

EDN: NFHZKG

УДК 595.34:574.5(571.51)

**Integrative Analysis of Harpacticoid Copepod Fauna
(Harpacticoida, Copepoda)
in the South of Krasnoyarsk Krai:
in Several Ergaki Nature Park Waterbodies
and the Yenisei River**

**Elena B. Fefilova^{*a}, Maksim A. Golubev^{a, b},
Aleksandra S. Bakashkina^b, Elizaveta I. Popova^b,
Olga P. Dubovskaya^{c, d} and Ilya O. Velegzhaninov^a**

*^aInstitute of Biology, Komi Scientific Centre, UB RAS
Syktyvkar, Russian Federation*

*^bPitirim Sorokin Syktyvkar State University
Syktyvkar, Russian Federation*

*^cInstitute of Biophysics, SB RAS
Krasnoyarsk, Russian Federation*

*^dSiberian Federal University
Krasnoyarsk, Russian Federation*

Received 27.01.2023, received in revised form 09.03.2023, accepted 14.04.2023

Abstract. The crustacean fauna of Siberia, in particular the Harpacticoida, has not been studied sufficiently. For the first time, the composition of harpacticoid copepod fauna in several waterbodies in the Ergaki Nature Park and the Yenisei River near the city of Krasnoyarsk is examined, and the data on the morphology and genetic barcodes (nucleotide sequences of the mtDNA fragment COI) of the species and subspecies found are presented. In July 2021, six species and subspecies of harpacticoids of the *Pesceus*, *Bryocamptus*, *Maraenobiotus*, *Attheyella* and *Moraria* genera were found in the Ergaki Nature Park; *Maraenobiotus*, *Moraria* and *Harpacticella inopinata* were found in the Yenisei River. All taxa were found within the known distribution ranges. For five of them, genetic barcodes were obtained, a total of 25 sequences. A phylogenetic analysis confirmed the genetic closeness of *H. inopinata* and *Attheyella nordenskioldii* in the south of Krasnoyarsk Krai and Lake Baikal (genetic distances were 0.014–0.036), as well as molecular-genetic, but not morphological, homogeneity of *Maraenobiotus insignipes insignipes* from several waterbodies in the study site (pairwise genetic distances did not exceed 0.008). The latter species has been

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: fefilova@ib.komisc.ru

ORCID: 0000-0001-9329-3030 (Fefilova E.); 0000-0002-4715-4053 (Velegzhaninov I.)

found the most common in the south of Krasnoyarsk Krai. *H. inopinata*, a subendemic of Lake Baikal, has been registered in the Yenisei River only. The data obtained broaden understanding of taxonomic, morphological and genetic diversity of the Harpacticoida fauna in Siberia's inland waters.

Keywords: biodiversity in Siberia, freshwater lakes, Harpacticoida, morphology of crustaceans, species composition, genetics barcodes, COI.

Acknowledgments. The authors are grateful to E. S. Chertoprud (A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the RAS) and A. A. Novikov (Kazan Federal University) for the material (harpacticoid individuals) from the waterbodies of the Putorana Plateau and the Lena River delta. We thank E. S. Kochanova (University of Helsinki) for sequencing two DNA samples (numbers OP0973570, OP0973573). The work was carried out within the framework of the state assignment of the Department of Animal Ecology of the Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of Russian Academy of Sciences: 122040600025-2.

Citation: Fefilova E. B., Golubev M. A., Bakashkina A. S., Popova E. I., Dubovskaya O. P., Velezhaninov I. O. Integrative analysis of harpacticoid copepod fauna (Harpacticoida, Copepoda) in the south of Krasnoyarsk Krai: in several Ergaki Nature Park waterbodies and the Yenisei River. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2023, 16(3), 318–335. EDN: NFHZKG



Интегративный анализ фауны гарпактикоид (Harpacticoida, Copepoda) юга Красноярского края: водоемов природного парка «Ергаки» и реки Енисей

**Е. Б. Фефилова^а, М. А. Голубев^{а, б}, А. С. Бакашкина^б,
Е. И. Попова^б, О. П. Дубовская^{в, г}, И. О. Велегжанинов^в**

^а *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН
Российская Федерация, Сыктывкар*

^б *Сыктывкарский государственный университет
им. Питирима Сорокина*

Российская Федерация, Сыктывкар

^в *Институт биофизики СО РАН
Российская Федерация, Красноярск*

^г *Сибирский федеральный университет
Российская Федерация, Красноярск*

Аннотация. Фауна Harpacticoida Сибири изучена недостаточно. Впервые исследован состав фауны этих ракообразных нескольких водоемов на территории природного парка «Ергаки» и реки Енисей в черте города Красноярска, представлены данные по морфологии найденных видов и подвидов и их генетическим баркодам – нуклеотидным последовательностям фрагмента

мтДНК COI. В результате исследований в июле 2021 г. в природном парке «Ергаки» обнаружено шесть видов и подвидов ракообразных родов *Pesceus*, *Bryocamptus*, *Maraenobiotus*, *Attheyella* и *Moraria*; в Енисее найдены *Maraenobiotus* и *Moraria*, а также *Harpacticella inopinata*. Все таксоны обнаружены в пределах своих известных ареалов. Для пяти из них получены генетические баркоды, всего 25 последовательностей. Филогенетический анализ подтвердил генетическую близость *H. inopinata* и *Attheyella nordenskioldii* юга Красноярского края и озера Байкал (генетические дистанции 0,014–0,036), а также молекулярно-генетическую, но не морфологическую, однородность *Maraenobiotus insignipes insignipes* нескольких водоемов региона исследований (попарные генетические дистанции не превышали 0,008). Этот вид был наиболее распространенным на юге Красноярского края. Субэндемик озера Байкал *H. inopinata* был зарегистрирован только в Енисее. Полученные данные расширяют представления о фаунистическом, морфологическом и генетическом разнообразии Harpacticoida внутренних вод Сибири.

Ключевые слова: биоразнообразие Сибири, пресноводные озера, Harpacticoida, морфология ракообразных, видовой состав, генетические баркоды, COI.

Благодарности. Авторы благодарны Е. С. Чертопруд (Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН) и А. А. Новикову (Казанский федеральный университет) за материал (особей гарпактикоид) из водоемов плато Путорана и дельты реки Лена. Мы благодарим Е. С. Кочанову (Хельсинский университет) за секвенирование двух образцов ДНК (номера OP0973570, OP0973573). Работа выполнена в рамках госзадания отдела экологии животных Института биологии Коми НЦ УрО РАН: 122040600025-2.

Цитирование: Фефилова Е. Б. Интегративный анализ фауны гарпактикоид (Harpacticoida, Copepoda) юга Красноярского края: водоемов природного парка «Ергаки» и реки Енисей / Е. Б. Фефилова, М. А. Голубев, А. С. Бакашкина, Е. И. Попова, О. П. Дубовская, И. О. Велегжанинов // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2023. 16(3). С. 318–335. EDN: NFHZKG

Введение

Исследования биоразнообразия, в том числе пресных вод, развиваются в настоящее время на новом уровне, связанном с привлечением методов молекулярной генетики. Перспективным является накопление и сохранение сведений по генетическим баркодам видов в электронных базах данных открытого доступа (NCBI GenBank и BOLD SYSTEMS). Причем дополнительные возможности использования данных по нуклеотидным последовательностям, в частности веслоногих ракообразных (Copepoda), открываются при сопровождении их описанием морфологии организмов и ее изменчивости (Lee et al., 2014; Kochanova et al., 2018;

Kochanova, Gaviria, 2018; Sönmez, Karaytuğ, 2019; Fefilova et al., 2020). Комплексный подход к описанию таксонов и морфологических форм позволяет расширить объем информации для биогеографического анализа, предоставляет преимущества для ретроспективного сравнения состава и структуры биоты при изменчивости средовых условий регионов (Fefilova et al., 2020; Kochanova et al., 2021; Alekseev, Sukhikh, 2022).

Фауна веслоногих ракообразных отряда Harpacticoida российской Палеарктики исследована неравномерно (Фефилова, 2015; Fefilova et al., 2022). Так, при гидробиологических исследованиях Сибири этой группе до сих пор уделялось мало внимания. Недавние ра-

боты, посвященные мейофауне и гарпактикоидам плато Путорана (Fefilova et al., 2013; Chertoprud et al., 2022; Novikov et al., 2023), дельты реки Лена (Novikov, Sharafutdinova, 2020, 2022; Novikov et al., 2021, 2023), выявили в отдельных регионах восточной Палеарктики особенности состава этих ракообразных, расширили сведения об ареалах их представителей и обнаружили новые для науки виды. По составу гарпактикоид юга Красноярского края (Центральная Сибирь) было известно только, что в реках Енисей и Ангара встречается байкальский субэндемик *Harpacticella inopinata* Sars, 1908 (Окунева, 1989). Данные по этой группе ракообразных в природном парке «Ергаки» (Западный Саян) отсутствовали, при этом в работах, посвященных гидробиологическому и гидрохимическому изучению данного горного района (Глущенко и др., 2009; Zuev et al., 2012; Anishchenko et al., 2015), подчеркивалась необходимость определения на базе современной систематики видового состава и разнообразия его озерной биоты в связи с увеличением на водные экосистемы антропогенной нагрузки.

Целью нашей работы было получить первые данные по видовому составу Harpacticoida реки Енисей (в районе города Красноярск) и природного парка «Ергаки», описать морфологические особенности найденных видов и подвидов и выполнить их первичный генетический анализ на основе последовательности маркерного фрагмента гена COI.

Материалы и методы

Описание районов исследований

Природный парк «Ергаки», в территорию которого входит горный хребет Ергаки, расположен в центральной части Западного Саяна, в бассейне верхнего Енисея (юг Красноярского края) (рис. 1 а). Протяженность этого горного комплекса с запада

на восток около 80 км, ширина около 60 км (Глущенко и др., 2009). Он сильно изрезан древними ледниками, имеется много крутых скальных стен, глубоких речных долин и озер. Местность «Ергаки» горно-таежная с густой речной сетью, преобладают высоты 1300–2100 м. Климат здесь резко континентальный с продолжительной и суровой зимой (до минус 41 °С в январе) и коротким жарким (до 32 °С в июле) летом. Озера в Западном Саяне в основном ледникового происхождения: каровые, моренно-подпрудные или рожденные горными обвалами. В числе наиболее крупных озер – Ойское (рис. 1 б). Его площадь более 500 тыс. м², максимальная глубина 21 м, средняя – 8 м (Anishchenko et al., 2015). Остальные исследованные водоемы природного парка «Ергаки» представляют собой меньшие по площади, более мелкие озера (пруды), из которых одно имеет туристическое название – Уютное, остальные безымянные (табл. 1). Дно всех обследованных водоемов выстилало плотные субстраты, в озере Уютное покрытые достаточно толстым (около 5 см) слоем ила. Водоем рядом с озером Ойское (OyL1) представлял собой затопленную мелкую котловину, сильно заросшую макрофитами (хвощом) (рис. 1 б).

Согласно (Глущенко и др., 2009), озеро природного парка «Ергаки» олиготрофные или ультраолиготрофные, нейтральные по показателю pH (6,5–7,1), с высокой прозрачностью (> 5 м по диску Секки) и высоким содержанием растворенного кислорода. По исследованиям в июне-августе 2011–2012 гг. (Anishchenko et al., 2015) прозрачность этих водоемов по диску Секки варьировала в пределах 3–12 м, средняя за летний сезон температура воды у дна составляла 6,3–9,7 °С.

Основные экологические черты верхнего Енисея у Красноярска (рис. 1 б) – быстрое течение (2–4 м/с), галечное дно, в литорали

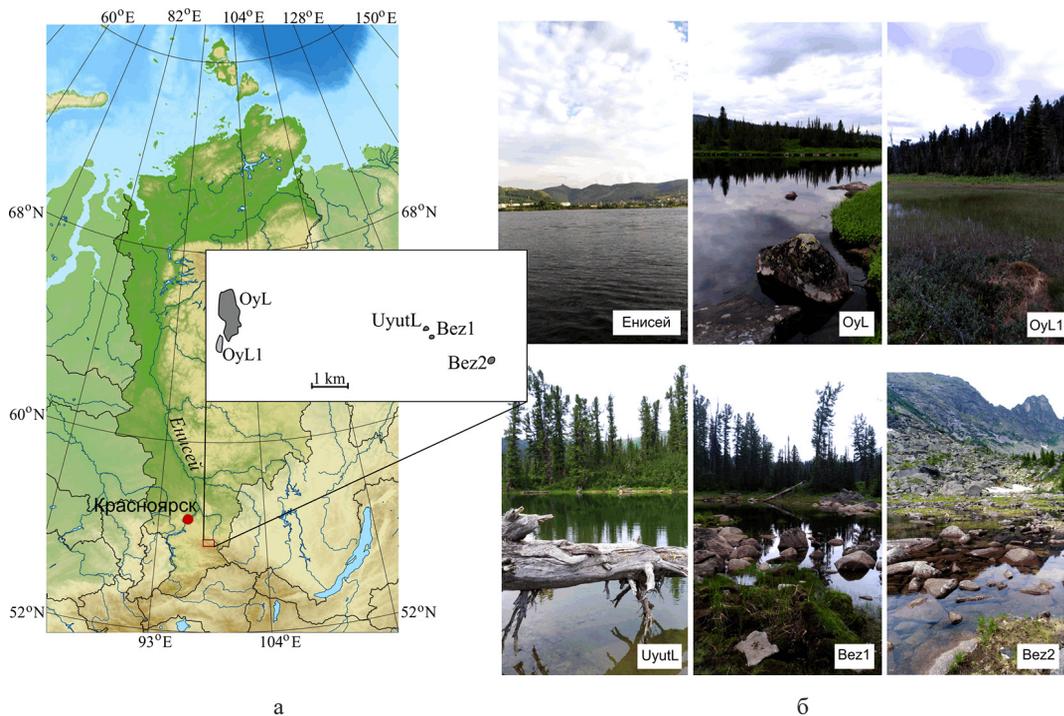


Рис. 1. Карта районов исследования (а) и фото обследованных водоемов – местообитания гарпактикоид (б). Обозначения см. в табл. 1

Fig. 1. Study site map (a) and photos of examined waterbodies, harpacticoid habitats (б). For designations refer to Table 1

Таблица 1. Описания исследованных водоемов

Table 1. Description of examined waterbodies

	Аббревиатура	Координаты	Донный субстрат
Озеро Ойское	OyL	52.840846° с.ш., 93.248404° в.д.	валуны, песок, местами заиленные и с обрастаниями
Водоем рядом с озером Ойское	OyL1	—	заиленный песок
Озеро Уютное	UyutL	—	заиленный гравий, валуны
Безымянный водоем рядом с турбазой «Жемчужина Саян»	Bez1	52.836813° с.ш., 93.331919° в.д.	заиленный песок, валуны
Безымянный водоем рядом с озером Нижнее Буйбинское (Каровое)	Bez2	52.829981° с.ш., 93.364514° в.д.	валуны, песок, местами заиленные и с обрастаниями
Река Енисей	—	55.979674° с.ш., 92.748365° в.д.	галька

заросшее фитоперифитоном, отсутствие ледяного покрова зимой и низкие температуры воды летом из-за поступления гипolimниальной воды из Красноярского водохранилища через плотину ГЭС в 30 км выше по течению (Gladyshev et al., 2012). Средняя температура воды у левого берега Енисея непосредственно выше города (совпадает с нашей станцией отбора проб) в мае-сентябре 2011–2012 гг. была $8,4 \pm 0,8$ °C (Gladyshev et al., 2016).

Методы сбора и идентификации гарпактикоид

Гарпактикоид получали из качественных проб зообентоса, которые собирали в период с 23 по 27 июля 2021 г., все – с берега, с глубины 0,2–0,4 м. Для сбора использовали сачок из капронового сита с размером ячеи 100 мкм. Живые пробы просматривали под полевым стереомикроскопом NKSF20 (Япония). Для генетических исследований гарпактикоид поштучно выбирали и фиксировали 96 % этиловым спиртом, затем оставшуюся часть пробы – 4 % формалином. Для исследований морфологии рачков использовали микроскоп Leica DM 4000 В (Германия) с максимальным увеличением $\times 1000$. Рисунки выполняли с помощью рисовального устройства, прикрепленного к этому микроскопу, и редактировали в программах Adobe Photoshop CS 3 Extendet и Xara Photo & Graphic Designer 6.

Видовую принадлежность гарпактикоид определяли по (Lang, 1948; Боруцкий, 1952; Фефилова, 2015). Для морфологического описания найденных видов использовали сокращения: А1 – антеннула, А2 – антенна, Р1–Р5 – первая-пятая пара торакальных конечностей.

Методы генетических исследований

Для генетического анализа гарпактикоид использовали фрагмент митохондриаль-

ного гена первой субъединицы цитохромоксидазы (COI). Выделение ДНК, получение и обработку ПЦР-продуктов проводили в ЦКП “Молекулярная биология” Института биологии Коми НЦ УрО РАН по протоколу, ранее опубликованному (Kochanova et al., 2018). Выделение ДНК осуществляли в один этап инкубацией образца в растворе, содержащем хелатирующий агент Chelex 100 и протеиназу К. При выделении ДНК не осуществляли механического разрушения образца, поэтому после генетических исследований повторно изучали морфологию экзоскелета рачков, сохраненных в растворе. Для амплификации участка гена COI использовали прямой и обратный универсальные праймеры, разработанные для беспозвоночных организмов: COIF 2198 (5' TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA 3') и COIL 1490 (5' GGTCAACAAATCATAAA GATATTGG 3') (Folmer et al., 1994). Продукт ПЦР реакции подвергали электрофорезу. Ампликоны из агарозного геля очищали с помощью набора реактивов “Cleanup S-Cap” (Евроген, Россия). Секвенирование образцов ДНК осуществлялось в ЦКП “Геном” Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (Москва) или научно-производственной компании “Синтол” (Москва).

Полученные нуклеотидные последовательности выравнивали с применением алгоритма ClustalW и анализировали в программном пакете Mega 11.0 (Tamura et al., 2021). Филогенетическое древо с расчетом бутстреп-поддержек узлов ветвления (1000 репликаций) строилось по алгоритму максимального правдоподобия с применением общей модели с обратимым временем (Nei, Kumar, 2000). Попарные генетические дистанции рассчитывали с помощью модели Тамура и Неи (Tamura, Nei, 1993).

Результаты*Видовой состав**и особенности морфологии видов*

Всего в обследованных водоемах мы обнаружили семь видов гарпактикоид (табл. 2), шесть из которых из семейства Canthocamptidae, один – из Harpacticidae. Наиболее распространенным был подвид *M. i. insignipes*. В единственном экземпляре был найден лишь *B. zschokkei* (s. lat.), наиболее массовыми были *B. arcticus* в озерах Bez1 и OyL1, где были обнаружены десятки особей этого вида. В пробе из р. Енисей преобладал вид *H. inopinata*. Такие виды, как *P. schmeili* (встречено две особи), *A. nordenskioldii* (найденно три особи), *M. mrazeki* по строению не отличались от описаний в определителях. Ниже мы приводим комментарии по морфологии найденных нами редких и сложных для идентификации видов и подвидов. Для некоторых из них впервые получены генетические баркоды (табл. 3).

Harpacticella inopinata Sars, 1908. Особи из реки Енисей (самки и самцы) не отличались от описания вида в определителях по большинству признаков. Особенности морфологии

найденных нами самок проявлялись в строении экзоподита A2: неясно 2-члениковым, с оперенной длинной щетинкой на первом членике и конце второго членика, неоперенной тонкой и короткой щетинкой на середине внутреннего края и дистальном конце второго членика и 2–3 короткими тонкими шипиками на дистальном конце второго членика.

Bryocamptus (Arcticocamptus) arcticus (Lilljeborg, 1902) (рис. 2 з-л). Найденные нами особи по всем признакам соответствовали описаниям вида. Каудальные ветви самок (рис. 2 з) и самцов несли на внутреннем крае два ряда крупных шипиков, экзоподит P5 самки (рис. 2 и) овальной формы, с пятью щетинками, из которых вторая от внешнего края самая длинная, третья от внешнего края – короче остальных, длина экзоподита P5 в 2 раза превышает длину внутренней лопасти базиснодоподита, которая квадратной формы и несет 6 щетинок. К характерным особенностям самцов этого вида относятся в том числе наличие ряда крупных зубчиков на внешнем апикальном шипе третьего членика экзоподита P4 (рис. 2 к), а также строение эндоподита P3 (рис. 2 л).

Таблица 2. Список видов Harpacticoida, найденных в обследованных водоемах юга Красноярского края, июль, 2021 г.

Table 2. Harpacticoida species collected in the examined waterbodies in the south of Krasnoyarsk Krai, July, 2021

Вид	OyL	UyutL	Bez1	Bez2	OyL1	Енисей
Harpacticidae						
<i>Harpacticella inopinata</i> Sars, 1908						+
Canthocamptidae						
<i>Pesceus schmeili</i> (Mrazek, 1893)		+				
<i>Bryocamptus (Arcticocamptus) arcticus</i> (Lilljeborg, 1902)		+	+		+	
<i>B. (Rheocamptus) zschokkei</i> (s. lat.) (Schmeil, 1893)	+					
<i>Maraenobiotus insignipes insignipes</i> (Lilljeborg, 1902)	+	+	+	+		+
<i>Attheyella nordenskioldii</i> (Lilljeborg, 1902)	+					
<i>Moraria mrazeki</i> Scott, 1903	+					+

Таблица 3. Места сбора гарпактикоид и ассоциированные с ними номера сиквенсов из GenBank и BOLDSYSTEMS, использованных для филогенетического анализа

Table 3. Sampling sites and GenBank, BOLDSYSTEMS accession numbers of sequences used in phylogenetic analysis

Вид	Место сбора	Число особей	Номера сиквенсов	Информация об опубликовании
1	2	3	4	5
<i>Harpacticella inopinata</i>	Река Енисей	4	OP093573 OP093572 OP093571 OP093570	Фефилова и др., 2023
—"	Озеро Байкал	1	OP413644	Фефилова и др., 2023
<i>H. jejuensis</i> Lee, Kim & Lee, 2014	Прибрежные воды, Корейский полуостров	1	KM272559.1	Lee et al., 2014
<i>Bryocamptus (Arcticocamptus) arcticus</i>	Bez1, «Ергаки»	4	OP103665 OQ410680 OQ410681 OQ410682	Эта работа
—"	OyL1	4	OQ410683 OQ410684 OQ410685 OQ410686	Эта работа
<i>Bryocamptus (Bryocamptus) vej dovskyi</i>	Дельта реки Лена	2	OP970219 OP970220	Эта работа
—"	Бассейн реки Ирkinда, плато Путорана	1	OP970217	Эта работа
—"	Река Сысола, северо-восток Европейской части России, Коми	1	OP970218	Эта работа
<i>B. (B.) minutus</i> (Claus, 1863)	Озера, Южная Финляндия	2	MZ169064.1 MZ169065.1	Кочанова Е.С., не опубликовано
<i>B. (Echinocamptus) nivalis</i> (Willey, 1925)	Озеро Онтарио, США	2	ZOOPS 293–19 ZOOPS 294–19	Connolly et al., 2022
<i>Maraenobiotus insignipes insignipes</i>	OyL, «Ергаки»	2	ON 880578 ON 880579	Эта работа
—"	Bez2, «Ергаки»	3	ON 880575 ON 880576 ON 880577	Эта работа
—"	Река Енисей	1	ON 880574	Эта работа
<i>Attheyella nordenskioldii</i>	OyL, «Ергаки»	3	OP903362 OP903363 OP903364	Эта работа
—"	Озеро Байкал	1	OP903365	Эта работа
—"	Озеро Онтарио, США	2	ZOOPS 290–19 ZOOPS 292–19	Connolly et al., 2022
<i>A. dentata</i>	Озеро, плато Путорана	3	ON 661332 ON 661333 ON 661334	Эта работа
<i>A. (Attheyella) crassa</i> (G.O. Sars, 1862)	Озеро Согнсванн, Норвегия	3	MH477663- MH477665	Kochanova, Gavia, 2018

Продолжение табл. 3

Continuation of the Table 3

1	2	3	4	5
<i>Moraria mrazeki</i>	ОуЛ, «Ергаки»	4	OP093569 OP093568 OP093567 OP093566	Эта работа
<i>M. duthiei</i> (Scott, 1896)	Вашуткины озера, Большеземельская тундра, северо-восток Европейской части России	2	MZ169070.1 MZ169071.1	Кочанова Е.С., не опубликовано
—	Река Печора, северо- восток Европейской части России	1	MZ169069.1	Кочанова Е.С., не опубликовано
<i>M. brevipes</i> (Sars, 1862)	Озеро, Австрия	2	MW266957.1 MW266958.1	Кочанова Е.С., не опубликовано

Bryocamptus (Rheocamptus) zschokkei (s. lat.) (Schmeil, 1893) (рис. 2 а-ж). Найденная нами единственная самка этого вида по строению А1 (8-члениковая), экзоподита А2, Р1 (2-члениковый эндоподит и 3-члениковый экзоподит), Р5, форме и вооружению каудальных ветвей соответствовала описанию вида. Были найдены особенные признаки, характерные для особи из озера Ойское. Так анальная пластинка найденного бриокамптуса вооружена тремя мощными заостренными шипами (рис. 2 а); задние края сегментов тела гладкие, на спинной стороне без шипиков; над задними краями абдоминальных сегментов с боков имеется по ряду крупных шипиков, заходящих на брюшную сторону (рис. 2 б), третий абдоминальный сегмент со сплошным рядом шипиков с брюшной стороны, причем в средней части сегмента они в два раза тоньше и короче, чем по бокам. Генитальный сегмент на брюшной стороне с короткими рядами тонких мелких шипиков по бокам от генитального аппарата. Вооружение внутренней лопасти базиэндоподита Р5 (рис. 2 ж) соответствует описанию вида, однако, промежуток между третьей наружной и третьей внутренней щетинками заметно больше, чем между первы-

ми и вторыми: щетинки расположены двумя группами – внешней и внутренней. Конечный членик Р1 (рис. 2 в) несет апикально две щетинки (длинную и короткую) и изогнутый в средней части тонкий шип. Эндоподиты Р3 (рис. 2 г, д) неясно 3-члениковые, вооружение конечного членика ассиметрично – различно на правой и левой Р3. Конечный членик экзоподита Р4 (рис. 2 е) несет семь шипов и щетинок, эндоподит Р4 2-члениковый, первый членик его со щетинкой на внутреннем крае, второй – вооружен щетинкой на внутреннем крае, тремя придатками апикально и двумя шипиками на внешнем крае.

Maraenobiotus insignipes insignipes (Liljeborg, 1902) (рис. 3 а-л). Большинство из найденных нами особей полностью соответствовали по морфологии описаниям подвидов. Длина каудальных ветвей самок (рис. 3 а, б) в 1,1–1,6 раза превышала длину анального сегмента. Причем наиболее крупными каудальными ветвями отличались некоторые самки из озера Уютное (рис. 3 б). Каудальные ветви всех особей были покрыты рядами и группами шипиков, у самок число этих шипиков было большим, чем у самцов. Анальная пластинка самок с 11–14 тонкими шипиками.

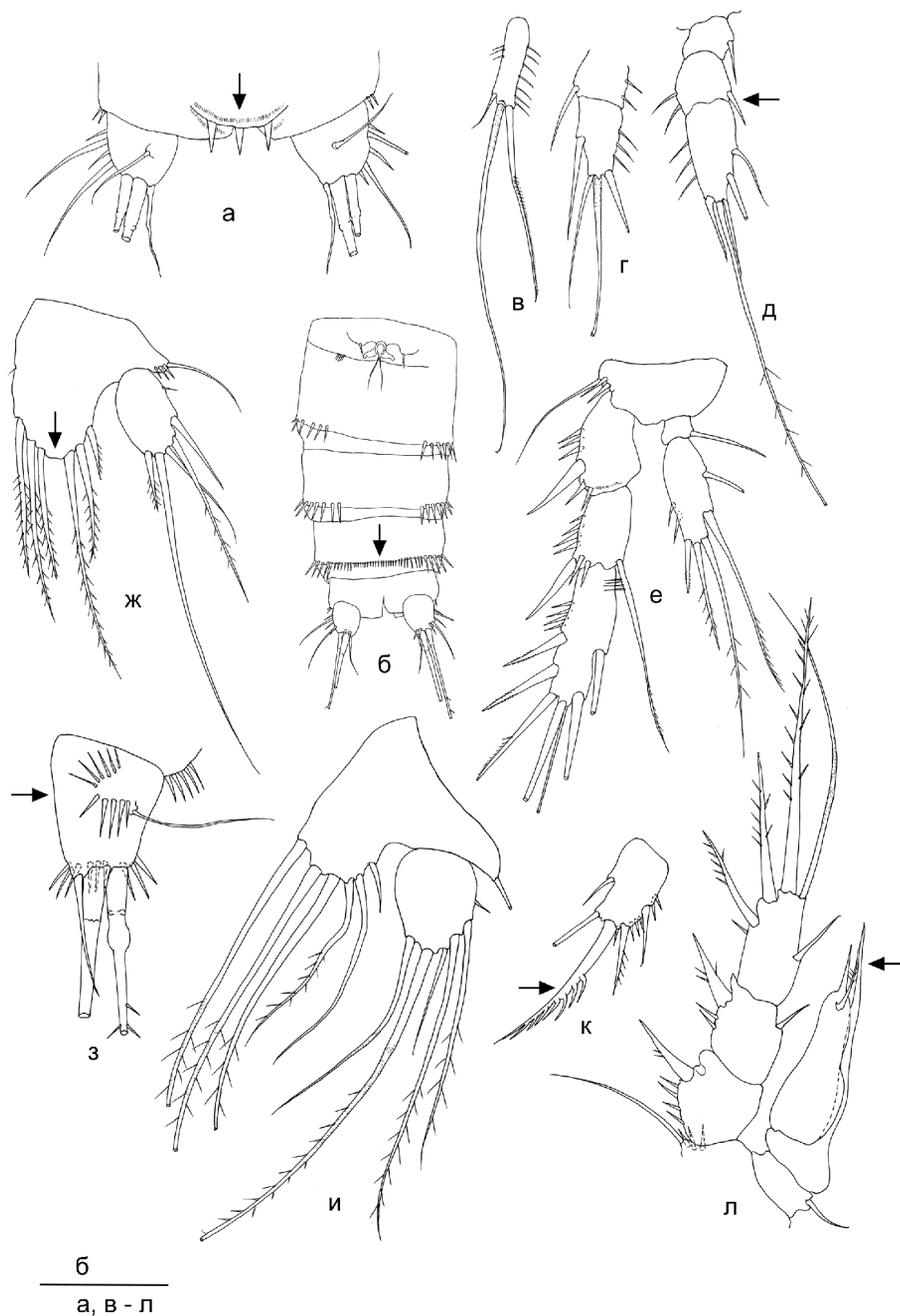


Рис. 2. Особенности морфологии гарпактикоид рода *Bryocamptus* из обследованных водоемов: а-ж – самка *B. zschokkei* из озера Ойское (OyL), з-л – *B. arcticus* из водоема Bez1. а – фурка дорсально, б – abdomen вентрально, в – конечный членик эндоподита P1, г – два последних членика эндоподита левой P3, д – эндоподит правой P3, е – P4, ж – P5, з – каудальная ветвь самки дорсовентрально, и – P5 самки, к – конечный членик экзоподита P4 самца, л – P3 самца. Стрелками показаны характерные признаки (см. текст). Масштаб: 100 μ m

Fig. 2. Morphology of harpacticoides of the *Bryocamptus* genus from examined waterbodies: а-ж – female *B. zschokkei* from Lake Oyskoe (OyL), з-л – *B. arcticus* from Bez1. а – furca, dorsal view, б – abdomen, ventral view, в – terminal segment of the P1 endopod, г – two terminal segments of the left P3 endopod, д – right P3 endopod, е – P4, ж – P5, з – caudal ramus of female, dorso-ventral view, и – P5 of female, к – terminal segment of the P4 endopod of male, л – P3 of male. Some features are shown by arrows (see the text). Scale: 100 μ m

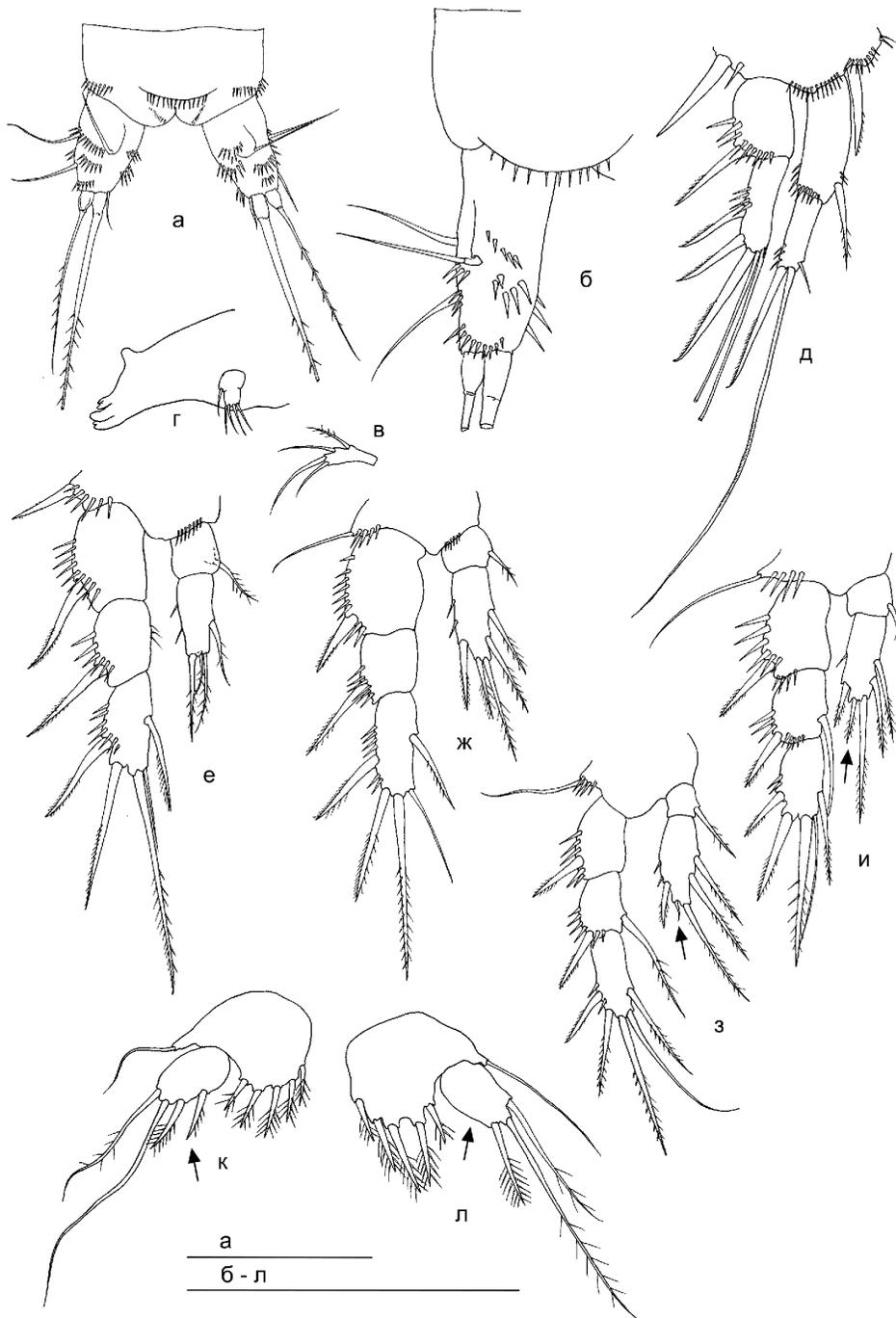


Рис. 3. Особенности морфологии самок *Maraenobiotus insignipes insignipes* из обследованных водоемов: а, г-е, и, л – из водоема Bez1, б, в, ж, з, к – из водоема UytL. а – фурка дорсально, б – каудальная ветвь и анальная пластинка, в – экзоподит A2, г – мандибула (частично) и придаток мандибулы, д-ж – P1-P3, з, и – P4, к, л – P5. Стрелками показаны характерные признаки (см. текст). Масштаб: 100 μ m

Fig. 3. Morphology of females of *Maraenobiotus insignipes insignipes* from examined waterbodies: а, г-е, и, л – from Bez1, б, в, ж, з, к – from UytL. а – furca, dorsal view, б – caudal ramus and anal operculum, в – exopod of A2, г – mandible (partially) and mandible appendage, д-ж – P1-P3, з, и – P4, к, л – P5. Some features are shown by arrows (see the text). Scale: 100 μ m

Экзоподит А2 1-члениковый, с четырьмя щетинками (рис. 3 в). Пальпа мандибулы у всех найденных особей – неясно 2-члениковая (у самцов – 1-члениковая) с пятью щетинками (рис. 3 г). Экзоподит Р1 2-члениковый (рис. 3 д), экзоподиты Р2-Р4–3-члениковые (рис. 3 е-и), эндоподиты Р1-Р4–2-члениковые (рис. 3 д-и), все со щетинкой на внутреннем крае первого членика. Конечный членик эндоподита Р4 самок – с пятью щетинками и шипиками (рис. 3 и), у одной из самок из оз. Уютное второй от внешнего края шипик на конечном членике эндоподита Р4 – очень маленький (рис. 3 з). У этой же самки (рис. 3 б, з, к) отмечен дополнительный шип на внутреннем крае экзоподита Р5. Большинство самок имели две щетинки и один шип на экзоподите Р5 (рис. 3 л) и все самки – пять шипиков на внутренней лопасти базиэндоподита Р5 (рис. 3 к, л). У самцов внутренняя лопасть базиэндоподита Р5 – с двумя шипиками, строение экзоподита Р5 было таким же, как у большинства самок. Таким образом, наблюдалась изменчивость *M. i. insignipes* в озере Уютное: большинство самок из этого озера имели характерное для подвида строение, такое же как у особей из озера Ойское, Енисея и водоемов Bez1 и Bez2, тогда как одна из самок отличалась наиболее длинными каудальными ветвями (рис. 3 б), особенным строением эндоподита Р4 (рис. 3 з) и экзоподита Р5 (рис. 3 к). Другая самка из озера Уютное имела асимметричное строение Р5: экзоподит левой Р5 – с четырьмя шипиками и щетинками, экзоподит правой Р5 – с одним шипиком и двумя щетинками.

Молекулярно-генетический анализ

Получены нуклеотидные последовательности (генетические баркоды) переменного фрагмента гена мтДНК COI четырех особей *H. inopinata* и одной *M. i. insignipes* из реки Енисей, 20 особей гарпактикоид из водо-

емов природного парка «Ергаки»: *B. arcticus*, *M. i. insignipes*, *A. nordenskioldii*, *M. mrazeki* (табл. 3). Для их сравнения с представителями родственных таксонов Harpacticoida из других регионов (озеро Байкал, плато Путорана, дельта реки Лена, Республика Коми) нами впервые были получены также баркоды *H. inopinata*, *Bryocamptus vej dovskyi* Mrazek, 1893, *A. nordenskioldii*, *A. dentata* (Poggenpol, 1874). Все полученные последовательности депонированы в базу данных GenBank под уникальными номерами (табл. 3).

Для визуализации полученных данных были построены филогенетические деревья (рис. 4). Показано, что *H. inopinata* из Енисея и Байкала образуют одну генетическую группу (рис. 4 а), также как *M. i. insignipes* из разных водоемов юга Красноярского края (рис. 4 б) и *A. nordenskioldii* из озер Ойское и Байкала (рис. 4 в). Попарные генетические дистанции, рассчитанные по методу Тамура и Неи, между особями внутри видов, обнаруженных в разных водоемах Сибири: *H. inopinata*, *M. i. insignipes* и *A. nordenskioldii*, были достаточно малы и не превышали 0,014, 0,008 и 0,036 соответственно. Однородную генетическую группу образовали особи *M. mrazeki* из оз. Ойское (рис. 4 г) – генетические дистанции между ними не превышали 0,0016, тогда как между *M. mrazeki* и другими видами *Moraria* они составили в среднем 0,255 (при сравнении с *M. brevipes* (Sars, 1862)) и 0,273 (при сравнении с *M. duthiei* (Scott, 1896)). Средняя генетическая дистанция между *H. inopinata* и *H. jejuensis* Lee, Kim & Lee, 2014 оказалась очень большой и составила 0,462, что даже больше, чем между *H. inopinata* и *Tigriopus japonicus* Mori, 1937 (0,435) и между последним и *H. jejuensis* (0,32). Дистанция между *A. nordenskioldii* и другими видами *Attheyella* варьировала от 0,226 до 0,249. При этом внутри вида между сибирскими *A. nordenskioldii*

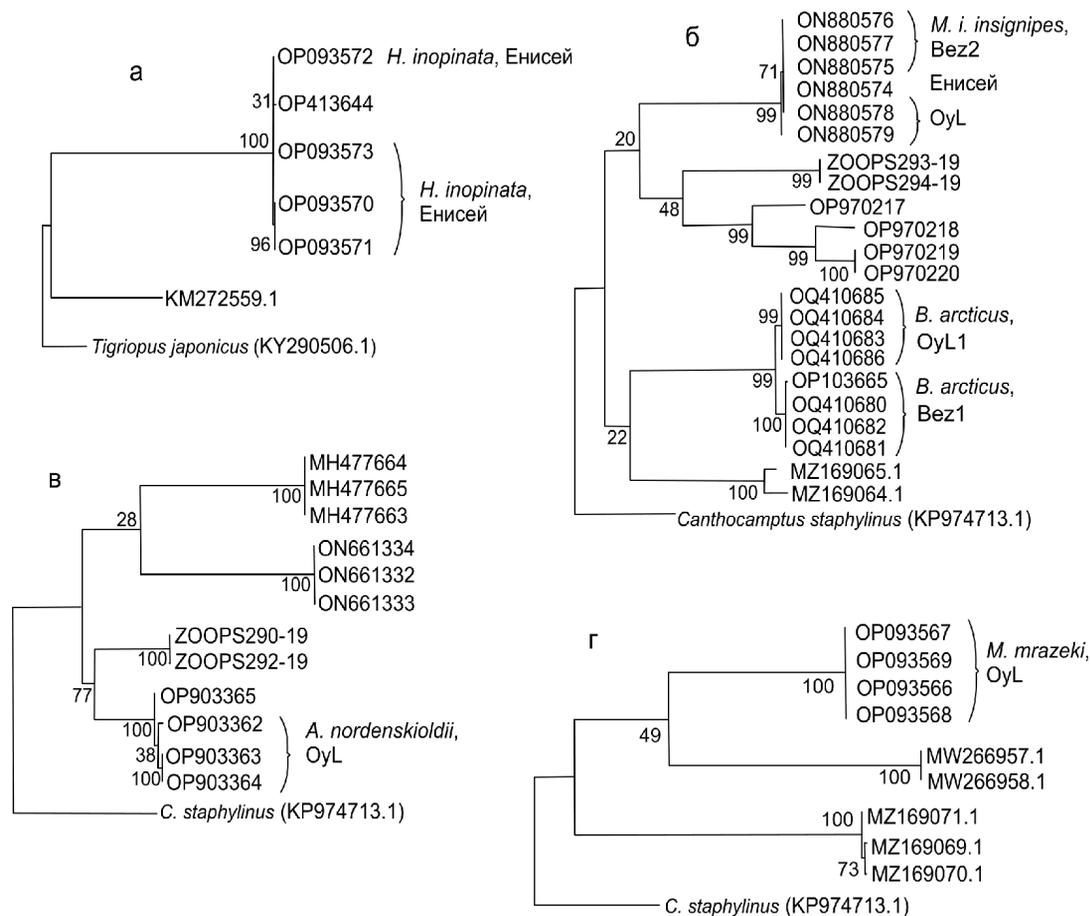


Рис. 4. Филогенетические деревья, построенные методом максимального правдоподобия на основании анализа последовательностей нуклеотидов фрагмента митохондриального гена COI гарпактикоид родов: *Harpacticella* (а), *Maraenobiotus* и *Bryocamptus* (б), *Attheyella* (в), *Moraria* (г). Указаны номера регистрации в GenBank и BOLDSYSTEMS. В качестве внешней группы использованы данные из GenBank по *Tigriopus japonicus* (а) и *Canthocamptus staphylinus* Jurine, 1820

Fig. 4. Maximum likelihood trees based on COI mitochondrial DNA gene sequences of harpacticoid genera: *Harpacticella* (а), *Maraenobiotus* and *Bryocamptus* (б), *Attheyella* (в), *Moraria* (г). GenBank, BOLDSYSTEMS accession numbers of sequences are shown. As outgroups, the sequences of *Tigriopus japonicus* (а) and *Canthocamptus staphylinus* Jurine, 1820 were used

и *A. nordenskioldii* (s. lat.) из озера Онтарио дистанция была сопоставимой и составляла в среднем 0,188. Генетические расстояния между последовательностями COI представителей рода *Maraenobiotus* из обследованных нами водоемов и видами рода *Bryocamptus* варьировали в диапазоне 0,227–0,267, тогда как между *B. arcticus* из водоемов парка «Ергаки» и другими *Bryocamptus* (подроды *Bryocamptus*, *Echinocamptus*) в диапазоне

0,253–0,278. Дистанции между *B. arcticus* из двух водных объектов «Ергаки» равнялись 0,013–0,014.

Обсуждение результатов

Насколько позволяют судить сведения из классической работы, где обсуждается распространение гарпактикоид в Евразии (Боруцкий, 1952), фауна Canthocamptidae, выявленная при обследовании водоемов юга

Красноярского края, была характерной и типичной для Сибири. Все найденные нами виды недавно были указаны также для дельты реки Лена (Novikov et al., 2021), плато Путорана (Fefilova et al., 2013; Chertoprud et al., 2022). Причем число видов и подвидов Canthocamptidae в «Ергаки» (6) оказалось более чем в 2,5 раза меньше по сравнению с числом видов в названных выше районах, что в первую очередь связано с большей их изученностью (более длительным периодом отбора проб, большим объемом собранного материала и т.д.). В дальнейшем можно ожидать расширения списка известных для региона исследований видов гарпактикоид, в основном за счет находок новых для него Canthocamptidae, а также представителей других семейств, например Phyllognathopodidae, Parastenocaridae. Последние недавно дополнили фаунистический список (Chertoprud et al., 2022), относительно опубликованного в (Fefilova et al., 2013), мейобентосных ракообразных водоемов другого горного массива Красноярского края – плато Путорана. Так же как в исследованных нами водоемах, в озерах центральной и западной части плато Путорана на высотах более 300 м над уровнем моря доминировал *M. insignipes* (s.str.) (наряду с *A. dentata*) (Chertoprud et al., 2022).

Согласно (Боруцкий, 1952; Окунева, 1989; Фефилова, 2015; Novikov et al., 2021), большинство найденных на юге Красноярского края видов и подвидов характеризуются как стенотермные холодолюбивые (*H. inopinata*, *B. zschokkei* (s. lat.), *B. arcticus*, *M. i. insignipes*, *A. nordenskioldii*), остальные – как эвритермные (*P. schmeili*, *M. mrazeki*). Интерес представляет находка в большом количестве *B. arcticus* в водоемах природного парка «Ергаки». По имеющимся данным (Боруцкий, 1952; Фефилова, 2015), в европейской части Палеарктики этот вид разви-

вается исключительно при пониженной минерализации и кислой реакции среды. Так на северо-востоке европейской части России многочисленные популяции *B. arcticus* зарегистрированы при рН воды: 3,9–5,4 и минерализации: 8–90 мг/дм³ (Фефилова, 2015). При сборе материала мы не измеряли гидрохимические показатели в водных объектах, сведения по минерализации и рН воды в озере Уютное, безымянных озер: Bez1, OyL1 отсутствуют также в работах, касающихся гидрохимии озер «Ергаки» (Глущенко и др., 2009). Поэтому массовое развитие *B. arcticus* в этих водоемах может свидетельствовать: с одной стороны, о пониженных значениях рН воды в местообитаниях вида, с другой стороны, о его особенных экологических предпочтениях в регионе исследований. Так же как в случаях с некоторыми другими широко распространенными видами копепод, например, рода *Eurytemora* (Lee, 2000; Круга, 2020; Alekseev, Sukhikh, 2022), различия в экологии популяций *B. arcticus* могут быть признаком генетической (и таксономической) неоднородности вида в пределах всего его ареала.

Результаты представленных генетических исследований гарпактикоид юга Красноярского края подтвердили идентичность *H. inopinata* из реки Енисей и особи из типового местонахождения этого вида – озера Байкал. В то же время *A. nordenskioldii* из озера Ойское по морфологическим признакам и нуклеотидным последовательностям гена COI оказался идентичным особи из Байкала, для которого ранее он указывался как эндемик озера *Canthocamptus gibba* (Okuneva, 1983) (Novikov, Sharafutdinova, 2022). Обнаруженные нами молекулярно-генетические отличия между *A. nordenskioldii* из озер Ойское, Байкал и Онтарио являются поводом пересмотреть систематическое положение североамериканских *Attheyella*: полученные

нами генетические дистанции между “сибирской” и “североамериканской” кладами соответствовали расстояниям между по меньшей мере подвидами гарпактикоид *Canthocamptidae* (Kochanova et al., 2018; Kochanova, Gaviria, 2018). Кроме того, описания морфологии *A. nordenskioldii* из озера Онтарио, чьи сиквенсы были получены ранее (Connolly et al., 2022), не было представлено, тогда как рачки этого вида из озер Ойское и Байкала были идентичны по морфологии с *A. nordenskioldii* согласно иллюстрациям и описаниям особей, собранных на Новой Земле (Боруцкий, 1952), Северном Урале (Фефилова, 2015), в дельте Лены (Novikov et al., 2021), на острове Хонсю (Ishida, 1987).

Публикаций, предоставляющих одновременно данные по морфологии и молекулярно-генетическим последовательностям ДНК гарпактикоид из внутренних водоемов, немного (Kochanova et al., 2018; Kochanova, Gaviria, 2018; Sönmez, Karaytuğ, 2019; Fefilova et al., 2020). Для большинства таксонов, обнаруженных нами на юге Красноярского края, в базах NCBI GenBank и BOLDSYSTEMS данные по структуре гена COI также отсутствуют, они были получены нами впервые. В связи с этим для будущих сравнений важным представляется обсуждение морфологических особенностей этих таксонов. Так, найденный нами массово *M. insignipes* был идентифицирован как номинативный подвид – *M. i. insignipes*, отличающийся по морфологии от других подвидов, встречающихся в горах Европы (Альпы), Азии (Гималаи) и Африки, и широко распространенный в Сибири (Боруцкий, 1952). Обнаруженные в озере

Уютное особи с признаками, не соответствующими описанию *M. i. insignipes* (в строении эндоподита P4 и экзоподита P5), по всей вероятности, были проявлением изменчивости. К сожалению, особи этого подвида из озера Уютное не были привлечены к генетическому анализу.

Данные по структуре генетического маркера *B. zschokkei* из озера Ойское также не были получены. Единственная найденная нами самка этого вида более всего сходна с подвидом *Bryocamptus zschokkei komi* Borutzky, 1962 (в вооружении задних краев абдоминальных сегментов), обитающим в Большеземельской тундре и до сих пор считающимся условным эндемиком этого региона на северо-востоке Европы (Фефилова, 2015). Однако по морфологии единственного экземпляра преждевременно идентифицировать обитающего в озере Ойское *B. zschokkei* до подвида.

Заключение

Результаты наших исследований гарпактикоид юга Красноярского края вносят вклад, прежде всего, в биогеографическое изучение веслоногих ракообразных восточной части Палеарктики, сведений для которой немного. Новые данные по фауне, морфологии и генетике видов и подвидов позволят определить филогеографические паттерны биоразнообразия этой обширной области. Кроме того, впервые рассчитанные генетические дистанции между широко и узко распространенными таксонами обогащают знания по особенностям формирования глобального генетического разнообразия Harpacticoida.

Список литературы / References

Боруцкий Е. В. (1952) *Harpacticoida пресных вод. Фауна СССР. Т. 3, вып. 4. Ракообразные*. Москва, Ленинград, Издательство Академии наук СССР, 425 с. [Borutskiy E. V. (1952) *Freshwater Harpacticoida. Fauna of the USSR. Vol. 3, Issue 4. Crustaceans*. Moscow, Leningrad, USSR Academy of Sciences, 425 p. (in Russian)]

Глущенко Л. А., Дубовская О. П., Иванова Е. А., Шулепина С. П., Зуев И. В., Агеев А. В. (2009) Гидробиологический очерк некоторых озер горного хребта Ергаки (Западный Саян). *Журнал Сибирского федерального университета. Биология*, 2(3): 355–378 [Glushchenko L. A., Dubovskaya O. P., Ivanova E. A., Shulepina S. P., Zuev I. V., Ageev A. V. (2009) Hydrobiologic survey of some lakes of mountain range Ergaki (West Sayan). *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 2(3): 355–378 (in Russian)]

Окунева Г. Л. (1989) *Гарпактициды озера Байкал*. Иркутск, Издательство Иркутского университета, 152 с. [Okuneva G. L. (1989) *Harpacticoids of Lake Baikal*. Irkutsk, Irkutsk State University, 152 p. (in Russian)]

Фефилова Е. Б. (2015) *Фауна европейского Северо-Востока России. Т. XII. Веслоногие раки (Copepoda)*. Москва, Товарищество научных изданий КМК, 319 с. [Fefilova E. B. (2015) *Fauna of the European North-East of Russia. Vol. XII. Copepods (Copepoda)*. Moscow, KMK Scientific Press, 319 p. (in Russian)]

Фефилова Е. Б., Попова Е. И., Майор Т. Ю., Новиков А. А., Велегжанинов И. О., Голубев М. А., Бакашкина А. С. (2023) Морфологическая и генетическая идентификация *Harpacticella inopinata* (Harpacticoida, Copepoda) из оз. Байкал и р. Енисей (Россия). *Биология внутренних вод*, 5: 650–659 [Fefilova E. B., Popova E. I., Mayor T. Yu., Novikov A. A., Velegzhaninov I. O., Golubev M. A., Bakashkina A. S. (2023) Morphological and genetical identification of *Harpacticella inopinata* Sars (Harpacticoida, Copepoda) from Lake Baikal and the Enisey River. *Inland Water Biology*, 5: 650–659 (in Russian)]

Alekseev V., Sukhikh N. (2022) Copepod cryptic species as aquatic invaders. *Limnology and Freshwater Biology*, 5: 1645–1655

Anishchenko O. V., Dubovskaya O. P., Zuev I. V., Ageev A. V., Ivanova E. A., Glushchenko L. A. (2015) Morphometry and metal concentrations in water and bottom sediments of mountain lakes in Ergaki Natural Park, Western Sayan Mountains. *Water Resources*, 42(5): 670–682

Chertoprud E. S., Novichkova A. A., Novikov A. A., Fefilova E. B., Vorobjeva L. V., Pechenkin D. S., Glubokov A. I. (2022) Assemblages of meiobenthic and planktonic microcrustaceans (Cladocera and Copepoda) from small water bodies of mountain Subarctic (Putorana Plateau, Middle Siberia). *Diversity*, 14(6): 492

Connolly J. K., O'Malley B. P., Hudson P. L., Watkins J. M., Burlakova L. E., Rudstam L. G. (2022) Importance of nonindigenous harpacticoids (Crustacea: Copepoda) decrease with depth in Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 48(2): 412–427

Fefilova E., Dubovskaya O., Frolova L., Abramova E., Kononova O., Nigamatzyanova G., Zuev I., Kochanova E. (2022) Biogeographic patterns of planktonic and meiobenthic fauna diversity in inland waters of the Russian Arctic. *Freshwater Biology*, 67(1): 78–94

Fefilova E., Dubovskaya O., Kononova O., Khokhlova L. (2013) A comparative survey of the freshwater copepods of two different regions of the Central Palaeartic: European and Siberian. *Journal of Natural History*, 47(5–12): 805–819

Fefilova E. B., Sukhikh N. M., Rasova E. E., Velegzhaninov I. O., Abramova E. N. (2020) New data on the expansion of *Eurytemora* Giesbrecht (Copepoda: Calanoida) in the Russian Arctic region. *Doklady Biological Sciences*, 492: 86–88

Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294–299

Gladyshev M. I., Anishchenko O. V., Sushchik N. N., Kalacheva G. S., Gribovskaya I. V., Ageev A. V. (2012) Influence of anthropogenic pollution on content of essential polyunsaturated fatty acids in links of food chain of river ecosystem. *Contemporary Problems of Ecology*, 5(4): 376–385

Gladyshev M. I., Sushchik N. N., Shulepina S. P., Ageev A. V., Dubovskaya O. P., Kolmakova A. A., Kalachova G. S. (2016) Secondary production of highly unsaturated fatty acids by zoobenthos across rivers contrasting in temperature. *River Research and Applications*, 32(6): 1252–1263

Ishida T. (1987) Freshwater harpacticoid copepods of Hokkaido, Northern Japan. *Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery*, 41: 77–119

Kochanova E., Nair A., Sukhikh N., Väinölä R., Husby A. (2021) Patterns of cryptic diversity and phylogeography in four freshwater copepod crustaceans in European lakes. *Diversity*, 13(9): 448

Kochanova E. S., Fefilova E. B., Sukhikh N. M., Velegzhaninov I. O., Shadrin D. M., Pylina Ya. I., Alekseev V. R. (2018) Morphological and molecular-genetic polymorphism of *Canthocamptus staphylinus* Jurine (Harpacticoida, Copepoda, Crustacea). *Inland Water Biology*, 11(2): 111–123

Kochanova E. S., Gaviria S. (2018) Integrative taxonomy of the freshwater harpacticoid *Attheyella crassa* G. O. Sars, 1863 (Crustacea: Copepoda: Canthocamptidae) in the Palearctic region. *Invertebrate Zoology*, 15(3): 267–276

Krupa E. G. (2020) The ecological preferences of *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880) in the water bodies of Kazakhstan (Central Asia) and some notes about *Eurytemora caspica* Sukhikh & Alekseev, 2013. *Crustaceana*, 93(3–5): 405–428

Lang K. (1948) *Monographie der Harpacticiden, Vols. I, II*. Stockholm, Nordiska Bokhandeln, 1682 p.

Lee C. E. (2000) Global phylogeography of a cryptic copepod species complex and reproductive isolation between genetically proximate populations. *Evolution*, 54(6): 2014–2027

Lee S., Kim K., Lee W. (2014) A new species of *Harpacticella* Sars, 1908 (Copepoda, Harpacticoida), from a tidal pool on Jeju Island, Korea. *ZooKeys*, 445: 13–30

Nei M., Kumar S. (2000) *Molecular evolution and phylogenetics*. New York, Oxford University Press, 333 p.

Novikov A., Sharafutdinova D., Chertoprud E. (2023) Two new species of *Bryocamptus* (Copepoda, Harpacticoida, Canthocamptidae) from the Russian Arctic and comparison with *Bryocamptus minutus* (Claus, 1863). *ZooKeys*, 1138: 89–141

Novikov A., Sharafutdinova D. (2022) Revision of the genus *Canthocamptus* (Copepoda: Harpacticoida) with a description of a new species from the Lena River Delta (North-eastern Siberia). *European Journal of Taxonomy*, 826(1): 33–63

Novikov A. A., Abramova E. N., Sabirov R. M. (2021) Fauna of freshwater Harpacticoida (Copepoda) in the Lena River delta. *Biology Bulletin*, 48(9): 1462–1472

Novikov A., Sharafutdinova D. (2020) A new species of *Maraenobiotus* (Copepoda, Harpacticoida) from Lena River Delta (North-Eastern Siberia). *Zootaxa*, 4852(2): 177–190

Sönmez S., Karaytuğ S. (2019) Morphological and molecular contribution to the taxonomy of *Attheyella* (*Attheyella*) *crassa* (G. O. Sars, 1863) species complex (Harpacticoida: Canthocamptidae). *Acta Zoologica Bulgarica*, 71(1): 9–16

Tamura K., Nei M. (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3): 512–526

Tamura K., Stecher G., Kumar S. (2021) MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7): 3022–3027

Zuev I. V., Dubovskaya O. P., Ivanova E. A., Gluschenko L. A., Shulepina S. P., Ageev A. V. (2012) Evaluation of the potential fish productivity of Lake Oiskoe (Ergaky Mountain Range, West Sayan) basing on food supply. *Contemporary Problems of Ecology*, 5(4): 470–479