

Санкт-Петербургский Государственный Университет

**Шапкина Анна Олеговна**

**Генетическая и морфологическая изменчивость космополитного вида  
мезопелагических креветок *Systellaspis debilis* (Decapoda: Oplophoridae)  
в Атлантическом и Индийском океанах**

Выпускная квалификационная работа

по направлению подготовки: 06.03.01 Биология

основная образовательная программа магистратуры: Биология

Научный руководитель:

Доцент кафедры Зоологии Беспозвоночных СПбГУ,

к.б.н. Хайтов Вадим Михайлович

Научный консультант:

Старший научный сотрудник лаборатории

структуры и динамики планктонных сообществ

Института Океанологии им. П.П. Ширшова РАН,

к.б.н. Кулагин Дмитрий Николаевич

Санкт-Петербург,

2022

## Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	6
1. Экология мезопелагиали.....	6
1.1. Мезопелагиаль как экологическая зона океана.....	6
1.2. Зоопланктонные сообщества мезопелагиали.....	9
2. Биогеография и структура пелагических сообществ.....	14
2.1. Понятие популяции в планктоне.....	14
2.2. Факторы, влияющие на структуру планктонных сообществ.....	16
2.3. Принципы создания биогеографических классификаций и схемы районирования мезопелагиали.....	20
3. Подходы к изучению структуры видов зоопланктона.....	24
3.1. Морфологический анализ.....	24
3.2. Генетический анализ.....	25
3.3. Исследование биогеографии и популяционной структуры пелагических Decapoda.....	28
3.4. Истинные космополиты и виды, утратившие этот статус.....	31
4. Объект исследования.....	35
4.1. Систематическое положение, исторический экскурс.....	35
4.2. Морфологические особенности <i>S. debilis</i> .....	39
4.3. Ареал.....	40
4.4. Биологические и экологические особенности <i>S. debilis</i> .....	41
Глава 2. Материалы и методы.....	43
1. Сбор и фиксация материала.....	43
2. Выбор маркеров.....	44
3. Выделение ДНК, амплификация и секвенирование.....	46
4. Филогенетический анализ.....	47
4.1. Создание выравниваний.....	48

4.2. Построение деревьев .....	48
4.3. Анализ генетического разнообразия .....	49
5. Морфологический анализ .....	49
6. Статистическая обработка .....	50
Глава 3. Результаты и их обсуждение .....	52
1. Анализ генетической структуры вида .....	52
1.1. Анализ по гену COI .....	52
1.2. Анализ по гену ITS-1 .....	58
2. Анализ морфологической и генетической изменчивости .....	62
2.1. Результаты RDA .....	62
2.2. Сопоставление результатов генетического и морфологического анализов .....	66
3. Проверка таксономического статуса <i>S. liui</i> .....	69
3.1. Генетические отличия .....	69
3.2. Морфологические отличия .....	71
3.3. Выводы касательно таксономического статуса <i>S. liui</i> .....	72
Выводы .....	74
Благодарности .....	75
Список литературы .....	76
Приложения .....	76

## Введение

Одним из главных факторов эволюционного процесса является географическая изоляция популяций, приводящая к дивергенции генофондов (Reijnenburg, 2004). Изолирующие факторы в морских системах гораздо менее очевидны, чем для обитателей суши. Модели, разработанные для сухопутных организмов могут быть применены для бентоса, однако не подходят для объяснения механизмов изоляции в планктонных сообществах. Несмотря на обитание в высокоподвижной среде океана, лишь некоторые обитающие на значительных расстояниях виды зоопланктона генетически однородны (Churchill, 2014). В большинстве случаев различные преграды для свободного потока генов приводят к образованию нескольких генетических линий в рамках одного вида (Goetze, 2015, González, 2020). Пути формирования генетической структуры популяций зоопланктона изучены недостаточно, особенно мало информации имеется касательно обитателей мезопелагиали.

Изучение структуры мезопелагических сообществ имеет большое значение как для понимания путей формирования планктонных сообществ, роли океана в глобальном круговороте углерода и регуляции климата, так и для поддержки рыбной промышленности, добычи объектов, потенциально полезных в медицине или других областях (Robinson et al., 2010). Помимо перечисленного, сложно предсказать, насколько велика для планеты угроза таких масштабных процессов как изменение климата, и антропогенное воздействие (коммерческое рыболовство, загрязнение пластиком и другими продуктами нефтехимической промышленности, разработка донных полезных ископаемых и т.д.). Изучение глубоководных экосистем поможет более точно оценить последствия таких масштабных процессов как изменение климата, и антропогенное воздействие на планету (Sutton et al., 2017).

Особое место в морских экосистемах занимает мезопелагиаль – зона пелагиали, расположенная на глубине от 200 до 1000 м (Costello, Breyer, 2017). Для мезопелагиали характерен низкий уровень освещенности, который недостаточен для фотосинтеза, но позволяет хищникам, использующим зрение, находить добычу (Robinson et al., 2010; Robison, 2003). Около 40% от общей биомассы мезопелагического планктона составляют креветки (Vereshchaka et al., 2017).

В качестве объекта для данной работы был выбран массовый вид креветок *Systellaspis debilis*, обитающий в диапазоне глубин 150-650 м (Hopkins et al., 1994).

Данный вид играет важную роль в трофических сетях океана (Буруковский, 1992). Согласно литературным данным, вид является космополитным, и имеет широкое распространение, встречаясь в Атлантическом, Индийском и Тихом океанах в диапазоне широт от 63° с.ш. до 58° ю.ш. (Iwasaki, Nemoto, others, 1987). Столь обширный ареал вида всегда вызывает вопросы о его филогеографической структуре. Однако, как и для множества представителей мезопелагического зоопланктона, информации о данном виде, накопленной к настоящему времени, недостаточно для анализа генетической структуры вида в масштабе планеты), а также для интерпретации описанных в литературе морфологических различий между особями *S. debilis* из различных регионов (Crosnier, 1987).

Вопрос о степени внутривидовой генетической и морфологической изменчивости встал также после описания нового вида, *S. liui*, наиболее схожего по особенностям внешнего строения и последовательности гена COI с *S. debilis* (Sha, Wang, 2015), в связи с чем его таксономический статус по-прежнему считается неоднозначным (Lunina, Kulagin, Vereshchaka, 2018).

В данной работе мы поставили перед собой следующую цель: описать и проанализировать генетическую структуру вида и оценить степень морфологических различий особей *S. debilis* из Атлантического и Индийского океанов.

Для достижения этой цели были выдвинуты следующие задачи:

1. Подбор маркеров и условий ПЦР для генетического анализа внутривидовой структуры *S. debilis*
2. Анализ генетического разнообразия креветок *S. debilis* из разных районов с привлечением дополнительных материалов из открытой базы данных GenBank
3. Анализ изменчивости морфологических признаков *S. debilis*
4. Сопоставление результатов генетического и морфологического анализов
5. Прояснение таксономического статуса *S. liui*

# Глава 1. Обзор литературы

## 1. Экология мезопелагиали

### 1.1. Мезопелагиаль как экологическая зона океана

Около 71 % поверхности нашей планеты покрыто океанами, средняя глубина которых составляет 3800 м, а общий объем вод - приблизительно  $1368 \cdot 10^6$  км<sup>3</sup> (Angel, 1993). В океанах и морях существуют два основных биотопа: пелагиаль (pelagos - открытые воды) и бенталь (benthos - дно, глубина). Пелагиаль Мирового океана по вертикали подразделяют на несколько зон в связи с условиями среды и населяющими их сообществами: эпипелагиаль, мезопелагиаль, батипелагиаль и абиссопелагиаль (Виноградов, 1968).

Мезопелагиаль, или сумеречная зона, характеризуется низким уровнем освещенности, который недостаточен для фотосинтеза, но позволяет хищникам, использующим зрение, находить добычу (Robinson et al., 2010; Robison, 2004). За верхнюю границу мезопелагиали принято считать глубину, на которую проникает 1% падающего на поверхность океана света – в среднем около 200 м (Costello, Breyer, 2017). Как правило, нижней границей мезопелагиали считают горизонт 1000-1200 м, ниже которого свет совсем не проникает (Widder, 2002; Wong et al., 2015). Количество проникающего света зависит от обилия планктона в эпипелагиали, а также от количества взвеси в верхних слоях, поэтому верхняя граница мезопелагиали, как и нижняя, непостоянная и зачастую находится на большей глубине с удалением от берега (Costello, Breyer, 2017).

#### *1.1.1. Условия среды в мезопелагиали*

Важно отметить, что мезопелагическая зона не однородна, а охватывает широкий диапазон значений параметров среды. Градиенты различных физических (температура, соленость, давление) и биогеохимических параметров (концентрация кислорода, азотсодержащих соединений) сильно варьируют в толще мезопелагической зоны. Колебания значений этих параметров влияют на распределение и поведенческие адаптации глубоководных обитателей (Robinson et al., 2010) и могут способствовать формированию особых областей или экологических ниш с повышенными биоразнообразием и биомассой. Такие области связаны с границами водных масс, течениями, зонами сдвига, внутренними приливами и вихрями (Robinson et al., 2010).

Условия среды меняются меньше на больших глубинах, поэтому зоны, на которые подразделяют водную толщу, занимают тем большие диапазоны глубин, чем глубже они находятся. Так, на каменистом побережье различные биотопы могут быть разделены десятками сантиметров, в эпипелагиали и инфралиторали расстояние между соседними экологическими нишами составляет, как правило, десятки метров, а в мезопелагиали – сотни метров в глубину (Costello, Breyer, 2017).

По сравнению с мезопелагической зоной, условия в батипелагической зоне изменяются с глубиной незначительно: свет отсутствует, а колебания значений абиотических параметров невелики (Costello, Breyer, 2017). По этой причине зоны, находящиеся глубже мезопелагиали – батияль, абиссаль и хадаль, иногда объединяют и рассматривают как единую истинно глубоководную зону, хотя абиссаль часто выделяют как слой воды на глубине более 2000 м в связи с минимальными колебаниями параметров среды в этой зоне. Однако наличие экологических границ между батиялью и абиссалью все еще не доказано (Costello, Breyer, 2017).

Ключевые процессы, происходящие в мезопелагиали, во многом определяет освещенность – в верхнем ее слое находится граница фотической зоны, в связи с чем количества света недостаточно для фотосинтеза, а ближе к нижней границе мезопелагиали освещенности недостаточно даже для охоты хищников, использующих зрение (Robinson et al., 2010). Более глубокие слои воды, начиная с батипелагиали, освещаются только за счет отдельных люминисцирующих организмов (Widder, 2002; Wong et al., 2015).

Мезопелагиаль характеризуется также высоким гидростатическим давлением (Robinson et al., 2010). Низкий уровень освещенности делает фотосинтез в мезопелагиали невозможным, поэтому основной происходящий здесь процесс с точки зрения круговорота углерода - дыхание. По этой причине концентрация кислорода в мезопелагических водах падает, образуя т.н. зоны кислородного минимума (Costello, Breyer, 2017).

В толще мезопелагиали находится главный термоклин, характеризующийся значительными градиентами химических и физических параметров среды и формированием слоёв повышенной плотности, способных удерживать тонущий детрит, останки планктонных организмов (Giorgio Del, Duarte, 2002; Michaels, Silver, 1988). Показатели температуры в мезопелагиали колеблются в широком диапазоне от 20 °C ближе к границе с эпипелагиалью до ~ 4 °C ближе к границе с батияльной зоной (Talley et al., 2011). Значения солености в мезопелагиали изменяются меньше, от 34,5 до 35 psu.

Плотность варьируется от 1023 до 1027 г/кг морской воды (Talley et al., 2011). Такие изменения градиентов температуры, солености и плотности воды приводят к стратификации вод - их разделению на слои или отдельные водные массы. Стратификация водных масс отражается на градиентах других параметров среды и смешивании питательных веществ и растворенных газов, в связи с чем мезопелагиаль называют динамичной зоной (Talley et al., 2011).

Мезопелагиаль играет важную роль в цикле биогенных элементов за счет процессов дыхания и минерализации. Именно через мезопелагиаль углерод и другие элементы проходят из эпипелагиали в более глубокие слои в виде морского снега (Robinson et al., 2010). Несмотря на низкую относительно эпипелагиали скорость процессов жизнедеятельности, в настоящее время мезопелагиаль считается зоной наиболее интенсивной минерализации. Здесь минерализуется около 90% всех взвешенных органических частиц, поступающих из фотической зоны. Таким образом, мезопелагиаль играет важную роль в снабжении фотической зоны неорганическими веществами (Vidal, Duarte, Agustí, 1999). Несмотря на значимость мезопелагических вод в глобальных циклах, на данный момент трофические взаимодействия и сопутствующие процессы, происходящие в этом слое, слабо изучены по причине трудностей проведения измерений на больших глубинах (Vidal et al., 1999, Robinson et al., 2010).

Для аэробного дыхания необходим кислород, проникновение которого в мезопелагиаль существенно ограничено из-за стратификации вод. Кроме того, кислород активно потребляется мезопелагическими организмами, особенно в процессе биоминерализации оседающих из эпипелагиали органических веществ, что, в совокупности, приводит к образованию в толще мезопелагиали зон кислородного минимума. Обширные зоны кислородного минимума существуют в тропических широтах Тихого и Индийского океанов (Robinson et al., 2010). Низкие концентрации кислорода в воде могут препятствовать аэробному дыханию, уступая место анаэробному процессу - хемосинтезу, причем вклад этого процесса в фиксацию углерода в мезопелагиали может быть сопоставим с продукцией гетеротрофных организмов (Reinthal et al., 2010; Sanders et al., 2016).

Скорость процессов жизнедеятельности в мезопелагиали ниже, чем в эпипелагиали: было показано, что активность метаболизма уменьшается с глубиной и, соответственно, понижением температуры воды (Frost et al., 2012).

## 1.2. Зоопланктонные сообщества мезопелагиали

В мезопелагиали обитает как таксономически, так и экологически невероятно многообразное сообщество, включающее вирусы, бактерии, археи, протисты, а также многоклеточные организмы: зоопланктон и нектон (Robinson et al., 2010). Особенности мезопелагических сообществ определяются абиотическими (физическими и химическими), биотическими факторами (например, трофическими взаимодействиями), а также экологическими особенностями видов (например, их способностью к вертикальным миграциям) (Robinson et al., 2010).

Также стоит отметить такую адаптацию к условиям низкой освещенности как способность к биолюминисценции, широко распространенную среди зоопланктона. Считается, что биолюминисценция необходима для коммуникации между особями одного вида, привлечения пищи, избегания хищников и размножения (Widder, 2002; Wong et al., 2015).

### *1.2.1. Особенности таксономического состава*

Морской зоопланктон - чрезвычайно разнообразная таксономически группа пелагических организмов, включающая представителей 12 типов животных (Ann Bucklin et al., 2010).

Неотъемлемыми компонентами зоопланктонных сообществ мезопелагиали являются сифонофоры, гребневики, аппендикулярии, щетинкочелюстные и крылоногие моллюски, копеподы, амфиподы, эуфаузииды и креветки (Robinson et al., 2010). Поскольку пищевые ресурсы в мезопелагиали ограничены, многие ее обитатели – особенно эффективные охотники (Kaartvedt et al., 2015).

Важную роль в мезопелагических трофических сетях играет желетельный планктон благодаря способности охотиться активно, вопреки более ранним представлениям, и даже демонстрируя социальное поведение (Kaartvedt et al., 2015). В противоположность распространенному ранее мнению, обилие желетелого планктона увеличивается с глубиной (Robison, 2009). Их численность прежде значительно недооценивалась в связи с использованием традиционных для сбора материала планктонных сетей, в которых желетельные организмы повреждались и разрушались (Harbison et al., 1978). В настоящее время, благодаря использованию спускаемых аппаратов общепринято мнение, что

желетельный планктон – доминирующая группа среди глубоководных сообществ на широком диапазоне глубин (Robison, 2009).

Мезопелагические сообщества тропиков характеризуются биомассой около 1-8 мг\*м<sup>3</sup>, причем желетельный планктон составляет 1/10, нежелетельный мезопланктон – 1/2, а креветки – 2/5 от общей биомассы. Таким образом, среди нежелетелого планктона основную роль в мезопелагиали играют креветки (Vereshchaka, 2017).

### *1.2.2. Роль мезопелагического зоопланктона в трофических сетях.*

Обитатели мезопелагиали адаптированы к условиям низкой освещенности и недостатка питательных веществ, образуя высокоэффективную экосистему организмов (Haas, 2003), которые перерабатывают опускающиеся из эпипелагиали органические вещества (Miller, Wheeler, 2012). В результате деятельности микроорганизмов, зоопланктона и nekтона в мезопелагиали, из всей массы органики, поступающей из поверхностных слоев, до батипелагиали доходит лишь 10% органических веществ. Основные трофические группы здесь - мигрирующие фитофаги (в дневное время), детритофаги, питающиеся мертвой органикой и пеллетами, а также хищники (см. рис. 1), поедающие обе перечисленные группы и друг друга (Miller, Wheeler, 2012).

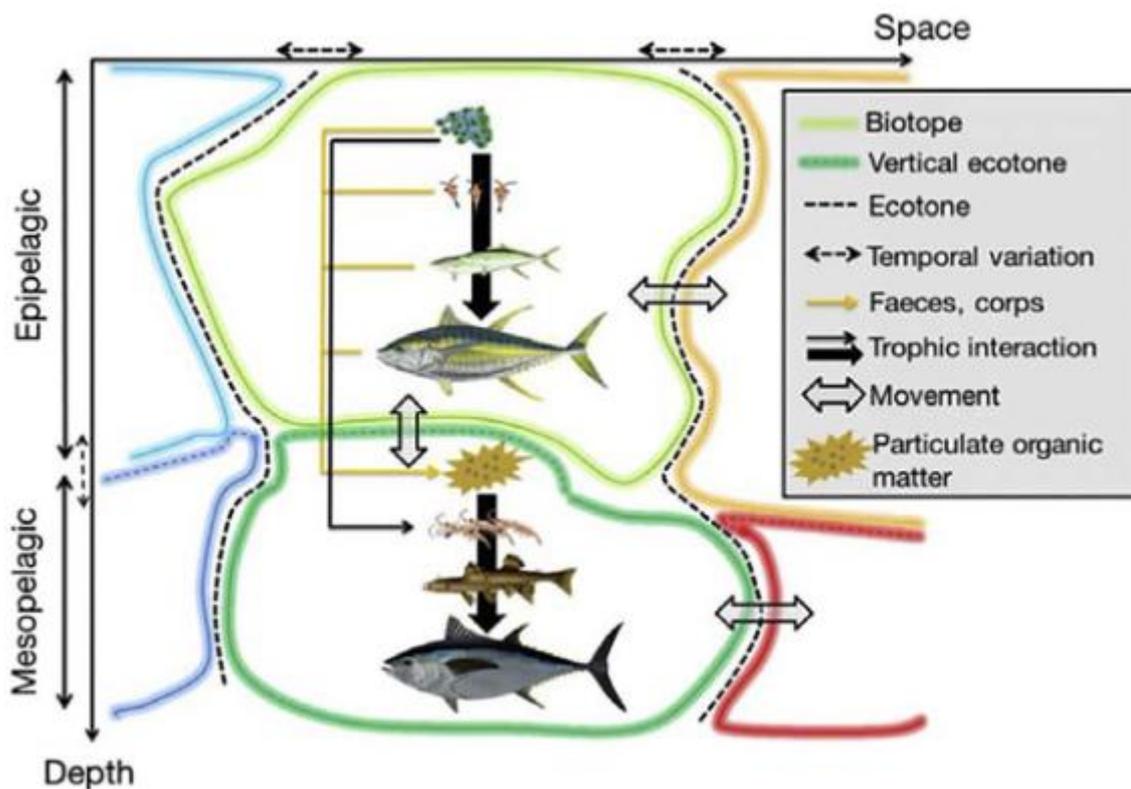


Рисунок 1. Схематическая диаграмма экосистемы в общем виде в пределах отдельной экологической зоны – биогеохимической провинции (Reygondeau, Dunn, 2019)

Особенность мезопелагиали - присутствие планктонных организмов, совершающих вертикальные суточные миграции в поисках пищи и/или для избегания хищников (Péres, Devèze, 1963), в то время как большинство батипелагических обитателей во взрослом возрасте миграций не совершают. Суточные вертикальные миграции (СВМ), характерные для многих видов мезопелагического зоопланктона, приводят к временному увеличению биоразнообразия и биомассы в мезопелагиали в течение светового дня (Steinberg et al., 2008). Суточные вертикальные миграции совершают представители таких пелагических групп, как копеподы, эуфаузииды, креветки, остракоды, амфиподы, щетинкочелюстные, сифонофоры (Steinberg et al., 2008). Вертикальные миграции могут быть также связаны с онтогенезом: так, в северных широтах копеподы совершают вертикальные миграции, связанные с жизненным циклом, что приводит к значительному росту их встречаемости в мезопелагиали в определенные сезоны (Steinberg et al., 2008).

Важный элемент трофических сетей мезопелагиали – ракообразные - декаподы и мизиды (Hopkins et al., 1994). В основном микронектонные организмы питаются зоопланктоном, причем по большей части ракообразными (Foxton, Roe, 1974). Микронектонными ракообразными питаются, в свою очередь, головоногие моллюски,

мезопелагические и эпипелагические (в том числе промысловые виды) мигрирующие рыбы, а также китообразные (Clarke & Cummins, 1982).

### *1.2.3. Мезопелагические виды-космополиты*

Существенную долю мезопелагического зоопланктона составляют виды с широким географическим распространением, так называемые виды-космополиты. Некоторые космополитные виды встречаются циркумглобально, в диапазоне широт от 40° с.ш. до 40° ю.ш. Внутри таких широких ареалов может быть мало препятствий для распространения особей, однако, несмотря на это, виды зачастую демонстрируют генетическую структурированность популяции (Bucklin, 2018).

В связи с трудностями сбора материала на большой глубине, а также гигантскими размерами биотопов, данных о структуре популяций в мезо- и батипелагиали имеется значительно меньше по сравнению с эпипелагиалью. Если учесть также, что и физические, и биологические условия среды в глубинных водах океана более однородные, чем в эпипелагиали (Robinson et al., 2010), то вопрос о факторах, структурирующих популяции мезопелагических животных, становится еще более интересным.

Некоторые авторы для ответа на этот вопрос проводили более или менее широкомасштабные исследования популяционной структуры отдельных групп организмов, экстраполируя результаты на другие таксоны. Объектами таких исследований были щетинкочелюстные (Kulagin et al., 2017; Miyamoto et al., 2010, 2012), копеподы (Andrews et al., 2014; Laakmann et al., 2012) и эуфаузииды (Kulagin et al., 2021). Данные работы свидетельствуют о том, что структурированность популяций в мезопелагиали может быть не ниже, чем в эпипелагиали, а также помогают понять роль различных факторов среды в разделении популяций (см. главу 2.1. «Факторы, влияющие на структуру планктонных сообществ»).

Движение водных масс в океане должно способствовать постоянному генетическому обмену между популяциями, поэтому ранее считалось, что в связи с отсутствием видимых барьеров для генетического обмена, большинство планктонных видов являются космополитами (Palumbi, 1994; Wilson and Hessler, 1987). Однако, развитие молекулярных методов привело к переоценке описанных ранее видов и показало преждевременность заключений о слабой структурированности популяций планктона. Оказалось, что зоопланктон представлен значительно большим числом видов и генетических линий, чем можно было предположить, исходя из большой численности популяций, отсутствия видимых барьеров для генетического потока в открытом океане (Andrews et al., 2014).

Работы, опубликованные за последние десятилетия, показывают, что многие рассматриваемые ранее как космополиты виды характеризуются значительной внутривидовой изменчивостью. Также проведенные исследования указывают на то, что эта изменчивость проявляется в наличии нескольких генетических линий внутри вида и географически разобщенных популяций (Peijnenburg & Goetze, 2013). Таким образом, на настоящий момент накопленных данных достаточно, чтобы заключить: многие (если не большинство) космополитичных видов являются группами из нескольких генетических линий или видов (Bucklin et al., 2016; Cornils et al., 2017; González et al., 2020; Kulagin et al., 2014, 2021; Lindeque et al., 2013; Lunina et al., 2019).

Более того, исследования показали, что в толще воды, несмотря на отсутствие видимых границ, для многих видов существует четкое структурирование популяций (Burrige et al., 2015; Cornils & Held, 2014; Norton & Goetze, 2013; Stupnikova et al., 2013). Механизмы, определяющие структуру планктонных сообществ в мезопелагиали и, соответственно, эволюционные процессы, приводящие к тому или иному пространственному распределению ее обитателей, на данный момент изучены слабо (Andrews et al., 2014; Goetze et al., 2017) и будут описаны далее (см. главу 2.2 «Факторы, влияющие на структуру планктонных сообществ»). В то же время, другие предстают генетически однородной группой, имеющих широкое распространение (Deagle et al., 2015; Dudoit et al., 2018).

Как следствие описанной переоценки биоразнообразия планктонных видов снова встал вопрос о возможности неограниченного генетического рассеивания и перемешивания в масштабе планеты (Norris, 2000). Ранее предполагалось, что ограниченным дрейфом генов связан с большим эффективным размером популяции (A Bucklin & Wiebe, 1998; Peijnenburg et al., 2004a). В связи с этим развивалась идея об отсутствии генетической структуры в популяциях космополитных видов несмотря на их обширные ареалы (Peijnenburg et al., 2004b; Provan et al., 2009). Однако, многие эмпирические исследования доказали наличие генетической структуры популяций в пространстве разного масштаба: между бассейнами океанов, основными круговоротами внутри одного океана, и более локально – в масштабе морских заливов и эстуариев (Leocadio Blanco-Bercial et al., 2011; Papetti et al., 2005) (Chen and Hare 2011).

Более того, для отдельных голопланктонных видов были обнаружены несколько генетических линий, существующих в симпатрии (например, для копепод *Calanus spp.* и *Acartia clausi* (A Bucklin et al., 2000), *Eucalanus hyalinus* and *E. spinifer* (Goetze, 2005), *Haloptilus longicornis* (Goetze, 2011), морских стрелок *Eukrohnia hamata* и планктонных

голожаберных моллюсков *Glaucus atlanticus* (Churchill, 2014). Таким образом, данные последних лет ставят под сомнение однозначность обозначенной ранее позиции, и показывают, что генетическая структура популяций морского планктона может быть как более размытой, так и четкой (Norton, Goetze, 2013).

## 2. Биогеография и структура пелагических сообществ

Биогеография является наукой на стыке биологии и географии; изучает закономерности географического распространения и динамики организмов и их сообществ. Исторически использование биогеографического подхода в морских исследованиях сталкивалось со специфическими трудностями, существенно тормозившими развитие этого направления науки по сравнению с аналогичными исследованиями на суше. Высокая стоимость и трудоемкость получения биологических проб, динамичность водной среды и огромный объем водной толщи (более 95 % объема биосферы) служили причиной крайне низкой плотности наблюдений, необходимых для биогеографических построений (Reygondeau, Dunn, 2019). В результате исследователи вынуждены были экстраполировать результаты своих наблюдений, опираясь на представления о физической структуре океана и допуская, что гидрофизические параметры являются определяющими в закономерностях распространения видов (Беклемишев, 1969).

В настоящее время для исследования структуры пелагических сообществ и закономерностей распространения сообществ и отдельных видов широкое распространение получили популяционно-генетические и филогеографические подходы. На основании всех работ, проведенных по данной тематике до 2013 г. (суммарно для 55 таксонов), было показано два общих принципа: во-первых, зоопланктонные виды, как правило, характеризуются существенной внутривидовой генетической изменчивостью; во-вторых, эта изменчивость довольно часто разрешается в генетически дивергентные и географически разобщенные популяции (Reijnenburg & Goetze, 2013).

### 2.1. Понятие популяции в планктоне

Популяцией в широком смысле называют совокупность особей одного вида, взаимодействующих между собой (т.е. скрещивающихся, изменяющих условия среды, конкурирующих и др.) и обитающих на одном участке, обособленном от соседних мест обитания (Беклемишев, 1969). Согласно К.В. Беклемишеву, вид может существовать в форме 1) пространственно разобщенных популяций, 2) изолированных субпопуляций, полностью изолированных друг от друга, либо 3) однородных суперпопуляций,

занимающих обширные территории (Беклемишев, 1969). При этом размер участка, который заселяет суперпопуляция, может быть настолько велик, что сам по себе служит препятствием для взаимодействия удаленных друг от друга частей суперпопуляции.

Слабо обособленные внутримолекулярные единицы - субпопуляции - могут отличаться по плотности, а также генетически и морфологически в результате адаптаций к условиям среды (в последнем случае такие субпопуляции называют морфами). Субпопуляции объединяют в сложные популяции или даже, при низкой интенсивности взаимодействия субпопуляций, в суперпопуляции.

### *2.1.1. Понятие биотопа в открытом океане*

Считается, что основными пелагическими биотопами являются круговороты, т.к. именно в замкнутых циркуляциях условия среды достаточно постоянные, чтобы сохранять жизнеспособную популяцию (Беклемишев, 1969). Океанические течения могут формировать крупномасштабные круговороты. Такие круговороты, занимающие одну из климатических зон океана, называют также первичными водными массами. В результате их смещения или взаимодействия с береговой линией, такие круговороты образуют вторичные водные массы, не включающие замкнутых циркуляций (Беклемишев, 1969).

Первичные и вторичные водные массы неразрывно сосуществуют в океане и образуют т.н. биотопические комплексы, устойчивые во времени. В связи с этим, можно заключить, что расположение биотопов в океане не случайно, а закономерно. Что касается более мелких участков среды, подверженных случайным эффектам, они не могут быть так устойчивы во времени (Беклемишев, 1969). Получается, что в биоценозах открытого океана выполняются два условия: 1) наличие устойчивых круговоротов и 2) постоянные различия во внешних условиях, приводя к крупным размерам биоценозов пелагиали.

Согласно К.В. Беклемишеву, крупные круговороты прослеживаются до глубины 1500 метров по плотности, и с глубиной удаляются от экватора (Аратская, 1968), причем с глубиной границы круговоротов также удаляются от экватора (Беклемишев, 1969). Интенсивность водообмена между круговоротами зависит от глубины: если в поверхностных водах водные массы смешиваются и образуют в области соприкосновения вторичные водные массы с особыми параметрами среды, и представляющими из себя отдельным биотоп, то в промежуточных водах круговороты изолированы друг от друга (Беклемишев, 1969).

Другая особенность пелагических биотопов, по мнению К.В. Беклемишева, в толще воды возможно гомогенное смешение разных водных масс, как и смешение биотопов.

Границы между биотопами в пелагиали могут трансформироваться и разрушаться в результате турбулентного перемешивания (Беклемишев, 1969).

## 2.2. Факторы, влияющие на структуру планктонных сообществ

Из всех существующих биоценозов пелагические биоценозы наиболее зависимы от внешней среды в связи с непрерывностью и подвижностью биотопа (Беклемишев, 2017), а также с ограниченной способностью зоопланктона к самостоятельному перемещению на большие расстояния. Так, за любым изменением в движении воды с высокой скоростью следует изменения в распределении биоценозов пелагиали. При этом сами организмы, в сравнении с донными обитателями, на окружающий их биотоп практически не влияют (Беклемишев, 1969).

Факторы, определяющие структуру пелагических сообществ, характер пространственного распределения как географических сообществ в целом, так и отдельных видов, можно поделить на три группы: абиотические, биотические или экологические, и палеоокеанографические. Рассмотрим их по порядку.

### 2.2.1. Абиотические факторы

Основными абиотическими факторами, оказывающими существенное влияние на распределение организмов и сообществ, являются:

#### 1) Геоморфологические барьеры

Распространению особей в пелагиали могут препятствовать такие естественные барьеры, как континентальные массивы, океанические хребты, обширные области шельфа. Над крупными подводными горами могут формироваться квазистационарные вихри.

#### 2) Течения

Система течений структурирует и определяет границы между биотопами (Richter, 2019). Благодаря течениям формируются крупные океанические круговороты, системы апшвеллингов. Например, наличие нескольких генетических линий, границы ареалов которых строго соответствовали структуре течений в районе Системы течений Гумбольдта, показывает высокую степень эндемизма, характерную для этого района (González et al., 2020). В литературе есть примеры, демонстрирующие специфичность биоты в пределах крупных океанических круговоротов (Wall-Palmer et al., 2018). В Индийском океане большую роль на пространственное распределение сообществ влияют сезонные изменения структуры течений, связанные с муссонами.

### 3) Градиенты условий среды

Градиенты таких физических параметров, как температура, соленость, концентрация растворенного кислорода и биогенов являются индикаторами границ водных масс и могут служить границами сообществ. В тех местах, где эти градиенты сильно выражены, формируются крупные гидрологические фронты, которые, как известно, являются одновременно и крупными биогеографическими границами, например, Субтропический фронт.

### 4) Глубина

Изменение с глубиной таких физических параметров, как температура, соленость, освещенность и давление в совокупности создают условия, в большей или меньшей степени подходящие для жизни конкретного вида или популяции. В то же время, влияние биохимических условий, таких как содержание в воде кислорода, азотистых соединений и органики, а также биологической продуктивности вод, на структуру популяций, тоже нельзя недооценить (UNESCO, 2009). Значения перечисленных параметров могут существенно меняться с глубиной, приводя к экологическому и генетическому подразделению популяций (Norris, 2000).

Перечисленные выше факторы влияют не только на пространственное распределение сообществ в целом, но и на популяционную структуру отдельных видов. Исследования, проведенные с применением молекулярно-генетических методов, показывают, что препятствовать потоку генов или ограничивать его могут такие физические барьеры, как континентальные массы, течения, вихри, океанические круговороты, а также вертикальные и горизонтальные градиенты параметров среды (Leocadio Blanco-Bercial et al., 2011; Churchill, Valdés, & Foighil, 2014; Goetze et al., 2017; D N Kulagin et al., 2017; Laakmann et al., 2012; Norton & Goetze, 2013; Peijnenburg et al., 2004b; Schroth et al., 2002; Yebra et al., 2011)(Weiner, 2012; Vereshchaka, 2014).

#### *2.2.2. Биотические факторы*

К биотическим факторам, влияющим на структуру и пространственное распределение планктонных сообществ, относятся уровень продуктивности вод и особенности экологии составляющих эти сообщества видов.

В водах разной трофности формируются пелагические сообщества, различающиеся как по видовому составу, так и по трофической структуре. Уровень продуктивности вод, оцениваемый через концентрацию хлорофилла «а», является одним из основных

параметров, используемых при создании биогеографических схем эпипелагиали (подробнее об этом будет изложено в следующем разделе).

Что касается особенностей экологии видов, то на структуру сообществ оказывают влияние такие особенности биологии видов, как:

1) способность вида адаптироваться к условиям среды и находить подходящее местообитание, а также способность вида к расселению (Burridge et al., 2015). От этого напрямую зависит размер ареала.

2) способность вида совершать вертикальные суточные, сезонные или онтогенетические миграции (Wall-Palmer et al., 2016).

3) степень пищевой специализации

4) сложность и продолжительность жизненного цикла, особенности репродуктивной биологии. Например, на мезопелагических эуфаунидах было показано, что существование в пределах вида генетически обособленных популяций поддерживается за счет развития специфических морфологических особенностей у самцов, которые по всей видимости влияют на правильность выбора полового партнера самками (Kulagin et al., 2021). Обнаружение различий в репродуктивной системе плейстонного моллюска привело к открытию комплекса криптических видов, с последующим их описанием (Churchill et al., 2014).

Считается, что планктонные виды, имеющие обширные ареалы, существуют в форме суперпопуляций. Особи, обитающие в удаленных частях ареала не способны встретиться на протяжении их жизни, и, следовательно, взаимодействия между ними невозможны. В таких случаях говорят об изолирующей роли больших расстояний в открытом океане (Беклемишев, 1969). Вследствие этого в крупных популяциях часто наблюдается большее генетическое разнообразие, чем в малочисленных (Reijnenburg et al., 2004b). Однако, не всегда в формировании генетически обособленных популяций ключевую роль играет степень удаленности друг от друга. Проведенные в последнее время популяционно-генетические исследования для некоторых видов зоопланктона свидетельствуют о том, что области пониженной численности в пределах ареала вида, связанные с субоптимальными для вида условиями среды, могут служить препятствием для свободного потока генов между удаленными популяциями (Choo et al., 2021; Goetze et al., 2017; Norton & Goetze, 2013). Поскольку ареалы космополитных видов обширные и

охватывают несколько различных биотопов, то в большинстве случаев у таких видов наблюдается генетическая подразделенность (Cornils et al., 2017). Однако, есть и примеры видов, когда особи, собранные в отдаленных локациях, оказываются генетически идентичными (такое явление иногда можно объяснить неудачным выбором маркера, либо свободным потоком генов), как, например, в работе по филогеографии антарктических эуфаузиид *Euphausia superba* (Deagle et al., 2015). В работе использовалась методика Рад-секвенирования (Restriction-site associated DNA), позволяющая получить информацию о целом геноме организмов, не прибегая к полногеномному секвенированию (Baird et al., 2008). Результаты анализа показали генетическую гомогенность антарктической популяции, несмотря на то, что большие расстояния и размер популяции препятствовали бы панмиксии (Deagle et al., 2015). Авторы объясняют результаты низкой скоростью эволюции популяции, т.к. возможность генетического обмена исключена.

### 2.2.3 Палеоокеанические события

Палеоокеанические и климатические события, по-видимому, влияют на структуру пелагических сообществ путем создания новых мест обитания за счет изменения водных масс и градиентов среды между ними, а не путем предотвращения расселения (Norris, 2000). Крупные события в истории океана, такие как возникновение Панамского перешейка, открытие пролива Дрейка приводили к изменению систем течений, перестройкам в вертикальном водообмене, в результате чего формировались новые водные массы и биотопы. Палеоклиматические события, такие как Плейстоценовые оледенения, тоже, по всей видимости, играют значимую роль в формировании современных ареалов видов и их популяционной структуры (Stepanjants, 2006, Viñas, 2015, Kulagin, Neretina, 2017, Dudoit, 2018).

Быстрое распространение планктонных организмов приводит также к тому, что таксонам не угрожает вымирание, за исключением случаев глобальных резких изменений, препятствующих локальному восстановлению популяций. Большое количество вымерших групп среди планктонных видов может свидетельствовать о том, что такие глобальные изменения были не редкими на протяжении истории планеты или же о гораздо более низкой способности адаптации видов, чем можно предположить исходя из современной систематики. Так, к вымиранию приводили крупные палеоокеанографические события, разрушавшие либо вид напрямую, либо его местообитание прежде чем вид успевал заселить его вторично, распространяясь из более отдаленных частей ареала (Norris, 2000).

## 2.3 Принципы создания биогеографических классификаций и схемы районирования мезопелагиали

Основной целью биогеографии считается понимание принципов и механизмов пространственного распределения организмов. Одним из направлений морской биогеографии является определение пространственного распределения организмов и биоразнообразия и его объяснение путем выяснения связи численности или видового разнообразия с окружающей средой (Lomolino et al., 2006). С целью объяснения механизмов, приводящих к тому или иному распределению видов в пелагиали, а также для лучшего понимания иных протекающих в водной толще процессов, были созданы схемы биогеографического районирования планктонных сообществ.

Значение глобальных биогеографических схем сложно переоценить не только в рамках фундаментальных исследований, но и в контексте защиты мирового океана и сохранения его обитателей (Lourie, Vincent, 2004). Подобные схемы также позволяют развивать подходы для более рационального использования биоресурсов. Глобальные схемы биогеографического районирования разработаны для донных местообитаний (UNESCO, 2009; Watling et al., 2012) или эпипелагиали, в то время как глубоководные – мезо- и батипелагические экосистемы – остаются слабо изученными (Webb, Berghe Vanden, O’Dor, 2010).

### *2.3.1. Историческое развитие биогеографического районирования океана*

Первая схема крупномасштабного деления океана на зоны (тогда еще 2 - холодноводную и тепловодную, была предложена в 1872 году Мэри Саммервил, ученой и писательницей, одной из первых женщин, избранной в качестве почетного члена королевского астрономического общества. Данная классификация была основана на имеющихся на тот момент данных о физических и химических параметрах воды. Последующее накопление знаний и полевые наблюдения позволили совершить следующий значительный рывок в области морской биогеографии уже в середине 20 века (Reygondeau, Dunn, 2019).

В тот ранний период развития биогеографии построение схем осуществлялось на основании данных о поверхностной температуре как наиболее важном факторе, влияющем на распределение планктона, а также позже стали учитываться глобальные циркуляции (Longhurst, 2007). Другой подход заключался в районировании океана в зависимости от пространственного распределения морских обитателей из разных таксонов - фитопланктона, копепод, эуфаузиид, морских стрелок и др. Уже в те годы закрепилось

мнение, что распределение планктонных видов представлено скорее хаотично расположенными пятнами, чем градиентным распределением от полюсов к экватору (Reygondeau, Dunn, 2019). Спустя 150 лет исследования распределения зоопланктона и открытий в области физической океанографии, в 1986 году Бакус объединил данные и создал биогеографическую систему районирования океана (Backus, 1986). Ученый предложил разделить океан на 9 зон: Арктическую, Антарктическую, Субарктическую и Субантарктическую, Северную и Южную умеренные, Северную и Южную субтропические и тропическую зону (Reygondeau, Dunn, 2019).

К настоящему прорыву в биогеографии привело развитие технологий спутникового зондирования поверхности Земли (Reygondeau, Dunn, 2019). Это позволило оценивать такие параметры поверхностного слоя океана, как температура, положение течений и круговоротов, цветность океана (которая позволяет рассчитать концентрацию хлорофилла “а”), площадь морского льда и некоторые другие. В то же время в 1986 году было сформулировано предположение о том, что основные закономерности распределения зоопланктона определяются сезонными и пространственными особенностями распределения фитопланктона (Yentsch, Garside, 1986). Эта теория вместе с данными спутниковых зондирований в корне поменяла курс биогеографии. В дальнейших работах разделение океана на экологические районы проводилось на основании продуктивности, оцененной по концентрации хлорофилла “а” в поверхностных слоях воды (Platt, Caverhill, Sathyendranath, 1991). Эта идея была развита А. Лонгхарстом (Longhurst, 2007). Предложенная им концепция районирования эпипелагиали основана на спутниковых картах концентрации хлорофилла “а” и измерений *in situ* некоторых абиотических параметров, которые влияют на рост и продукцию фитопланктона (течения, концентрация биогенов, индекс стратификации и некоторые другие). Эта классификация является на сегодняшний день наиболее популярной: в Мировом океане выделяется четыре главных биома и 56 вторичных биогеохимических провинции (см. рис. 2).

Исследования закономерностей распределения некоторых видов зоопланктона частично подтверждают соответствие между распределением видов зоопланктона и положением биогеохимических провинций, в то время как в других работах это соответствие не наблюдается (Wall-Palmer et al., 2018). Несмотря на это, приведенная концепция остается одной из наиболее популярных по сей день, хотя само расположение регионов и их количество в более современных схемах отличается.

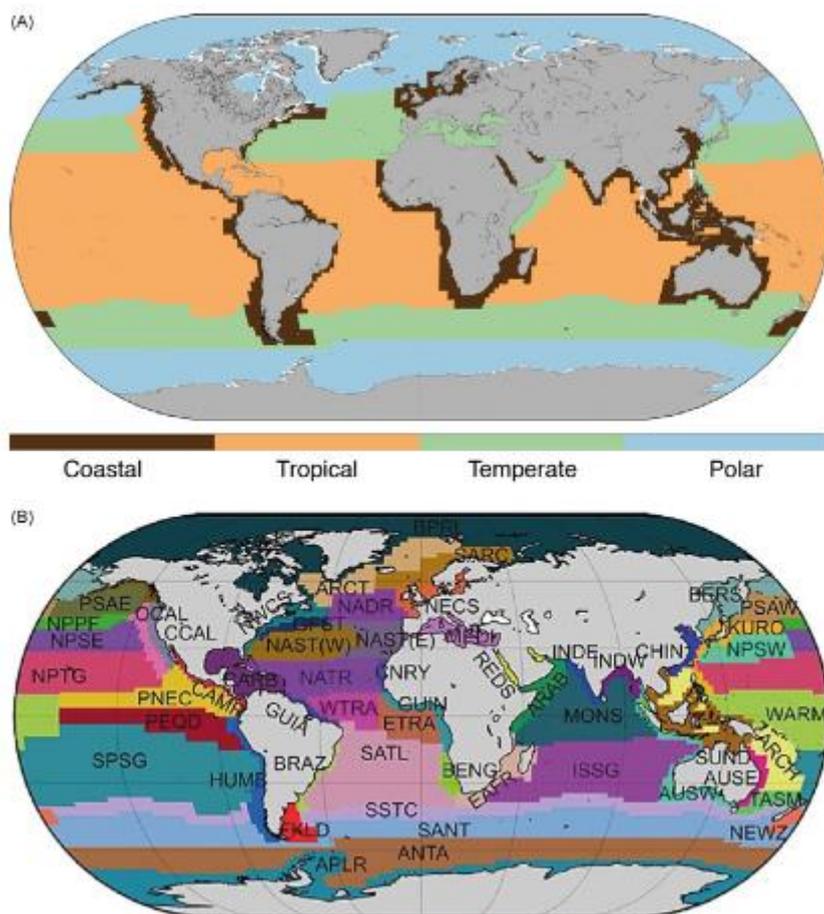


Рисунок 2. Карта биомов (А) и биогеохимических провинций (В), предложенная Лонгхарстом в 2007 г. (Sutton et al., 2017). Из (Reygondeau, Dunn, 2019)

Наиболее современной концепцией районирования эпипелагиали, основанной на традиционном таксономическом, или зоогеографическом подходе, считается схема, предложенная в 2012 году Марком Спалдингом, который обобщил имеющиеся ранее работы и выделил 7 биомов и 37 провинций (Spalding et al., 2012), многие из которых совпадали с провинциями, выделенными ранее.

Уже в середине 20 века стало ясно, что биомасса зоопланктона и его таксономический состав меняется не только от одного региона к другому, но и с глубиной (Pérès, Devèze, 1963; Виноградов, 1968). Несмотря на это, первые глобальные схемы биогеографического районирования мезопелагиали были предложены лишь в 2017-2018 годах Габриэлем Рейгондо (Reygondeau et al., 2018) и Трейси Саттоном (Sutton et al., 2017) (см. рис. 3), что, видимо, было связано с медленным накоплением данных (Webb, Berghe Vanden, O'Dor, 2010).

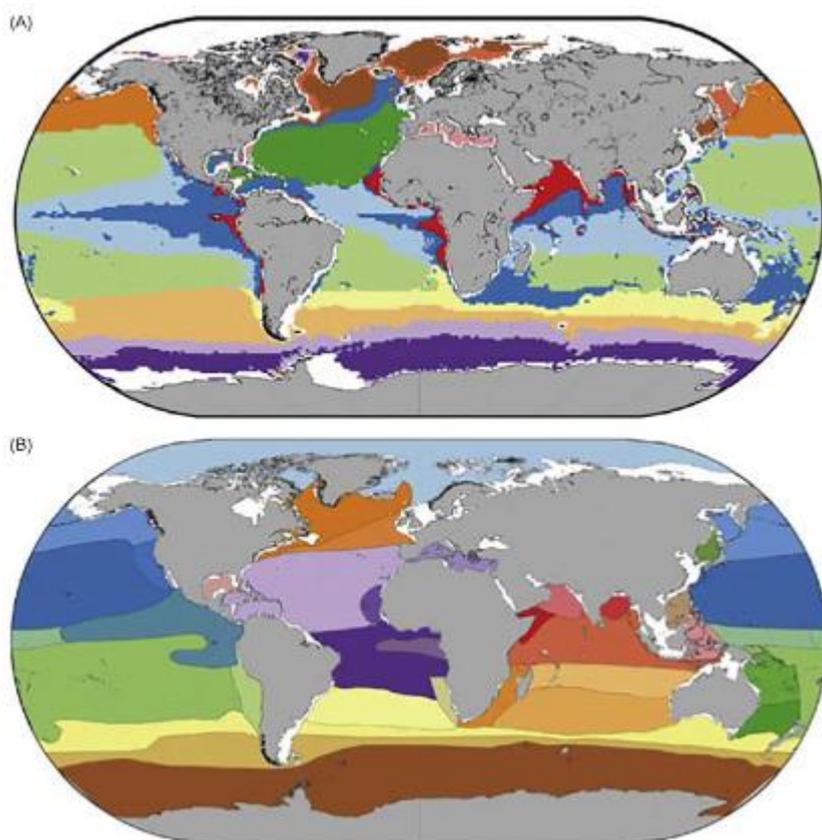


Рисунок 3. Карта (А) мезопелагических биогеохимических провинций (Reygondeau et al., 2018) и (В) мезопелагических регионов (Sutton et al., 2017). Из (Reygondeau, Dunn, 2019)

Рейгондо выделил биогеохимические единицы - биомы и провинции на основании среднегодовых температур, солености, концентрации растворенного кислорода и концентрациях биогенных веществ (Reygondeau et al., 2018). Саттон же предложил разделить мезопелагиаль на районы, основываясь как на гидрологических параметрах (температура, соленость, растворенный кислород), так и на экспертных оценках относительно закономерностей распределения пелагической фауны (Sutton et al., 2017). Согласно этой концепции мезопелагиаль делится на 4 биома и 33 экорегиона.

Аналогичный подход применил ко всей водной толще Роджер Сейр для создания трехмерной схемы районирования океана (Sayre et al., 2017). Его схема районирования предполагает выделение т.н. экологических морских единиц (Ecological Marine Units, EMU) на основании годовых колебаний шести климатологических характеристик (температура, соленость, концентрация растворенного кислорода, нитратов, фосфатов, силикатов) для различных регионов и глубин.

Перечисленные классификации биогеографического районирования постоянно уточняются и не являются окончательными. Кроме того, согласно мнению некоторых авторов, в результате изменений климата не исключено возникновение новых биомов

(Reygondeau et al., 2020). Одним из путей к уточнению биогеографических схем является более точное определение границ ареалов видов, выявление криптических видов, а также более глубокий анализ их популяционной структуры.

### 3. Подходы к изучению структуры видов зоопланктона

В настоящее время наиболее перспективным подходом в изучении популяционной структуры планктонных организмов является сочетание методов морфологического и молекулярно-генетического анализа, так называемый, интегративный подход. Использование морфологического анализа без подкрепления данными молекулярного анализа может привести к заниженным оценкам структурированности сообществ, что и происходило ранее. Благодаря использованию молекулярных методов произошел настоящий прорыв в биогеографии океана и, более того, смогли развиваться такие новые направления как филогеография и популяционная генетика (Bucklin et al., 2010). В свою очередь, современные методы статистической обработки морфологических данных позволяют проводить одновременный анализ большого количества признаков и оценивать достоверность различий между выборками животных из разных популяций.

#### 3.1. Морфологический анализ

Морфологический анализ является традиционным инструментом для различения и описания видов и внутривидовых форм. При этом в случае с беспозвоночными животными для этих целей могут использоваться не только внешние морфологические признаки, но и особенности строения некоторых внутренних органов или систем органов, например, пищеварительная система у щетинкочелюстных, репродуктивная система у щетинкочелюстных и гастропод, ротовой аппарат у гастропод и т.п. (Eeden Van, 1960).

Как правило морфологические отличия между таксонами тем меньше, чем выше степень их родства. Однако существуют виды, мало или совсем не отличающиеся друг от друга морфологически, но, как правило, изолированные репродуктивно - криптические виды. Так же встречаются и обратные ситуации – неродственные таксоны могут приобретать сходство по каким-либо признакам в результате конвергентной эволюции или мимикрии. Третья проблема морфологического анализа – морфологическая изменчивость внутри вида (Lincoln, 1998). Генетический анализ морфологически различных особей позволяет показать их принадлежность к одному виду. В таких случаях, при условии правильно подобранных генетических маркеров, говорят о внутривидовых

вариациях, а фенотипические группы называют морфами. Для некоторых видов было показано соответствие морф различным генетическим линиям. Так, ряд “морф” копепод и эуфаузиид на самом деле представляет собой несколько сестринских видов, мало отличающихся друг от друга морфологически (Bucklin, Wiebe, 1986; Bucklin, Wiebe, 1998; Norris, 2000).

Отдельной задачей при проведении морфологического анализа является поиск признаков, которые бы демонстрировали статистически значимые различия между видами или популяциями в пределах одного вида, и при этом характеризовались бы невысокой внутривидовой/внутрипопуляционной изменчивостью. А выяснение функциональной значимости этих признаков позволяет получить больше знаний об экологии и эволюции исследуемых таксонов. При анализе сходства тех или иных признаков, особенно у неблизкородственных таксонов, необходимо помнить о таких явлениях, как гомология и гомоплазия. Гомология признаков указывает на наличие общего предка, которому также был свойственен данный признак, а гомоплазия, напротив, свойственна общим признакам, независимо появившихся в процессе конвергентной эволюции (Lincoln, 1998). Итак, морфологический анализ сам по себе имеет ряд трудностей и ограничений, как и другие методы, и данные морфологического анализа необходимо интерпретировать с осторожностью. С другой стороны, морфологический анализ создает базу для таксономических и эволюционных исследований (Strauss, Bond, 1990).

В настоящее время для оценки внутри- и межвидовой морфологической изменчивости используются современные методы статистического анализа, позволяющие одновременно сравнивать большое количество признаков (например, анализ главных компонент (PCA), непараметрическое многомерное шкалирование (nMDS), разные формы канонического анализа (CCA, RDA) и др.), увеличивая тем самым достоверность получаемых результатов (Gislason et al., 2009; Masson, Pinel-Alloul, Dutilleul, 2004; Timm et al., 2020).

### 3.2. Генетический анализ

При проведении популяционно-генетических исследований планктона наиболее распространенные методы - анализ отдельных, как правило, универсальных генетических маркеров и микросателлитный анализ. Микросателлиты в виду своей высокой изменчивости редко используются в изучении зоопланктона, поскольку необходима разработка панели микросателлитных локусов для каждого вида, что является трудоемким процессом.

Самыми популярными генетическим маркером является митохондриальный ген первой субъединицы цитохром оксидазы - COI, достаточно информативный маркер для исследования таксонов различных рангов. Также для популяционно-генетического анализа используют другие митохондриальные гены: 16S, COII, Cytb, ND1, но изменчивость данных генов сильно варьирует от таксона к таксону, в связи с чем данные маркеры менее популярны. Помимо митохондриальных, используется также и ряд ядерных генов: H3, 28S, ITS1, ITS2.

В последние годы для анализа популяционной структуры видов и в целом сообществ планктона стали применять такие технологии, как полногеномное секвенирование (NGS) и высокопроизводительный скрининг (HTS), выводящие исследования структуры популяций планктона и их генетического разнообразия на новый уровень.

Огромное биоразнообразие зоопланктонных организмов способствовало замедлению применения популяционно-геномных методов в связи с отсутствием геномных данных для родственных видов и генетическим разнообразием организмов, увеличивающимся также вследствие многочисленных повторов в геноме, что характерно, например, для многих ракообразных и щетинкочелюстных (Bucklin et al., 2010). Однако ранние работы, в которых применялся геномный подход, доказали высокую степень структурированности популяций зоопланктона в различных масштабах – от заливов до океанических бассейнов. Кроме сравнения отдельных локусов организмов, показала свою эффективность такая разновидность полногеномного анализа как анализ с использованием многочисленных геномных маркеров, в частности, однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), давая иногда даже более четкую картину. Так, в исследованиях популяционной структуры морских стрелок *Eukrohnia hamata* (DeHart et al., 2020), трех видов креветок – *Acanthephyra purpurea*, *S. debilis*, and *Robusto sergia robusta* в Мексиканском заливе (Timm et al., 2020) и копепод *Centropages typicus* (Blanco-Bercial, Bucklin, 2016) показали высокую эффективность анализа однонуклеотидных полиморфизмов при помощи технологий RAD (restriction site-associated DNA) и ddRAD (double digest Restriction site Associated DNA) секвенирования. Однако в работе Брюса Дигла, посвященной структуре популяций антарктических эуфаузиид *Euphausia superba*, в которой также проводилось полногеномное секвенирование, структура популяций так и не была обнаружена – особи, находящиеся на больших расстояниях друг от друга, оказались генетически идентичны (Deagle et al., 2015).

В связи с трудоемкостью и высокой стоимостью полногеномного анализа, исследования структуры популяций по набору из нескольких или даже одного

генетического маркера остается популярным и в наше время, позволяя получить информацию о распределении зоопланктонных сообществ и иногда их истории. Недостаток данного метода заключается, в первую очередь, в сложностях, связанных с выбором маркеров для исследования. Как правило, в популяционно-генетических работах используется один митохондриальный маркер (Blanco-Bercial, Álvarez-Marqués, Bucklin, 2011; Goetze, 2005; Papetti et al., 2005), либо ядерные маркеры (Chen, Hare, 2008; Dawson, Hamner, 2005; Hirai, Shimode, Tsuda, 2013). Однако эволюционная история одного или двух маркеров не всегда отражает эволюционную историю популяций или видов (Andrews et al., 2014).

### *3.2.1. Генетические маркеры*

Выбор генетических маркеров при проведении молекулярно-генетического анализа напрямую зависит от целей и задач конкретного исследования. Использование достаточно изменчивых маркеров позволяет анализировать внутри – и межвидовые отношения, и получать данные на микроэволюционном уровне. Более консервативные маркеры полезны для макроэволюционных исследований и используются, как правило, для определения отношений между таксонами более высоких рангов. Выбор молекулярных маркеров, адекватных задачам, крайне важен, так как правильно подобранные маркеры могут рассказать о генетической однородности или, напротив, степени генетических различий. Также могут быть получены данные о родственных связях между объектами, гибридизации, структуре популяций, показать наличие генетических линий внутри вида, различия между репродуктивно изолированными видами, филогенетическую структуру на любых уровнях древа жизни (Scarbrough, 2004).

Анализ генетической структуры в рамках одного вида включает в себя поиск генетических различий и отдельных генетических линий. Для такого анализа нецелесообразно проводить полногеномное секвенирование, достаточно располагать информацией о последовательности одного или нескольких фрагментов ДНК. Такую информацию можно получить при анализе, собственно, ДНК, посредством секвенирования отдельных генов или анализа микросателлитов, а также в результате изучения белков. Морфологические признаки, как и структура белковых молекул, определяется последовательностью ДНК, поэтому и по ним можно судить об изменчивости внутри вида, хотя, зачастую и не так точно (Scarbrough, 2004).

Наиболее полную картину генетического разнообразия и структуре популяции может дать совокупность разнообразных методов, в том числе анализ митохондриальных и ядерных генов, белков и морфологических особенностей (Scarborough, 2004).

### 3.3. Исследование биогеографии и популяционной структуры пелагических Decapoda

Закономерности географического распространения в зависимости от течений, температуры, концентрации биогенных веществ и продуктивности вод свойственны многим пелагическим таксонам. Однако внутри таксономических групп зачастую может наблюдаться высокий уровень различий, в связи с чем приходится признавать уникальность каждого видового ареала. Только 31 из 91 вида планктонных креветок, обнаруженных при тралении в Северной и Южной Атлантике, могут быть отнесены к той или иной биогеографической группе согласно критериям, предложенным Дэвидом Юджинсом (Judkins, 2014). Более того, среди этого 31 вида не было ни одного случая абсолютно одинакового распространения видов, на основании чего автор делает вывод, что совместно обитающие виды эволюционировали независимо друг от друга, адаптируясь к схожим физическим и экологическим условиям в океане (Judkins, 2014). Необходимо отметить, что в данной работе видовая идентификация животных проводилась только с использованием морфологических признаков, а внутривидовая популяционная структура не исследовалась.

Для изучения биогеографии и популяционной структуры различных видов десятиногих ракообразных все чаще стали применяться генетические методы (Goetze, Ohman, 2010; Luttikhuisen et al., 2008; Timm, Bracken-Grissom, 2015), хотя пелагические представители отряда еще довольно редко выступают в качестве объектов исследования. Поэтому ниже рассмотрим подходы, применяемые в данном направлении исследований, на примере как пелагических, так и бентосных Decapoda. Для анализа генетической структуры видов и популяций используются и митохондриальные, и ядерные маркеры.

#### *3.3.1. Митохондриальные гены*

Преимуществами использования митохондриальных генов для молекулярных таксономических исследований считают отсутствие рекомбинации и относительная легкость амплификации, поскольку для многих таксонов доступны универсальные праймеры (Huelsenbeck, Ronquist, 2001), а кодируемые гены строго ортологичны. Ген, кодирующий митохондриальный белок, цитохром с-оксидазу 1 (COI), часто используется

в таксономических и филогеографических исследованиях вследствие высокой частоты замен нуклеотидных оснований, но при этом низкой частоты изменений в аминокислотной последовательности. Митохондриальная 16S рибосомная РНК (16S рРНК) и 12S рибосомальная РНК (12S рРНК) также широко используются в таксономических исследованиях Decapoda (Timm, Bracken-Grissom, 2015).

Как правило, COI более изменчивый ген, чем 16S рРНК, в то время как 12S рРНК является наиболее консервативным (Hillis, Dixon, 1991). Так, COI часто применяется при изучении филогенетических отношений на уровне от семейства до вида, в то время как 16S рРНК часто применяется при изучении от семейства до рода, а 12S рРНК может использоваться для выделения групп внутри рода (Ho Chee, 2006). В частности, для каридных креветок из рода *Synalpheus*, нуклеотидные последовательности COI более изменчивы, чем 16S рРНК (Morrison, Ríos, Duffy, 2004). Ген COI также используется при изучении надвидовых отношений каридных креветок *Bresiliidae* (Shank et al., 1999) и рода *Alpheus* (Williams et al., 2001), для многих видов оказываясь достаточно информативным для внутривидового анализа (Teske et al., 2007).

### *3.3.2. Ядерные гены*

Основное преимущество использования в качестве генетических маркеров ядерных генов заключается в их меньшей, по сравнению с митохондриальными генами, консервативности. Соответственно, такие маркеры позволяют получать информацию о филогенетических отношениях не только на уровне отрядов и видов, но и для разрешения расхождений более высокого уровня (Timm, Bracken-Grissom, 2015). Информативность ядерных маркеров для филогенетического анализа определяется скоростью эволюции ДНК, особенно среди генов, кодирующих белок, рибосомной ДНК и интронов. Гены, кодирующие белок, имеют тенденцию быть более консервативными, поскольку мутации, приводящие к потере функции белка, подвергаются сильному отрицательному отбору (Opperdoes, Lemey, 2012). Рибосомная ДНК (рДНК), как правило, имеет в большей или меньшей степени переменные области. Интроны, как правило, менее консервативны, поскольку они не кодируют белковые последовательности (Timm, Bracken-Grissom, 2015).

С другой стороны, высокая изменчивость ядерных генов может являться проблемой. Выравнивание яДНК может быть затруднено в связи с гетерозиготностью, наличием делеций, многочисленных вставок и повторов (Chu, Li, Ho, 2001). Кроме того, амплификация ядерной ДНК бывает затруднена, поскольку она обычно присутствует в

меньшем количестве копий в каждой клетке по сравнению с митохондриальной (Chu et al., 2009).

Среди ядерных генов наиболее популярными генетическими маркерами являются рибосомальные гены 18S и 28S, некодирующие ITS-1 и ITS-2, а также белок-кодирующие последовательности H3, EF-1  $\alpha$  и NaK (Timm, Bracken-Grissom, 2015). Среди перечисленных наименее изменчивый, подходящий для разделения родов – ген 18S, в то время как остальные применяются для разделения видов.

Ген внутреннего нетранскрибуемого фактора ITS-1 сильно варьирует по своей информативности в разных таксонах Decapoda. В связи с наличием многочисленных повторов – микросателлитов – значительно варьирует и длина последовательности, поэтому наличие микросателлитов в гене важно принимать во внимание при оценке скорости эволюции ITS-1. Большое количество повторов приводит к тому, что у разных групп ракообразных длина последовательности может отличаться на порядок (Wormhoudt et al., 2019). Изменчивость гена также может объясняться внутригеномной вариабельностью. Считается, что мультикопийность гена внутри одного генома может поддерживаться на протяжении промежутков времени, достаточных для образования подвидов. Сложности секвенирования данной последовательности в связи с внутригеномной вариабельностью была описана для отдельных видов ракообразных, в том числе декапод (Chu, Li, Ho, 2001; Harris, Crandall, 2000).

Несмотря на высокий уровень изменчивости, наблюдаемый у многих представителей Decapoda, вариабельность гена ITS-1 у отдельных видов ниже, чем митохондриальных генов, вплоть до ее полного отсутствия (Chang, Chan, 2018). Так, на лобстерах рода *Thaumastocheles* было показано наличие нескольких морфогрупп, которые разделялись по митохондриальному гену COI, но по ITS1 оказались идентичными (Chang & Chan, 2018). В приведенной статье также использовались и другие участки митохондриального генома - рибосомальные гены 12S и 16S рибосомальные гены. Полиморфизм по ним незначительно превышал полиморфизм по ITS1 и, соответственно, уступал COI.

Генетические различия морфотипов также изучали на лобстерах *Munida gregaria* and *Munida subrugosa*. В то время как митохондриальные гены - COI, 16S и первая субъединица NADH дегидрогеназы (ND1) показали достаточную для разделения морфотипов вариабельность, последовательности ITS1 различались между морфотипами не более, чем между клонами одного образца (Pérez-Barros et al., 2008). Авторы связывают

этот факт с существованием потока генов между морфотипами, либо с незавершенной сортировкой предковых аллелей по линиям.

С другой стороны, последовательности ITS-1 оказались достаточно информативными для выяснения филогенетических отношений между близкими видами жаброногих раков (Daniels et al., 2003), крабов (Chu, Li, Ho, 2001) и отдельных декапод (Harris, Crandall, 2000). Таким образом, информативность гена ITS1 как филогеографического и популяционно-генетического маркера значительно варьирует среди таксонов ракообразных, и даже внутри Decapoda.

Другой ядерный ген, доказавший свою информативность в исследованиях внутривидовой структуры Decapoda – ген, кодирующий  $\alpha$  - субъединицу фактора элонгации (EF-1  $\alpha$ ). Хотя данный ген достаточно консервативный, его интроны в ряде исследований оказались полезны для филогенетического анализа на уровне различных таксонов (Tiedemann, Ketmaier, Nahavandi, 2012). Так, на уровне популяций ген оказался информативным при исследовании популяционной структуры черной тигровой креветки (Duda, Palumbi, 1999), королевских креветок (France et al., 1999), а также амфипод *Pontogammarus maoticus* (Tiedemann, Ketmaier, Nahavandi, 2012). В то же время, при исследовании филогеографии рода *Alpheus* (раков-щелкунов), ген позволял разделить виды, но на уровне популяций оказался менее информативным, чем COI (Williams et al., 2001).

### 3.4 Истинные космополиты и виды, утратившие этот статус

В глобальном масштабе массовые морские виды с постоянным размером популяций, обширным ареалом, долго плавающей в толще воды планктонной личинкой и высокой способностью к расселению, как правило, характеризуются отсутствием четкой популяционной структуры, что объясняется совместным действием генетического дрейфа и постоянными миграциями в пределах ареала (Toonen, Grosberg, 2011).

За последние годы молекулярные исследования показали, что большое количество видов планктона, ранее считавшихся космополитными, представлены группами из нескольких генетических линий или криптических видов (Andrews et al., 2014; BurrIDGE et al., 2015; Cornils, Wend-Heckmann, Held, 2017; Miyamoto et al., 2012). Причины генетической подразделенности могут быть разными, и зависеть как от экологических, так

и от биологических особенностей, а также варьировать от таксона к таксону (Bowen et al., 2016).

Среди эпипелагических обитателей структура видов с якобы космополитным распространением, описана для ряда видов копепод, декапод, эуфаузиид, голожаберных моллюсков. Так, для комплекса видов *Paracalanus parvus*, включающего семь близких видов, при помощи анализа митохондриальных генов COI и цитохрома b авторы выделили 12-14 криптических и псевдокриптических видов (Cornils, Held, 2014). Полученные результаты показали, что только один вид из этого комплекса оказался распространен сразу в нескольких океанах - *Paracalanus indicus*. Видимо, для генетического потока данного вида нет постоянных барьеров, выполняющих структурирующую функцию для остальных видов копепод. Сам вид *P. parvus s.s.*, считавшийся ранее космополитом, как оказалось, приурочен к Северо-Восточной Атлантике.

Другой пример обнаружения сложной генетической структуры – исследование двух доминирующих в тропических и субтропических водах видов копепод, совершающих суточные миграции между эпи - и мезопелагиалью. Результаты анализа выявили наличие двенадцати отдельных криптических видов, изолированных экологически (Halbert, Goetze, Carlon, 2013). Эти виды – *Pleuromamma piseki* and *P. gracilis*, ранее считались космополитными, но проведенное исследование позволило выяснить, что только четыре из 12 выделенных генетических клад являются истинными космополитами. Представители этих клад встречаются в тропических частях Атлантического, Индийского и Тихого океанов.

Некоторые авторы полагают, что проницаемость барьеров зависит от способности мигрировать, а также исторического распределения таксона и его эволюционной истории (Bowen et al., 2016). В связи с этим близкие виды, обитающие в разных биогеографических провинциях, могут оказаться в противоположных ситуациях и демонстрировать различную степень эндемизма или космополитизма в зависимости от их способности к миграциям. Так, несмотря на разобщенные части ареалов холодноводных рыб одного вида, обитающих в умеренных широтах обоих полушарий, но не встречающихся в теплых водах, некоторые демонстрируют удивительное генетическое сходство. В своей работе Брайан Боуэн приводит в качестве таких рыб сардин и анчоусов, и объясняет наблюдаемую ситуацию миграцией рыб вдоль западных границ материков по Тихому океану в случае сардин и Атлантическому для анчоусов, замечая, что, судя по

сходству в митохондриальных генах, колонизация новых местообитаний в обоих случаях завершилась не так давно (Bowen et al., 2016).

Постоянные преграды для распространения одних таксонов могут сдвигаться в результате изменения условий в океане, в то время как другие виды способны адаптироваться к этим изменениям, занимая возникающие экологические ниши (BurrIDGE et al., 2019). Другой фактор, приводящий к изоляции популяций планктона – экологические особенности, в частности неспособность вида поддерживать жизнеспособные популяции в условиях, отличающихся от базовых по каким-либо параметрам. Таким образом, именно выбор местообитания, а не физические барьеры могут служить основной движущей силой для видообразования в пелагиали (Bowen et al., 2016).

Так, для ряда видов эпипелагических копепод из семейства Euchaetidae наблюдалась неожиданно высокая скорость эволюции митохондриальных генов в связи с освоением новых экологических ниш и давлением отбора (Laakmann, Auel, Kochzius, 2012). В противоположность эпипелагической популяции, батипелагические копеподы близких видов оказались космополитами, не продемонстрировав генетической изменчивости, что можно объяснить либо непрерывным генетическим потоком на огромных расстояниях, либо низкой скоростью эволюции вида (Laakmann, Auel, Kochzius, 2012).

На основании границ между ареалами распространения 24 видов эпипелагических крылоногих моллюсков из рода *Diacavolinia* было показано, что важнейшие географические барьеры для потока генов расположены между Атлантикой и Индо-Пацификой и Западной и Центральной Пацификой (BurrIDGE et al., 2019). Расположение этих барьеров совпадает с несколькими биогеографическими провинциями, описанными для других голопланктонных и бентосных организмов с пелагической личинкой (Bowen et al., 2016; Iacchei et al., 2016).

Согласно концепции биогеохимических провинций, популяции якобы космополитных видов могут разойтись по двум причинам:

1. возникновение континентального массива, преграждающего существовавший ранее путь для генного потока в океане
2. возникновение гидрологического барьера и последующая географическая изоляция – например, существует четкая граница в районе экватора, разделяющая субтропические круговороты Северного и Южного полушарий,

в которых обитают обособленные генетические линии (Andrews et al., 2014; Goetze, 2011; Norton, Goetze, 2013).

Мезопелагические виды реже становятся объектами крупных филогеографических исследований (Robinson et al., 2010). В основном проводились на мезопелагических копеподах, эуфаузидах и декаподах.

Для мезопелагических копепод была показана изолирующая роль течений. Например, у *Haloptilus longicornis*, обитающего на глубине 100-400 м и не совершающего суточные миграции, в четырех Атлантических и Тихоокеанских основных субтропических круговоротах генетическая структура вида на первый взгляд казалась гомогенной (Norton, Goetze, 2013). Однако при помощи анализа сателлитов и митохондриального гена COII между популяциями из разных круговоротов были обнаружены значительные генетические различия, выявивших внутри космополитного, как считалось прежде, вида наличие двух криптических видов (Andrews et al., 2014). Авторы предполагают присутствие физического или биофизического барьера, препятствующего обмену особей между северным и южным субтропическими круговоротами в Атлантическом и Тихом океанах (Norton, Goetze, 2013). Такая четкая генетическая структура, соответствующая океаническим бассейнам, в работе противопоставляется слабо различающихся генетически Южной Атлантики и Индийского океанов (Norton, Goetze, 2013).

Пример видов мезопелагических Decapoda, для которых были выполнены филогеографические в масштабе океанов, работы – *Acanthephyra curtirostris* (Oplophoridae) (Scarborough, 2004). Особи данного вида обитают в мезопелагиали и во взрослом виде не поднимаются к поверхности, в то время как личиночная стадия населяет эпипелагиаль. Претерпевая поток генов на небольших расстояниях видимо, в результате распространения эпипелагических личинок, особи *A. curtirostris* из разных районов в пределах одного океана оказались генетически гомогенны, между популяциями из Атлантического и Индийского океанов обнаружили генетические расстояния до 2% (Scarborough, 2004).

Среди видов с широким распространением можно отметить также антарктических эуфаузиид *Euphausia superba*, обитающих в Южном океане (Deagle et al., 2015). С использованием митохондриальных маркеров и технологии ddRAD - секвенирования было показано, что популяции, обитающие вокруг Антарктиды генетически идентичны, что говорит о происходящем потоке генов. Неясно, как именно происходит генетический

обмен между популяциями, которые расположены в Южном океане пятнами, являясь крайне малочисленными на отдельных участках несмотря на действие Антарктического циркумполярного течения (Deagle et al., 2015).

#### 4. Объект исследования

*Systellaspis debilis* (A.Milne-Edwards 1881) – один из наиболее распространенных видов пелагических креветок из семейства Orlorphoridae. Обитая в мезо- и батипелагиали, *S. debilis* является важным элементом трофических сетей, служит пищей для рыбы, акул, кальмаров и других глубоководных креветок, а также промежуточным хозяином для паразитов (Буруковский, 2009; Судник, 2007).

##### 4.1. Систематическое положение, исторический экскурс

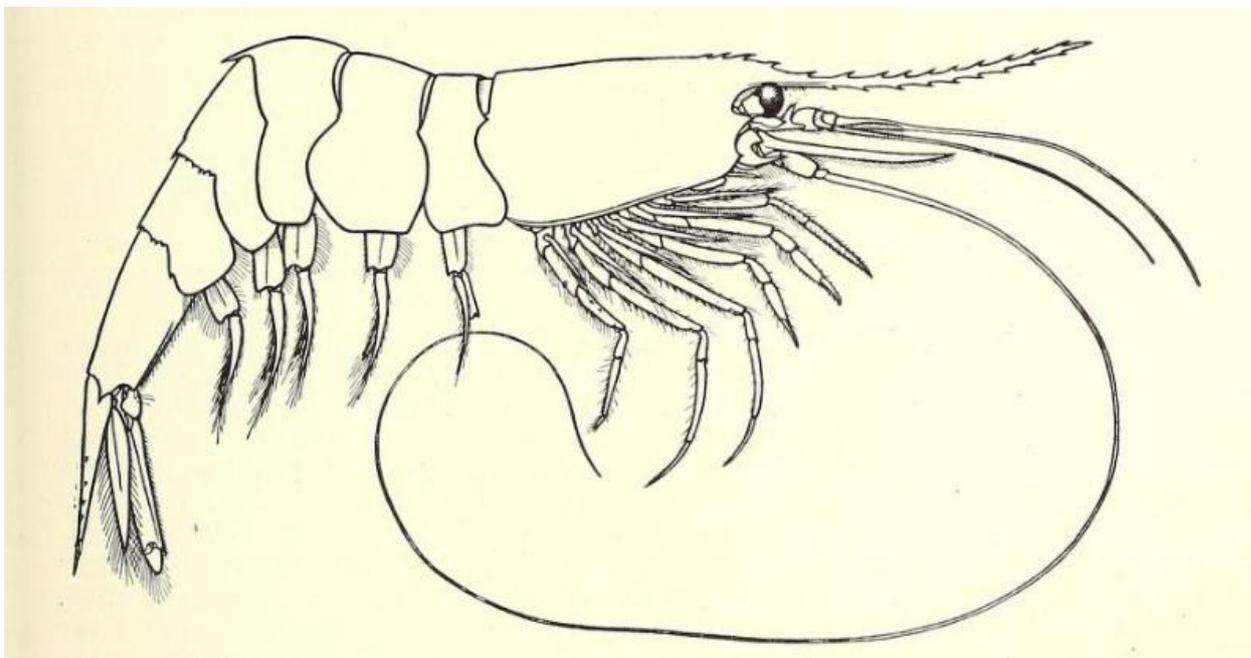


Рисунок 4. Самец *S. debilis* (Chace, 1940)

Систематика вида (<https://www.marinespecies.org>):

Arthropoda (тип)

Crustacea (подтип)

Multicrustacea (надкласс)

Malacostraca (класс) Eumalacostraca (подкласс)

Eucarida (надотряд) Decapoda (отряд) Pleocyemata (подотряд) Caridea (инфраотряд)

Orlorphoroidea (надсемейство) Orlorphoridae (семейство)

*Systellaspis* (род)

*Systellaspis debilis* (A. Milne-Edwards, 1881)

Описанный в 1881 г. Альфонсом Милн-Эдвардсом по особи из Богамского залива вид был отнесен к роду *Acanthephyra*, однако уже в работе Стэнли Кэмпса вид упоминается как *Acanthephyra (Systellaspis) debilis* (Kemp, 1910), а в ревизии семейства Acanthephyridae в 1936 г. вид присутствует в ключе под именем *Systellaspis debilis* (Chace, 1936).

На основании морфологических отличий в работе Иоханнеса Де Мана в 1916 г. внутри вида *Systellaspis debilis* была выделена отдельная морфа – *Systellaspis debilis* var. *indica* (Man De, 1916). Морфологические особенности были описаны для одной самки с яйцами, собранной у Папуа Новой Гвинеи. Согласно автору, образец отличался от типичных атлантических форм, описанных по особям из Бискайского залива (у берегов Франции) Стэнли Кэмпсом в 1910 г. (Kemp, 1910) следующими признаками:

1. Рострум загнут вверх, так что вертикально измеренное расстояние между кончиком рострума и верхним краем карапакса достигает примерно двух третей высоты самого карапакса;
2. Основание антенны практически равно половине длины антенны, составляя около  $10/23$  ее длины;
3. Предпоследний сегмент (пропудус) третьей пары грудных ног немного больше чем в два раза длиннее карпуса (третьего сегмента) грудных ног ( $2 \frac{1}{3}$  мм);
4. Дактилус равен примерно  $\frac{4}{5}$  длины пропудуса.

Однако в 1936 году при ревизии семейства Acanthephyridae, к которому ранее относили и род *Systellaspis*, был пересмотрен таксономический статус многих видов, и, в частности, правомерность выделения креветок из Тихого океана в отдельную морфу, и имя *Systellaspis debilis* var. *indica* было приравнено к *S. debilis* (Chace, 1936).

В недавней ревизии семейства Orphoridae с помощью молекулярных методов было показано, что особи, идентифицированные как *S. debilis* формируют три генетически дифференцированные клады (Lunina et al., 2018). Первая клада с поддержкой 1 по Байесу и 88 по ML включает особей из Атлантического океана, вторая – с поддержкой 0,99/72 (Байес/ML) включает особей, собранных вблизи Мадагаскара и в Мексиканском заливе. Третья клада с высокими статистическими поддержками (1/99) включает особь с Мадагаскара и недавно описанный вид *S. liui*. Возможно эти клады представляют криптические виды, однако подробный анализ данного вопроса не проводился.

*Systellaspis liui* Sha & Wang, 2015

В статье Sha, 2015, где впервые был описан вид, проводился генетический анализ по маркеру COI, а также морфологический анализ единственной особи - половозрелой самке, найденной в Западной части Тихого океана на глубине более 3000 м (глубже, чем обитают виды рода *Systellaspis* в Индо-Вост-Пацифике (Sha, Wang, 2015). Основные диагностические признаки вида - медиально-дорзальная борозда на скафоцерите и присутствие карины на дорзальной стороне третьего абдоминального сомита (Sha, Wang, 2015). Согласно описанию, вид морфологически сходен с *S. debilis*, однако отличался от последнего наличием нескольких рядов нерегулярно расположенных шипов на тельсоне между боковыми рядами более крупных шипов.

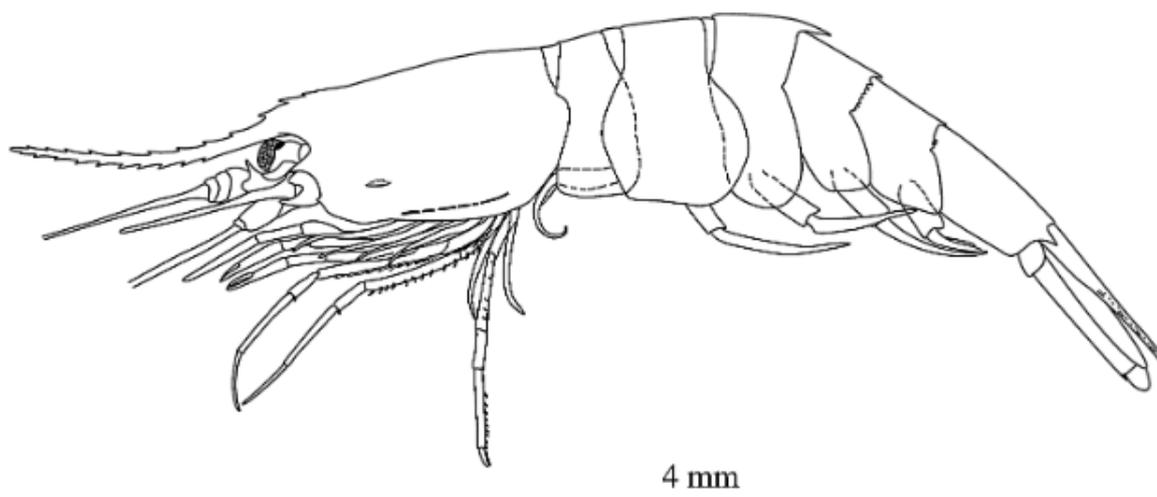


Рисунок 5. *S. liui* sp. nov., голотип. Общий вид особи сбоку (Из Sha, 2015)

Сходства *S. liui* и *S. debilis* (Sha, Wang, 2015):

1. рострум выступает за скафоцерит
2. дорзальный край карапакса без карины
3. карапакс без бокового волнистого ребра, тянущегося от области орбит примерно до заднего края
4. на заднем крае третьего-пятого абдоминальных сомитов есть медиально

Основные отличия *S. liui* от *S. debilis* (Sha, Wang, 2015):

1. наличие медиальной борозды на латеральной стороне скафоцерита;
2. дорзальный край третьего брюшного сомита с килем (кариной);
3. задний край пятого брюшного сомита несет 3 зубца;
4. дорзальный край тельсона вооружен не менее чем двумя рядами мел шипов с каждой стороны.

Позже, при ревизии семейства Orphoridae, вид был все же отнесен к группе видов *S. debilis* по причине неоднозначности статуса вида. Причина заключалась в том, что, во-первых, с момента описания *S. liui* представители вида не были обнаружены, во-вторых, по результатам молекулярного анализа по гену COI вид оказался близким в большей степени к *S. debilis*, и, в-третьих, по морфологическим признакам в оригинальном описании вида, как выяснилось, не так сильно отличался от него (Lunina et al., 2018). Единственное морфологическое отличие, обсуждаемое авторами, состояло в наличии нерегулярно расположенных дорзальных шипов между боковыми рядами на тельсоне, что, само по себе, является признаком, нехарактерным не только для надсемейства Orphoroidea, но и для Caridea в целом (Lunina et al., 2018). Однако вид по-прежнему считается валидным, хотя и требует дополнительного морфологического и молекулярного анализа в будущем (Lunina et al., 2018).

#### 4.2. Морфологические особенности *S. debilis*

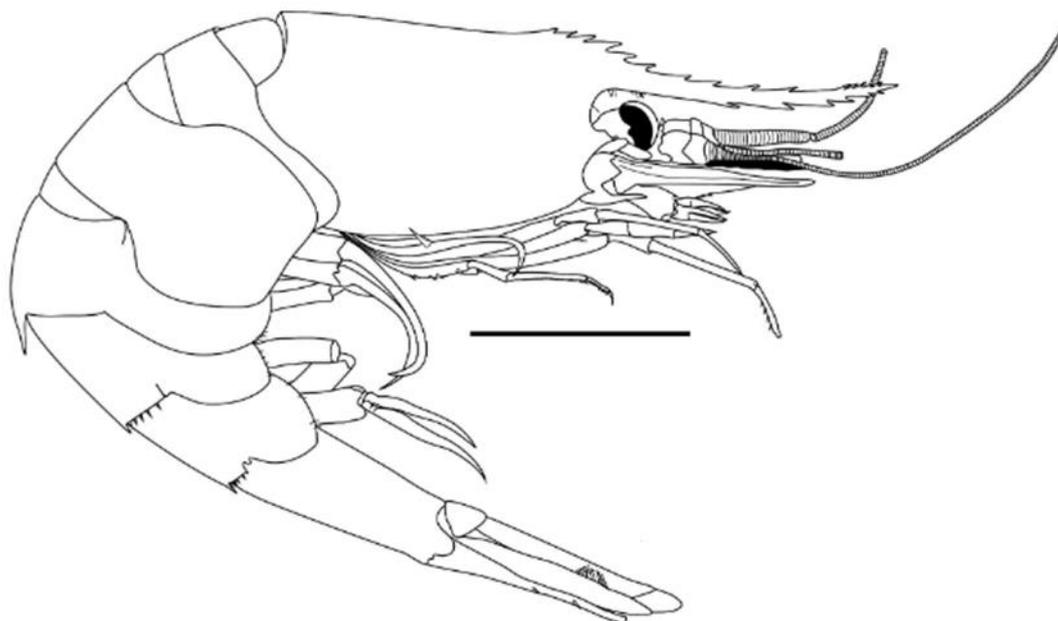


Рисунок 6. *Systellaspis debilis* (A. Milne-Edwards, 1881). Самец, вид сбоку. Линейка = 1 см (Alves-júnior et al., 2019)

От других видов рода *S. debilis* отличается наличием зубцов на каудо-дорзальном крае четвертого и пятого брюшных сегментов. Также особенностью вида является наличие на тельсоне дорзальных зубцов, у некоторых особей расположенных ассимметрично (Iwasaki, Nemoto, others, 1987).

Молодые особи отличаются от половозрелой относительной длины рострума, пятого и шестого сегментов, размером зубцов на четвертом и пятом сегментах (Iwasaki, Nemoto, others, 1987). В дополнение к перечисленным признакам, у более молодых особей длина шестого сегмента более чем в два раза превышает ширину, в то время как у половозрелых (с длиной карапакса больше 9 мм) данный сегмент более широкий (Iwasaki, Nemoto, others, 1987).

Другими таксономически важными признаками вида в пределах рода *Systellaspis* (Cardoso, Young, 2005) являются:

1. Наличие скафоцерита

2. На вентральной стороне роострума около 10 зубцов, на дорзальной – 15 зубцов
3. На боковой части карапакса (бранхиостегите) присутствует шипик, нет различимой карины
4. На заднем крае с медиальной стороны четвертого и пятого сегмента расположены зубцы
5. Массивный третий сегмент закрывает четверть четвертого сегмента
6. У самцов первая пара плеопод закругленная, двуветвистая, с многочисленными сочлененными перистыми щетинками на латеральных краях, на верхушке имеют несколько крюковидных щетинок
7. Вторая пара плеопод у самцов с мужским отростком (*appendix masculina*), немного превышающем в длину внутреннюю отросток, имеющийся также у самок.

Вид отличается высокой изменчивостью роострума, как отметил Алан Кросьнер (Crosnier, 1987). Различия могут проявляться как в количестве зубцов роострального гребня, так и в относительной длине роострума и расстоянии между роостральными зубцами.

### 4.3. Арел

Креветки данного вида - космополиты, распространены всесветно в диапазоне широт от 59° с.ш. до 45° ю.ш. В связи с характером распределения вид характеризуют как тропическо-бореально-нотальный (Буруковский, 2017). Считается, что вид широко распространен в Атлантическом океане (Judkins, 2014) и Индийском океане, реже особи встречаются в Тихом океане (Буруковский, 1992). При этом стоит отметить, что имеющиеся в ГенБанке сиквенсы, опубликованные для *S. debilis* соответствуют локациям из двух океанов: Индийского и Северной части Атлантического океанов. Несмотря на то, что представители данного вида встречаются повсеместно, однако крупномасштабных работ по их филогеографии ранее не проводилось.

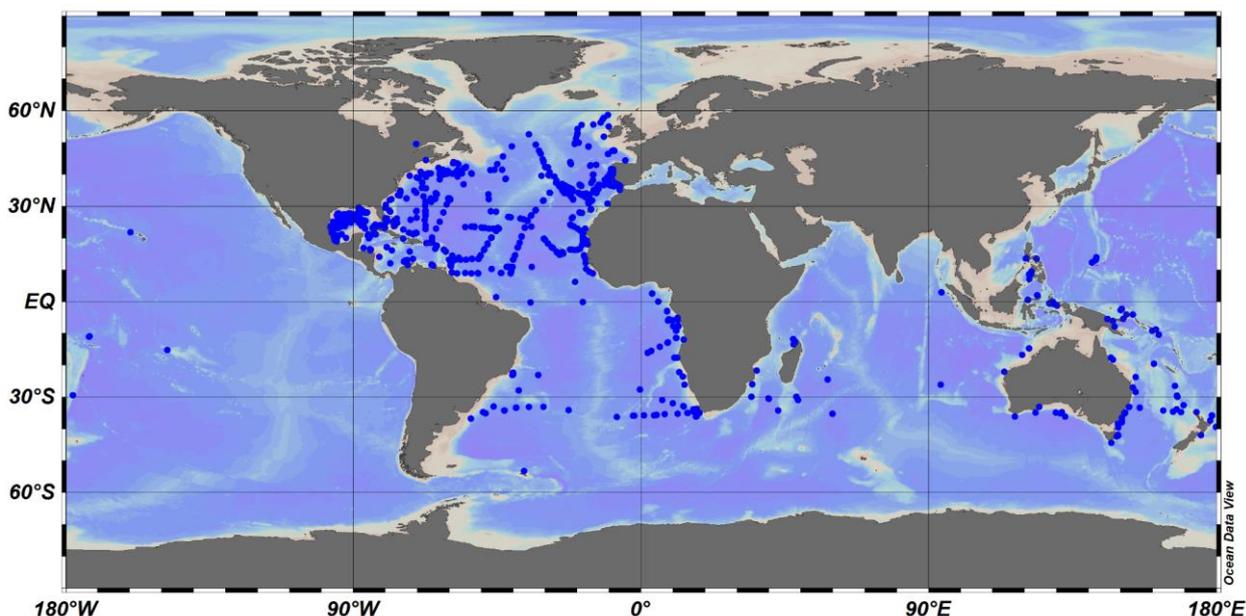


Рисунок 7. Карта встречаемости *S. debilis*. Синими точками отмечены места обнаружения особей. Информация получена из базы данных GBIF.org (дата обращения 20 января 2022 г.)

#### 4.4. Биологические и экологические особенности *S. debilis*

*S. debilis* является типичным интерзональным видом, совершающим интенсивные суточные миграции. В ночное время он поднимается ближе к поверхности на глубины 50-300 м. В дневное время основная часть популяции держится в мезопелагиали в интервале глубин 500-750 м. При этом часть популяции может опускаться и в батипелагиаль на глубины более 1000 м (Chace, 1940; Hopkins et al., 1994; Буруковский, 2009).

Глубина обитания данного вида несколько варьируется в зависимости от района. В Мексиканском заливе в дневное время более 90 % особей обнаруживались на глубине от 500 до 750 м, в среднем - на глубине 650 м, в ночное время более 90 % популяции поднималось до 50-250 м, с центром на глубине 133 м (Hopkins et al., 1994). В районе Бермудских островов вид обнаруживался в дневное время на горизонте 910-1100 м (Chace, 1940). В области Северо-Атлантической субтропической конвергенции креветки встречались в ночные часы на горизонте 100-300 м, в остальное время опускаясь глубже, вплоть до батипелагиали (более 1000 м). В северо-западной части Тихого океана креветки обнаруживаются в основном в горизонте 500-700 м в дневное время, а в ночное поднимаются до 100-300 м (Omori, 1975). В тропической зоне юго-восточной Атлантики *S. debilis* встречаются как в пелагических, так и в донных тралах, опускаемых до глубины 500 м. Таким образом, *S. debilis* считают типичным интерзональным видом,

приуроченным к различным горизонтам в зависимости от условий среды и времени суток (Буруковский, 2009).

Развитие *S. debilis* состоит из четырех стадий зои и одной стадии декаподита, на протяжении онтогенеза питающихся лецитотрофно (Bartilotti, Santos Dos, 2019). Для самок *S. debilis* характерны крупные, богатые желтком яйца (Bartilotti, Santos Dos, 2019), что свидетельствует о К-стратегии вида (Moran, McAlister, 2009).

Как и у для других интенсивно мигрирующих представителей семейства Orlorphoridae, рацион *S. debilis* состоит в основном из рыбы, эуфаузид, морских стрелок, креветок, копепод, кальмаров и иногда сифонофор (Hopkins et al., 1994; Буруковский, 2009; Буруковский, 2017) в зависимости от места обитания. С ростом креветок меняется как спектр их пищевых объектов, так и увеличение их размеров. На ранних этапах развития важное место в питании креветок составляют копеподы, половозрелые особи потребляют в основном креветок или эуфаузид и молодь рыб, в связи с чем являются регуляторами численности последних сифонофор (Hopkins et al., 1994; Буруковский, 2017).

Согласно классификации стратегий питания по Буруковскому, 2017, представители рассматриваемого вида креветки - пасущиеся хищники, сочетающие в себе черты как “нападающих” хищников, выбирающих жертв преимущественно одного вида, зачастую крупнее себя по размеру, так и хищников-собираателей, поедающих разных таксономических категорий и экологических групп (Буруковский, 2017). Строение ротового аппарата *S. debilis* соответствует скорее стратегии нападающих хищников в связи с утратой жевательного отростка мандибул, характерного, видимо, для общего предка креветок (Буруковский, 2017).

Интересно отметить наличие у *S. debilis* такой адаптации к обитанию на больших глубинах как биолюминисценции, свойственной многим мезопелагическим обитателям (Widder, 2002). У *S. debilis* имеются специальные органы люминисценции - фотофоры, располагающиеся ближе к вентральной стороне карапакса и на ногах (Kemp, 1907; Nowel, Shelton, Herring, 1998).



Рисунок 8. *S. debilis* (указан как *A. debilis*) - люминисценция (Из (Bassler, Resser, 1931))

## Глава 2. Материалы и методы

### 1. Сбор и фиксация материала

Материал был собран в рамках пяти экспедиций ИО РАН им. П.П. Ширшова в Атлантическом океане и юго-западной части Индийского океана (см. рис.9, а также табл. 1 в Приложениях), в период с 2013 г. по 2020 г. (см. табл. 2 в Приложениях). Сбор проб мезо- и макропланктона осуществлялся планктонной сетью Богорова-Раса (площадь входного отверстия - 1 м<sup>2</sup>, размер ячеек сита фильтрующего конуса - 500 мкм) либо разноглубинным тралом Айзекса-Кидда (площадь входного отверстия - 5,5 м<sup>2</sup>, размер ячеек - 5 мм, в кутовой части - 1 мм). Сразу после сбора креветки выбирались из проб и фиксировались в 96% этаноле. Через сутки после фиксации проводилась смена спирта. В лаборатории образцы хранились при температуре - 20°C. Определение особей до вида проводилось с использованием ключа (Lunina et al., 2019).

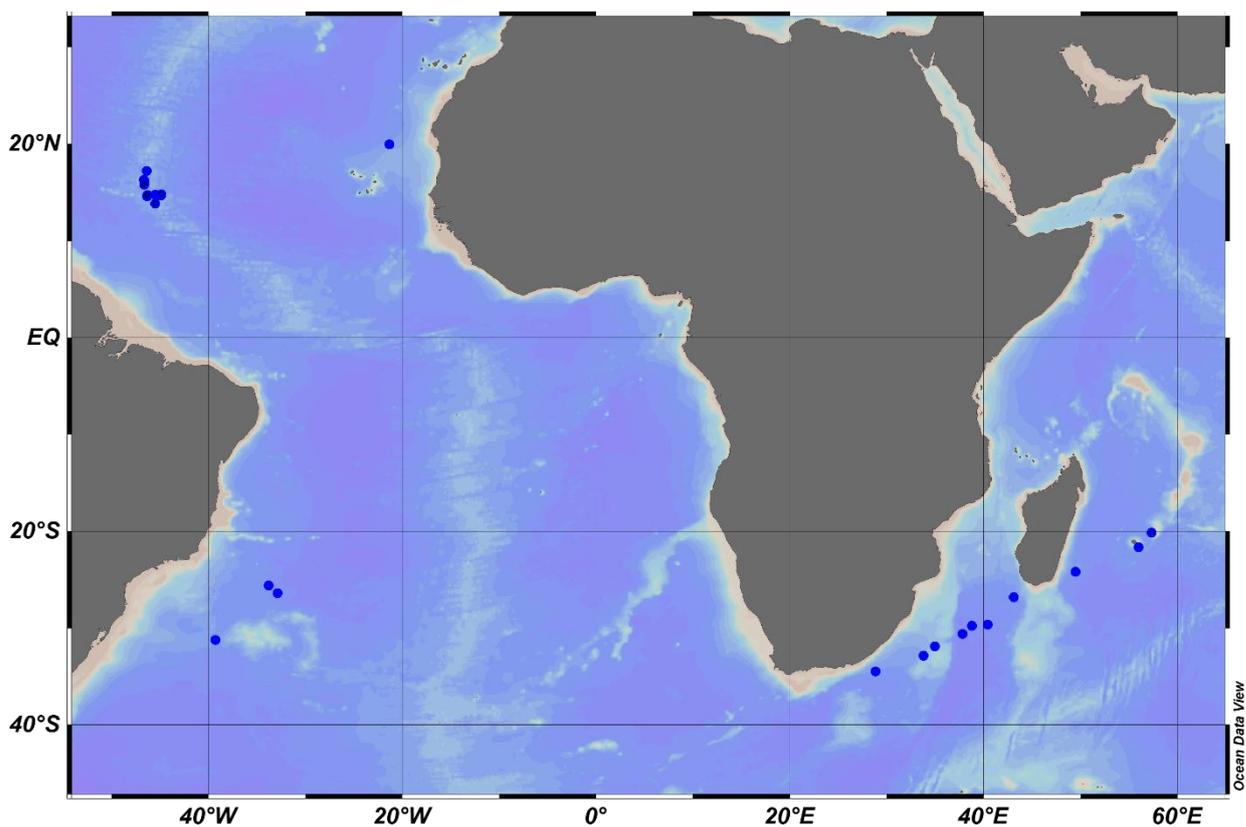


Рисунок 9. Карта сбора материала.

Карта сбора материала, а также карта встречаемости особей *S. debilis* была создана с помощью программы Ocean Data View (ODV, версия 5.6.2, Schlitzer, Reiner, Ocean Data View, odv.awi.de, 2021).

## 2. Выбор маркеров

Выбор маркеров обоснован как результатами анализа литературы по филогеографии и генетике *Desaroda*, так и анализом имеющихся последовательностей различных генов в открытой базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Для *S. debilis* было обнаружено 219 загруженных последовательностей, среди них:

- 31 – последовательности митохондриального белок-кодирующего гена COI;
- 43 – последовательности митохондриальных рибосомальных генов (158 – 16S, 14 – 12S и 16 – 18S);
- 17 - последовательности ядерных рибосомальных генов (16 – 18S, 1 – 28S)
- 31 – последовательности белок-кодирующих ядерных генов (22 – гены, кодирующие белки – гистоны (H3), 2 – гена альфа-субъединицы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$

АТФ-азы (NaK) а также 7 последовательностей генов, кодирующие белки - опсины и опсиноподобные мРНК).

Среди перечисленных последовательностей наиболее информативным для внутривидового анализа декапод является митохондриальный ген COI, а также иногда используется 12S и 16S, в то время как другие маркеры, как правило, используются для исследования филогении на надвидовом уровне (Ho Chee, 2006). С целью проверки информативности митохондриальных маркеров для настоящей работы предварительно было проведено выравнивание всех имеющихся в GenBank последовательностей отдельно для генов COI, 12S и 16S, после чего были построены филогенетические деревья при помощи метода ML в программе RAxML. Деревья показали единообразие всех имеющихся в GenBank последовательностей маркеров 12S и 16S, в то время как фрагмент COI оказался достаточно вариабельным. На дереве, построенном по гену COI вместе с последовательностями *Systellaspis curvispina* (№ KP076159), *Systellaspis liui* (№ KT946751), *Acanthephyra quadrispinosa* (н/сем. *Oplophoroidea*, сем. *Acanthephyridae*), взятыми в качестве внешних групп, внутри вида *S. debilis* заметны две сестринские клады. Таким образом, на основании проведенного анализа имеющихся генетических данных в открытых ресурсах, а также анализа литературы, было решено использовать в качестве основного маркера ген COI.

В дополнение к гену COI было принято решение опробовать два маркера, ранее не использовавшихся для подобных исследований данного вида – это ядерные гены ITS-1 (внутренний транскрибируемый спейсер, белок некодирующий ген) и EF1- $\alpha$  (фактор элонгации,  $\alpha$ - субъединца). В то время как ген ITS-1 с переменным успехом используется в филогенетических работах и даже популяционном анализе Decapoda (см. Главу 1, раздел 3 «Подходы к изучению филогеографии Decapoda»), то ген EF1- $\alpha$  ранее не применялся для филогеографических исследований семейства Oplophoridae.

Информативность гена ITS-1 для анализа популяционной структуры была показана в статье Ка Хоу Чу (Chu, Li, Ho, 2001). Авторы сравнивали фрагменты ITS-1 у представителей разных популяций *Penaeus japonicus* (Decapoda, Penaeidae) и выяснил, что различия между особями из разных популяций составляли около 18 %, что свидетельствует о потенциальной релевантности гена в качестве популяционного маркера. Однако важно отметить, что внутри генома одного организма вариабельность ITS-1 может быть больше, чем между организмами и даже видами! Это было показано для семи видов речных раков (Decapoda: Cambaridae) Д. Джеймсом Харрисом (Harris, Crandall, 2000), и

напоминает о важности клонирования таких мультикопийных генов при филогенетических исследованиях.

Касательно гена EF1- $\alpha$ , существует ряд работ, в которых маркер оказался информативным для выявления внутривидовой структуры ряда ракообразных. Так, для черной тигровой креветки *Penaeus monodon* Fabricius, 1798 (Decapoda, Penaeidae) (Duda, Palumbi, 1999) из Индо-Вост. Пацифики и Тихого океана получилось обнаружить генетический разрыв (наличие существенных генетических различий между популяциями вида) в районе Индо-Австралийского архипелага. Также данный ген использовался для изучения внутривидового генетического разнообразия королевских креветок *Penaeus vannamei* Boone, 1931 (Decapoda, Penaeidae) в естественных популяциях и в аквакультуре (France et al., 1999). В работе были выявлены значительные внутривидовые различия в обоих случаях, хотя замены оказались в основном синонимичными (France et al., 1999). Другая работа по филогеографии была проведена на раках – шелкунах из рода *Alpheus* (Decapoda, Caridea) (Williams et al., 2001), более близких систематически к *S. debilis*. Хотя в данной работе ген помогал выделить отдельные виды, на уровне популяций ген продемонстрировал меньшую изменчивость, чем COI (Williams et al., 2001).

Также исследования с использованием маркера EF1- $\alpha$  проводились на представителях другого отряда – амфиподах *Pontogammarus maeoticus* (Tiedemann, Ketmaier, Nahavandi, 2012). Результаты работы показали, что маркер является подходящим для популяционных исследований амфипод, поскольку позволил выявить четкие различия между популяциями из Черного и Каспийского морей, однако внутри этих популяций различий не обнаружилось (Tiedemann, Ketmaier, Nahavandi, 2012).

Помимо данных о внутривидовой структуре, полученных благодаря использованию гена EF1- $\alpha$ , исследования показали, что данный ген может быть мультикопийным. У амфипод ген оказался двухкопийным, у раков-шелкунов из рода *Alpheus* и черных тигровых креветок *Penaeus monodon* – обнаружилось по две копии, а у королевской креветки того же рода (*Penaeus vannamei*) – четыре копии. Мультикопийность гена ставит вопрос о релевантности гена для филогеографических/филогенетических исследований, часто требующих локус – специфичных данных.

### 3. Выделение ДНК, амплификация и секвенирование

Выделение ДНК и амплификация проводились на базе лаборатории геносистематики МГУ им. М.В. Ломоносова. ДНК выделялась из кусочков пятых пар плеопод или

мускулатуры абдомена, с использованием набора IG-Spin™ DNA Prep 200 для выделения ДНК из биологических жидкостей по протоколу Диатом (с увеличенным временем лизиса для растворения волокон мускулатуры). Выделенную ДНК использовали как матрицу для амплификации фрагмента митохондриального гена - цитохром оксидазы I (COI), и ядерных генов - внутреннего транскрибируемого спейсера ITS-1 и альфа-субъединицы фактора элонгации EF1- $\alpha$ . Полимеразная цепная реакция проводилась в реакционном объеме 20 мкл, который включал в себя реактивы из набора для проведения ПЦР "Encyclo Plus PCR kit" (Евроген, Москва, Россия), 0,2 мкл прямого и обратного праймера, 1,6 мкл ДНК и 15,3 мкл стерильной (mQ) воды, а также 0,3 мкл 50X Encyclo полимеразы. Праймеры, использованные для получения последовательностей генов и программы ПЦР указаны в Приложениях, в таблицах 3 и 4. Качество полученных ПЦР-продуктов оценивалось визуально с использованием электрофореза в однопроцентном агарозном геле с добавлением 2,5 мкл BrEt.

Результаты электрофореза подтвердили наличие фрагментов матрицы примерно одинаковой длины в случае маркеров COI и ITS-1. Качество полученных фрагментов гена EF1- $\alpha$  оказалось недостаточным для проведения дальнейшего филогенетического анализа: на геле обнаруживались двойные полоски. С целью выбора оптимального режима ПЦР, реакция была проведена несколько раз при трех разных температурах отжига (52°C, 57,6°C и 59°C). Однако в первом случае (при температуре 52°) на геле был заметен яркий шмер, во втором (при 57,6°C) появились две полоски, обе соответствующие длине ~ 800 пн, а в третьем (при 59°C) полоски были едва различимы. В связи с низким качеством фрагментов гена EF1- $\alpha$  и трудностями, сопряженными с подбором оптимального режима ПЦР, работа с данным маркером была прекращена.

Подготовка ПЦР-продуктов к секвенированию и прочтение последовательностей на автоматическом генетическом анализаторе ABI Prism 3500 xl проводились на базе ресурсного центра "Развитие молекулярных и клеточных технологий" СПбГУ.

#### 4. Филогенетический анализ

Полученные хроматограммы анализировались с использованием программы Geneious® 7.1.3. Прочтения с прямого и обратного праймеров для каждого образца объединялись и выравнивались между собой, после чего неточности в расшифровке хроматограмм, а также гетерозиготы (в случае ядерных последовательностей) анализировались и корректировались в индивидуальном порядке с использованием

референсов. Также при помощи программы Geneious ® 7.1.3 была проведена проверка на наличие стоп-кодонов для гена COI.

Всего было получено 75 консенсусных последовательностей для гена COI и 23 последовательности - для ITS-1.

#### 4.1. Создание выравниваний

Для проведения последующего филогенетического анализа из базы данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) были заимствованы все сиквенсы гена COI, принадлежащие *S. debilis* и близким видам (*Systellaspis curvispina* (№ KP076159), *Systellaspis liu* (№ KT946751), *Acanthephyra quadrispinosa* (н/сем. *Oplophoroidea*, сем. *Acanthephyridae*, № KP076178). Последовательности гена ITS-1 для видов рода *Systellaspis* в GenBank отсутствуют.

Множественное выравнивание всех последовательностей проводилось в программе Geneious ® 7.1.3 с использованием алгоритма MUSCLE (Edgar, 2004) (25 повторов). Финальное выравнивание по фрагменту COI составило 539 п.н. и включало 109 последовательностей, а по фрагменту ITS-1 - 23 последовательностей длиной 328 п.н.

В случае гена ITS-1, в доступных ресурсах не было обнаружено ни одной последовательности этого маркера для *S. debilis*, поэтому анализировались только вновь полученные сиквенсы. Поскольку изменчивость данного фрагмента оказалась низкой, наиболее удобным способом визуализации полученных результатов мы посчитали построение сети гаплотипов.

#### 4.2. Построение деревьев

##### Метод максимального правдоподобия (ML)

Построение филогенетической реконструкции по гену COI методом максимального правдоподобия проводилось при помощи программы RAxML (ver. 7.2.8 (Stamatakis, 2006)) с использованием модели нуклеотидных замен GTR+G. Статистическая поддержка оценивалась методом бутстрепа, включающим 1000 псевдореplik. Статистически значимыми считались поддержки со значением бутстрепа более 70%.

##### Байесовский анализ (Bayes)

Перед проведением байесовского анализа по гену COI был выполнен подбор наиболее подходящих моделей нуклеотидных замен для каждого кодона и оценена

наиболее подходящая схема разбиения. Данные расчеты проводились в программе PartitionFinder2 (Guindon et al., 2010; Lanfear et al., 2017) с использованием информационного критерия Акаике (AICc). В результате было предложено разбиение последовательностей на три группы в соответствии с кодонами, модели нуклеотидных замен были следующие: GTR+I+G для первого кодона, GTR+I – для второго, и GTR+G – для третьего. Байесовский анализ проводился в программе MrBayes 3.3 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001). Было выполнено два параллельных вычисления по 10 000 000 генераций с отбором деревьев каждые 1000 генераций, и первые 25% деревьев были исключены из расчета апостериорных вероятностей.

Финальные филогенетические реконструкции были визуализированы в программе Mega5.

### 4.3. Анализ генетического разнообразия

Для построения гаплосетей методом присоединения соседей использовалась программа PopArt (<http://popart.otago.ac.nz/>, (Bandelt, Forster, Röhl, 1999)), куда импортировались выравнивания, а также информация о местах сбора материала. При построении сетей использовались параметры по умолчанию. Полученные гаплосети раскрашивались и редактировались в программе PopArt.

Гаплотипное разнообразие анализировалось в программе DNASP, версия 5 (Librado, 2009) отдельно для каждой географической группы.

Эволюционный анализ с последующим построением таблиц генетических расстояний (см. табл. 1, 2) проводились в программе MEGA11 (Tamura, 2021). В таблицах отражено количество замен оснований на сайт после усреднения по всем парам последовательностей внутри и между группами. Анализы проводились с использованием двухпараметрической модели Кимуры (Kimura, 1980). В анализе участвовали 49 нуклеотидных последовательностей. Для каждой пары последовательностей все неоднозначные позиции были удалены, в результате чего в конечном наборе данных участвовали последовательности длиной 591 п.н. Наличие NA в результатах указывает на случаи, в которых невозможно было оценить эволюционные расстояния.

## 5. Морфологический анализ

Для оценки степени морфологической изменчивости особей *S. debilis* были отобраны признаки, таксономически значимые для семейства Oplophoridae (Lunina, Kulagin, Vereshchaka, 2018), а затем среди них выбирались потенциально наиболее вариабельные

внутри вида. Такие признаки (31 признак), объединенные в 5 групп (Карапакс, Плеон, Антенны, Тельсон, Переоподы), соответствующим группировкам признаков из работы Анастасии Анатольевны Луниной (Lunina et al, 2018), перечислены в таблице 6 в Приложениях. Также у каждой особи определялся пол, измерялась длина карапакса от заднего края орбиты глаза и высота карапакса в самом широком месте.

Измерения проводились с использованием стереомикроскопа Olympus SZ и линейки (погрешность - 0,5 мм). Полученные данные заносились в таблицу (см. табл. 7 – 9 в Приложениях). Стоит отметить, что при измерении некоторых признаков вставала проблема плохой сохранности образцов: у нескольких креветок был обломан рострум, оторвана одна или сразу несколько переопод. В таких случаях в таблице указывалось NA после чего, для применения многомерных методов анализа, пропущенные значения заменялись средними значениями признаков. Общая доля пропущенных значений составила 1.2% всех значений признаков.

## 6. Статистическая обработка

Статистическая обработка результатов морфологического анализа и сопоставление морфологических и генетических характеристик выполнялась с помощью функций языка статистического программирования R 4.0.5 (R Core Team, 2021). Перед началом анализа данные морфологического и генетического анализа были объединены в одну таблицу.

Для подготовки морфологических данных

1. Из таблицы были исключены образцы, для которых не были получены последовательности COI
2. Также 2 особи Sd81 и Sd82 из Южной Атлантики, хранившиеся в коллекции Института Океанологии в виде отделенных 4 и 5 пар плеопод, были исключены из исследования (в связи с невозможностью измерения морфологических признаков)
3. Самки с яйцами были обозначены как самки
4. Для уменьшения шума из анализа были удалены ювенили (особи с длиной карапакса меньше 5 мм)
5. Отсутствующие значения количественных признаков (маркированные NA, см. выше) были заменены на средние значения признака (Legendre, Legendre, 2012)

В итоге в анализе участвовало 73 особи.

Поскольку морфологические признаки могут иметь высокую корреляцию с размером особей, то для удаления эффекта размера мы применили следующий подход. В

качестве характеристики размера особей было взято две величины: длина карапакса и его высота. Эти два параметра тела рассматривались в качестве предикторов в анализе избыточности (Legendre, Legendre, 2012), а в качестве матрицы зависимых переменных рассматривались значения всех остальных морфологических параметров, описанных выше (26 признаков). Анализ был проведен с помощью функции `rda` из пакета “`vegan`” (Oksanen et al., 2020).

В результате анализа было выделено две категории главных осей: две канонические оси (RDA1 и RDA2), связанные с влиянием предикторов, характеризующих размер особей, и 26 неканонические оси (главные оси, описывающие структуру матрицы остатков от регрессионных моделей, описывающих связь каждого из морфологических признаков с предикторами). Поскольку в фокусе нашего анализа были морфологические признаки, с исключенным из них влиянием размеров тела, мы сосредоточились на анализе двух первых, наиболее информативных, неканонических осей (PC1 и PC2). Мы рассмотрели ординацию особей и признаков в пространстве PC1 и PC2.

Для оценки связи между морфологическими признаками особей и их генетическими характеристиками был применен тест Мантела (Legendre, Legendre, 2012). Для этого было получено две матрицы расстояний. Первая матрица включала евклидовы расстояния между особями в пространстве PC1 и PC2. Данная матрица состояла из квадратных корней попарных дистанций между последовательностями в выравнивании последовательностей гена COI. Вычисление генетических расстояний проводилось с помощью функции `dist.alignment` из пакета `seqinr` (Charif, Lobry, 2007). Вычисление мантеловской корреляции между двумя матрицами было проведено с помощью функции `mantel` из пакета “`vegan`” (Oksanen et al., 2020). Оценка статистической значимости теста осуществлялась пермутационным методом (9999 пермутаций).

Визуализация результатов статистического анализа морфологических признаков осуществлялась с помощью функций из пакета “`ggplot2`” (Wickham, 2016).

## Глава 3. Результаты и их обсуждение

### 1. Анализ генетической структуры вида

Генетический анализ особей проводился на основе последовательностей трех выбранных нами генов, предположительно наиболее перспективных для решения поставленных задач.

#### 1.1. Анализ по гену COI

После реакции амплификации качество ПЦР-продуктов проверялось при помощи электрофореза. Для трех образцов результаты проведения ПЦР-реакции оказались отрицательными. Для шести других образцов были получены прочтения низкого качества, в связи с чем они были исключены из дальнейшего анализа.

В результате секвенирования, очистки и обработки прочтений были получены прямые и обратные прочтения фрагмента COI для 75 особей *S. debilis* (Северная Атлантика - 44, Южная Атлантика - 7, Индийский океан – 24), которые были выровнены и включены в дальнейшую работу. Последовательности маркера COI для трех образцов были исключены из анализа в связи с неправильным определением, т.к. результаты сравнения прочтений с имеющимися в базе данных NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) при помощи алгоритма Blast показали, что образцы относятся к виду *Plesionika richardi* – креветкам из семейства Pandalidae.

Стоит отметить, что при первичной обработке полученных сиквенсов на некоторых хроматограммах были заметны двойные пики. Это можно объяснить гетероплазмией или же наличием намтов, встречающихся в митохондриальном геноме декапод (Iketani et al., 2021). В случае обнаружения двойных пиков проводилось более пристальное сравнение прямого и обратного прочтений и выбирался более высокий пик, на основании чего и значение нуклеотида редактировалось на соответствующее основание.

Также из открытой базы GenBank была загружена 31 последовательность соответствующего фрагмента *S. debilis* (24 - из Северной Атлантики, 7 – из Индийского океана) (GenBank, 2022). Эти данные были добавлены в выравнивание к полученным нами последовательностям, таким образом, увеличив число образцов в выборке до 106.

После выравнивания всех последовательностей проводилась их обрезка по самому короткому сиквенсу. В результате чего все последовательности, используемые в дальнейшем анализе, имели длину 539 п.о.

Выборка *S. debilis*, основанная на наших материалах, оказалась генетически довольно однородной (см. табл. 1). Всего было выявлено 26 гаплотипов при сравнительно небольшом разнообразии гаплотипов и нуклеотидов ( $Hd = 0.742 \pm 0.003$ ,  $\pi = 0.0033 \pm 0.001$ ). Большинство нуклеотидных замен приходилось на третью позицию. Замены во всех 22 изменчивых позициях оказались синонимичными.

Таблица 1. Данные о генетическом разнообразии последовательностей COI у групп *S. debilis* (полученных в работе образцов)

Район	Количество образцов	Количество гаплотипов	Разнообразие гаплотипов ( $Hd \pm Sd$ )	Разнообразие нуклеотидов ( $\pi \pm Sd$ )
Северная Атлантика	44	15	$0.7000 \pm 0.006$	$0.0034 \pm 0.000$
Южная Атлантика	7	7	$1 \pm 0.006$	$0.0051 \pm 0.001$
Индийский океан	24	11	$0.786 \pm 0.007$	$0.0032 \pm 0.001$
<b>Итого</b>	<b>75</b>	<b>26</b>	<b><math>0.742 \pm 0.003</math></b>	<b><math>0.0033 \pm 0.001</math></b>

С учетом 31 последовательности гена COI *S. debilis*, заимствованных из генбанка, количество гаплотипов увеличилось до 36 (см. табл. 2). Самый высокий уровень генетического разнообразия оказался характерным для группы образцов из Южной части Атлантического океана ( $Hd = 0.952 \pm 0.009$ ), самым низким - для группы из его Северной части ( $Hd = 0.662 \pm 0.004$ ). Данные результаты свидетельствуют о сравнительно более высокой уникальности гаплотипов в южноатлантической географической группе, однако на результат могли повлиять размеры выборок. При этом наибольшее нуклеотидное разнообразие среди собранных в рамках данной работы образцов также отмечено для выборки из Южной Атлантики, в то время как после добавления выборки из ГенБанка по уровню нуклеотидного разнообразия на первое место вышла группа особей из Индийского океана.

Таблица 2. Данные о генетическом разнообразии последовательностей COI у групп *S. debilis* (полученных в работе образцов вместе с образцами из ГенБанка)

Район	Количество образцов	Количество гаплотипов	Разнообразие гаплотипов ( $Hd \pm Sd$ )	Разнообразие нуклеотидов ( $\pi \pm Sd$ )
Северная Атлантика	68	19	$0.662 \pm 0.004$	$0.0030 \pm 0.000$
Южная Атлантика	7	6	$0.952 \pm 0.009$	$0.0046 \pm 0.001$
Индийский океан	31	18	$0.888 \pm 0.002$	$0.0187 \pm 0.006$
<b>Итого</b>	<b>106</b>	<b>36</b>	<b><math>0.755 \pm 0.002</math></b>	<b><math>0.0081 \pm 0.002</math></b>

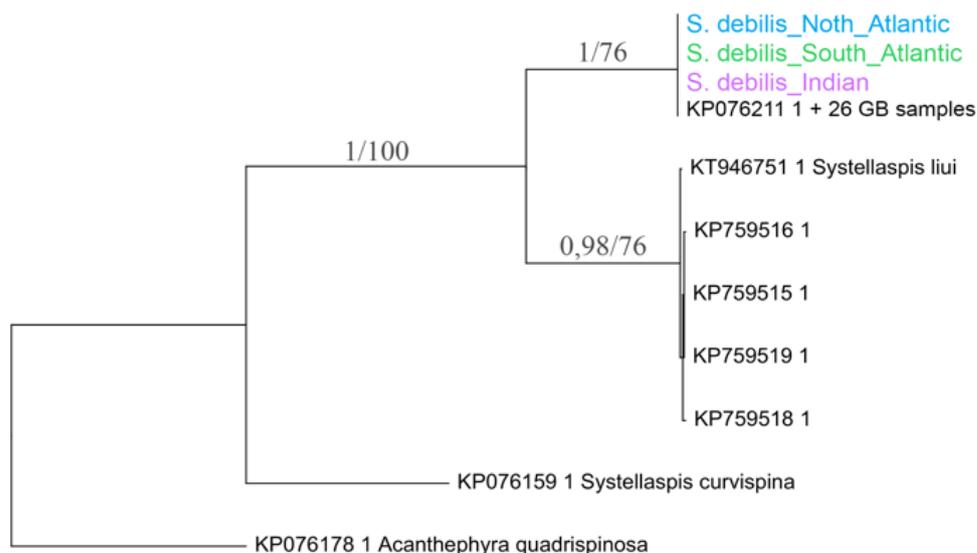


Рисунок 10. Филогенетическое дерево по гену COI (539 п.о.), построенное методом максимального правдоподобия для 106 особей *Systellaspis debilis*. Горизонтальная шкала – частота замен. Статистические поддержки ветвей: байесовские апостериорные вероятности (левое значение) и ML бутстреп для 1000 псевдореплик (правое значение)

Оба использованных нами метода анализа дали филограммы со сходной топологией. Поэтому поддержки, полученные методом максимального правдоподобия (ML) были нанесены на дерево, полученное при помощи метода Байеса. На полученной филогенетической реконструкции видно, что все полученные нами последовательности с высокими поддержками (1/76 - байесовские апостериорные вероятности/ ML бутстреп) группируются в одну кладу независимо от места сбора. Вместе с ними в эту кладу попадают 27 последовательностей из GenBank демонстрируя низкую внутривидовую генетическую изменчивость.

Сестринскую кладу также с высокой статистической поддержкой (0,98/76) сформировали образцы, собранные в 1974 году у Мадагаскара и с тех пор хранившихся в Национальном Музее Естественной Истории в Париже (Aznar-Cormano et al., 2015), а также последовательность *S. liui*, имеющаяся в базе данных в единственном экземпляре. Из особей, собранных у Мадагаскара в 1974 г. одна особь (KP759517) отличалась генетически от остальных и попала в основную кладу (Aznar-Cormano et al., 2015). Авторами также были получены и депонированы в генбанк последовательности для двух особей, собранных в 2009 г. в Мозамбикском проливе близ африканского побережья (напротив центральной и южной частей Мадагоскара), которые попали в основную кладу вместе с *S. debilis*, из других районов.

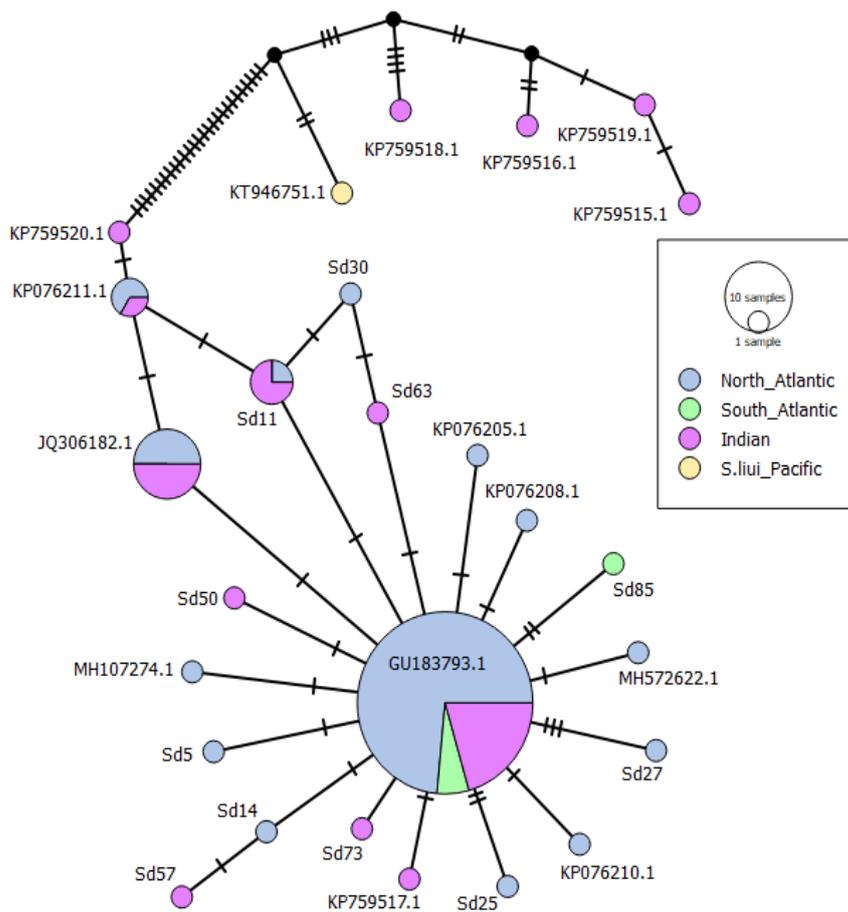


Рисунок 11. Сеть гаплотипов по гену COI, построенная методом Median Joining. Выборка - 107 особей *S. debilis* (68 - Сев. Атлантика, 7 - Южная Атлантика, 33 - Индийский океан), а также один образец *S. liui*.

Полученная нами сеть гаплотипов имеет в основании звездообразную структуру и демонстрирует единообразие гаплотипов из Северной и Южной Атлантики, а также из Индийского океана. На диаграмме видно, что большинство образцов из Северной и Южной Атлантики и Индийского океана имеют один и тот же гаплотип, соответствующий образцу GU183793.1 из ГенБанка. Часть последовательностей отличается от доминирующего гаплотипа одной – тремя заменами, что может свидетельствовать в пользу их происхождения от основного гаплотипа за счет единичных однонуклеотидных замен (SNPs), либо являться следствием ошибок полимеразы во время амплификации. Еще три гаплотипа представлены тремя – шестью особями (как в случае с образцом JQ306182.1 из Северной Атлантики) и отличаются друг от друга и от основного гаплотипа одной – двумя заменами. Причем во всех них есть особи как из Северной Атлантики, так и из юго-западной части Индийского океана. Таким образом, среди основной части последовательностей не замечено какое-либо разделение вида на отдельные гаплогруппы, соответствующие географическим районам, что можно объяснить тремя способами:

### Версия 1.

Существует единая панмиксная популяция, охватывающая оба океана, и генетическому потоку не препятствуют ни гидрологические барьеры, ни физические преграды, а также не происходит изоляция в связи с большими расстояниями;

### Версия 2.

Данный вид характеризуется низкой скоростью эволюции генов COI, что делает этот маркер непригодным для анализа внутривидовой структуры;

### Версия 3.

Поток генов прекратился не так давно, и мутации в геноме не успели накопиться с момента возникновения некоего барьера для генетического обмена.

Звездообразная структура в картине распределения гаплотипов часто интерпретируется как результат резкого роста популяции при малом количестве ее основателей (эффект бутылочного горлышка) (Bucklin, Wiebe, 1998). Исходя из этого можно предположить, что основная кладка могла возникнуть относительно недавно в результате какого-то катастрофического события и за счет обладания неким эволюционным/экологическим преимуществом смогла распространиться на огромной акватории.

В то же время, на гаплосети видно, что четыре образца из ГенБанка, собранные у Мадагаскара в 1974 году, как и *S. liui* (вместе образующие сестринскую кладку на филогенетической реконструкции), отличаются от основной гаплогруппы значительным (27 – 34 п.н.) количеством замен. При этом все эти образцы имеют уникальные гаплотипы, отличающиеся друг от друга 1 – 8 заменами. Интересно также отметить, что сама последовательность *S. liui* отделена от основной гаплогруппы меньшим количеством замен, чем указанные образцы из Индийского океана.

Наличие двух видов, встречающихся по разные стороны от воображаемой границы около 20 градусов ю.ш в районе центральной/северной части Мадагаскара соответствующей по положению границе между биогеохимическими провинциями или экорегионами согласно некоторым схемам районирования мезопелагиали (Longhurst, 2007; Reygondeau et al., 2013; Sutton et al., 2017). Так, в работе Трейси Саттона восточнее

Мадагаскара выделяются три различных экорегиона со значительно различающимися параметрами среды (Sutton et al., 2017).

Как видно на таблице (см. табл. 5 в Приложениях), сбор материала в Индийском океане после 1974 г. производился южнее 20° ю.ш., затрагивая только один экорегион - Южную часть Индийского океана. Так как четыре из пяти образцов в 1974 г. были собраны севернее, около 13° ю.ш., то наличие барьера можно объяснить резкими изменениями параметров среды в области центральной или северной части Мадагаскара. Возможно, в Центральной части Мадагаскара ареал вида прерывается, и у северной части Мадагаскара обитает генетическая линия, близкая к *S. liui* или принадлежащая к этому же виду. Наличие особи, собранной также у Северной части Мадагаскара, но попавшей в основную кладу, дает право предположить, что представители основной гаплогруппы распространены и в Северной части Индийского океана. Таким образом, можно предположить, что две генетические линии или два вида, отмеченных в ГенБанке как *S. debilis* не только генетически, но и пространственно (как минимум, частично) разобщены как следствие экологических особенностей среды и/или способности линий адаптироваться.

Генетическое разнообразие особей с южного побережья Мадагаскара несмотря на небольшую выборку (5 особей) позволяет предположить, что группа особей, обитающая в северной части Индийского океана, более древняя и является предковой. В таком случае, в популяциях успело бы накопиться большое количество мутаций. Другая ситуация наблюдается в случае остальных образцов, со звездообразной генетической структурой вида, что может быть объяснено исторической молодостью популяции – резким увеличением численности популяции, претерпевшей значительное сокращение численности (бутылочное горлышко) и дальнейшее резкое ее увеличение.

Формирование данной группы гаплотипов также ставит под сомнение выдвинутую ранее версию 1: если поток генов происходит между группами, обитающими в настолько далеких друг от друга, значительно различающихся по параметрам среды локациях, то кажется маловероятным, что барьер для потока в области Центрального Мадагаскара приводит к более четкому структурированию популяций чем, например, барьеры в области экваториальной Атлантики.

Так, районы сбора проб в Атлантическом океане также находятся в нескольких мезопелагических экорегионах и захватывают несколько биогеохимических провинций, а

также разделены крупными океаническими круговоротами, часто создающими преграду для обмена генами между популяциями, что может приводить к изоляции частей вида (Norton, Goetze, 2013). Отсутствие генетической структуры среди собранных образцов согласно версии 1 должно обеспечиваться двумя условиями: отсутствие непроницаемых для генетического потока преград на пути сообщения групп из разных океанов и наличие пути миграции особей из тропических широт одного океана в тропики другого в течение короткого времени.

В литературе существуют примеры слабо структурированных популяций, обитающих в далеко расположенных районах Атлантического и Индийского океанов. Так, между популяциями мезопелагических копепод из Индийского океана, Южной и тропической части Северной Атлантики также не было обнаружено генетических различий (Norton, Goetze, 2013). Авторы работы предложили несколько объяснений данному факту – 1) продолжающаяся миграция между указанными регионами, 2) относительно недавнее возникновение барьера для потока генов, имевшее место в прошлом, либо 3) колонизация посредством расширения ареала из одного океана в другой (Norton, Goetze, 2013).. С другой стороны, ряд nektonных хищников, например, кальмаров, имеют более узкие ареалы популяций или видов в Атлантическом океане (Fernández-Álvarez et al., 2020). Поэтому способность к длительным миграциям не всегда приводит к свободному потоку генов.

## 1.2. Анализ по гену ITS-1

Для проверки выдвинутых гипотез был проведен анализ ядерных генетических маркеров – EF1-<sup>α</sup> и ITS-1. С геном, кодирующим фактор элонгации EF1-<sup>α</sup>, работа была прекращена на этапе ПЦР в связи с трудностями в подборе оптимальных условий проведения реакции, а для гена ITS-1 результаты были получены и обработаны. К секвенированию было подготовлено 48 образцов, однако для 25 из них секвенирование не прошло, несмотря на наличие ярких полосок на геле при проверке качества ПЦР с помощью метода электрофореза. Таким образом, были получены 23 пары прочтений. После получения хроматограмм последовательности были собраны в контиги и обработаны, затем собраны в выравнивание. Выравнивание было обрезано по длине самого короткого прочтения и составило 328 п.н.

При обработке последовательностей возникали проблемы в связи с наличием гетерозигот, в таких случаях нуклеотиды обозначались в соответствии со стандартным кодом.

Поскольку в GenBank не было обнаружено ни одной последовательности гена ITS-1 для данного вида и даже рода *Systellaspis*, была предпринята попытка выполнить выравнивание полученных нами последовательностей с аналогичными последовательностями у таксономически наиболее близких организмов. Единственными имеющимися в базе данных представителями надсемейства Orlophoroidea оказались *Ephyrina figueirai* (KJ155576.1) и *Acanthephyra pelagica* (KJ155571.1). При выравнивании последовательностей самый длинный перекрывающийся (без инделов) участок составил 104 (без крупных интронов – 124), что может свидетельствовать о низкой консервативности гена. Следовательно, данный ген демонстрирует высокий уровень межродовой изменчивости в пределах надсемейства Orlophoroidea. Однако, внутри вида *S. debilis* практически все полученные последовательности оказались идентичны.

Последовательности ITS-1 оказались идентичны у 19 особей из трех районов, 4 отличались несколькими заменами, что, как и в случае с геном COI. Этот факт, так же как и единообразие последовательностей гена COI, свидетельствует либо о продолжающемся свободном потоке генов, либо о незавершенной дифференцировке предковых линий. Хотя нельзя отбросить вероятность низкой скорости эволюции обоих генов, а также других маркеров, имеющихся в ГенБанке и низкую скорость эволюции вида, версия 2 о недостаточной информативности маркера представляется менее убедительной.

Итак, полученные нами идентичные сиквенсы, свидетельствуют либо о продолжающемся свободном потоке генов, либо о незавершенной дифференцировке предковых линий (Pérez-Barros et al., 2008). Независимо от того, продолжается ли на данный момент генетический поток, важно ответить на вопрос о его направлении, либо о пути расселения предковой формы и причинах прекращения обмена генетическим материалом. В пользу того, что заселение *S. debilis* происходило из Индийского океана говорит количество видов рода *Systellaspis*, обитающих в Атлантическом, Индийском и Тихом океанах (см. табл. 3). Тот факт, что из одиннадцати признанных на данный момент видов десять встречаются в Тихом океане, 7 – в Индийском и только 6 – в Атлантическом океане (<https://obis.org/taxon/107027>), говорит о том, что центром биоразнообразия, по всей видимости являлся Тихий океан. Стоит также отметить, что, судя по данным о распространении видов, для Атлантического океана не отмечено ни одного вида-

эндемика. В таком случае, расселение происходило именно из Тихого океана, а виды заселяли постепенно Индийский и Атлантический океаны. Далее рассмотрены две гипотезы о направлении расселения *S. debilis* в этих океанах.

#### Гипотеза 1. Поток генов из Атлантического в Индийский океан

Единообразие последовательностей рассмотренных генов у образцов из Северной и Южной частей Атлантики ставит дополнительный вопрос о потоке генов между ними. Для мезопелагических копепод была показана изолирующая роль экваториальных вод, образующих барьер для обмена генов между северным и южным субтропическими круговоротами в Атлантике (Norton, Goetze, 2013). В то же время, представители рассмотренных видов мезопелагических копепод Южной Атлантики и Индийского океанов слабо различались между собой. Также стоит отметить, что направление миграций из Северной части Атлантического океана в Южную затруднено в большей степени, чем миграции в противоположном направлении. Таким образом, расселение предковых линий через Атлантический океан представляется маловероятным.

#### Гипотеза 2. Поток генов из Индийского в Атлантический океан

Данный путь заселения морских организмов считается более распространенным и поток генов в этом направлении происходит до сих пор (Dudoit et al., 2018).

Тропическая часть Атлантического океана была изолирована от Индо-Пацифики в результате двух событий: 1) закрытие моря Тетис ~ 13 млн лет назад, вызванное столкновением Африки и Евразии, и 2) подъем Панамского перешейка ~ 3,5 млн лет назад, отделивший Атлантику от восточной части Тихого океана (Bowen et al., 2016; Lessios, 2008). Что касается последнего, некоторые виды разошлись задолго до окончательного отделения Атлантического океана от Тихого, хотя время разделения до сих пор остается спорным (Marko, Eytan, Knowlton, 2015).

После закрытия моря Тетис естественный генетический поток между Атлантическим и Индийским океанами был ограничен гидрологическими факторами, образующими сложную структуру вод в районе южной части Африки (Teske et al., 2011). Прохождение тепловодных потоков здесь было сокращено примерно 2,5 млн лет назад с появлением современных ледниковых циклов и апвеллинга Бенгельского течения со стороны Атлантического океана (Dwyer, 1995). Однако, со стороны Индийского океана течение Агульяс периодически направляет круговороты теплых вод в Атлантику (Hutchings et al., 2009), что является потенциальным путем колонизации. Филогеографические исследования подтверждают расселение отдельных видов рыб вдоль этого маршрута от

Индийского до Атлантического океана в течение последних 2,5 млн лет (Gaither et al., 2015; Reese et al., 2010). В случае объекта данной работы, последний путь наиболее вероятный для заселения Атлантического океана, т.к. альтернативный путь – через пролив Дрейка характеризуется низкими температурами, что являлось бы препятствием для расселения тепловодных креветок. Однако, при рассмотрении данного сценария остается неясным вопрос об обитании вида в Атлантическом океане на момент вселения ныне обитающей в нем генетической линии: в одном случае предковая линия из Индийского океана вытеснила конкурентов, в другом – заняла свободную экологическую нишу. Имеющихся на данный момент фактов недостаточно, чтобы остановиться на одной из версий.

Таблица 3. Количество видов *Systellaspis*, обитающих в Атлантическом, Индийском и Тихом океанах.

<b>Вид / Океан</b>	<b>Атлантический</b>	<b>Индийский</b>	<b>Тихий</b>
<i>Systellaspis braueri</i> (Balss, 1914)	1		1
<i>Systellaspis cristata</i> (Faxon, 1893)	1	1	1
<i>Systellaspis curvispina</i> Crosnier, 1988	1	1	1
<i>Systellaspis debilis</i> (A.Milne-Edwards, 1881)	1	1	1
<i>Systellaspis eltanini</i> Wasmer, 1986	1	1	
<i>Systellaspis guillei</i> Crosnier, 1988		1	1
<i>Systellaspis intermedia</i> Crosnier, 1988		1	1
<i>Systellaspis lanceocaudata</i> Spence Bate, 1888			1
<i>Systellaspis liui</i> Sha & Wang, 2015			1
<i>Systellaspis paucispinosa</i> Crosnier, 1988			1
<i>Systellaspis pellucida</i> (Filhol, 1884)	1	1	1
<b>Видов в океане</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>10</b>

В настоящее время распределение генетических линий между Атлантическим и Индийским океанами происходит посредством течений, огибающих Южную Африку – преобладающими среди них являются холодное Бенгельское течение, движущееся на север вдоль западного побережья Африки, и теплое течение Агульяс, движущееся на юг вдоль восточного побережья. Благодаря этим течениям связь тропических видов поддерживается по сей день (Dudoit et al., 2018).

Итак, на данном этапе можно заключить, что группы являются панмиксными, анализ по другим участкам генома может выявить более тонкую структуру популяций.

Выявленная структура вида может быть обусловлена прохождением популяции через бутылочное горлышко в результате палеоокеанографических изменений. В таком случае, поток генов, происходивший, скорее всего, из Тихого и через Индийский океан в Атлантический, прекратился после соединения Евразии с Африкой. Для ответа на вопрос о том, происходит ли генетический обмен между географическими группами из Индийского океана и Атлантического на настоящий момент, данных недостаточно. Необходим дальнейший генетический анализ с использованием более чувствительных эволюционных маркеров.

## 2. Анализ морфологической и генетической изменчивости

### 2.1. Результаты RDA

Результаты анализа избыточности (RDA) показали наличие значимой связи матрицы морфологических признаков с размерами тела (см. рис. 12). Модель RDA была статистически значима ( $F = 7.3655$ ,  $p = 0.0001$ , число пермутаций = 9999). Две канонические оси в сумме описывают 18 % суммарной дисперсии (см. табл. 4). Первые две неканонические оси описывают гораздо большую долю суммарной дисперсии – 37,8%. Таким образом, менее четверти изменчивости морфологических признаков объясняется связью с размером тела. Вместе с тем около 80% изменчивости морфологических признаков не связано с размером. При этом около трети остаточной изменчивости определяется PC1 и PC2.

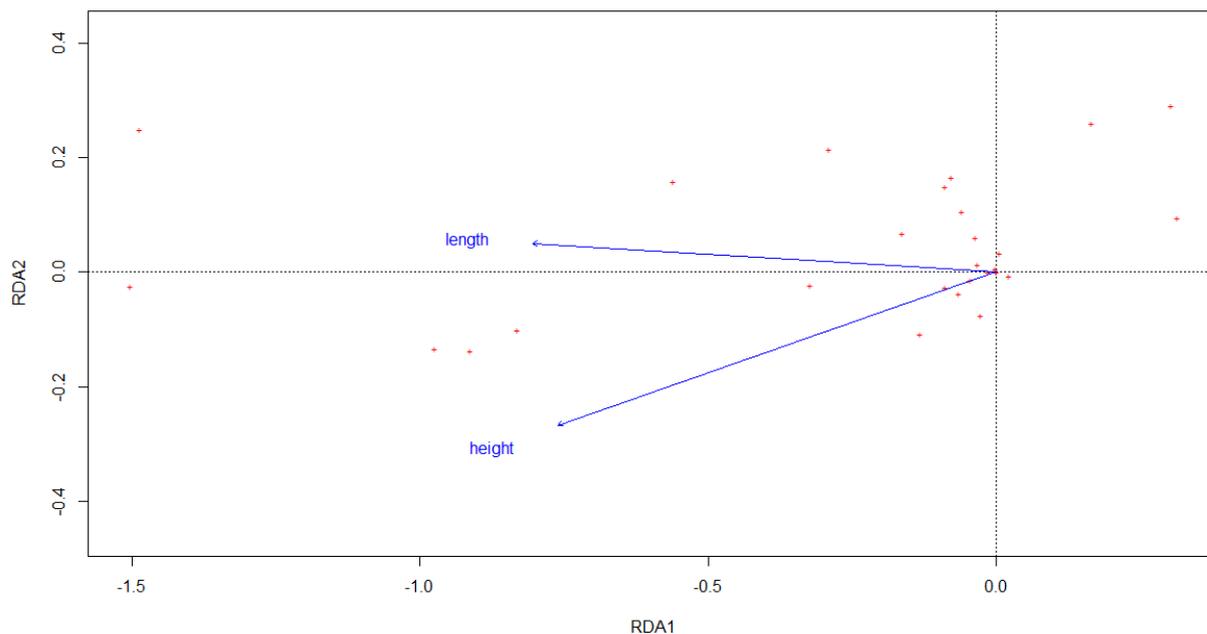


Рисунок 12. Ординация признаков в пространстве канонических осей RDA1 и RDA2. Подписаны признаки с наибольшей нагрузкой по осям RDA1 и RDA2 (расшифровки см. в таблице 4)

Таблица 4. Вклад компонент в изменчивость.

Тип осей	Канонические оси		Неканонические оси	
	RDA1	RDA2	PC1	PC2
<b>Ось</b>				
<b>Собственное число</b>	5.0983	0.2853	7.4947	3.6436
<b>Доля объясненной дисперсии</b>	<b>0.1728</b>	<b>0.0097</b>	<b>0.254</b>	<b>0.1235</b>
<b>Накопленная доля объясненной дисперсии</b>	<b>0.1825</b>		<b>0.3775</b>	
	0.56			

В результате RDA были выявлены признаки, которые имеют наиболее сильную связь с размерами тела (рис. 12, табл. 4). К числу таковых относятся: Количество боковых зубчиков на 4 сегменте (правая сторона), количество боковых зубчиков на 4 сегменте (левая сторона), количество щетинок на мерусе 4 сегмента в заднем ряду.

Поскольку для корректного анализа морфологической изменчивости необходимо избавиться от влияния размера на признаки, дальнейшая работа была основана на анализе остаточной изменчивости RDA, то есть неканонических осей (см. рис. 13).

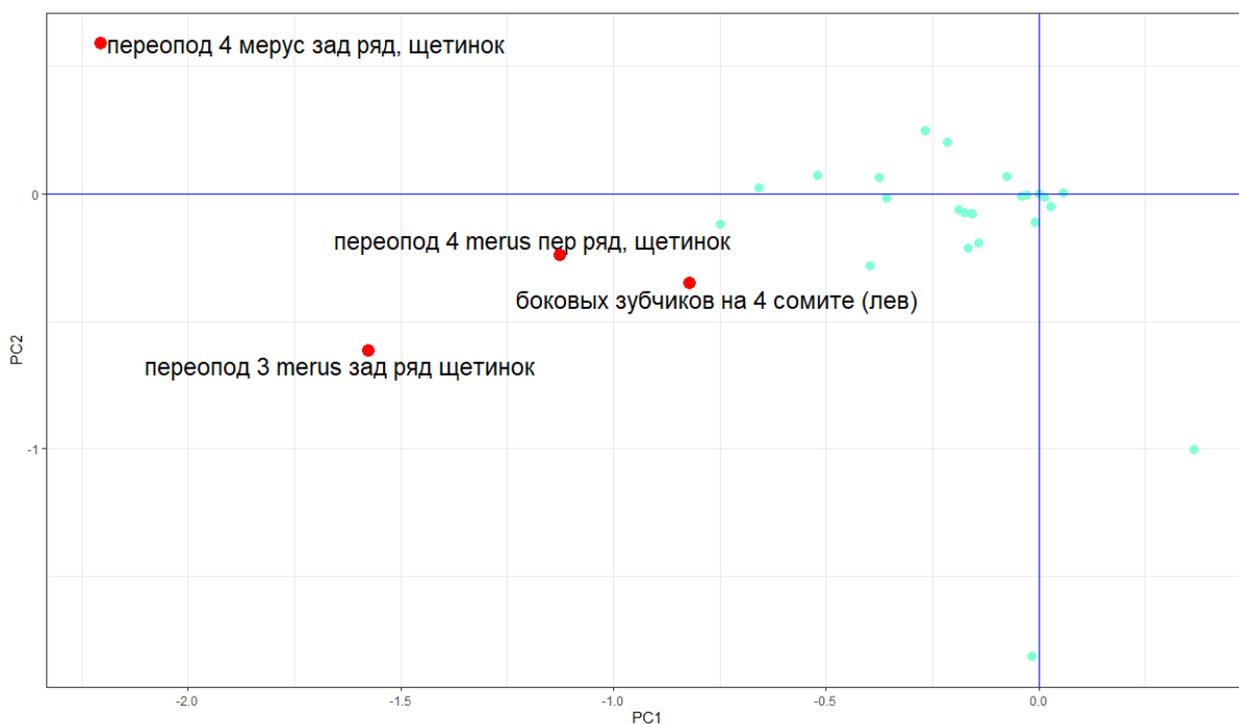


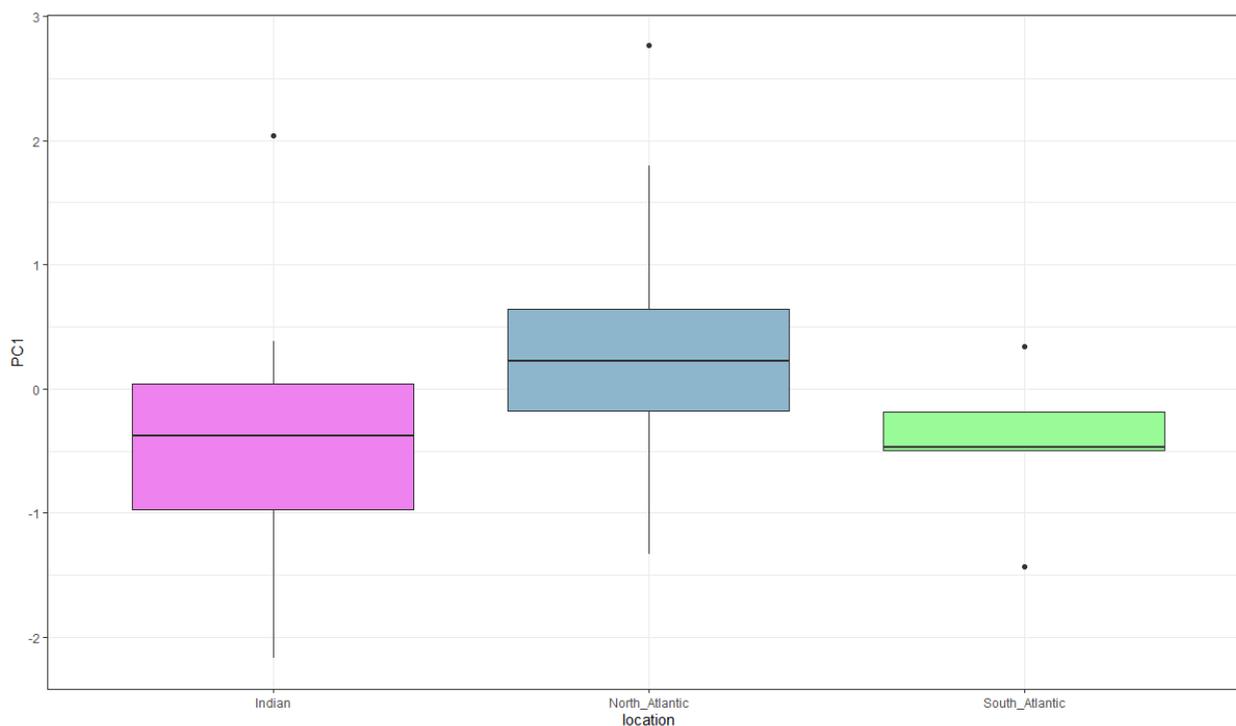
Рисунок 13. Ординация признаков в пространстве неканонических осей PC1 и PC 2. Красными точками отмечены признаки с высокими факторными нагрузками (независимые от размера карапакса), светло-голубым – признаки с меньшими факторными нагрузками (зависимые от канониче

Наибольшие нагрузки по PC1 и PC2 (см. табл. 4) имели следующие признаки:

1. Количество щетинок на мерусе 4 переоподы в заднем ряду,
2. Количество щетинок на мерусе 3 переоподы в заднем ряду,
3. Количество щетинок на мерусе 4 переоподы в переднем ряду,
4. Количество боковых зубчиков с левой стороны 4 сомита,

Эти признаки определяют максимальную морфологическую изменчивость особей, при исключении влияния размеров.

Первая неканоническая ось (PC1) демонстрировала значительную связь с местом сбора материала (см. рис. 14). Эта связь была статистически значимой (ANOVA:  $F = 5.306$ ,  $p = 0.0073$ ). Особи, собранные в Северной Атлантике в среднем имели более низкие значения PC1, чем особи из Южной Атлантики и Индийского океана. Описанной связи PC2 с местом сбора материала выявлено не было (рис. 12, ANOVA:  $F = 0.01$ ,  $p = 0.99$ ).



*Рисунок 14. Изменчивость особей из Индийского океана, Северной и Южной части Атлантического океана вдоль неканонической оси PC1*

Признаки, имеющие наиболее сильную связь с PC1 и PC2 (см. рис. 13) демонстрируют явную связь с местом сбора материала (см. рис. 15). Так, количество щетинок в заднем ряду на мерусе третьей и в переднем ряду меруса четвертой переоподы было в среднем выше у особей, собранных в Индийском океане, чем у особей из других локаций. В то же время, особям из Южного океана оказалось свойственно большее среднее количество щетинок в заднем ряду на мерусе четвертой переоподы, чем представителям других географических групп. Количество боковых зубчиков на плевре с левой стороны 4 сегмента южноатлантических креветок незначительно превышало таковое особей из Индийского океана. У североатлантической группы среднее количество щетинок на мерусах третьей и четвертой переоподы было самым низким, это же касается и количества зубцов на левой стороне четвертого сегмента.

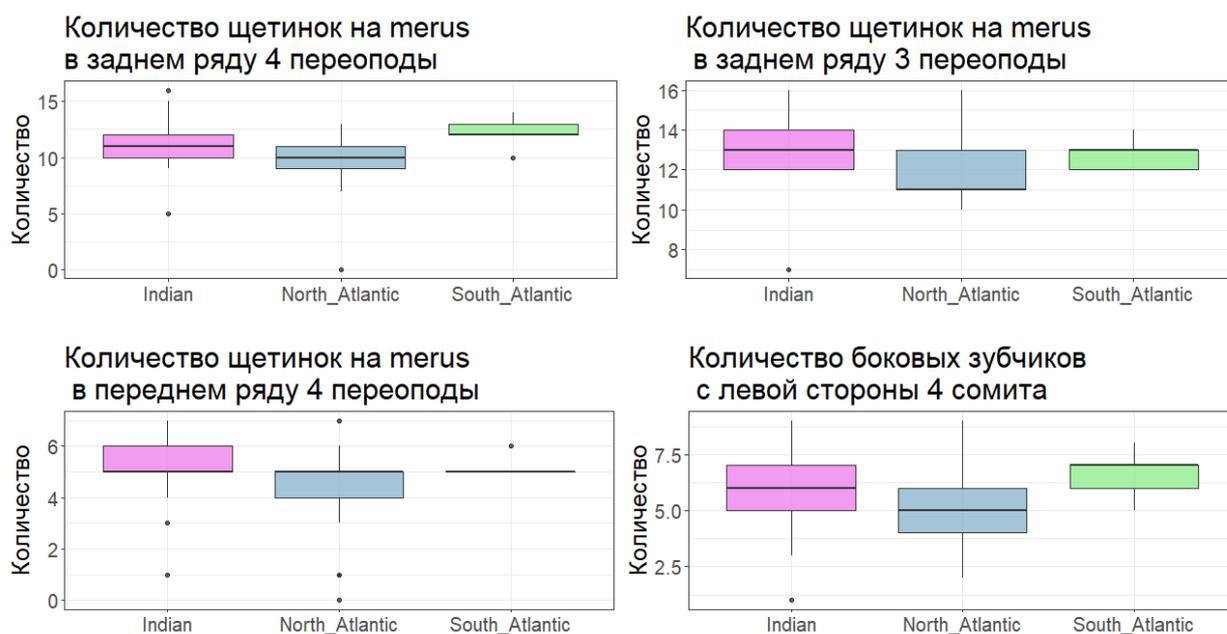


Рисунок 15. Вариабельность значений признаков среди особей из Северной и Южной Атлантики и Индийского океана

## 2.2. Сопоставление результатов генетического и морфологического анализов

Перед началом сравнения результатов, генетические данные были интерпретированы следующим образом: особи, для которых были получены последовательности гена COI, были разделены на две группы, в первой из которых особи были генетически идентичны друг другу по данному гену («основная гаплогруппа»), а во второй отличались от первой группы наличием одной, либо нескольких замен («есть мутации»). Данное разделение визуализировано в виде гаплогенетической сети (см. рис. 11).

Статистически значимых отличий PC1 и PC2 у особей этих двух групп выявлено не было (t-тест, PC1:  $t = 1.0637$ ,  $p = 0.2945$ ; PC2:  $t = 1.4749$ ,  $p = 0.1455$ ). Однако, значения PC1 в основной группе имели явно меньший разброс, чем разброс значений среди особей, несущих мутации (см. рис. 16).

Отсутствие в анализе немутантных особей из Южной Атлантики объясняется тем, что в основной гаплогруппе оказались ювенильные особи, которые были удалены из морфологического анализа.

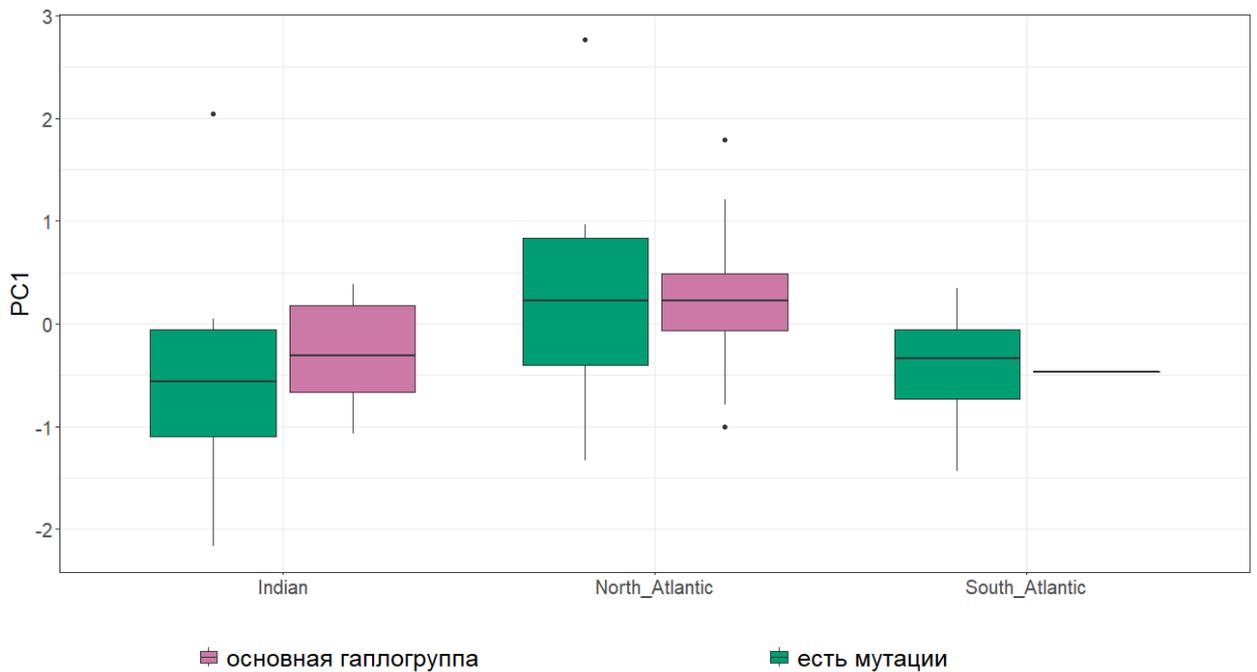


Рисунок 16. Изменчивость особей из основной гаплогруппы по *COI* и мутантных особей вдоль оси *PC1* в зависимости от локации

Представители двух генетических групп не проявляют выраженной сегрегации в пространстве *PC1* и *PC2* (см. рис.17). Однако можно заметить, что особи из обеих групп из Индийского океана смещены в сторону меньших значений *PC1* по сравнению с особями из из Северной Атлантики. Таким образом, можно заключить, что в Северной Атлантике часть образцов морфологически отличается от креветок из Индийского океана. Вместе с тем, следует отметить, что часть особей из этих локаций морфологически близки. Таким образом, морфологические маркеры не демонстрируют отчетливой связи с двумя генетическими группами, но отчетливо связаны с районами сбора.

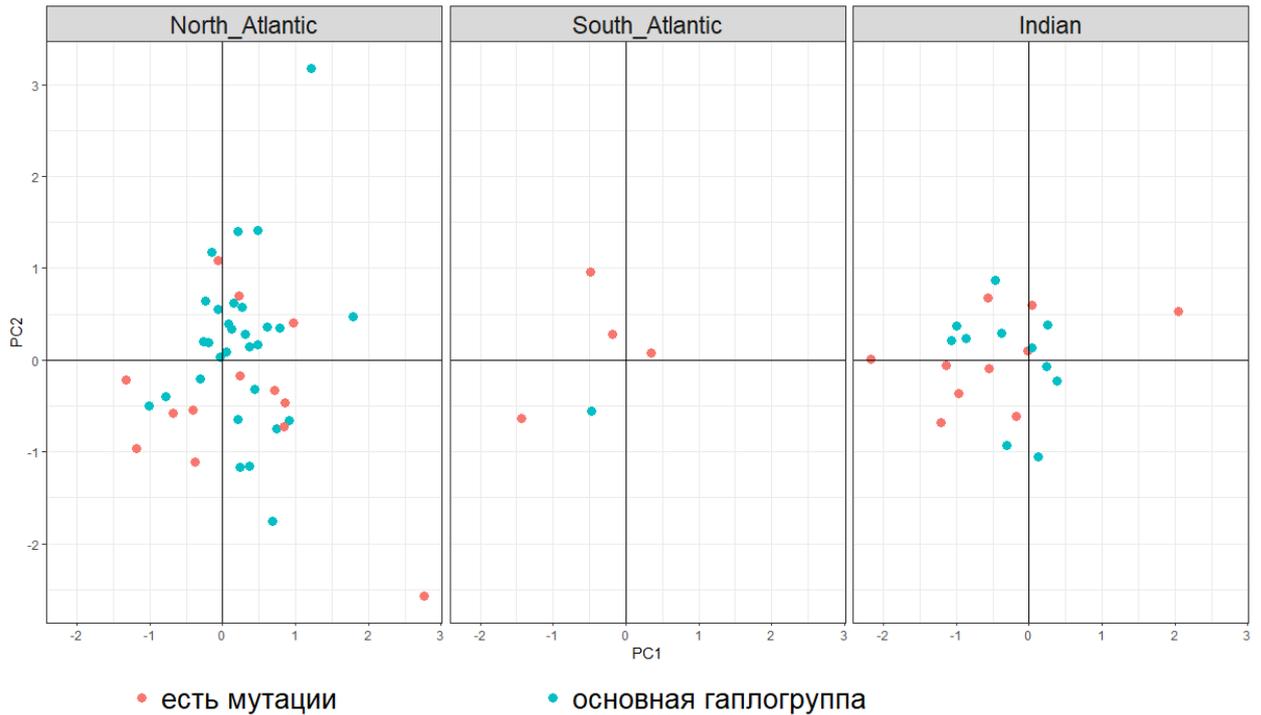


Рисунок 17. Разброс значений PC1 и PC2 среди мутантных особей и представителей основной гаплогруппы в зависимости от места сбора

Следует отметить, что две выделенные группы “основная группа” и “особи, несущие мутации” выделены достаточно формально. Поэтому для более тонкого анализа связи генетических и морфологических характеристик особей был проведен тест Мантела, позволивший оценить подобие двух матриц расстояний (матрицы генетических расстояний и матрицы расстояний в пространстве первых двух неканонических осей).

Результаты этого теста показали ( $r = 0.1791$ ,  $p_{\text{permutational}} = 0.003$ , 9999 пермутаций), что между двумя матрицами существует статистически значимое подобие. Таким образом, между генетическими и морфологическими характеристиками особей существует некоторая связь.

### 3. Проверка таксономического статуса *S. liui*

Вид *S. liui* был описан по одной обнаруженной в Западной части Тихого океана (в Филиппинском море) на глубине 3360 м самке (Sha, Wang, 2015). Тот факт, что описанная особь была собрана на большей глубине, чем, как правило, обитают другие представителями рода *Systellaspis* в Индо-Вест Пацифике, может свидетельствовать об экологических особенностях *S. liui* как глубоководного вида. Согласно авторам, описавшим вид, генетические и морфологические различия между *S. debilis* и *S. liui* достаточны для разделения видов. Однако валидность таксономического статуса *S. liui* считается спорной (Lunina, Kulagin, Vereshchaka, 2018).

#### 3.1. Генетические отличия

О том, что последовательности COI из ГенБанка распадаются на две клады, говорилось еще в статье Ша, который объяснял данный факт наличием криптических видов (Sha, Wang, 2015). Образцы, группирующиеся вместе с *S. liui* и хранящиеся в ГенБанке под именем *S. debilis* – KP76201, KP76202, KP76204, KP76205, KP76207, KP76208, KP76209, KP76211, предлагается причислять к *S. liui* т.к. генетические расстояния, отделяющие перечисленные образцы от данного вида составляет менее 1.7% (Sha, Wang, 2015). Анализ маркера COI, выявивший генетические дистанции между *S. liui* и *S. debilis*, превышающие 5%, также привел авторов статьи к заключению о видовом статусе *S. liui*. Однако, в связи с различной скоростью накопления мутаций среди Decapoda, генетические расстояния, разделяющие виды, могут значительно варьировать от одного семейства к другому (Silva da et al., 2011). Также изменчива и степень внутривидовых различий: в некоторых видах Decapoda внутривидовые различия могут превышать 5% (Silva da et al., 2011).

С целью проверки обоснованности выделения *S. liui* в отдельный вид было проведено сопоставление внутривидовых и межвидовых генетических расстояний рода *Systellaspis*.

Генетические расстояния (количество замен оснований на сайт после усреднения по всем парам последовательностей внутри и между группами) между *S. liui* и *S. debilis* (клада 1) из Атлантического и Индийского океана, полученными из ГенБанка, в сравнении с межвидовыми дистанциями между видами рода *Systellaspis* показали, что данные группы являются близкородственными, процент различий составляет 7%, в то время как расстояния между другими видами рода *Systellaspis* составляют 8% и больше (см. табл. 5). В то же время, расстояние между *S. liui* и группой *S. debilis* (клада 2), на гаплосети

попадающих с ними в одну кладу, оказалось менее 2%. Такая незначительная дистанция свидетельствует в пользу принадлежности особей из клады 2 к виду *S. liui*.

Среди других видов наименьшее расстояние разделяет *S. braueri* и *S. paucispinosa* и составляет около 8%, дистанция между *S. cristata* и *S. curvispina* также не превышает 13%. В сравнении с данными результатами дистанция равная 6,9% между изучаемыми видами – *S. liui* и *S. debilis* отличается незначительно, в связи с чем различия могут быть признаны достаточными для подтверждения видового статуса *S. liui*.

Таблица 5. Внутри- и межгрупповые генетические расстояния видов *Systellaspis*. «*S. debilis* клада 1» соответствует образцам из Атлантического и Южной части Индийского океана, «*S. debilis* клада 2 (Инд.)» – группирующихся в одну кладу *S. liui* образцам с Северного побережья Мадагаскара. Синим цветом обозначены внутригрупповые расстояния.

	<i>S. braueri</i>	<i>S. cristata</i>	<i>S. curvispina</i>	<i>S. debilis</i> клада 1	<i>S. debilis</i> клада 2 (Indian)	<i>S. guillei</i>	<i>S. liui</i>	<i>S. paucispinosa</i>	<i>S. pellucida</i>
<i>S. braueri</i>	0.1276								
<i>S. cristata</i>	0.2352	0.1131							
<i>S. curvispina</i>	0.2450	0.1276	0.0034						
<i>S. debilis</i> клада 1	0.3159	0.2945	0.2795	0.0040					
<i>S. debilis</i> клада 2 (Инд.)	0.3139	0.2935	0.2738	0.0691	0.0106				
<i>S. guillei</i>	0.2412	0.2242	0.2221	0.3180	0.2991	NA			
<i>S. liui</i>	0.3156	0.2930	0.2751	0.0652	0.0159	0.2984	NA		
<i>S. paucispinosa</i>	0.0814	0.2224	0.2340	0.2998	0.3026	0.2392	0.3055	NA	
<i>S. pellucida</i>	0.2433	0.1897	0.1975	0.2962	0.2880	0.2099	0.2956	0.2309	7.1098

Полученные меж- и внутригрупповые генетические дистанции для рода *Systellaspis* были сопоставлены с аналогичными показателями для близкого к *Systellaspis* роду креветок, *Ophlophorus* (см. табл. 6). Расстояния между тремя видами, последовательности гена COI которых имеются в ГенБанке не превышают 12%, а минимальная дистанция составляет 7,7% и разделяет *O. gracilirostris* и *O. typus*. Такие различия сопоставимы с различиями между *S. liui* и *S. debilis*.

Таблица 6. Внутри- и межгрупповые генетические расстояния видов *Oplophorus*. Синим цветом обозначены внутригрупповые расстояния.

	<i>O. spinosus</i>	<i>O. typus</i>	<i>O. gracilirostris</i>
<i>O. spinosus</i>	0.0227		
<i>O. typus</i>	0.1161	0.0227	
<i>O. gracilirostris</i>	0.1062	0.0764	0.0215

Согласно концепции унифицированного подхода к выделению видов, видами являются метапопуляции, эволюционирующие отдельно от других генетических линий (De Queiroz, 2007). Тот факт, что генетические отличия *S. liui* от *S. debilis* сопоставимы с различиями между другими видами рода *Systellaspis* и близкого к нему рода *Oplophorus*, свидетельствует о независимой эволюции линий в течение достаточно длительного времени для обособления самостоятельных видов и, таким образом, подтверждает статус *S. liui* как самостоятельного вида.

### 3.2. Морфологические отличия

Морфологические особенности, отличающие вид *S. liui* от близкого к нему и генетически, и морфологически *S. debilis* были перечислены в работе описавшего данную особь Чжунли Ша (Sha, Wang, 2015). Стоит отметить, что автор статьи не имел в своем распоряжении особей *S. debilis*, в связи с чем для сравнения морфологических признаков использовались литературные данные. Некоторые из особенностей *S. liui*, описанных в данной работе, как выяснилось в процессе проведенного нами морфологического анализа, могут быть характерны и для *S. debilis*. Другие отличительные особенности вида могут быть результатом случайных мутаций в геноме конкретной особи, а не показателем дивергенции видов (Lunina, Kulagin, Vereshchaka, 2018).

Таблица 7. Признаки, отличающие *S. liui* от *S. debilis* по (Sha, Wang, 2015)

№	Признак	<i>S. liui</i>	<i>S. debilis</i>
1	наличие медиальной ложбинки на латеральной стороне скафоцерида	+	+
2	дорсальный край третьего брюшного сомита с кариной (килем)	+	+
3	задний край пятого брюшного сомита несет 3 зубца	+	+/-
4	дорсальный край тельсона вооружен не менее чем двумя рядами мелких шипов с каждой стороны	+	-

Как показал проведенный нами морфологический анализ из четырех признаков, предложенных в статье для различения *S. liui* и *S. debilis*, три оказались характерными и для

*S. debilis* (см. табл. 7). Так, у 100% рассмотренных особей на скафоцерите имелась медиальная ложбинка, а также киль на третьем сомите. У части 26-30% особей (количество зубцов с правой и левой стороны в некоторых случаях различалось) на заднем краю было обнаружено три зубца, у остальных – большее или меньшее количество, что свидетельствует о внутривидовой вариабельности данного признака у *S. debilis* и демонстрирует данный признак неподходящим для разделения видов.

Среди перечисленных в статье (Sha, Wang, 2015) отличий *S. liui* от *S. debilis* (см. Главу1, раздел 4.1 «Систематическое положение, исторический экскурс») лишь одна морфологическая характеристика не была обнаружена у изученных нами образцов – неупорядоченные ряды мелких шипиков на тельсоне. Признак этот не характерен для представителей семейства Orlorphoridae, в связи с чем высказывалось предположение об особенностях развития конкретной особи, по которой был описан вид (Lunina, Kulagin, Vereshchaka, 2018).

### 3.3. Выводы касательно таксономического статуса *S. liui*

Унифицированная концепция вида выделяет как единственный необходимый критерий вида самостоятельную и отделенную от влияния других линий эволюцию (De Queiroz, 2007). Другие критерии вида в рамках данной концепции считаются второстепенными, однако полезными для подтверждения наличия генетических различий между метапопуляциями.

Среди таких “второстепенных” отличий можно перечислить морфологические отличия, экологические, эмбриональные особенности и тд. Так, упомянутая особь *S. liui* была собрана на глубине 3500 м, превышающей среднюю глубину обитания *S. debilis* (250-750) м, не были обнаружены глубже 2500 м). Важно отметить, что вылов особей, кластеризующихся с *S. liui* происходил на горизонте 0-2000 м с помощью трала, в связи с чем вопрос об обитании *S. liui* преимущественно в глубоководных слоях остается открытым. При обсуждении данного вопроса также необходимо учитывать общую глубину в местах сбора.

Видимо, особи, собранные у Северного побережья Мадагаскара, и группирующиеся с *S. liui* в одну кладу на филогенетическом дереве, построенному по гену COI, принадлежат к этому виду, однако были определены как *S. debilis* в связи с недостаточными морфологическими отличиями, а также в силу невозможности проведения генетического анализа в 1974 году.

Таким образом, валидность выделения данной генетической линии в отдельный вид остается под вопросом, хотя наличие отдельной генетической линии оспорить невозможно. Следуя унифицированной концепции вида (Queiroz De, 2007), *S. liui* действительно является самостоятельным видом, однако морфологические отличия данного вида от близкородственных видов нуждаются в пересмотре, т.к. часть перечисленных в описании отличительных признаков, как показал морфологический анализ, проведенный в процессе данной работы, оказались также характерными для *S. debilis* и, следовательно, могут укладываться в рамки внутривидовой вариации. Для того, чтобы подтвердить валидность выделения вида необходим комплексный подход, включающий в себя как анализ морфологических различий, генетический анализ, а также работу с данными об экологических и этологических особенностях вида (Silva da et al., 2011; Абрамсон, 2009). В связи с этим для прояснения статуса данной клады требуется проведение дополнительных морфологических и генетических (анализ ядерных маркеров) исследований особей, которые её формируют.

## Выводы

1. Для анализа были выбраны маркеры COI и ITS-1, а также EF1- $\alpha$ . Для выявления более тонкой структуры вида необходим дальнейший поиск генетических маркеров или использование других методов.
2. Особи *S. debilis* единообразны по генам COI и ITS-1, что может говорить либо о продолжающемся свободном потоке генов, либо о незавершенной дифференцировке предковых линий, которая использованными в работе маркерами не определяется.
3. Был выявлен широтный градиент морфологических признаков, в частности, у особей из разных регионов отличалось количество шипиков на мерусах третьей и четвертой пары переопод и зубцов на пятом сегменте.
4. Мутации гена COI коррелируют с морфологической изменчивостью, однако для выявления более четкой зависимости необходим дальнейший поиск генетических маркеров или использование других методов, более чувствительных к эволюционным событиям.
5. Вид *S. liui* является самостоятельным видом, имеющим значительные генетические отличия от *S. debilis*. Для выявления морфологических отличий *S. liui* от *S. debilis* требуется проведение дополнительного морфологического анализа особей.

## Благодарности

Я выражаю благодарность моим научным руководителям, В.М. Хайтову и Д.Н. Кулагину за уделенное время и внимание, терпение и возможность проделать исследование с использованием такого разнообразия методов, а также за полученные мной в процессе работы навыки филогеографических исследований и статистической обработки и многочисленные советы. Кроме того, я очень благодарна Вадиму Михайловичу и Дмитрию Николаевичу за неподдельный интерес к данному исследованию, вдохновлявший меня на усердную работу.

Также благодарю А.А. Розенберга за анализ и рецензирование работы.

Данная работа не могла бы состояться в таком виде без помощи моих коллег из Института Океанологии РАН им. П.П. Ширшова – А.Л. Верещаки, А.А. Луниной и других сотрудников лаборатории, участвовавших в обсуждениях, касающихся темы исследования. Отдельно хочу поблагодарить А.Н.Лунину за обучение морфологическому анализу креветок и за многочисленные советы. Также я считаю очень ценными на финальном этапе работы помощь В.О. Мокиевского, советы и замечания которого помогли правильно расставить акценты в работе.

Условиями для удобной работы и доступом к оборудованию и поддержкой на протяжении всей работы я обязана М.А. Никитину, за что я чрезвычайно благодарна. В Ресурсном центре "Развитие молекулярных и клеточных технологий" СПбГУ сотрудники РЦ проводили секвенирование образцов в течение полутора лет, давая мне возможность работать с прочтениями высокого качества, за что я искренне благодарна. Чрезвычайно ценны были советы А.И. Грановича, П.П. Петровича, М.А. Сказиной, а также моих коллег с кафедры Зоологии беспозвоночных СПбГУ.

Рада поблагодарить своих друзей и близких, связанных и несвязанных с кафедрой ЗБП, которые не только давали ценные советы касательно работы, но и морально поддерживали меня в течение всего времени обучения в магистратуре и проведения данного исследования.

## Список литературы

1. *Alves-júnior F.D.E.A., Dos E., Silva S., et al.* Taxonomy of deep-sea shrimps of the Superfamily Oplophoroidea Dana 1852 (Decapoda: Caridea) from Southwestern Atlantic // 2019. V. 4613. , № 3. - 401–442 p.
2. *Andrews K.R., Norton E.L., Fernandez-Silva I., et al.* Multilocus evidence for globally distributed cryptic species and distinct populations across ocean gyres in a mesopelagic copepod // *Mol. Ecol.*, 2014. V. 23. , № 22. - 5462–5479 p.
3. *Aznar-Cormano L., Brisset J., Chan T.Y., et al.* An improved taxonomic sampling is a necessary but not sufficient condition for resolving inter-families relationships in Caridean decapods // *Genetica.*, 2015. V. 143. , № 2. - 195–205 p.
4. *Backus G.* Poloidal and Toroidal Fields in Geomagnetic Field Modeling // *Rev. Geophys.*, 1986. V. 24. , № 1. - 75–109 p.
5. *Baird N.A., Etter P.D., Atwood T.S., et al.* Rapid SNP Discovery and Genetic Mapping Using Sequenced RAD Markers // 2008. V. 3. , № 10. - 1–7 p.
6. *Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A.* Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies // *Mol. Biol. Evol.*, 1999. V. 16. , № 1. - 37–48 p.
7. *Bartilotti C., Santos A. Dos.* The secret life of deep-sea shrimps: ecological and evolutionary clues from the larval description of *Systellaspis debilis* (Caridea: Oplophoridae) // *PeerJ.*, 2019. V. 7. , № 9. - 1–25 p.
8. *Bassler R.S., Resser C.E.* Shelled invertebrates of the past and present // 1931.
9. *Blanco-Bercial L., Álvarez-Marqués F., Bucklin A.* Comparative phylogeography and connectivity of sibling species of the marine copepod *Clausocalanus* (Calanoida) // *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, 2011. V. 404. - 108–115 p.
10. *Blanco-Bercial L., Bucklin A.* New view of population genetics of zooplankton: RAD-seq analysis reveals population structure of the North Atlantic planktonic copepod *Centropages typicus* // *Mol. Ecol.*,

2016. V. 25. , № 7. - 1566–1580 p.

11. *Bowen B.W., Gaither M.R., DiBattista J.D., et al.* Comparative phylogeography of the ocean planet // Proc. Natl. Acad. Sci., 2016. V. 113. , № 29. - 7962–7969 p.

12. *Bucklin A., Ortman B.D., Jennings R.M., et al.* A «Rosetta Stone» for metazoan zooplankton: DNA barcode analysis of species diversity of the Sargasso Sea (Northwest Atlantic Ocean) // Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr., 2010. V. 57. , № 24–26. - 2234–2247 p.

13. *Bucklin A., Wiebe P.H.* Genetic heterogeneity in euphausiid populations: *Euphausia krohnii* and *Nematoscelis megalops* in North Atlantic Slope Water // Limnol. Oceanogr., 1986. V. 31. , № 6. - 1346–1352 p.

14. *Bucklin A., Wiebe P.H.* Low mitochondrial diversity and small effective population sizes of the copepods *Calanus finmarchicus* and *Nannocalanus minor*: Possible impact of climatic variation during recent glaciation // Journal of Heredity. , 1998. C. 383–392.

15. *Burridge A.K., Goetze E., Raes N., et al.* Global biogeography and evolution of Cuvierina pteropods Phylogenetics and phylogeography // BMC Evol. Biol., 2015. V. 15. , № 1. - 1–16 p.

16. *Burridge A.K., Hulst R. Van Der, Goetze E., et al.* Assessing species boundaries in the open sea: an integrative taxonomic approach to the pteropod genus *Diacavolinia* // Zool. J. Linn. Soc., 2019. V. 187. , № 4. - 1016–1040 p.

17. *Cardoso I.A., Young P.* Deep-sea Oplophoridae (Crustacea Caridea) from the southwestern Brazil // Zootaxa., 2005. V. 1031. , № 1. - 1 p.

18. *Chace F.A.* Revision of the bathypelagic prawns of the family Acanthephyridae, with notes on a new family, Gomphonotidae // J. Washingt. Acad. Sci., 1936. V. 26. , № 1. - 24–31 p.

19. *Chace F.A.* Plankton of the Bermuda Oceanographic Expedition. IX. The bathypelagic Caridean Crustacea // Zool. Sci. Contrib. New York Zool. Soc., 1940. V. 25. , № 11. - 117–209 p.

20. *Chang S.C., Chan T.Y.* Molecular evidence of sexual polymorphism in the rare deep-sea lobster genus *Thaumastocheles* Wood-Mason, 1874 (Crustacea: Decapoda: Nephropidae) // J. Crustac. Biol., 2018. V.

38. , № 6. - 772–779 p.

21. *Charif D., Lobry J.R.* SeqinR 1.0-2: a contributed package to the R project for statistical computing devoted to biological sequences retrieval and analysis // *Structural approaches to sequence evolution.* : Springer, 2007. C. 207–232.

22. *Chen G., Hare M.P.* Cryptic ecological diversification of a planktonic estuarine copepod, *Acartia tonsa* // *Mol. Ecol.*, 2008. V. 17. , № 6. - 1451–1468 p.

23. *Chu K.H., Li C.P., Ho H.Y.* The First Internal Transcribed Spacer (ITS-1) of Ribosomal DNA as a Molecular Marker for Phylogenetic and Population Analyses in Crustacea // *Mar. Biotechnol.*, 2001. V. 3. , № 4. - 355–361 p.

24. *Cornils A., Held C.* Evidence of cryptic and pseudocryptic speciation in the *Paracalanus parvus* species complex (Crustacea, Copepoda, Calanoida) // *Front. Zool.*, 2014. V. 11. , № 1. - 1–17 p.

25. *Cornils A., Wend-Heckmann B., Held C.* Global phylogeography of *Oithona similis* s.l. (Crustacea, Copepoda, Oithonidae) – A cosmopolitan plankton species or a complex of cryptic lineages? // *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2017. V. 107. - 473–485 p.

26. *Costello M.J., Breyer S.* Ocean Depths: The Mesopelagic and Implications for Global Warming // *Curr. Biol.*, 2017. V. 27. , № 1. - R36–R38 p.

27. *Crosnier A.* Oplophoridae (Crustacea Decapoda) récoltés de 1971 à 1982 par les navires français dans l'océan Indien occidental sud // *Bull. du Muséum Natl. d'Histoire Nat. Paris*, 1987. - 695–726 p.

28. *Daniels S.R., Gouws G., Stewart B.A., et al.* Molecular and morphometric data demonstrate the presence of cryptic lineages among freshwater crabs (Decapoda: Potamonautidae: Potamonautes) from the Drakensberg Mountains, South Africa // *Biol. J. Linn. Soc.*, 2003. V. 78. , № 1. - 129–147 p.

29. *Dawson M.N., Hamner W.M.* Rapid evolutionary radiation of marine zooplankton in peripheral environments // 2005.

30. *Deagle B.E., Faux C., Kawaguchi S., et al.* Antarctic krill population genomics: apparent panmixia, but genome complexity and large population size muddy the water // *Mol. Ecol.*, 2015. V. 24. , № 19. -

4943–4959 p.

31. Duda T.F., Palumbi S.R. Population structure of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, among western Indian Ocean and western Pacific populations // *Mar. Biol.*, 1999. V. 134. , № 4. - 705–710 p.
32. Dudoit 'Ale'alani, Iacchei M., Coleman R.R., et al. The little shrimp that could: Phylogeography of the circumtropical *Stenopus hispidus* (Crustacea: Decapoda), reveals divergent Atlantic and Pacific lineages // *PeerJ*, 2018. V. 2018. , № 3.
33. Eeden J.A. Van. Key to the genera of South African freshwater and estuarine gastropods (Mollusca) // *Ann. Transvaal Museum*, 1960. V. 24. , № 1. - 1–17 p.
34. Fernández-Álvarez F.Á., Braid H.E., Nigmatullin C.M., et al. Global biodiversity of the genus *Ommastrephes* (Ommastrephidae: Cephalopoda): an allopatric cryptic species complex // *Zool. J. Linn. Soc.*, 2020. V. 190. , № 2. - 460–482 p.
35. France S.C., Tachino N., Duda T.F., et al. Intraspecific genetic diversity in the marine shrimp *Penaeus vannamei*: Multiple polymorphic elongation factor-1 $\alpha$  loci revealed by intron sequencing // *Mar. Biotechnol.*, 1999. V. 1. , № 3. - 261–268 p.
36. Gaither M.R., Bernal M.A., Fernandez-Silva I., et al. Two deep evolutionary lineages in the circumtropical glass eel *Heteropriacanthus cruentatus* (Teleostei, Priacanthidae) with admixture in the south-western Indian Ocean // *J. Fish Biol.*, 2015. V. 87. , № 3. - 715–727 p.
37. Giorgio P.A. Del, Duarte C.M. Respiration in the open ocean // *Nat.* 2002 4206914., 2002. V. 420. , № 6914. - 379–384 p.
38. Gislason A., Petursdottir H., Astthorsson O.S., et al. Inter-annual variability in abundance and community structure of zooplankton south and north of Iceland in relation to environmental conditions in spring 1990–2007 // *J. Plankton Res.*, 2009. V. 31. , № 5. - 541–551 p.
39. Goetze E. Global population genetic structure and biogeography of the oceanic copepods *Eucalanus hyalinus* and *E. spinifer* // *Evolution (N. Y.)*, 2005. V. 59. , № 11. - 2378–2398 p.
40. Goetze E. Population Differentiation in the Open Sea: Insights from the Pelagic Copepod

- Pleuromamma xiphias // Integr. Comp. Biol., 2011. V. 51. , № 4. - 580–597 p.
41. Goetze E., Hüdepohl P.T., Chang C., et al. Ecological dispersal barrier across the equatorial Atlantic in a migratory planktonic copepod // Prog. Oceanogr., 2017. V. 158. - 203–212 p.
42. Goetze E., Ohman M.D. Integrated molecular and morphological biogeography of the calanoid copepod family Eucalanidae // Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr., 2010. V. 57. , № 24–26. - 2110–2129 p.
43. Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V., et al. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0 // Syst. Biol., 2010. V. 59. , № 3. - 307–321 p.
44. Halbert K.M.K., Goetze E., Carlon D.B. High Cryptic Diversity across the Global Range of the Migratory Planktonic Copepods *Pleuromamma piseki* and *P. gracilis* // 2013.
45. Harris D.J., Crandall K.A. Intragenomic variation within ITS1 and ITS2 of freshwater crayfishes (Decapoda: Cambaridae): Implications for phylogenetic and microsatellite studies // Mol. Biol. Evol., 2000. V. 17. , № 2. - 284–291 p.
46. Hillis D.M., Dixon M.T. Ribosomal DNA: Molecular Evolution and Phylogenetic Inference. , 1991. 411–453 c.
47. Hirai J., Shimode S., Tsuda A. Evaluation of ITS2-28S as a molecular marker for identification of calanoid copepods in the subtropical western North Pacific // J. Plankt. Res., 2013. V. 35. , № 3. - 644–656 p.
48. Ho Chee L. DNA Taxonomy of Infraorder Caridea (Crustacea: Decapoda) // 2006. , № December.
49. Hopkins T.L., Flock M.E., Gartner J. V, et al. Structure and trophic ecology of a low latitude midwater decapod and mysid assemblage. , 1994. 143–156 c.
50. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics., 2001. V. 17. , № 8. - 754–755 p.
51. Hutchings L., Linggen C.D. van der, Shannon L.J., et al. The Benguela Current: An ecosystem of four

- components // *Prog. Oceanogr.*, 2009. V. 83. , № 1–4. - 15–32 p.
52. *Iacchei M., Gaither M.R., Bowen B.W., et al.* Testing dispersal limits in the sea: range-wide phylogeography of the pronghorn spiny lobster *Panulirus penicillatus* // *J. Biogeogr.*, 2016. V. 43. , № 5. - 1032–1044 p.
53. *Iketani G., Pimentel L., Torres E. dos S., et al.* Mitochondrial heteroplasmy and pseudogenes in the freshwater prawn, *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862): DNA barcoding and phylogeographic implications // *Mitochondrial DNA Part A*, 2021. V. 32. , № 1. - 1–11 p.
54. *Iwasaki N., Nemoto T., others.* Pelagic shrimps (Crustacea: Decapoda) from the Southern Ocean between 150 E and 115 E // 1987.
55. *Judkins D.C.* Geographical distribution of pelagic decapod shrimp in the Atlantic Ocean // *Zootaxa*, 2014. V. 3895. , № 3. - 301–345 p.
56. *Kemp S.* The Decapoda collected by the "Huxley" from the North Side of the Bay of Biscay in August, 1906 // *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom*, 1910. V. 8. , № 5. - 407–420 p.
57. *Kemp S.W.* Biscayan Plankton. Part XI.—Decapoda. // *Trans. Linn. Soc. London. 2nd Ser. Zool.*, 1907. V. 10. , № 8. - 205–217 p.
58. *Kimura M.* Journal of Molecular Evolution A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences // *J. Mol. Evol.*, 1980. V. 16. - 111–120 p.
59. *Laakmann S., Auel H., Kochzius M.* Evolution in the deep sea: Biological traits, ecology and phylogenetics of pelagic copepods // 2012.
60. *Lanfear R., Frandsen P.B., Wright A.M., et al.* Partitionfinder 2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses // *Mol. Biol. Evol.*, 2017. V. 34. , № 3. - 772–773 p.
61. *Legendre P., Legendre L.* Numerical ecology. : Elsevier, 2012.
62. *Lessios H.A.* The great American schism: Divergence of marine organisms after the rise of the Central

- american Isthmus // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2008. T. 39. C. 63–91.
63. *Lincoln R.J.* A dictionary of ecology, evolution and systematics. Cambridge ; New York: Cambridge University Press, 1998. Вып. 2. 1–361 с.
64. *Lomolino M. V., Sax D.F., Riddle B.R., et al.* The island rule and a research agenda for studying ecogeographical patterns // *J. Biogeogr.*, 2006. V. 33. , № 9. - 1503–1510 p.
65. *Longhurst A.R.* Ecological Geography of the Sea. , 2007.
66. *Lourie S.A., Vincent A.C.J.* Using Biogeography to Help Set Priorities in Marine Conservation // *Conserv. Biol.*, 2004. V. 18. , № 4.
67. *Lunina A.A., Kulagin D.N., Vereshchaka A.L.* Oplophoridae (Decapoda: Crustacea): Phylogeny, taxonomy and evolution studied by a combination of morphological and molecular methods // *Zool. J. Linn. Soc.*, 2018. V. 186. , № 1. - 213–232 p.
68. *Luttikhuisen P.C., Campos J., Bleijswijk J. van, et al.* Phylogeography of the common shrimp, *Crangon crangon* (L.) across its distribution range // *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2008. V. 46. , № 3. - 1015–1030 p.
69. *Man J.G. De.* Diagnoses of new species of Macrurous decapod crustacea from the Siboga-expedition // 1916. V. XVI. - 147–151 p.
70. *Marko P.B., Eytan R.I., Knowlton N.* Do large molecular sequence divergences imply an early closure of the Isthmus of Panama? // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2015. V. 112. , № 43. - E5766 p.
71. *Masson S., Pinel-Alloul B., Dutilleul P.* Spatial heterogeneity of zooplankton biomass and size structure in southern Québec lakes: Variation among lakes and within lake among epi-, meta- and hypolimnion strata // *J. Plankton Res.*, 2004. V. 26. , № 12. - 1441–1458 p.
72. *Michaels A.F., Silver M.W.* Primary production, sinking fluxes and the microbial food web. , 1988. 473–490 с.
73. *Miller C.B., Wheeler P.* Biological oceanography // 2012. - 464 p.

74. *Miyamoto H., Nishida S., Kuroda K., et al.* Vertical distribution and seasonal variation of pelagic chaetognaths in Sagami Bay, central Japan // *Plankt. Benthos Res.*, 2012. V. 7. , № 2. - 41–54 p.
75. *Moran A.L., McAlister J.S.* Egg Size as a Life History Character of Marine Invertebrates: Is It All It's Cracked Up to Be? // *Biol. Bull.*, 2009. V. 216. , № 3. - 226–242 p.
76. *Morrison C.L., Ríos R., Duffy J.E.* Phylogenetic evidence for an ancient rapid radiation of Caribbean sponge-dwelling snapping shrimps (*Synalpheus*) // *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2004. V. 30. , № 3. - 563–581 p.
77. *Norris R.D.* Pelagic species diversity biogeography, and evolution // *Paleobiology*, 2000. V. 26. , № 4 SUPPL. - 236–258 p.
78. *Norton E.L., Goetze E.* Equatorial dispersal barriers and limited population connectivity among oceans in a planktonic copepod // *Limnol. Oceanogr.*, 2013. V. 58. , № 5. - 1581–1596 p.
79. *Nowel M.S., Shelton P.M.J., Herring P.J.* Cuticular photophores of two decapod crustaceans, *Oplophorus spinosus* and *Systellaspis debilis* // *Biol. Bull.*, 1998. V. 195. , № 3. - 290–307 p.
80. *Omori M.* The biology of pelagic shrimps in the ocean // *Advances in marine biology*. : Elsevier, 1975. C. 233–324.
81. *Opperdoes F.R., Lemey P.* Phylogenetic analysis using protein sequences // *The Phylogenetic Handbook*. , 2012. C. 313–342.
82. *Papetti C., Zane L., Bortolotto E., et al.* Genetic differentiation and local temporal stability of population structure in the euphausiid *Meganectiphanes norvegica* // *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 2005. V. 289. - 225–235 p.
83. *Pérès J.M., Devèze L.* Océanographie biologique marine // *Press. Univ. Fr. Paris.*, 1963. V. 529. - 503 p.
84. *Pérez-Barros P., D'Amato M.E., Guzmán N. V., et al.* Taxonomic status of two South American sympatric squat lobsters, *Munida gregaria* and *Munida subrugosa* (Crustacea: Decapoda: Galatheidae), challenged by DNA sequence information // *Biol. J. Linn. Soc.*, 2008. V. 94. , № 2. - 421–434 p.

85. *Platt T., Caverhill C., Sathyendranath S.* Basin-Scale Estimates of Oceanic Primary Production by Remote Sensing' The North Atlantic // *J. Geophys. Res.*, 1991. V. 96. , № C8. - 147–162 p.
86. *Queiroz K. De.* Species concepts and species delimitation // *Syst. Biol.*, 2007. V. 56. , № 6. - 879–886 p.
87. *Reece J.S., Bowen B.W., Smith D.G., et al.* Molecular phylogenetics of moray eels (Muraenidae) demonstrates multiple origins of a shell-crushing jaw (*Gymnomuraena*, *Echidna*) and multiple colonizations of the Atlantic Ocean // 2010.
88. *Reygondeau G., Cheung W.W.L., Wabnitz C.C.C., et al.* Climate Change-Induced Emergence of Novel Biogeochemical Provinces // *Front. Mar. Sci.*, 2020. V. 7.
89. *Reygondeau G., Dunn D.* Pelagic biogeography // *Encyclopedia of Ocean Sciences.* : Elsevier, 2019. C. 588–598.
90. *Reygondeau G., Guidi L., Beaugrand G., et al.* Global biogeochemical provinces of the mesopelagic zone // *J. Biogeogr.*, 2018. V. 45. , № 2. - 500–514 p.
91. *Reygondeau G., Longhurst A., Martinez E., et al.* Dynamic biogeochemical provinces in the global ocean // *Global Biogeochem. Cycles.*, 2013. V. 27. , № 4. - 1046–1058 p.
92. *Robinson C., Steinberg D.K., Anderson T.R., et al.* Mesopelagic zone ecology and biogeochemistry – a synthesis // *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.*, 2010. V. 57. , № 16. - 1504–1518 p.
93. *Robison B.H.* What drives the diel vertical migrations of Antarctic midwater fish? // *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom.*, 2003. V. 83. , № 3. - 639–642 p.
94. *Robison B.H.* Deep pelagic biology // *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, 2004. V. 300. , № 1–2. - 253–272 p.
95. *Robison B.H.* Conservation of deep pelagic biodiversity // *Conserv. Biol.*, 2009. V. 23. , № 4. - 847–858 p.
96. *Sayre R., Wright D., Breyer S., et al.* A Three-Dimensional Mapping of the Ocean Based on Environmental Data // *Oceanography.*, 2017. V. 30. , № 1. - 90–103 p.

97. *Scarborough J.R.* Macrogeographic Genetic Structure in *Acantheephyra curtirostris* (Oplophoridae) // 2004.
98. *Sha Z., Wang Y.* A new deep-sea species of the genus *Systellaspis* (Decapoda, Caridea, Oplophoridae) in the western Pacific // *Crustaceana*,. 2015. V. 88. , № 10–11. - 1181–1192 p.
99. *Shank T.M., Black M.B., Halanych K.M., et al.* Miocene Radiation of Deep-Sea Hydrothermal Vent Shrimp (Caridea: Bresiliidae): Evidence from Mitochondrial Cytochrome Oxidase Subunit I // *Mol. Phylogenet. Evol.*,. 1999. V. 13. , № 2. - 244–254 p.
100. *Silva J.M. da, Creer S., Santos A. dos, et al.* Systematic and evolutionary insights derived from mtDNA COI Barcode diversity in the Decapoda (crustacea: Malacostraca) // *PLoS One*,. 2011. V. 6. , № 5.
101. *Spalding M.D., Agostini V.N., Rice J., et al.* Pelagic provinces of the world: A biogeographic classification of the world's surface pelagic waters // *Ocean Coast. Manag.*,. 2012. V. 60. - 19–30 p.
102. *Stamatakis A.* RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models // *Bioinformatics*,. 2006. V. 22. , № 21. - 2688–2690 p.
103. *Steinberg D.K., Cope J.S., Wilson S.E., et al.* A comparison of mesopelagic mesozooplankton community structure in the subtropical and subarctic North Pacific Ocean // *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.*,. 2008. V. 55. , № 14–15. - 1615–1635 p.
104. *Strauss R.E., Bond C.E.* Taxonomic methods: morphology // *Methods fish Biol.*,. 1990. - 109–140 p.
105. *Sutton T.T., Clark M.R., Dunn D.C., et al.* A global biogeographic classification of the mesopelagic zone // *Deep. Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 2017. T. 126. C. 85–102.
106. *Talley L.D., Pickard G.L., Emery W.J., et al.* Descriptive physical oceanography: An introduction: Sixth edition. : Elsevier, 2011. 1–555 c.
107. *Teske P.R., Froneman P.W., Barker N.P., et al.* Phylogeographic structure of the caridean shrimp *Palaemon peringueyi* in South Africa: Further evidence for intraspecific genetic units associated with

- marine biogeographic provinces // *African J. Mar. Sci.*, 2007. V. 29. , № 2. - 253–258 p.
108. *Teske P.R., Heyden S. Von Der, Mcquaid C.D., et al.* A review of marine phylogeography in southern Africa // *S Afr J Sci.*, 2011. V. 107. , № 5.
109. *Tiedemann R., Ketmaier V., Nahavandi N.* Intron structure of the Elongation Factor 1-Alpha gene in the Ponto-Caspian amphipod *Pontogammarus maeoticus* (Sowinsky, 1894) and its phylogeographic utility // *J. Crustac. Biol.*, 2012. V. 32. , № 3. - 425–433 p.
110. *Timm L., Bracken-Grissom H.D.* The forest for the trees: Evaluating molecular phylogenies with an emphasis on higher-level Decapoda // *J. Crustac. Biol.*, 2015. V. 35. , № 5. - 577–592 p.
111. *Timm L.E., Isma L.M., Johnston M.W., et al.* Comparative Population Genomics and Biophysical Modeling of Shrimp Migration in the Gulf of Mexico Reveals Current-Mediated Connectivity // *Front. Mar. Sci.*, 2020. V. 7. , № February. - 1–16 p.
112. *Toonen R., Grosberg R.* Causes of chaos: Spatial and temporal genetic heterogeneity in the intertidal anomuran crab *Petrolisthes cinctipes*. , 2011. C. 75–100.
113. *UNESCO.* Global Open Oceans and Deep Seabed (GOODS)biogeographic classification // *UNESCO-IOC.*, 2009. V. IOCTechnical Series. , № 54. - 1–95 p.
114. *Vereshchaka A., Abyzova G., Lunina A., et al.* The deep-sea zooplankton of the North, Central, and South Atlantic: Biomass, abundance, diversity // *Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.*, 2017. V. 137. - 89–101 p.
115. *Vidal M., Duarte C.M., Agustí S.* Dissolved organic nitrogen and phosphorus pools and fluxes in the central Atlantic Ocean // *Limnol. Ocean.*, 1999. V. 44. , № 1. - 106–115 p.
116. *Wall-Palmer D., Burrige A.K., Goetze E., et al.* Biogeography and genetic diversity of the atlantid heteropods // *Prog. Oceanogr.*, 2018. V. 160. , № February 2017. - 1–25 p.
117. *Watling L., Guinotte J., Clark M.R., et al.* A proposed biogeography of the deep ocean floor // 2012.
118. *Webb T.J., Berghe E. Vanden, O’Dor R.* Biodiversity’s Big Wet Secret: The Global Distribution of Marine Biological Records Reveals Chronic Under-Exploration of the Deep Pelagic Ocean // *PLoS One.*,

2010. V. 5. , № 8. - e10223 p.
119. *Widder E.* Bioluminescence and the Pelagic Visual Environment // *Mar. Freshw. Behav. Physiol.*, 2002. V. 35. , № 1–2. - 1–26 p.
120. *Williams S.T., Knowlton N., Weigt L.A., et al.* Evidence for three major clades within the snapping shrimp genus *Alpheus* inferred from nuclear and mitochondrial gene sequence data // *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2001. V. 20. , № 3. - 375–389 p.
121. *Wong J.M., Pérez-Moreno J.L., Chan T., et al.* Phylogenetic and transcriptomic analyses reveal the evolution of bioluminescence and light detection in marine deep-sea shrimps of the family Oplophoridae (Crustacea: Decapoda) // *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2015. V. 83. , № December. - 278–292 p.
122. *Wormhoudt A. Van, Adjeroud M., Rouzé H., et al.* Recent and old duplications in crustaceans “ Internal Transcribed Spacer 1 ” : structural and phylogenetic implications // *Mol. Biol. Rep.*, 2019. V. 46. , № 5. - 5185–5195 p.
123. *Yentsch C.S., Garside J.C.* Patterns of phytoplankton abundance and biogeography // *UNESCO Tech. Pap. Mar. Sci.*, 1986. V. 49. - 278--284 p.
124. *Абрамсон Н.И.* Молекулярные Маркеры, Филогеография И Поиск Критерия Разграничения Видов // *Труды Зоологического Института РАН*, 2009. - 185–198 p.
125. *Буруковский Р.Н.* О биологии креветки *Systellaspis debilis* (A. Milne Edwards, 1881) // 1992.
126. *Буруковский Р.Н.* Питание и пищевые взаимодействия креветок. Калининград: , 2009. Вып. ФГОУ ВПО «КГТУ». 1–407 с.
127. *Буруковский Р.Н.* КРЕВЕТКИ ЗАПАДНОАФРИКАНСКИХ ВОД, 2017. 494 с.
128. *Виноградов М.Е.* Вертикальное распределение океанического зоопланктона. : Наука, 1968.
129. *Судник С.А.* Оогенез креветки *Systellaspis debilis* (A. Milne Edwards, 1881)(Decapoda, Oplophoridae) // *Ученые записки Казанского университета, Серия Естественные науки*,. 2007. V. 149. , № 3. - 168–173 p.

## Приложения

Таблица 1. Места и орудия сбора материала

Ваучерный номер	№ рейса	Локация	Широта	Долгота	Метод сбора
Sd1	39L	Сев.Атл.	16 °18.099' N	46 °40.585' W	трал
Sd2	39L	Сев.Атл.	14 °42.3795' N	45 °80.576' W	трал
Sd3	39L	Сев.Атл.	14 °42.3795' N	45 °80.576' W	трал
Sd4	39L	Сев.Атл.	14 °43.3125' N	45 °79.2835' W	трал
Sd5	39L	Сев.Атл.	14 °42.435' N	44 °53.7185' W	трал
Sd6	39L	Сев.Атл.	16 °7.871' N	46 °39.755' W	трал
Sd7	39L	Сев.Атл.	14 °50.7005' N	44 °54.7175' W	трал
Sd8	39L	Сев.Атл.	14°37.1945' N	45 °80.2065' W	трал
Sd9	39L	Сев.Атл.	14°37.1945' N	45 °80.2065' W	трал
Sd10	39L	Сев.Атл.	14°37.1945' N	45 °80.2065' W	трал
Sd11	39L	Сев.Атл.	14 °43.925' N	44 °53.4465' W	трал
Sd12	39L	Сев.Атл.	14 °43.925' N	44 °53.4465' W	трал
Sd13	39L	Сев.Атл.	14 °43.925' N	44 °53.4465' W	трал
Sd14	39L	Сев.Атл.	14 °48.0815' N	44 °54.221' W	трал
Sd15	39L	Сев.Атл.	14 °48.0815' N	44 °54.221' W	трал
Sd16	39L	Сев.Атл.	16 °8.1755' N	46 °41.0435' W	трал
Sd17	39L	Сев.Атл.	13 °50.9735' N	45 °29.97' W	трал
Sd18	39L	Сев.Атл.	13 °48.9915' N	44 °56.5975' W	трал
Sd19	39L	Сев.Атл.	13 °48.9915' N	44 °56.5975' W	трал
Sd20	39L	Сев.Атл.	14°41.743' N	45 °1.1775' W	трал
Sd21	39L	Сев.Атл.	14 °41.535' N	44 °58.709' W	трал
Sd22	39L	Сев.Атл.	14 °41.535' N	44 °58.709' W	трал
Sd23	39L	Сев.Атл.	14 °41.535' N	44 °58.709' W	трал
Sd24	39L	Сев.Атл.	14 °40.725' N	44 °56.5175' W	трал
Sd25	39L	Сев.Атл.	14 °40.725' N	44 °56.5175' W	трал
Sd26	39L	Сев.Атл.	14 °40.725' N	44 °56.5175' W	трал
Sd27	39L	Сев.Атл.	14 °40.725' N	44 °56.5175' W	трал
Sd28	39L	Сев.Атл.	15 °55.6915' N	46 °40.0135' W	трал
Sd29	39L	Сев.Атл.	15 °55.6915' N	46 °40.0135' W	трал
Sd30	39L	Сев.Атл.	15 °55.6915' N	46 °40.0135' W	трал
Sd31	39L	Сев.Атл.	14 °43.569' N	45 °4.3275' W	трал
Sd32	39L	Сев.Атл.	14 °43.569' N	45 °4.3275' W	трал
Sd33	39L	Сев.Атл.	14 °43.569' N	45 °4.3275' W	трал
Sd34	39L	Сев.Атл.	15 °50.7455' N	46 °40.0515' W	трал
Sd35	39L	Сев.Атл.	15 °50.7455' N	46 °40.0515' W	трал
Sd36	39L	Сев.Атл.	15 °50.7455' N	46 °40.0515' W	трал
Sd37	39L	Сев.Атл.	15 °50.7455' N	46 °40.0515' W	трал
Sd38	39L	Сев.Атл.	15 °50.7455' N	46 °40.0515' W	трал

Sd39	39L	Сев.Атл.	15 °50.7455' N	46 °40.0515' W	трал
Sd40	39L	Сев.Атл.	15 °50.7455' N	46 °40.0515' W	трал
Sd41	39L	Сев.Атл.	16 °16.187' N	46 °38.2665' W	трал
Sd42	39L	Сев.Атл.	15 °47.9165' N	46 °40.068' W	трал
Sd43	39L	Сев.Атл.	15 °47.9165' N	46 °40.068' W	трал
Sd44	39L	Сев.Атл.	15 °47.9165' N	46 °40.068' W	трал
Sd45	39L	Сев.Атл.	14 °40.725' N	44 °56.5175' W	трал
Sd46	39L	Сев.Атл.	14 °46.4595' N	45 °31.7735' W	трал
Sd47	39L	Сев.Атл.	14 °45.4345' N	44 °55.347' W	трал
Sd48	39L	Сев.Атл.	14 °45.4345' N	44 °55.347' W	трал
Sd49	Basileus	Инд.	34°26,734' S	28°50,026' E	сеть
Sd50	Basileus	Инд.	34°26,734' S	28°50,026' E	сеть
Sd51	Basileus	Инд.	32°49,423' S	33°46,757' E	сеть
Sd52	Basileus	Инд.	32°49,423' S	33°46,757' E	сеть
Sd53	Basileus	Инд.	32°49,423' S	33°46,757' E	сеть
Sd54	Basileus	Инд.	32°49,164' S	33°46,869' E	сеть
Sd55	Basileus	Инд.	32°48,714' S	33°45,539' E	сеть
Sd56	Basileus	Инд.	31°51,622' S	34°56,695' E	сеть
Sd57	Basileus	Инд.	31°51,745' S	34°56,549' E	сеть
Sd58	Basileus	Инд.	30°33,922' S	37°49,006' E	сеть
Sd59	Basileus	Инд.	29°44,416' S	38°46,505' E	сеть
Sd60	Basileus	Инд.	29°44,416' S	38°46,505' E	сеть
Sd61	Basileus	Инд.	29°44,416' S	38°46,505' E	сеть
Sd62	Basileus	Инд.	29°36,238' S	40°23,656' E	сеть
Sd63	Basileus	Инд.	29°36,238' S	40°23,656' E	сеть
Sd64	Basileus	Инд.	29°36,238' S	40°23,656' E	сеть
Sd65	Basileus	Инд.	29°36,238' S	40°23,656' E	сеть
Sd66	Basileus	Инд.	26°46,347' S	43°05,591' E	сеть
Sd67	Basileus	Инд.	24°10,559' S	49°28,567' E	сеть
Sd68	Basileus	Инд.	21°36,809' S	55°58,470' E	сеть
Sd69	Basileus	Инд.	20°06,894' S	57°19,611' E	сеть
Sd70	Basileus	Инд.	20°06,894' S	57°19,611' E	сеть
Sd71	Basileus	Инд.	20°06,894' S	57°19,611' E	сеть
Sd72	Basileus	Инд.	20°06,894' S	57°19,611' E	сеть
Sd73	ASV46	Юж.Атл.	25°33.5 ' S	33°48.3' W	сеть
Sd74	ASV46	Юж.Атл.	25°33.5 ' S	33°48.3' W	сеть
Sd75	ASV46	Юж.Атл.	31°12.0' S	39°18.0' W	сеть
Sd79	37L	Сев.Атл.	17°13,148' N	46°23,854' W	сеть
Sd80	37L	Сев.Атл.	17°13,148' N	46°23,854' W	сеть
Sd81	ASV43	Юж.Атл.	26°30,60' S	33°57,20' W	трал
Sd82	ASV43	Юж.Атл.	21°59,00' S	35°52,95' W	трал
Sd83	ASV37	Сев.Атл.	19°59' N	21°22' W	сеть
Sd84	ASV37	Юж.Атл.	26°23' S	32°53' W	сеть

Sd85	ASV37	Юж.Атл.	26°23' S	32°53' W	сеть
Sd86	ASV37	Юж.Атл.	26°23' S	32°53' W	сеть

Таблица 2. Даты сбора материала в рейсах ИО РАН

Рейс	Даты сбора материала
ASV37	30.09.2013 - 21.10.2013
37L	06.02.2015
39L	25.02.2018 - 15.03.2018
ASV43	13.10.2016 – 26.10.2016
ASV46	23.10.2018 - 25.10.2018
Basileus1	24.11.2020 - 08.12.2020

Таблица 3. Праймеры, использованные в работе

ген	источник	название	последовательность
COI	Folmer et al, 1994	LCO1490	5'-GCTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
		HCO2198	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'
	Schubart et al, 2006	COL6b	5'-ACAAATCATAAAGATATYGG-3'
		COH6	5'-TADACTTCDGGRTGDCCAAARAAYCA-3'
ITS-1	Wormhoudt et al, 2019	ITS1FW	5'-CACACCGCCCGTCGCTACTA-3'
		ITS3R	5'-TCGACSCACGAGCCRAGTGATC-3'
EF-1	Williams et al 2001	EF419	5'-ACAACATGCTGGAGAAGTCAGA-3'
		EF863	5'-AGCACGATAACCTGAGCAGTGA-3'

Таблица 4. Программы ПЦР: в скобках указаны праймеры, использовавшиеся с каждой из программ

Программы	Гены	Стадия	Кол-во циклов	Температура	Время инкубации
<b>ShrimpII</b>	ITS-1	Предварительная денатурация	1	95°C	3 мин
(EF419 и EF863; ITS1FW и ITS3R)	EF1- $\alpha$	Денатурация	30	94°C	1 мин
		Отжиг		56°C	1 мин
		Элонгация		72°C	1 мин 20 сек
		Финальная достройка цепи	1	72°C	5 мин
<b>Cteno</b>	COI	Предварительная денатурация	1	95°C	5 мин
(LCO, HCO)		Денатурация	39	95°C	30 сек
		Отжиг		50°C	45 сек
		Элонгация		72°C	30 сек
		Финальная достройка цепи	1	72°C	8 мин
<b>Shrimp</b>	COI	Предварительная денатурация	1	95°C	5 мин
(COL6 и CON6)		Денатурация	5	94°C	30 сек
		Отжиг		50°C	50 сек
		Элонгация		72°C	40 сек
		Денатурация	35	95°C	30 сек
		Отжиг		48°C	50 сек
		Элонгация		72°C	40 сек
		Финальная достройка цепи	1	72°C	8 мин
<b>ShrimpI</b>	COI	Предварительная денатурация	1	95°C	5 мин
(COL6 и CON6)		Денатурация	6	94°C	30 сек
		Отжиг		45°C	50 сек
		Элонгация		72°C	40 сек
		Денатурация	36	95°C	30 сек
		Отжиг		48°C	50 сек
		Элонгация		72°C	40 сек
		Финальная достройка цепи	1	72°C	7 мин

Таблица 5. Координаты и места сборов образцов *S. debilis*, последовательности которых имеются в ГенБанке. Синим цветом отмечены последовательности, формирующие общую кладу с *S. liui*.

№ в ГенБанке	Регион	Координаты/ место сбора	Год сбора	Источник
KP076200	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076201	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076202	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076203	North_Atlantic	Spain	2015	Wong, 2015
KP076204	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076205	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076206	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076207	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076208	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076209	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
KP076210	North_Atlantic	Spain	2015	Wong, 2015
KP076211	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wong, 2015
MH572586	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wilkins, неопубликовано
MH572622	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wilkins, неопубликовано
MH572632	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2016	Wilkins, неопубликовано
MH572640	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wilkins, неопубликовано
MH572643	North_Atlantic	Gulf of Mexico	2015	Wilkins, неопубликовано
KP759514	Indian	-25.97 S 34.78 E	2009	Aznar-Cormano, 2015
KP759515	Indian	-13.37 S 47.63 E	1974	Aznar-Cormano, 2015
KP759516	Indian	-13.37 S 47.63 E	1974	Aznar-Cormano, 2015
KP759517	Indian	-13.37 S 47.63 E	1974	Aznar-Cormano, 2015
KP759518	Indian	-13.37 S 47.63 E	1974	Aznar-Cormano, 2015
KP759519	Indian	-13.37 S 47.63 E	1974	Aznar-Cormano, 2015
KP759520	Indian	-21.64 S 36.12 E	2009	Aznar-Cormano, 2015
MH107272	North_Atlantic	16.62 N -38.23 W	2016	Lunina, 2018
MH107273	North_Atlantic	30.00 N -32.18 W	2016	Lunina, 2018
MH107274	South_Atlantic	-29.28 S -36.93 W	2013	Lunina, 2018
GU183793	North_Atlantic	33.65 N -69.20 W	2006	Bucklin, 2010
JQ306180	North_Atlantic	36.41 N -7.50 W	2005	Matzen da Silva, 2011
JQ306181	North_Atlantic	36.41 N -7.50 W	2005	Matzen da Silva, 2011
JQ306182	North_Atlantic	36.41 N -7.50 W	2005	Matzen da Silva, 2011

Таблица 6. Перечень использованных в морфологическом анализе признаков и их сокращенные названия, применяемые в работе. В качественных признаках значение 0 значит отсутствие, а 1 – присутствие данной морфологической особенности.

Группа признаков	Признак	Сокращенное название признака	Единица измерения
Карапакс	Высота карапакса в самом широком месте	height	мм
	Длина карапакса (от заднего края орбит)	length	мм
	Общее количество дорзальных зубцов на роструме	d_teeth	КОЛ-ВО
	Количество посторбитальных зубцов на роструме	post_d_teeth	КОЛ-ВО
	Общее количество вентральных зубцов на роструме	v_teeth	КОЛ-ВО
Антенны	Ложбинка на скафоцерите	scaph	0/1
Плеон	Карина на сегменте 3	karina	0/1
	Количество боковых зубчиков на 4 абдоминальном сомите (правая сторона)	4_som_ser_right	КОЛ-ВО
	Количество боковых зубчиков на 4 абдоминальном сомите (левая сторона)	4_som_ser_left	КОЛ-ВО
	Количество боковых зубчиков на 5 абдоминальном сомите (правая сторона)	5_som_ser_right	КОЛ-ВО
	Количество боковых зубчиков на 5 абдоминальном сомите (левая сторона)	5_som_ser_left	КОЛ-ВО
	Зубец на плевре 5 абдоминального сомита (левая сторона)	5_pleur_tooth_l	0/1
	Зубец на плевре 5 абдоминального сомита (правая сторона)	5_pleur_tooth_r	0/1
Тельсон	Количество пар крупных шипиков на тельсоне	t_dv_spines	
	Ряды мелких шипиков на тельсоне	t_lat_spines	КОЛ-ВО
Переоподы	Количество щетинок на исхиуме 3 сегмента в переднем ряду	3_pereopod_ischium_ant_spines	КОЛ-ВО
	Количество щетинок на мерусе 3 сегмента в заднем ряду	3_pereopod_merus_post_spines	КОЛ-ВО
	Количество щетинок на карпусе 3 сегмента в переднем ряду	3_pereopod_caprus_ant_spines	КОЛ-ВО

Количество щетинок на карпусе 3 сегмента в заднем ряду	3_pereopod_caprus_post_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на исхиуме 4 сегмента в переднем ряду	4_pereopod_ischium_ant_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на исхиуме 4 сегмента в заднем ряду	4_pereopod_ischium_post_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на мерусе 4 сегмента в переднем ряду	4_pereopod_merus_ant_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на мерусе 4 сегмента в заднем ряду	4_pereopod_merus_post_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на мерусе 4 сегмента в переднем ряду	4_pereopod_caprus_ant_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на карпусе 4 сегмента в заднем ряду	4_pereopod_caprus_post_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на исхиуме 5 сегмента в переднем ряду	5_pereopod_ischium_ant_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на исхиуме 5 сегмента в заднем ряду	5_pereopod_ischium_post_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на мерусе 5 сегмента в переднем ряду	5_pereopod_merus_ant_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на мерусе 5 сегмента в заднем ряду	5_pereopod_merus_post_spines	КОЛ-ВО
Количество щетинок на карпусе 5 сегмента в переднем ряду	5_pereopod_caprus_ant_spines	КОЛ-ВО

Таблица 1. Результаты морфологического и генетического анализа особей *S.debilis*, использовавшиеся в RDA: пол и размеры карапакса. Признаки обозначены в соответствии с таблицей 6, *coordinates\_Lat* – широта, *coordinates\_Long* – долгота, *group* – группы, выделенные по результатам генетического анализа гена COI: нет мутаций – особи, из основного гаплотипа, есть мутации – особи с другими гаплотипами.

№ образца	coordinates_Lat	coordinates_Long	location	haplotype	sex	height	length
Sd1	16.302	-46.676	North_Atlantic	нет мутаций	f	9	13
Sd2	14.706	-46.343	North_Atlantic	нет мутаций	f	7	13
Sd3	14.706	-46.343	North_Atlantic	нет мутаций	m	8	11
Sd4	14.722	-46.321	North_Atlantic	нет мутаций	f	9	14
Sd5	14.707	-44.895	North_Atlantic	есть мутации	m	5.5	8.5
Sd6	16.131	-46.663	North_Atlantic	нет мутаций	f	7.5	10.5
Sd8	14.62	-46.337	North_Atlantic	есть мутации	m	6.5	11
Sd10	14.62	-46.337	North_Atlantic	есть мутации	m	4	6.5
Sd11	14.732	-44.891	North_Atlantic	есть мутации	f	5.5	9.5
Sd12	14.732	-44.891	North_Atlantic	нет мутаций	m	5	11
Sd13	14.732	-44.891	North_Atlantic	есть мутации	f	3	6.5
Sd14	14.801	-44.904	North_Atlantic	есть мутации	f	8.5	13
Sd15	14.801	-44.904	North_Atlantic	нет мутаций	f	8.5	13.5
Sd17	13.85	-45.5	North_Atlantic	нет мутаций	m	7	11
Sd20	14.696	-45.02	North_Atlantic	нет мутаций	f	4.5	8
Sd21	14.692	-44.978	North_Atlantic	нет мутаций	f	9	14
Sd22	14.692	-44.978	North_Atlantic	нет мутаций	f	6.5	10.5
Sd23	14.692	-44.978	North_Atlantic	нет мутаций	m	5.5	10
Sd24	14.679	-44.942	North_Atlantic	есть мутации	f	8	12.5
Sd25	14.679	-44.942	North_Atlantic	есть мутации	m	6.5	11.5
Sd27	14.679	-44.942	North_Atlantic	есть мутации	m	7	11
Sd28	15.928	-46.667	North_Atlantic	есть мутации	f	8	13
Sd29	15.928	-46.667	North_Atlantic	нет мутаций	f	6.5	9.5

Sd30	15.928	-46.667	North_Atlantic	есть мутации	f	8.5	13.5
Sd31	14.726	-45.072	North_Atlantic	нет мутаций	m	9	13
Sd32	14.726	-45.072	North_Atlantic	нет мутаций	m	7	12.5
Sd33	14.726	-45.072	North_Atlantic	нет мутаций	f	2.5	7
Sd35	15.846	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	f	4	7
Sd36	15.846	-46.668	North_Atlantic	есть мутации	f	7.5	12.5
Sd37	15.846	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	m	7	12.2
Sd38	15.846	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	f	8	11
Sd39	15.846	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	m	6	9
Sd40	15.846	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	f	5.5	8.5
Sd41	16.27	-46.638	North_Atlantic	нет мутаций	m	4	9
Sd42	15.799	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	f	4	6.5
Sd43	15.799	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	f	7.5	12
Sd44	15.799	-46.668	North_Atlantic	нет мутаций	f	3	5.5
Sd45	14.679	-44.942	North_Atlantic	нет мутаций	m	5.5	9.5
Sd46	14.774	-45.53	North_Atlantic	нет мутаций	f	3.5	7.5
Sd47	14.757	-44.922	North_Atlantic	нет мутаций	m	5	10
Sd48	14.757	-44.922	North_Atlantic	есть мутации	f	7.5	10
Sd49	-34.446	28.834	Indian	нет мутаций	f	9	14
Sd50	-34.446	28.834	Indian	есть мутации	f	7	11
Sd51	-32.824	33.779	Indian	нет мутаций	f	6.5	10.5
Sd52	-32.824	33.779	Indian	есть мутации	f	2.5	5.5
Sd53	-32.824	33.779	Indian	есть мутации	f	5.5	9
Sd54	-32.819	33.781	Indian	нет мутаций	f	2.5	4.5
Sd55	-32.812	33.759	Indian	нет мутаций	m	7	11
Sd56	-31.86	34.945	Indian	нет мутаций	m	7	12.5
Sd57	-31.862	34.942	Indian	есть мутации	f	3.5	7.5
Sd58	-30.565	37.817	Indian	нет мутаций	f	2	3.5

Sd59	-29.74	38.775	Indian	есть мутации	f	7.5	12
Sd60	-29.74	38.775	Indian	нет мутаций	m	5.5	9.5
Sd61	-29.74	38.775	Indian	нет мутаций	f	5	9
Sd62	-29.604	40.394	Indian	нет мутаций	m	6	11.5
Sd63	-29.604	40.394	Indian	есть мутации	m	6.5	10.5
Sd64	-29.604	40.394	Indian	нет мутаций	f	4.5	8.5
Sd65	-29.604	40.394	Indian	нет мутаций	f	2.5	4.5
Sd66	-26.772	43.093	Indian	есть мутации	f	8.5	13
Sd67	-24.176	49.476	Indian	есть мутации	f	6	10.5
Sd68	-21.613	55.975	Indian	нет мутаций	m	5	9
Sd69	-20.115	57.327	Indian	есть мутации	f	9	14
Sd70	-20.115	57.327	Indian	нет мутаций	f	8	13
Sd71	-20.115	57.327	Indian	нет мутаций	m	5.5	12
Sd72	-20.115	57.327	Indian	есть мутации	m	6.5	10
Sd73	-25.558	-33.805	South_Atlantic	есть мутации	f	7	13
Sd75	-31.2	-39.3	South_Atlantic	есть мутации	f	9	14
Sd79	17.219	-46.398	North_Atlantic	нет мутаций	f	2.5	6
Sd80	17.219	-46.398	North_Atlantic	нет мутаций	f	3.5	4
Sd83	19.983	-21.367	North_Atlantic	нет мутаций	f	7.5	11
Sd84	-26.383	-32.883	South_Atlantic	есть мутации	m	7	11
Sd85	-26.383	-32.883	South_Atlantic	есть мутации	f	7.5	11.5
Sd86	-26.383	-32.883	South_Atlantic	нет мутаций	m	8	11

Таблица 2. Результаты морфологического анализа особей *S.debilis* (часть 2)

№ образца	d_teeth	post_d_teeth	v_teeth	karina	4_som_ser_right	4_som_ser_left	5_som_ser_right	5_som_ser_left	5_pleur_tooth_l	5_pleur_tooth_r	t_dv_spines	t_lat_spines	scaph
Sd1	11	2	7	1	6	6	4	3	1	1	5	0	1
Sd2	13	3	9	1	8	7	3	3	1	0	5	0	1
Sd3	13	3	8	1	5	5	4	4	1	1	5	0	1
Sd4	15	3	10	0.5	7	7	6	4	1	1	5	0	1
Sd5	15	3	10	1	6	5	3	3	1	1	5	0	1
Sd6	NA	NA	NA	1	7	6	5	4	1	1	5	0	1
Sd8	13	3	9	1	7	7	5	5	1	NA	5	0	1
Sd10	15	2	9	1	3	3	2	2	0	1	8	0	1
Sd11	16	4	9	1	6	6	4	4	1	1	5	0	1
Sd12	15	3	8	1	5	5	3	3	1	1	5	0	1
Sd13	19	3	11	1	2	2	0	1	0.5	0	5	0	1
Sd14	14	3	8	1	8	5	6	5	1	1	5	0	1
Sd15	14	3	9	1	7	5	4	3	1	1	5	0	1
Sd17	16	3	11	1	6	5	3	3	1	1	5	0	1
Sd20	17	3	10	1	3	3	2	2	1	1	5	0	1
Sd21	14	3	7	1	7	6	5	4	1	1	5	0	1
Sd22	14	2	11	1	5	5	4	4	1	1	5	0	1
Sd23	14	2	8	1	6	7	4	4	1	1	10	0	1
Sd24	16	2	9	1	5	6	4	4	1	1	5	0	1
Sd25	14	2	8	1	6	5	4	4	1	1	4	0	1
Sd27	15	2	10	1	6	9	3	4	1	1	6	0	1
Sd28	13	3	6	1	8	8	4	4	1	1	11	0	1
Sd29	NA	4	7	1	5	3	3	2	1	0	4	0	1
Sd30	15	3	8	1	5	4	5	5	1	1	5	0	1
Sd31	NA	2	NA	1	7	7	5	5	1	1	5	0	1
Sd32	16	3	13	1	5	6	4	4	1	1	5	0	1
Sd33	15	3	8	1	3	2	3	2	0	1	7	0	1
Sd35	15	2	9	1	4	4	3	3	1	1	5	0	1
Sd36	16	4	10	1	5	6	4	4	1	1	5	0	1
Sd37	15	2	8	1	6	4	4	4	0	0	NA	0	1
Sd38	NA	2	NA	1	3	2	4	3	1	0	4	0	1
Sd39	13	3	7	1	6	6	4	3	1	1	4	0	1
Sd40	14	2	10	1	5	5	3	3	1	1	5	0	1
Sd41	15	3	8	1	4	4	3	3	1	1	6	0	1
Sd42	14	2	8	1	4	4	2	2	1	1	9	0	1
Sd43	10	2	7	1	7	7	4	5	1	0	5	0	1
Sd44	NA	0	0	1	1	2	3	2	1	0	5	0	1

Sd45	14	3	9	1	5	4	3	4	1	1	5	0	1
Sd46	14	2	7	1	4	3	3	3	1	1	5	0	1
Sd47	14	3	8	1	7	6	4	3	1	1	5	0	1
Sd48	14	3	9	1	4	6	4	4	1	1	3	0	1
Sd49	14	3	9	1	8	7	5	5	1	1	5	0	1
Sd50	15	2	9	1	6	7	5	3	1	1	5	0	1
Sd51	13	3	7	1	6	5	5	4	1	1	5	0	1
Sd52	14	3	8	1	1	1	1	1	1	1	5	0	1
Sd53	13	2	10	1	6	6	3	4	1	1	5	0	1
Sd54	13	2	9	1	1	1	2	1	1	1	4	0	1
Sd55	15	2	8	1	6	6	3	4	1	1	5	0	1
Sd56	15	2	11	1	9	9	5	5	1	1	5	0	1
Sd57	14	3	9	1	5	3	4	4	1	1	5	0	1
Sd58	15	3	8	1	1	1	1	1	1	1	4	0	1
Sd59	14	3	8	1	8	6	4	4	1	1	5	0	1
Sd60	13	5	8	1	5	5	5	5	1	1	5	0	1
Sd61	14	3	7	1	6	6	4	3	1	1	5	0	1
Sd62	16	2	11	1	7	7	4	5	1	1	5	0	1
Sd63	15	3	8	1	6	5	3	3	1	1	5	0	1
Sd64	14	3	8	1	6	5	3	3	0	1	5	0	1
Sd65	24	4	9	1	1	1	1	1	1	0	5	0	1
Sd66	NA	3	7	1	2	8	5	4	1	1	5	0	1
Sd67	15	6	8	1	5	5	2	3	1	1	5	0	1
Sd68	15	2	8	1	5	5	4	4	1	1	5	0	1
Sd69	13	2	10	1	7	9	4	4	1	1	5	0	1
Sd70	NA	2	NA	1	6	6	4	3	1	1	6	0	1
Sd71	14	3	8	1	7	6	4	3	1	1	6	0	1
Sd72	13	2	7	1	5	4	3	3	1	1	5	0	1
Sd73	15	3	8	1	6	6	4	3	1	1	5	0	1
Sd75	14	2	9	1	8	5	5	6	1	1	NA	NA	1
Sd79	14	2	10	1	2	2	3	2	1	1	NA	NA	1
Sd80	15	3	9	1	1	1	1	1	1	1	5	0	1
Sd83	14	2	9	1	6	7	5	5	1	1	5	0	1
Sd84	16	3	9	1	8	8	5	5	1	1	5	0	1
Sd85	12	2	7	1	7	7	5	5	1	1	5	0	1
Sd86	15	3	9	0	5	7	4	4	1	1	5	0	1

Таблица 3. Результаты морфологического анализа особей *S.debilis* (часть 3)

№ образца	3_pereopod_ischium_ant_spines	3_pereopod_ischium_post_spines	3_pereopod_merus_ant_spines	3_pereopod_merus_post_spines	3_pereopod_caprus_ant_spines	3_pereopod_caprus_post_spines	4_pereopod_ischium_ant_spines	4_pereopod_ischium_post_spines	4_pereopod_merus_ant_spines	4_pereopod_merus_post_spines	4_pereopod_caprus_ant_spines	4_pereopod_caprus_post_spines	5_pereopod_ischium_ant_spines	5_pereopod_ischium_post_spines	5_pereopod_merus_ant_spines	5_pereopod_merus_post_spines	5_pereopod_caprus_ant_spines
Sd1	0	3	1	10	0	1	1	1	5	12	0	1	0	1	3	4	1
Sd2	0	6	1	11	0	1	1	4	5	10	0	1	0	1	2	6	1
Sd3	0	5	1	13	0	1	1	5	4	10	0	1	1	1	3	4	1
Sd4	0	3	2	10	0	1	1	4	7	9	1	0	1	0	5	2	1
Sd5	0	4	1	14	0	1	2	5	4	9	0	1	1	2	2	5	1
Sd6	0	3	5	11	0	1	0	3	4	9	0	1	0	1	2	4	1
Sd8	0	3	1	16	1	1	2	5	6	12	0	1	1	1	2	5	1
Sd10	0	3	1	14	0	1	1	4	6	10	0	1	0	1	3	4	1
Sd11	0	4	1	13	0	1	1	4	4	11	0	1	0	1	2	4	1
Sd12	0	4	1	11	0	1	1	5	5	9	0	1	0	2	1	3	1
Sd13	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	0	0	1	2	2	4	1
Sd14	0	3	1	10	0	1	1	3	5	12	0	1	1	1	3	5	1
Sd15	0	3	1	11	0	1	1	4	5	11	0	1	1	1	3	5	1
Sd17	0	3	1	12	0	1	1	4	4	10	0	1	1	1	2	4	1
Sd20	0	3	1	13	0	1	1	3	5	9	0	1	0	1	2	4	1
Sd21	0	3	1	14	0	1	3	5	5	11	0	1	1	1	2	5	1
Sd22	0	3	1	10	0	1	1	3	5	8	0	1	0	1	1	4	1
Sd23	0	3	1	11	0	1	1	4	4	11	0	1	1	1	2	4	1
Sd24	0	4	1	11	0	1	0	4	5	10	0	1	0	1	2	4	1
Sd25	0	3	1	14	0	1	1	4	6	8	0	1	1	1	3	4	1
Sd27	0	4	2	15	0	1	1	5	5	13	0	1	0	1	3	4	1
Sd28	0	3	1	13	0	1	2	3	5	10	0	1	0	1	2	4	1
Sd29	0	3	2	13	0	1	2	4	4	10	0	1	0	1	1	5	1
Sd30	0	3	1	11	0	1	1	3	5	10	0	1	0	1	2	4	1
Sd31	0	3	1	11	0	1	1	4	4	11	0	1	1	1	2	4	1
Sd32	0	3	1	12	0	1	1	3	5	9	0	1	0	1	3	5	1
Sd33	0	3	1	11	0	1	1	3	3	10	0	1	1	2	2	6	1
Sd35	0	3	1	13	0	1	1	4	6	11	0	1	1	2	2	5	1
Sd36	0	3	1	11	0	1	2	3	5	9	0	1	0	1	2	4	1
Sd37	0	3	2	11	0	1	2	3	5	9	0	1	0	1	2	6	1
Sd38	0	2	1	10	0	0	0	3	1	9	0	1	0	1	0	3	0
Sd39	0	3	1	10	0	1	1	3	5	9	0	1	0	1	2	4	1

Sd40	0	3	1	11	0	1	0	2	5	9	0	1	1	2	3	6	1
Sd41	0	4	1	12	0	1	2	4	6	10	0	1	1	2	3	4	1
Sd42	0	3	1	11	0	1	1	4	6	8	0	1	1	2	2	4	1
Sd43	0	3	1	11	0	1	2	3	5	10	0	1	0	1	1	4	1
Sd44	0	3	0	10	0	1	0	3	1	7	0	1	0	1	0	5	0
Sd45	0	3	1	11	0	1	1	3	6	12	0	1	0	1	2	4	1
Sd46	0	3	1	12	0	1	3	3	1	12	0	1	0	1	1	3	1
Sd47	0	3	1	11	0	1	0	3	5	10	0	1	0	1	2	4	1
Sd48	0	3	1	10	0	1	1	3	5	8	0	1	0	1	1	4	4
Sd49	0	3	1	12	0	1	1	3	5	11	0	1	1	1	3	4	1
Sd50	0	4	1	15	0	1	2	3	5	13	0	1	1	1	2	5	1
Sd51	0	3	1	12	0	1	1	3	6	12	0	1	1	1	3	4	1
Sd52	0	3	1	7	0	1	0	4	1	5	1	1	0	2	1	3	1
Sd53	0	4	2	14	0	1	2	5	7	11	0	1	1	1	3	6	1
Sd54	0	3	1	8	0	1	0	4	1	4	0	1	0	1	1	3	1
Sd55	0	3	1	13	0	1	2	3	3	9	0	1	1	1	3	4	1
Sd56	0	3	1	13	0	1	1	3	5	11	0	1	1	1	1	4	1
Sd57	0	3	1	14	0	1	2	4	6	12	0	1	0	2	3	3	1
Sd58	0	3	1	5	0	1	2	3	2	4	0	1	0	1	1	1	1
Sd59	0	3	1	15	0	1	1	4	6	11	0	1	0	1	2	4	1
Sd60	0	3	1	12	0	1	2	4	6	10	0	1	1	1	3	4	1
Sd61	0	4	1	14	0	1	1	5	7	11	0	1	1	1	3	4	1
Sd62	0	3	2	12	0	1	1	3	5	10	0	1	0	1	2	4	1
Sd63	0	3	1	12	0	1	2	3	5	11	0	1	0	1	2	4	1
Sd64	0	3	1	13	0	1	1	4	5	12	0	1	0	2	3	5	1
Sd65	0	3	1	11	0	1	0	3	1	7	0	1	0	1	1	3	1
Sd66	0	3	1	13	0	1	1	4	5	12	0	1	0	1	2	5	1
Sd67	0	3	3	16	0	1	5	5	7	16	0	1	1	1	3	8	1
Sd68	0	3	1	12	0	1	1	3	4	10	0	1	0	1	2	4	1
Sd69	0	3	2	14	0	1	1	3	6	11	0	1	0	1	3	4	1
Sd70	0	4	1	14	0	1	1	4	6	15	0	1	1	1	3	7	1
Sd71	0	4	1	13	0	1	2	3	5	9	0	1	1	1	1	4	1
Sd72	0	4	2	14	0	1	2	3	5	12	0	1	1	1	2	5	1
Sd73	0	4	2	13	0	1	1	3	5	10	0	1	0	1	3	5	1
Sd75	0	3	2	12	0	1	0	6	5	13	1	0	1	1	3	5	1
Sd79	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	4	5	10	0	1	0	2	1	5	1
Sd80	0	3	2	12	0	1	1	3	4	10	0	1	0	3	2	5	1
Sd83	0	4	1	16	0	1	1	4	5	12	0	1	1	1	2	5	1
Sd84	0	4	2	14	0	1	2	5	6	14	0	1	1	1	3	2	1
Sd85	0	4	1	12	0	1	1	4	5	12	0	1	1	1	3	4	1
Sd86	0	4	2	13	0	1	1	4	5	12	0	1	0	1	3	5	1