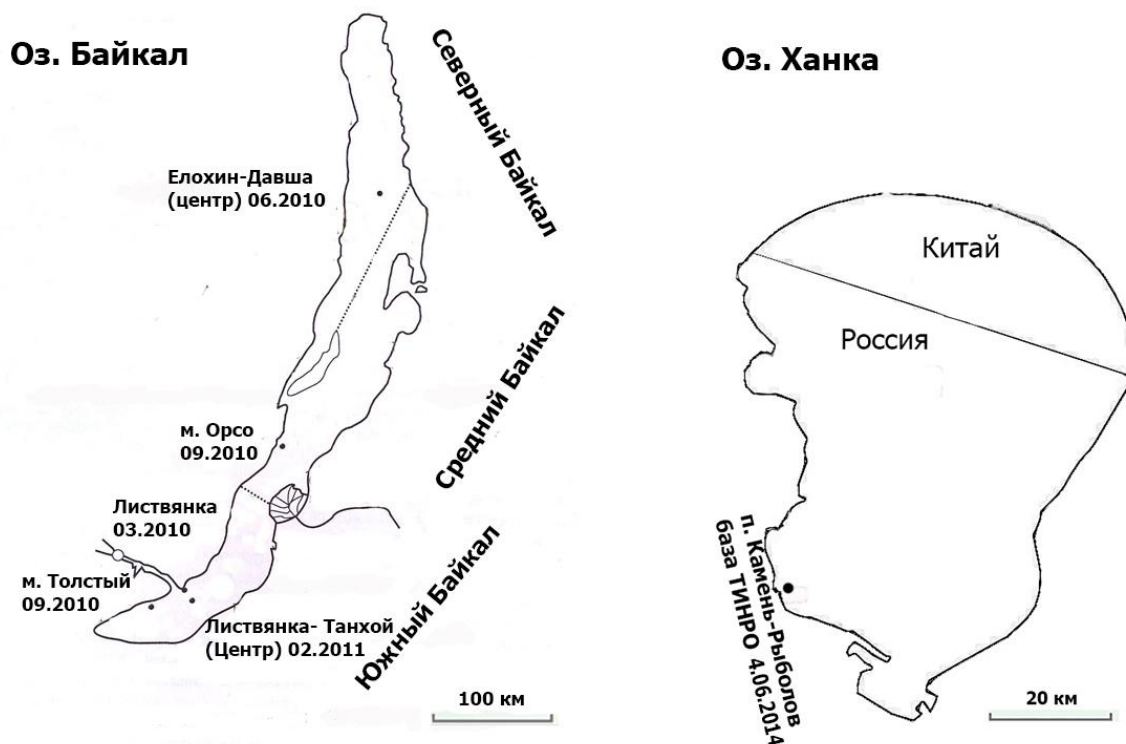


Рисунок 1. Места отбора проб *E. baikalensis* (Оз. Байкал) и *E. chankensis* (Оз. Ханка).

Для анализа *E. chankensis* использовали половозрелых самок из пробы зоопланктона, отобранной Е.И. Барабанщиковым (ТИНРО-Центр) в озере Ханка 4 июня 2014 г. напротив базы ТИНРО в пос. Камень-Рыболов. Особи *E. nordenskioldi* для молекулярно-генетического исследования взяты из пробы, предоставленной Ларри Боуманом из Йельского университета, отобранной 29 мая 2015 г. в пруде Сторрс, Ганновер (Storrs Pond, Hanover, New Hampshire, USA).

Пробы для молекулярно-генетических исследований фиксировали 96% этанолом. Пробы для морфологических исследований фиксировали 96% этанолом или 4% раствором формальдегида.

Молекулярно-генетические исследования. Суммарную ДНК выделяли из яичевых мешков или плавательных ног. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР)

использовали лизат, полученный воздействием протеиназы К в буфере для ПЦР при температуре 65°C в течение 2 ч.

Для амплификации фрагмента COI изначально использовали универсальные праймеры LCOI 1490 и HCOI 2158 [Folmer, 1994]. Данные праймеры подошли только образцам *E. nordenskioldi*, для других видов были подобраны специфичные праймеры. Для *E. baikalensis* подобраны праймеры LCOI Epischura (L-TTGGAACCTCTTTATTTACTTGCTG) и HCOI Epischura (R-CAAAATAAATGTTGGTATAAAAATAG), что позволило получать стабильный продукт амплификации (664 п.н.). Для *E. chankensis* подобраны праймеры LCOI_ECh (L-GGGACAGGGTTAAGGATAAT) и HCOI_ECh (R-TCCAGGGTGACCAAAAATC). Размер фрагмента ДНК у *E. chankensis* составил 671 п.н.

Для амплификации фрагмента ITS1 использовали универсальные праймеры KP2_F и 5.8S_R [Sajdak, Phillips, 1997]. Длина фрагмента составила у *E. baikalensis* 303 п.н., у *E. chankensis* 306 п.н. и у *E. nordenskioldi* 312 п.н.

Для амплификации гена 18S использовали универсальные праймеры 18A1 и 1800 [Raupach, 2009]. Но, так как качество центрального фрагмента гена оказалось неудовлетворительным, были подобраны внутренние универсальные (по крайней мере, для калянид) праймеры 18L_323 5'-GTTCGATCCGGAGAGGGAGC-3' и 18R_1426 5'-GTGTGCGGCCSAGAACATCT-3'. Полную нуклеотидную последовательность получали путем совмещения последовательностей, полученных с двух пар праймеров.

Очистку продукта ПЦР проводили с помощью гель-электрофореза. Целевой продукт вырезали из геля, замораживали при -20°C, оттаивали и центрифугировали. Полученный элюат использовали в реакции секвенирования.

Предварительный анализ нуклеотидных последовательностей, расчет уровней нуклеотидной изменчивости (π), индексов разнообразия гаплотипов (Hd), параметров θ_π и θ_s , значений F_{ST} , а также распределение попарных различий между выявленными гаплотипами мтДНК подсчитывали с помощью программы DnaSP 5.1 [Rozas et al., 2003]. Построение медианной сети гаплотипов проводили в программе NETWORK 4.6 [Bandelt et al., 1999], с применением алгоритма «median joining». Проверка насыщения третьих позиций кодона последовательностей COI выполнялась с помощью теста [Xia et al., 2003] в программе Dambе, v. 6.4. [Xia, Lemey, 2009]. Выбор оптимальной модели эволюции ДНК для филогении проводили с помощью байесовского информационного критерия (BIC) в программе Jmodeltest-2.1.7 [Darriba et al., 2012]. Для определения эволюционных механизмов формирования генетического разнообразия в популяциях использованы тесты Таджима [Tajima, 1989] и R2 [Ramos-Onsins, Rozas, 2002]. Реконструкция филогенетического дерева на основе уникальных гаплотипов COI проводилась с помощью Байесовского метода с

молекулярными часами в пакете программ BEAST, v.1.8. [Drummond, Rambaut, 2007]. Выбор в пользу какой-либо из эволюционных моделей проводили сравнением показателей правдоподобия в программе Tracer, v. 1.6. Для датирования филогенетического древа на основе уникальных гаплотипов COI использовали скорость накопления замен в 1,7% за 1 миллион лет, рассчитанную для эндемичной байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* [Букин и др., 2018]. Реконструкцию истории изменения эффективного размера популяции проводили методом Байесовского скайплота [Drummond et al., 2005], реализованным в программе BEAST, v. 1.8. При проведении расчетов использовали модель «строгих молекулярных часов» (strict molecular clock) и ту же самую модель эволюции ДНК, что и при филогенетическом анализе. Калибровку оценки возраста ближайшего общего предка TMRCA (time to the most recent common ancestor) популяций, при использовании метода Байесовского скайплота (Bayesian Skyline Plot), проводили на основе результатов филогенетического анализа.

Морфологические исследования. Анализа структур интегумента проводили только для *E. baikalensis*. Для этого фиксированные 4% раствором формальдегида препараты окрашивали анилиновым красителем по методике просветления и окраски, разработанной В.Р. Алексеевым [2005]. Подсчитывали количество пор и шипиков на поделенном на секторы цефалоне (Рис. 2). Подсчет проводили по торакальному и соединительному сегментам. Исследовано 27 экз. из Южного Байкала и 29 экз. из Северного Байкала.

Общую асимметрию (ОА) вычисляли как разницу между количеством структур слева и справа (L-R). Среднюю частоту асимметричного проявления на признак (Fa) вычисляли как $Fa=A/n$, где A – средняя арифметическая числа асимметричных признаков у каждой особи, n – число применяемых признаков [Захаров и др., 2000].

Структуры на центральной зоне не учитывали при анализе асимметрии, но учитывали при сравнении выборок по общему количеству структур. Анализ данных проводили с помощью языка программирования R. Нормальность распределения определяли тестом Шапиро–Уилка [Shapiro, Wilk, 1965], дисперсию для нормальных выборок определяли F-критерием Фишера, дальнейший анализ нормальных выборок проводили по T-критерию Стьюдента. Выборки, не подчиняющиеся нормальному закону распределения, анализировали U-критерием Уилкоксона–Манна–Уитни [Mann, Whitney, 1947]. Выбросы для распределений, не подчиняющихся нормальному закону, определяли с помощью фильтра Хампеля [Hampel, 1974], для подчиняющихся нормальному распределению – тестом Граббса [Grubbs, 1969].

Исследование структур ротового аппарата проводили при помощи электронного сканирующего микроскопа (СЭМ) QUANTA 200 (FEI Company). Препараты готовили по

методике Лафорша и Толриана [Laforsch, Tollrian, 2000] или же сушили на фильтре в сушильном шкафу при 40°C в течение суток. При приготовлении препаратов для светового микроскопа отпрепарированные мандибулы помещали в глицерин. Общую длину тела самок измеряли с помощью окуляр-микрометра под световым микроскопом. Измерения метрических параметров ротовых конечностей проводили по фотографиям, полученным на СЭМ, с использованием программы ImagePro 4.0.

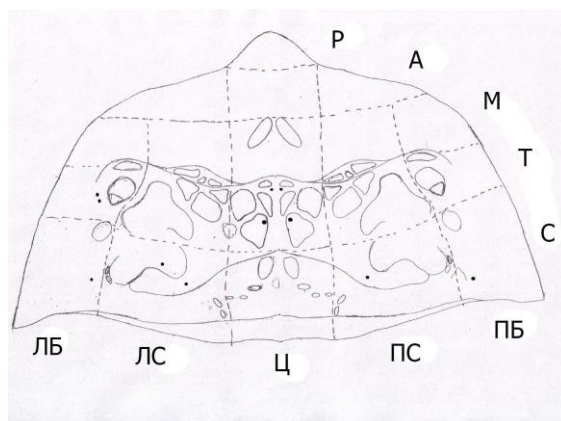


Рисунок 2. Схема цефалона *E. baikalensis*. Жирными точками обозначены поры. Буквами обозначены районы цефалона, по вертикали: Р – рострум, А – антенальный, М – мандибулярный, Т – торакальный, С – соединительный; по горизонтали: ЛБ – левый боковой, ЛС – левый средний, Ц – центральный, ПС – правый средний, ПБ – правый боковой.

Глава 3. Результаты

Анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента COI мтДНК

E. baikalensis. Получено 60 нуклеотидных последовательностей фрагмента COI (помещены в GenBank под номерами KC683830–KC683889). Общая длина выровненных последовательностей составила 566 п.н. Средняя величина дивергенции последовательностей – 1% замен нуклеотидов на сайт и близка к среднему значению дивергенции (0,9%) для выборок их каждой котловины Байкала. 54 из 60 гаплотипов уникальны, три гаплотипа обнаружены дважды. Гаплотипическое разнообразие – 0,998.

Анализ попарных различий (Рис.3) (mismatch distribution), выявил пик в области 5 попарных различий. На графике наблюдается унимодальное распределение, близкое к ожиданиям для растущей популяции.

Значение тестов Таджима [Tajima, 1989] и R2 [Ramos-Onsins, Rozas, 2002] показали достоверное отклонение от нейтрального характера эволюции в пользу гипотезы популяционной экспансии (см. таблицу).

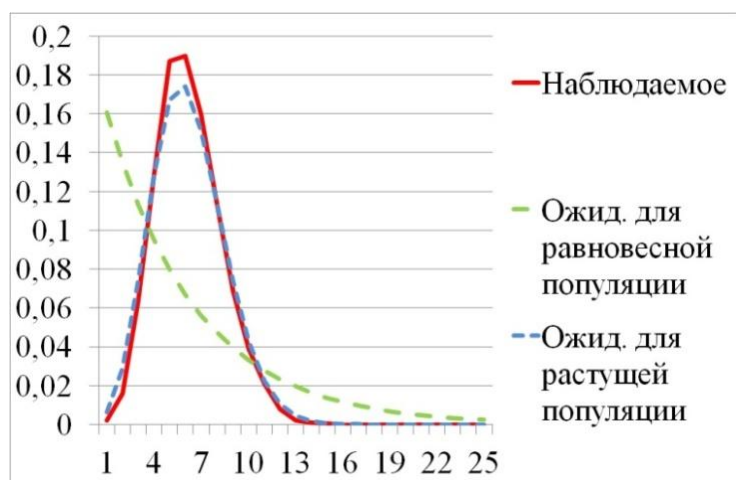


Рисунок 3. График распределения частот значений попарных различий (mismatch distribution) гаплотипов мтДНК *E. baikalensis*.

Таблица. Результаты популяционно-генетического анализа по фрагменту COI

Группа гаплотипов	Количество гаплотипов	ТМРСА, строгие часы	Тест Таджима	Тест R2
<i>E. baikalensis</i>	56	0,36 (0,19 – 0,95)	D= –2,07 P=0,016	R=0,034 P=0,00
<i>E. chankensis</i> Группа 1	30	0,63 (0,40 – 1,00)	D= –2,31 P=0,00	R=0,028 P=0,00
<i>E. chankensis</i> Группа 2	13	0,42 (0,24 – 0,80)	D= –1,42 P=0,15	–

Для проверки наличия/отсутствия популяционной подразделенности *E.baikalensis* в озере Байкал построены медианные сети гаплотипов. На первой медианной сети сравнили гаплотипы особей из разных генераций (летней и зимне-весенней) (Рис. 4А). На другой медианной сети (Рис. 4Б) сравнили особей из разных районов озера. На сетях гаплотипов не наблюдали никакой популяционной подразделенности по котловинам или генерациям.

В программе DnaSP 5.1 рассчитаны значения меры генетической дифференциации F_{st} . Значения рассчитывали между популяциями попарно, а также междулетней и зимне-весенней генерациями. Во всех случаях показатели F_{st} были значительно ниже 0,05, что говорит в пользу отсутствия или крайне низкого уровня подразделенности.

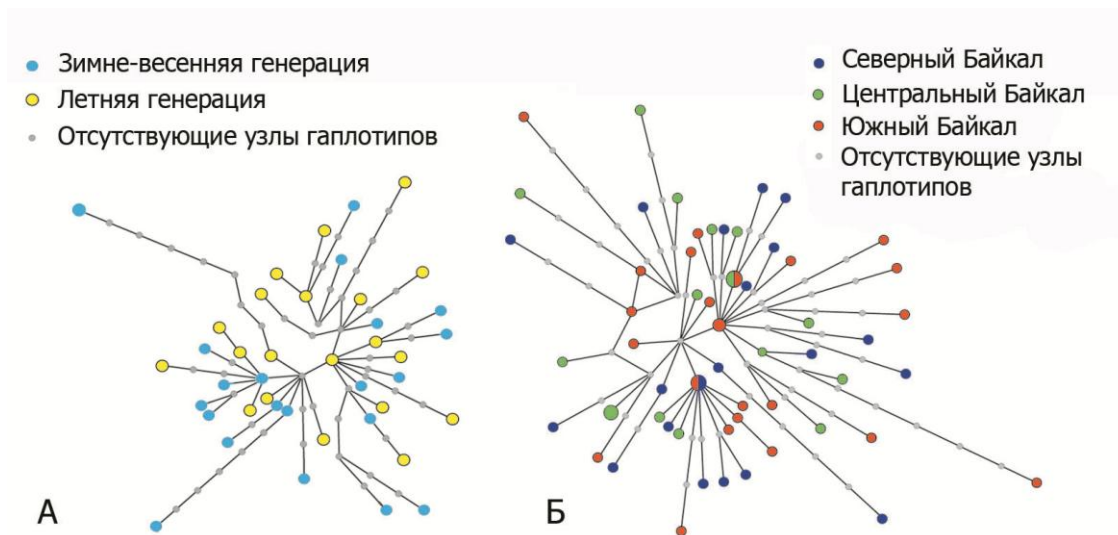


Рисунок 4. Сети гаплотипов особей *E. baikalensis*. А: из разных генераций; Б: из разных районов озера Байкал.

Графики, построенные в программе BEAST 1.10, реконструируют историю изменения эффективного размера популяции (Рис. 5) методом Байесовского скайплота (Bayesian Skyline Plot) [Drummond et al., 2005]. Применение молекулярных датировок позволило определить приблизительное время резкого возрастания численности рачка в озере, датируемое 180-100 тыс. лет, после чего популяция *E. baikalensis* достигла своего максимума и уже оставалась стабильно высокой.

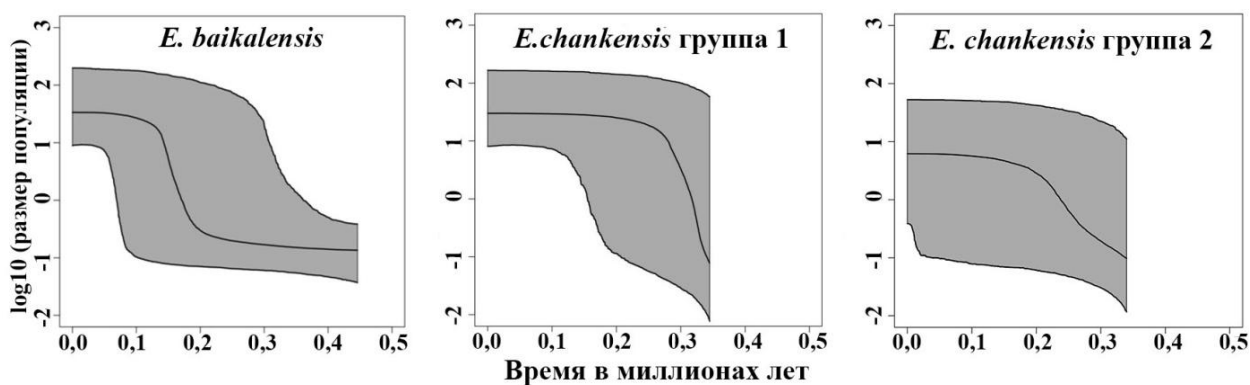


Рисунок 5. Результаты реконструкции истории изменения эффективной численности популяции *E. baikalensis* и гаплогрупп *E. chankensis* с помощью Байесовского скайплота (Bayesian Skyline Plot). Серая область на графиках показывает 95% доверительный интервал. Промежуточная кривая – медианное значение.

E. chankensis. Получено 52 последовательности фрагмента COI (помещены в GenBank под номерами KR704356–KR704407). Общая длина выровненных последовательностей составила 547 п.н. У 52 особей 41 гаплотип был представлен в единственном числе, один гаплотип встречен у 7 особей и еще два гаплотипа были представлены дважды. Гаплотипическое (Hd) и нуклеотидное (p) разнообразие составило 0,982 и 0,009 соответственно.

Построена медианная сеть гаплотипов с использованием алгоритма «median-joining» (Рис. 6). На сети выделяется одна группа, представленная большинством гаплотипов и имеющая четкую звездообразную структуру. От звездообразной структуры дистанцируется группа, образующая «хвост».

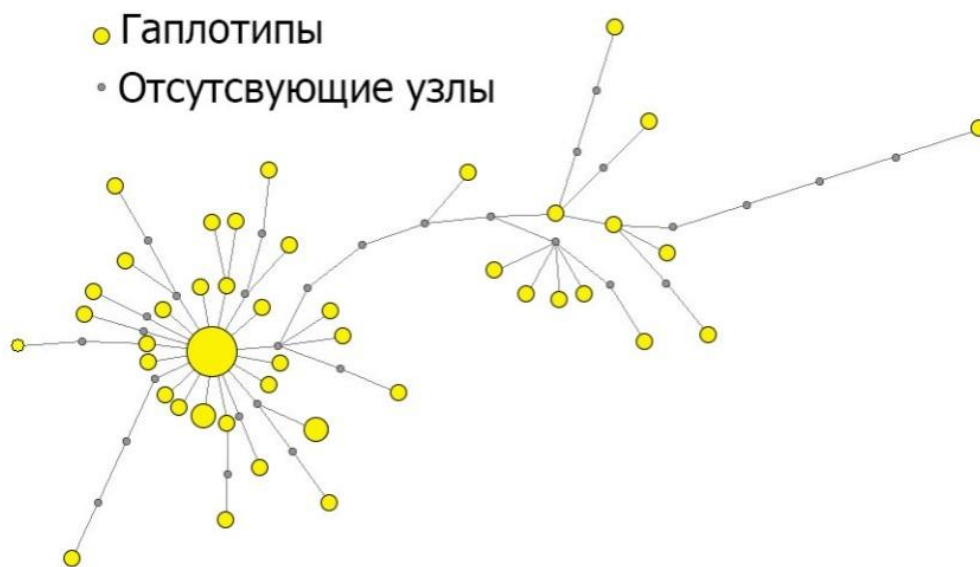


Рисунок 6. Сеть гаплотипов, построенная в программе Network для последовательностей фрагмента COI рачка *E. chankensis*.

График распределения попарных различий между гаплотипами мтДНК показал два пика (Рис. 7А). Если исключить из анализа группу гаплотипов, составляющую в медианной сети «хвост», то график (Рис. 7Б) принимает вид унимодальной кривой, где большинство попарных различий находится в области малых генетических расстояний. График попарных различий для хвостовой группы не столь однороден (Рис. 7В).

Гаплотипы *E. chankensis*, таким образом, разделились на две группы: «центральную», обозначенную в дальнейшем «*E. chankensis* группа 1», и «хвостовую», обозначенную в дальнейших тестах как «*E. chankensis* группа 2».

Результаты тестов нейтральности Таджима и R2 (см. таблицу) для гаплотипов «*E. chankensis* группа 1» говорят в пользу популяционной экспансии. Для гаплотипов «*E.*

chankensis группа 2» популяционное тестирование не дало достоверного отклонения от гипотезы нейтральности при формировании популяционного разнообразия.

Графики, реконструирующие историю изменения эффективного размера популяции, построены и для групп *E. chankensis* (Рис. 5). Обе группы *E. chankensis* увеличивали свой размер с максимальной скоростью в период от 400 до 250 тыс. лет назад. При приближении к настоящему моменту времени, эффективная численность в обоих случаях стабилизировалась.

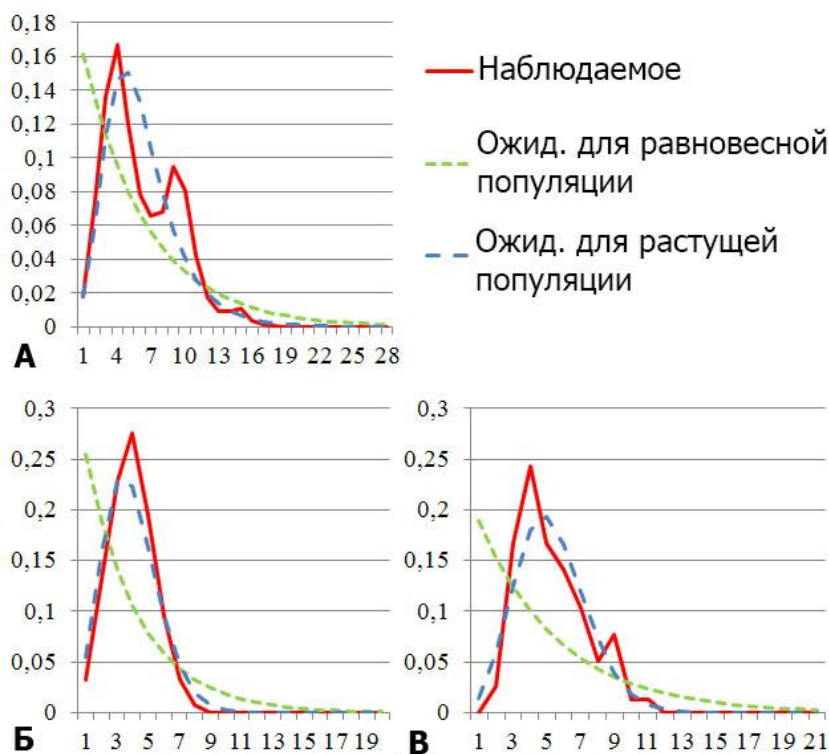


Рисунок 7. Графики распределения частот значений попарных различий мтДНК *E. chankensis*. А – всех гаплотипов; Б – центральных гаплотипов. В – хвостовой группы.

E. nordenskioldi. Общий размер анализируемого фрагмента COI для *E. nordenskioldi* составил 709 п.н. (добавлен в GenBank под номером MT131782). Отсеквенировано 8 нуклеотидных последовательностей, все они оказались идентичны, вероятно, это связано с тем, что пробы отбирали из небольшого паркового озера. Соответственно, оценку популяционных параметров для *E. nordenskioldi* не проводили, и данный вид использовали как внешнюю группу.

Общее дерево. На основе уникальных гаплотипов фрагмента COI *E. baikalensis* и *E. chankensis*, а также нуклеотидной последовательности *E. nordenskioldi* построено филогенетическое дерево с молекулярными датировками (Рис. 8). Анализ, определяющий уровень насыщения, выполненный в программе Dambe v.6.4 [Xia, Lemey, 2009] для этого

набора гаплотипов показал пригодность данных для филогенетических датировок. Но, при добавлении гаплотипа *E. nordenskioldi*, данный анализ уже показывал наличие насыщения, что не позволило использовать гаплотип *E. nordenskioldi* для молекулярных датировок по трем позициям.

На построенном филогенетическом дереве (Рис. 8) время до общего предка для *E. baikalensis* и *E. chankensis* составило 13,71 млн. лет (95% доверительный интервал (ДИ): 8,34–21,42 млн. лет). Уникальные гаплотипы *E. baikalensis* образуют на филогенетическом дереве единый кластер без внутренней подразделенности, со временем разделения от общего предка 0,58 млн. лет (95% ДИ: 0,37–0,89 млн. лет). Уникальные гаплотипы *E. chankensis* разделились на два кластера, полностью соответствующие выделенным ранее группам («*E. chankensis* группа 1» и «*E. chankensis* группа 2»). Разделение выявленных групп гаплотипов *E. chankensis* произошло 0,69 млн. лет назад (95% ДИ: 0,39–1,06 млн. лет). Разделение гаплотипов внутри кластера «*E. chankensis* группа 1» произошло 0,41 млн. лет назад (95% ДИ: 0,25–0,64 млн. лет). Разделение гаплотипов внутри кластера «*E. chankensis* группа 2» произошло 0,44 млн. лет назад (95% ДИ: 0,22–0,69 млн. лет).

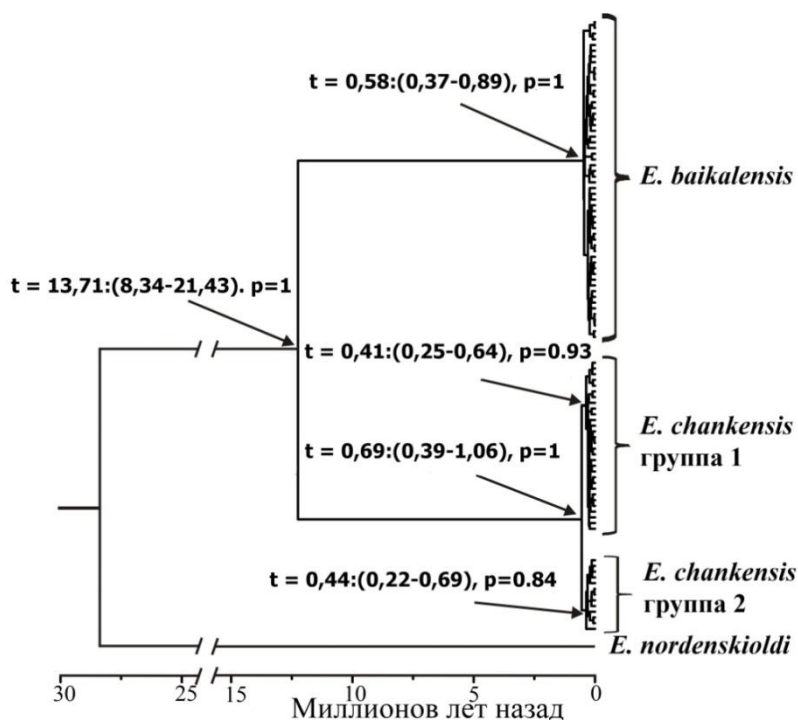


Рисунок 8. Дерево с временной шкалой, построенное на основе последовательностей фрагмента COI. Приведены датировки дивергенции таксонов в основных узлах, в скобках указаны 95% доверительные интервалы для датировок. Для этих же узлов приводится статистическая поддержка p – апостериорная вероятность.

Анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента ITS1 рДНК

E. baikalensis. Выполнен анализ нуклеотидной последовательности ITS1. Длина фрагмента составила 303 п.н. Получены последовательности 9 особей, по три из каждой котловины Байкала. Все последовательности оказались идентичными и добавлены в GenBank под номером MF134402.

E. chankensis. Проведен анализ нуклеотидной последовательности ITS1. Длина фрагмента составила 306 п.н. Получено 3 последовательности от особей, чьи гаплотипы мтДНК (фрагмент COI) относились к группе «*E. chankensis* группа 1» (центральная), и 2 образца из группы «*E. chankensis* группа 2» (образовавшей хвост), наиболее дистальных по отношению к «*E. chankensis* группа 1». Во всех 5 образцах присутствовала общая для всех аллель. В 2 образцах эта аллель была гомозиготной, а в 3 остальных обнаружена гетерозиготность. В каждом случае вторая аллель отличалась на одну замену. Альтернативные аллели имели мутации в разных участках. Гетерозиготность встретилась в одном из образцов, относившихся к «*E. chankensis* группа 1», и в двух, относившихся к «*E. chankensis* группа 2». Уникальные последовательности добавлены в GenBank под номерами MF134403–MF134405.

E. nordenskioldi. Отсеквенирована одна нуклеотидная последовательность фрагмента ITS1 длиной 312 п.н., которую использовали как внешнюю группу. Добавлена в GenBank под номером MF134406.

Общая топология филогенетического дерева, построенного на основе нуклеотидных последовательностей фрагмента ITS1 всех трех видов эпишуры, повторяла топологию дерева, построенного на основе фрагмента COI.

Последовательность рибосомного гена 18S

Нуклеотидные последовательности 18S у *E. baikalensis* и *E. chankensis*, несмотря на то, что время предположительного расхождения этих видов довольно большое, не отличались. От последовательности *E. nordenskioldi* общая последовательность *E. baikalensis*/*E. chankensis* отличались на 2,7 %.

Морфологический анализ

Структуры интегумента. Наблюдается большой разброс в числе ультраструктур интегумента у особей *E. baikalensis*, который составляет от 0 до 5 или от 2 до 8 по некоторым секторам, разброс значений по общему числу структур варьируется от 2 до 26 для южной выборки и от 6 до 23 для северной выборки. Доля асимметричных особей, имеющих асимметрию хотя бы по одному признаку (участку цефалона), составила 86% и 70% у северной и южной выборок соответственно.

Средние значения для северной и южной выборок по показателю общей асимметрии (ОА), который отражает разницу между общим числом структур слева и справа, составили $0,04 \pm 0,39$ и $-0,59 \pm 0,45$, показатели средней частоты асимметричного проявления на признак (Fa) составили $0,34 \pm 0,05$ и $0,42 \pm 0,05$ соответственно. При этом статистически значимых различий между выборками, по данным показателям, не выявлено ($P > 0,05$).

Сравнение выборок по количеству структур, между одинаковыми участками цефалона и по общему числу структур на всем цефалоне, также не выявило статистически значимых различий между выборками ни по одному критерию.

Проведен тест на идеальную флуктуирующую асимметрию [Гелашвили, 2004], позволяющий отличить ее от антисимметрии. Для этого определено отклонение эксцесса, которое сравнили с табличными критическими значениями при $\alpha = 0,05$. Все выявленные отклонения эксцесса, превышающие критические значения, были положительными. Об антисимметрии свидетельствуют отрицательные значения эксцесса, в то время как положительные значения могут говорить о гетерогенности популяции [Rowe, 1997; Van Dongen, 1998; Гелашвили, 2004; Зорина, 2012]. О морфологической неоднородности популяции свидетельствует и высокий разброс количества структур интегумента. Соответственно, мы имеем дело с флуктуирующей асимметрией в гетерогенной популяции.

Ротовые конечности. Длина сет на всех оральных придатках *E. baikalensis* была больше, чем у *E. chankensis*, в некоторых случаях более чем в два раза. Также *E. baikalensis* имеет ротовые конечности значительно длиннее, чем *E. chankensis*. Поэтому и площади, покрываемые первыми (Mx1) и вторыми (Mx2) максиллами, у видов значительно разнятся. Mx1 имеют среднюю площадь 13215 мкм^2 и 66470 мкм^2 для *E. chankensis* и *E. baikalensis* соответственно, а для Mx2 таковые составляют 17572 мкм^2 и $30\,089 \text{ мкм}^2$.

EDAX-зондирование (метод энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии) показало, что в элементном составе коронок вентральных зубцов у *E. baikalensis* и *E. chankensis* среднее содержание кремния в 10–15 раз больше, чем в основании мандибулярной пластинки. Максимальное относительное содержание кремния от общего содержания других элементов в коронках у *E. baikalensis* составило 39%, *E. chankensis* – 11%.

Глава 4. Обсуждение

Время дивергенции видов *E. baikalensis* и *E. chankensis* на филогенетическом дереве (Рис. 8), построенном по фрагменту COI, составляет 13,71 млн. лет (95% ДИ: 8,34–21,42 млн. лет), что говорит о продолжительном, более 8 млн. лет, существовании представителей рода *Epischura* на территории Азии. Северная Америка, где обитает большинство видов рода

Epischura, и Евразия в это время соединялись Берингией (100–5 млн. лет назад), через которую и могла идти миграция животных.

На филогенетическом древе уникальные гаплотипы фрагмента COI *E. baikalensis* образуют единый кластер, без внутренней подразделенности. Это согласуется с данными распределения гаплотипов в сетях Network (Рис. 4) и графике попарных различий (Рис. 3). Также последовательности фрагмента ITS1, определенные у особей из разных котловин, показывают абсолютное единообразие по данному участку ядДНК. Таким образом, можно сделать вывод, что в озере Байкал этот вид представлен единой полиморфной популяцией. Это подтверждается и данными морфологического анализа структур интегумента, где статистические критерии не выявили между выборками *E. baikalensis* статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Наблюдаемый для популяций *E. baikalensis* и *E. chankensis* по фрагменту COI уровень нуклеотидного и гаплотипического разнообразия, распределения попарных различий между гаплотипами, результаты тестов нейтральности D и R2 говорят о том, что обе популяции в относительно недавнем прошлом прошли период резкого увеличения численности. Временная реконструкция этих событий, проведенная с помощью Байесовского скайплота (Рис. 5), показывает, что для *E. baikalensis* этот период проходил 180–100 тыс. лет назад. Обе же группы *E. chankensis* увеличивали свою численность с максимальной скоростью в период от 400 до 250 тыс. лет назад. При приближении к настоящему моменту времени эффективная численность всех исследуемых популяций стабилизировалась.

Причинами резких колебаний численности могли быть климатические и геологические перестройки в местах обитания видов. Для *E. baikalensis* это могли быть ледниковые эпохи, связанные с уменьшением трофности водоемов, что сказывалось на численности *E. baikalensis*. С другой стороны, в ледниковые эпохи могли исчезать менее приспособленные к уменьшению трофности водоемов и более теплолюбивые ракообразные, освобождая для *E. baikalensis* экологические ниши. Помимо этого, за последние 150 тыс. лет максимальные глубины озера Байкал увеличились более чем на 600 метров [Мац и др., 2001]. Это послужило причиной уменьшения прогрева воды в летний период и снижению ее среднегодовой температуры. В этих условия *E. baikalensis*, как холодолюбивый вид, мог вытеснить другие, более теплолюбивые виды зоопланктона. Морфологический анализ строения ротовых конечностей показал, что *E. baikalensis* обладает длинными ротовыми конечностями, которые значительно длиннее, чем у *E. chankensis*. Длинные конечности обеспечивают большую дальность обнаружения частиц и площадь захвата, что выгоднее при мелкой и малочисленной пище. Соответственно, способность питаться малочисленной пищей могла быть одним из факторов обеспечивших выживаемость, и даже увеличение

численности *E. baikalensis* в условиях снижения трофности водоемов. Стабильно высокая численность *E. baikalensis*, наблюдаемая после периода увеличения численности, может обеспечиваться, помимо сказанного, способностью *E. baikalensis* питаться толстостенными диатомовыми водорослями, за счет высокого содержания кремния (до 39%) в зубных коронках, а так же высоким полиморфизмом популяции.

Группы гаплотипов фрагмента COI *E. chankensis* («*E. chankensis* группа 1» и «*E. chankensis* группа 2») в настоящее время географически не отделены друг от друга. Использование дополнительного маркера ядДНК ITS1 подтвердило единство популяции. Наличие гетерозигот в рибосомном спейсере можно объяснить незавершенностью процесса внутривидовой гомогенизации. Генетическая дифференциация популяций, по-видимому, сформировалась благодаря географической изоляции в прошлом. Предки двух групп существовали изолированно друг от друга, а потом опять соединились в одну группу. Это может быть связано с изменениями строения озерно-речной системы в Ханкайской котловине во время смены климатических эпох. Предполагается, что единый водоем в Ханкайской котловине появился в среднем плейстоцене, а именно в холодное шмаковское время [Короткий, 2007] 290–260 тыс. лет назад. До этого здесь была сеть речных долин, с небольшими озерами, которые постепенно наполнялись водой и расширялись, превратившись в один большой водоем. Начало существования групп *E. chankensis* относится ко времени до появления единого водоема. Группы могли существовать изолированно друг от друга в отдельных водоемах, а при образовании единого водоема объединиться. При этом увеличение эффективной численности популяций было, по-видимому, связано с увеличением площади водоемов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе впервые проведен анализ популяционно-видовой структуры на основе молекулярно-генетических маркеров (COI, ITS1) азиатских представителей рода *Epischura* (*E. baikalensis* и *E. chankensis*), дополненный морфологическим исследованием ротовых конечностей.

Время расхождения между *E. baikalensis* и *E. chankensis* составляет 13,71 млн. лет (95% ДИ: 8,34–21,42 млн. лет), что совпадает с имеющимися в литературе датировками $14,81 \pm 0,88$ млн. лет [Bowman, 2019], полученными по ядерным генам, и свидетельствует в пользу используемых нами калибровок. Полученные датировки говорят о продолжительном не менее 8 млн. лет существовании представителей рода *Epischura* на территории Азии.

Популяционные исследования митохондриальных (COI) и ядерных (ITS1) нуклеотидных последовательностей не выявили какой-либо генетической подразделенности

у *E. baikalensis* в озере. На филогенетическом древе уникальные гаплотипы *E. baikalensis* образуют единый кластер без внутренней подразделенности со временем коалесценции 0,58 млн. лет с 95% доверительным интервалом 0,37–0,89 млн. лет. Популяция данного рачка является единой панмиксной и полиморфной, что подтверждается и результатами анализа структур интегумента.

Морфологические исследования строения ротовых конечностей показывают, что *E. baikalensis* имеет высокую приспособленность к обитанию в условиях олиготрофного водоема, когда пищевые объекты могут встречаться довольно редко. В контексте подобной приспособленности вполне объясним рост численности, выявленный с помощью анализа гаплотипов фрагмента гена COI и приходящийся на период оледенений. Экспансия рачка в озере являлась, по-видимому, следствием освобождения экологической ниши, произошедшей за счет изменений и вымираний, связанных с изменением температурного режима и понижением трофности водоема, вызванных ледниковыми эпохами и шедшим в этот период увеличением глубин озера.

Популяция *E. chankensis* из озера Ханка хоть и представлена сейчас единой популяцией, но обнаруживает следы некогда существовавшей подразделенности, начало которой датируется 0,69 млн. лет назад (95% ДИ: 0,39–1,06 млн. лет). Подразделенность, возможно, связана с географической изоляцией, имевшей место в прошлом. Исходя из примененных датировок, период изоляции относится ко времени до появления в Ханкайской котловине единого водоема, но существования речной сети и ряда небольших озер. Экспансия *E. chankensis*, вероятно, связана с изменениями размеров занимаемых этим видом водоемов, в дальнейшем образовавших единый водоем в Ханкайской котловине.

Перспективным кажется дополнить исследование представителями *E. chankensis* из других водоемов Дальнего Востока, а также добавить представителей *E. smirnovi*, описанных в озере Чля и в нижнем течении р. Амур у пос. Тыр.

Так как анализ популяционной истории видов проливает свет на прошлое мест их обитания, интерес может вызывать сопоставление эволюционной истории исследованных видов с таковой у других представителей гидробионтов, обитающих в данных водоемах.

ВЫВОДЫ

1. Анализ полиморфизма нуклеотидных последовательностей гена COI мтДНК и ITS1 рДНК выявил у ныне единой популяции *E. chankensis* в озере Ханка следы генетической подразделенности. Разделение выявленных групп гаплотипов *E. chankensis* произошло 0,69 млн. лет назад с 95% доверительным интервалом 0,39–1,06 млн. лет.

2. Анализ нуклеотидных последовательностей гена COI мтДНК и ITS1 рДНК не подтвердил наличие пространственной и сезонной генетической подразделенности эпишуры в озере Байкал. *E. baikalensis* представлена единой панмиксной популяцией с высоким уровнем гаплотипического разнообразия мтДНК. Уникальные гаплотипы *E. baikalensis* образуют на филогенетическом дереве единый кластер без внутренней подразделенности со временем разделения от общего предка 0,58 млн. лет с 95% доверительным интервалом 0,37–0,89 млн. лет.

3. *E. baikalensis* и *E. chankensis* прошли через периоды резкого увеличения численности: интервалы времени для этих событий составили от 180 до 100 тыс. лет назад для *E. baikalensis* и 400 до 250 тыс. лет назад для групп *E. chankensis*.

4. Согласно молекулярным датировкам на основе последовательностей гена COI мтДНК, время коалесценции для *E. baikalensis* и *E. chankensis* составило 14 млн. лет (95% ДИ: 8–21 млн. лет). Полученные данные полностью согласуются с имеющимися в литературе независимыми датировками для данного события, определенными по другим (ядерным) молекулярным маркерам.

5. Установлено что уровень кремния в мандибулярных зубцах и морфология ротовых конечностей у *E. baikalensis* и *E. chankensis* различаются. Максимальное относительное содержание кремния от общего содержания других элементов в коронках: *E. baikalensis* – 39%, *E. chankensis* – 11%. Первые и вторые максиллы (Mx1, Mx2) у *E. baikalensis* длиннее, чем у *E. chankensis*. Поэтому и площадь, покрываемая Mx2 у *E. chankensis*, в два раза меньше, чем у *E. baikalensis*. Площадь, которую охватывают Mx1, у этих видов различалась в пять раз.

6. Выявлен высокий разброс значений числа структур интегумента у *E. baikalensis* при низком уровне асимметрии в выборках, что подтверждает высокий генетический полиморфизм популяции. Отсутствие значимых отличий между выборками по числу структур свидетельствует о единстве популяции *E. baikalensis* в озере Байкал. Отсутствие значимых отличий по уровню флуктуирующей асимметрии между выборками говорит о сходном давлении факторов среды (абиотических и биотических) на южную и северную части популяции в центральных районах озера. Данный показатель можно использовать для оценки их комплексного воздействия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах из списка ВАК:

1. Naumova E.Yu., **Zaidykov I.Yu.**, Tauson V.L., Likhoshway Ye.V. Features of the fine structure and Si content of the mandibular gnathobase of four freshwater species of *Epischura* (Copepoda: Calanoida) // Journal of Crustacean Biology. – 2015. – V. 35, № 6. – P. 741–746.
2. **Зайдыков И.Ю.**, Майор Т.Ю., Суханова Л.В., Кирильчик С.В., Наумова Е.Ю. Полиморфизм мтДНК эпишуры озера Байкал – ключевого эндемичного вида планктонного сообщества // Генетика. – 2015. – Т. 51, № 9. – С. 1087–1090.
3. Наумова Е.Ю., **Зайдыков И.Ю.** Опыт применения флуктуирующей асимметрии у ракообразных для оценки влияния экологических и популяционных факторов // Вода: химия и экология. – 2016. – № 2. – С. 89–93.
4. **Зайдыков И.Ю.**, Кирильчик С.В., Наумова Е.Ю., Суханова Л.В. Следы генетической подразделенности в ныне единой популяции эпишуры озера Ханка – *Epischura chankensis* Rylov, 1928 (Copepoda, Calanoida) // Генетика. – 2018. – Т. 54, № 3. – С. 369–372.
5. **Zaidykov I.**, Bukin Y., Naumova E., Kirilchik S., Sukhanova L. Phylogenetic relationships and historical population reconstruction of Asian members of the genus *Epischura* (Copepoda, Calanoida) // Journal of Great Lakes Research. – 2020. – V. 46, № 1. – P. 12–16.

Статьи в иных рецензируемых научных изданиях:

1. **Зайдыков И. Ю.**, Наумова Е.Ю. Тонкая морфология ротовых конечностей *Epischura chankensis* Rylov, 1928 (Copepoda, Calanoida) // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. 2011. Вып. 5. С. 182–186.
2. Наумова Е.Ю., **Зайдыков И.Ю.** Сравнительный анализ строения ротовых конечностей двух видов рода *Epischura* (Copepoda, Calanoida) из озер с разным трофическим статусом // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2020. – Т. 13, № 4. – С. 453–463.

В материалах конференций:

1. **Зайдыков И.Ю.**, Майор Т.Ю., Наумова Е.Ю., Суханова Л.В., Кирильчик С.В. Апробация генетических и морфологических методов для популяционных исследований *Epischura baicalensis* (Copepoda, Calanoida) // Пятая Верещагинская Байкальская конференция, Международная научная школа для молодежи «Экология крупных водоемов и их бассейнов», 16 Объединенный семинар по проблемам изучения региональных осадений из атмосферы: тезисы докладов и стендовых сообщений (Иркутск, 4–9 октября 2010 г.). – Иркутск: Изд-во «Аспринт». – 2010. – С. 58–60.
2. **Зайдыков И.Ю.**, Наумова Е.Ю. Изучение популяционной структуры *Epischura baicalensis* Sars на основе анализа расположения пор и других микроструктур интегумента //

Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии. Материалы II Международной научной конференции (Улан-Удэ, 20–25 июня 2011 г.). – Улан-Удэ: Изд-во Бурятского научного центра СО РАН. – 2011. – Т. 2. – С. 175–176.

3. **Зайдыков И.Ю.**, Майор Т.Ю., Кирильчик С.В., Суханова Л.В., Наумова Е.Ю. Предварительные результаты анализа морфологического и генетического полиморфизма *Epishura baikalensis* (Copepoda, Calanoida) // Международное рабочее совещание и научная конференция «Исследование биоразнообразия и критического видообразования у организмов водных экосистем России и Украины с применением баркодинга» (Санкт-Петербург, 11–16 сентября 2011 г.). Тезисы докладов. – Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН. – 2011. – С. 25–28.

4. **Зайдыков И.Ю.**, Кирильчик С.В., Суханова Л.В., Наумова Е.Ю. Исследование популяционной структуры трех видов пелагических ракообразных оз. Байкал // Материалы V Всероссийского с международным участием медико-биологического конгресса молодых ученых (Тверь, 3–8 декабря 2012 г.). – Тверь: Изд-во «Заповедник Времени». – 2012. – С. 96–97.

5. Наумова Е.Ю., **Зайдыков И.Ю.**, Суханова Л.В., Майор Т.Ю. Сопоставление флуктуирующей асимметрии и генетических данных для оценки популяционной структуры байкальской эпишуры // Материалы XI Съезда Гидробиологического общества при РАН (Красноярск, 22–26 сентября 2014 г.). – Красноярск: Изд-во Сибирского федерального университета. – 2014. – С. 120–121.

6. **Зайдыков И.Ю.**, Суханова Л.В., Наумова Е.Ю. Популяционная структура двух рачков рода *Epischura* (Copepoda, Calanoida) // Шестая Международная Верещагинская Байкальская конференция, 4 Байкальский микробиологический симпозиум с международным участием «Микроорганизмы и вирусы в водных экосистемах» (Иркутск, 7–12 сентября 2015 г.). – Иркутск: Лимнологический институт СО РАН. – 2015. – С. 223.

7. **Зайдыков И.Ю.**, Букин Ю.С., Наумова Е.Ю., Кирильчик С.В., Суханова Л.В. Филогенетические взаимоотношения и реконструкция популяционной истории азиатских представителей рода *Epischura* (Copepoda, Calanoida) // Международная конференция «Пресноводные экосистемы – современные вызовы» (Иркутск, 10–14 сентября 2018 г.). – Иркутск: «Мегапринт». – 2018. – С. 375–376.

ЗАЙДЫКОВ
Игорь Юрьевич

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОПУЛЯЦИОННО-ВИДОВОЙ СТРУКТУРЫ АЗИАТСКИХ
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *EPISCHURA* FORBES, 1882 (CALANOIDA, COPEPODA)**

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук