

Supported by RFBR national and international grants:
BILATERAL UKRAINE -RFBR N 10-04-90420
BILATERAL UKRAINE –RFBR N 11-04-90551
RFBR 11-04-06068

Program and abstracts of international work-shop and conference

“Study on biodiversity and cryptic speciation in aquatic organisms of Russia and Ukraine with barcode using”

11.09-16.09.2011

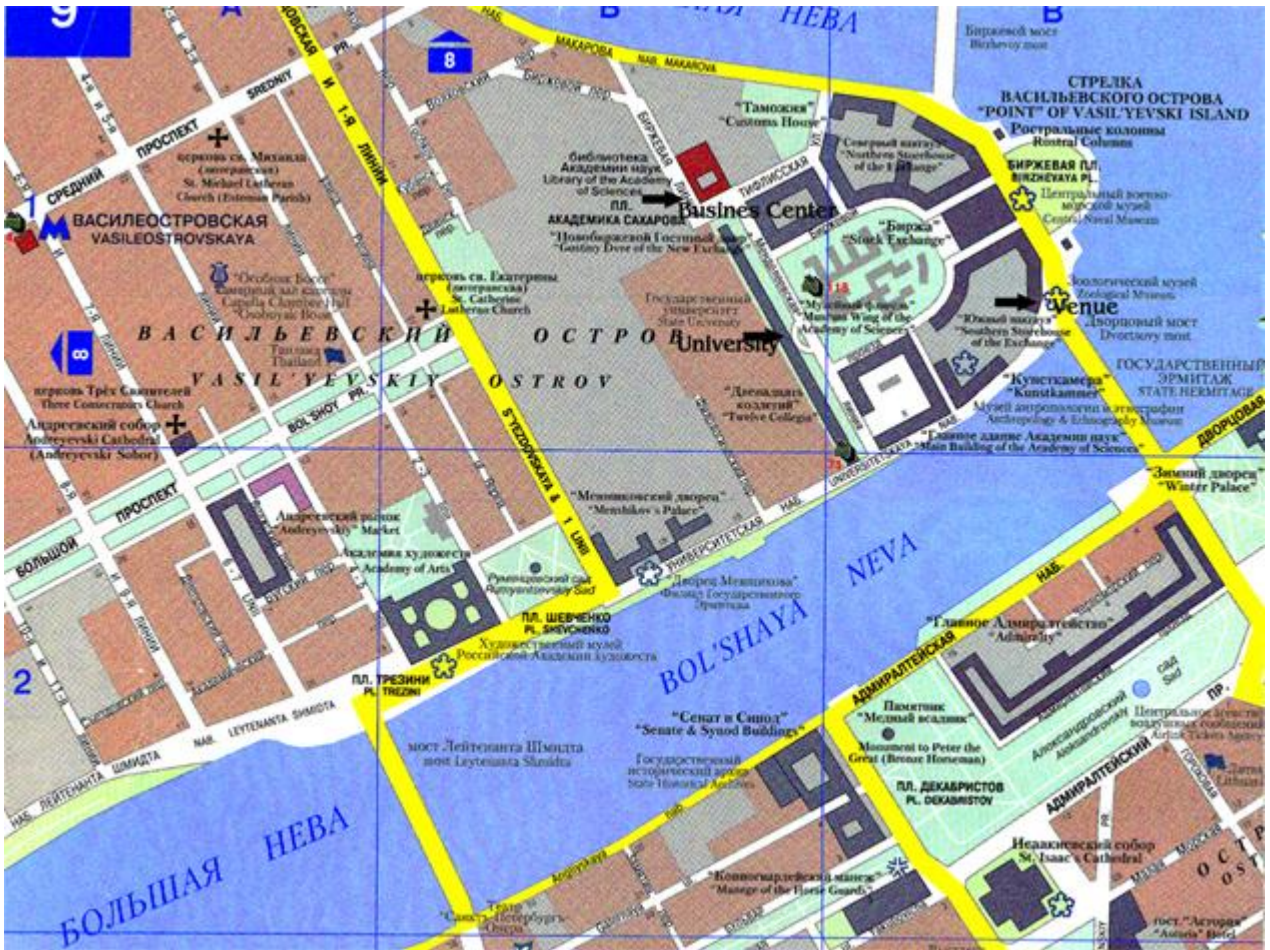
**Sankt-Petersburg, Russia
Zoological Institute RAS**

Программа и тезисы докладов международного рабочего совещания и научной конференции

“Исследование биоразнообразия и криптического видообразования у организмов водных экосистем России и Украины с применением баркодинга”

11.09-16.09.2011

**Санкт-Петербург, Россия
Зоологический институт РАН**



SCIENTIFIC COMMITTEE OF THE CONFERENCE

Prof. M. R Miracle (Valencia, Spain)

Academician NAS Ukraine V. I Monchenko (Kiev, Ukraine)

Deputy-member of RAS O.N. Pugachev (St. Petersburg, Russia)

Prof. S. Suissi (Lille, France)

Program/Программа

11.09.2010

Arriving and hotel settlement for work-shop participants
Заезд и расселение участников

19.00-21.00 Informal meeting of work-shop participants
Неформальная встреча участников совещания

12.09.2011

9.00-10.00 Registration of participants and gests /
Регистрация участников и гостей

10.00-10.20 Director of Zoological Institute RAS **O.N. Pugachev**. OPENING SPEECH FOR THE INTERNATIONAL CONFERENCE AND WORK-SHOP
Директор ЗИН РАН член корр РАН **О.Н. Пугачев**. ОТКРЫТИЕ МЕЖДУНАРОДНОГО РАБОЧЕГО СОВЕЩАНИЯ ПО ПРОБЛЕМЕ ВИДОВ ДВОЙНИКОВ У ОРГАНИЗМОВ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Section 1.

Using of barcoding in studies on biodiversity and sibling species among copepods (Moderators: V.R. Alekseev & V.I. Monchenko)

Секция 1.

Применение баркодирования при исследовании биоразнообразия и видов-двойников у Соперода

(Ведущие В.Р. Алексеев и В.И. Монченко)

10.20-10.50 **Maria Rosa Miracle**, (University of Valencia, Spain), **V. R. Alekseev** (ZIN RAS, St. Petersburg), **V. I. Monchenko** (IZ NAS, Ukraine), **V. Sentandreu** & **E. Vicente** (both -University of Valencia, Spain)
MOLECULAR-GENETIC BASED REVISION OF THE *ACANTHOCYCLOPS ROBUSTUS* GROUP

Мария Роза Миракле (Университет Валенсии, Испания), **В.Р. Алексеев** (ЗИН РАН, Петербург), **В.И. Монченко** (ИЗ НАН, Киев), **В. Сентандреу** и **Е. Висенте** (оба Университет Валенсии, Испания) РЕВИЗИЯ ЦИКЛОПОВ ГРУППЫ *ACANTHOCYCLOPS ROBUSTUS*, ОСНОВАННАЯ НА МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКЕ

10.50-11.20 **Nikolai S. Mugue** (Institute of Developmental Biology RAS, Institute of Fishery and Oceanography, Moscow) SPECIES FLOCK – FROM SIMULATION MODEL TO MODEL ORGANISM

Николай С. Мюге (Институт Биологии развития РАН / ВНИРО)
«БУКЕТЫ ВИДОВ» – ОТ МОДЕЛИ К МОДЕЛЬНЫМ ВИДАМ

11.20-11.50 **Natalia Sukhikh**, (ZIN RAS, St. Petersburg), **A. Souissi**, **S. Souissi** (both Université Lille, France) & **V.R. Alekseev** (ZIN RAS, St. Petersburg)
MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC STUDY ON SIBLING SPECIES IN *EURYTEMORA AFFINIS*-GROUP

Наталия Сухих (ЗИН РАН, Петербург), **А. Суси**, **С. Суси** (оба Университет Лилль1, Франция) и **В.Р. Алексеев** (ЗИН РАН, Петербург)
МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ ДВОЙНИКОВ В ГРУППЕ *EURYTEMORA AFFINIS*

11.50-12.00 Кофе-брейк

12.00-12.30 **I.Yu.Zajdykov, Major T.Yu., Kirilchik S. V, Sukhanova L. V, & Elena Naumova** (all -Limnological Institute SB RAS, Irkutsk) THE PRELIMINARY RESULTS OF THE MORPHOLOGICAL AND GENETIC ANALYSIS OF THE POLYMORPHISM OF *EPISCHURA BAICALENSIS* (COPEPODA, CALANOIDA).

И. Ю. Зайдыков, Майор Т.Ю., Кирильчик С. В. , Суханова Л. В., Е.Ю. Наумова (все Лимнологический институт СО РАН, Иркутск) ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА *EPISCHURA BAICALENSIS* (COPEPODA, CALANOIDA)

12.30-13.00 **Vjachaslav Ivanenko** (Moscow State University, Moscow) TO APPLICATION OF DNA-BARCODING IN EVALUATION OF BIODIVERSITY OF MARINE INVERTEBRATES ON AN EXAMPLE OF CRUSTACEAN COPEPODS - SYMBIONTS OF SCLERACTINIAN CORALS

В.Н. Иваненко (МГУ им МВ Ломоносова, Москва) К ПРИМЕНЕНИЮ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ В ОЦЕНКЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ НА ПРИМЕРЕ ВЕСЛОНОГИХ РАКООБРАЗНЫХ – СИМБИОНТОВ СКЛЕРАКТИНИЕВЫХ КОРАЛЛОВ

13.00-13-30 **Victor Alekseev** (ZIN RAS), **V.I. Monchenko** (Institute of Zoology (NAS Ukraine) STUDY ON CRYPTIC SPECIATION AMONG COPEPODS IN THE FRAME OF INTERNATIONAL BILATERAL RUSSIAN-UKRAINIAN PROJECT – RESULTS, PROBLEMS AND PROSPECTIVE

В.Р. Алексеев (ЗИН РАН) и **В.И. Монченко** (ИЗ НАНУ) ИССЛЕДОВАНИЕ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ У КОПЕПОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАРКОДИНГА В РАМКАХ РОССИЙСКО-УКРАИНСКОГО МЕЖДУНАРОДНОГО ПРОЕКТА – ДОСТИЖЕНИЯ, ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

13.30-14.30 Lunch/Обед

Section 2.

Cryptic speciation in aquatic organisms of Russia and Ukraine
(Moderators: V.I.Monchenko & V.R.Alekseev)

Секция 2.

Исследование криптического видообразования у организмов водных экосистем России и Украины
(Ведущие В.И. Монченко и В.Р. Алексеев)

14.30-15-00. **Vladislav Monchenko** (Institute of Zoology, Kiev); **V.R.Alekseev** (Zoological Institute, S.Peterburg); **L.P.Gaponova** (SCEBM, Kiev), **M. Miracle** (Spain)

CRYPTIC SPECIES IN *ACANTHOCYCLOPS VERNALIS* (COPEPODA:CYCLOPOIDA): EVIDENS FROM CROSSBREEDING EXPERIMENTS

В. И. Монченко (Институт зоологии, НЦЕБМ НАНУ, Киев), **В. Р. Алексеев** (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург), **Л.П. Гапонова** (НЦЕБМ НАНУ, Киев) **М. Миракле** (Испания)
КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ У *ACANTHOCYCLOPS VERNALIS* (COPEPODA: CYCLOPOIDA): ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СКРЕЩИВАНИЮ

15.00-15.30 **Lesya Garlitska** (Odesa Branch Institute of Biology of Southern Seas, NAS Ukraine), **Neretina Tatyana** (Nikolai Pertsov White Sea Biological Station of Moscow State University, Moscow) & **Mugue Nikolay** (Institute of Developmental Biology RAS, Institute of Fishery and Oceanography, Moscow)

GENETIC ISOLATION AMONG SYMPATRIC MORPHS OF A MEIOBENTHIC COPEPOD FROM GEOGRAPHICALLY REMOTE REGIONS

Л. Гарлицкая (Одесский филиал ИНБЮМ НАНУ), **Неретина, Т.** (Беломорская биостанция МГУ) и **Н. Мюге** (ИБР РАН, Москва)
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗОЛЯЦИЯ СРЕДИ СИМПАТРИЧЕСКИХ МОРФ ИЗ ГЕОГРАФИЧЕСКИ РАЗОБЩЕННЫХ РЕГИОНОВ

15.30-16.00 **Elena Fefilova** (Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch, Russian Academy of Science)

POTENTIAL SIBLING SPECIES AMONGST FRESHWATER HARPACTICIDS

Е. Б. Фефилова (Учреждение РАН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН)

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ВИДЫ СРЕДИ ПРЕСНОВОДНЫХ ГАРПАКТИЦИД

16.00-16.15 Кофе-брейк

16.15-16.45 **Dmitry Lajus** (SPb State University, Russia), **N.M. Sukhikh & V.R. Alekseev** (both -Zoological Institute, S.Peterburg)

DO MORPHOLOGICALLY SIMILAR SPECIES IN COPEPODS ALWAYS REPRESENT TRUE TWIN SPECIES?

Д.Л. Лайус (СПбГУ, Россия), **Н. М. Сухих, В.Р. Алексеев** (оба - ЗИН РАН)

ВСЕГДА ЛИ МОРФОЛОГИЧЕСКИ СХОДНЫЕ ВИДЫ КОПЕПОД ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ ВИДЫ-ДВОЙНИКИ?

16.45-17.15 **V.I.Monchenko** (Institute of Zoology, MEBRC NAS Ukraine, Kiev),

L.P. Gaponova (MEBRC NAS Ukraine, Kiev), **L.V. Samchyshyna** (MEBRC NAS Ukraine, Kiev) **CRYPTIC SPECIES IN *EUCYCLOPS SERRULATUS* (COPEPODA:CYCLOPOIDA):**

RESULTS OF CROSSBREEDING EXPERIMENTS.

В. И. Монченко (Институт зоологии, НЦЕБМ НАН Украины, Киев), **Л.П. Гапонова** (НЦЕБМ НАН Украины, Киев), **Л. В. Самчишина** (НЦЕБМ НАН Украины, Киев)

КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ В ГРУППЕ *EUCYCLOPS SERRULATUS* (COPEPODA:CYCLOPOIDA): ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО СКРЕЩИВАНИЮ

19.00 Visiting of Aleksandrinsky Theatre Ballet Performance “Swan Lake”
Посещение Александринского театра (Балет Лебединое озеро)

13.09.2011

Field trip to Petergoff to visit the type localities of 5 Fischer’s species with attending of fountains and Constantine Palace

(Start at 11 a.m. from Zoological Institute, duration approximately 8 hours)

Выезд в Петергоф и сбор материалов из типовых мест обитания 5 Фишеровских видов циклопид с посещением фонтанов и Константиновского дворца

(Выезд от главного корпуса ЗИН РАН в 11.00. Ориентировочная продолжительность 8 часов)

14.09.2011

Master-classes on modern method using in cryptic copepod species diagnosis

(Curators: V.R. Alekseev V. I. Monchenko)

Практические занятия по применению современных методов для диагностики криптических видов

(кураторы В.Р. Алексеев, В.И. Монченко)

1. EXPRESS-METHOD IN INTEGUMENTAL ORGAN ANALYSES IN COPEPODS

(Leaders: V.R. Alekseev & E. Ju. Naumova)

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕСС МЕТОДА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ОРГАНОВ ИНТЕГУМЕНТА КОПЕПОД (

Занятие ведут: В.Р. Алексеев (ЗИН РАН, С. Петербург, Россия), Е.Ю. Наумова (ЛИН СО РАН, Иркутск, Россия)

(Место проведения - Отделение систематики Лаборатории пресноводной и экспериментальной гидробиологии ЗИН РАН. Время проведения: 10.00-11.30)

2. EXPERIMENTAL HYBRIDIZATION IN COPEPODS

(Leaders: **V.I. Monchenko, & L.P. Gaponova**)

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ГИБРИДИЗАЦИИ У КОПЕПОД

Занятие ведут: **В.И. Монченко, Л.П. Гапонова.**(Научный центр
экомониторинга и биоразнообразия мегаполиса НАН Украины Институт
зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины)

(Место проведения - Лаб. Пресноводной и экспериментальной
гидробиологии ЗИН РАН. Время проведения: 11-30- 13.00)

13.30-16.30 Lunch and moving to the second building of ZIN RAS

Обед и переезд в корпус 2 ЗИН РАН

3. BARCODING AS A MODERN METHOD OF MOLECULAR GENETIC SPECIES DIAGNOSTIC

(Leaders: **N.I. Abramson & N.M. Sukhikh**)

БАРКОДИНГ, КАК СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНО
ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ
ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Занятие ведут: **Н.И. Абрамсон, Н.М. Сухих)**

(Место проведения - лаб. Молекулярно-генетической систематики ЗИН
РАН. Время проведения 16.30-18.30

19.30 Festival dinner in Chinese restaurant

Ужин в китайском ресторане

15.09.2011

**Round table on prospective of the cryptic species problem solving and
common scientific publication preparation for international bilateral grants
Russia-Ukraine, Russia-France and Russia-Spain**

(Moderators: **V.R. Alekseev, M.R. Miracle and V.I. Monchenko**)

**Круглый стол для обсуждения перспектив изучения проблемы видов-
двойников и подготовки совместных публикаций по результатам
международных грантов Россия-Украина, Россия-Франция, Россия-
Испания. Модераторы В.Р. Алексеев, В.И. Монченко, М.-Р. Миракле**

10.00-11.30 Cryptic speciation in *Acanthocyclops robustus* group in the Old and
New World Conveners: **V.I. Monchenko and M.R. Miracle**

Криптическое видообразование у представителей *Acanthocyclops robustus*
group Старого и Нового Света– конвильеры акад. НАН Украины **В.И.
Монченко** и Проф. Университета Валенсии Др. **Мария Миракле**

11.30-13.00 Sibling-species in *Eucyclops serrulatus* group Conveners: **V.R. Alekseev & V.I. Monchenko**

Виды двойники среди представителей *Eucyclops serrulatus* group мировой фауны конвильеры зав.отд. систематики, ЗИН РАН д.б.н. **В.Р. Алексеев** и акад. НАНУ Украины **В.И. Монченко**

13.00-14.30 Lunch/Обед

14.00-16.00

2. Meeting on preparation of proposals for international bilateral projects to study copepod biodiversity in 2012-2013

Заседание по подготовке международных проектов по изучению биоразнообразия среди копепод в 2012-2013 гг.

16.00-16.30 **V.R. Alekseev** Rules for paper presentations

3. В.Р. Алексеев Правила подготовки и сроки сдачи рукописей в сборник трудов ЗИН (русскоязычные статьи) и международный научный журнал *Crustaceana* (англоязычные статьи)

16.30- 18.00

4. Common discussion & closing

Общая дискуссия по проблеме, выработка рекомендаций по исследованию криптоического видообразования у водных организмов и закрытие совещания

16.09.2011

Отъезд участников совещания

Abstracts

Тезисы

V. R. Alekseev (ZIN RAS, alekseev@zin.ru) & **V.I. Monchenko** (Institute of Zoology NAS Ukraine vmon@izan.kiev.ua)

STUDY ON CRYPTIC SPECIATION AMONG COPEPODS IN THE FRAME OF INTERNATIONAL BILATERAL RUSSIAN-UKRAINIAN PROJECT – RESULTS, PROBLEMS AND PROSPECTIVE

Sibling species are morphologically very close but genetically and ecologically isolated. This phenomenon was known since 19 century but real investigation in this field among Copepods as well as other aquatic invertebrates has been started only recently. The real interest to this problem arisen when international biodiversity program had been announced and new relatively fast and quite objective molecular-genetic methods had been appeared. Biological invasion problem also brought an additional interest to sibling species separation. Recent studies with barcode using in Baltic Sea showed that mass species *Eurytemora affinis* was substituted in some areas of the sea by North American sibling species *Eurytemora carolleeae* that had been arrived possibly with ship ballast waters (Alekseev et al. 2009). As copepods are one of the most important group of invertebrates in aquatic ecosystems they are intensively studied by taxonomists and systematics in many countries. Many cyclopid species especially from southern countries are known as intermediate host of parasites and human diseases including such serious illness like cholera. These copepod species due to climate changes and human mediated transportation move to northern countries that is not studied well both in Ukraine and Russia. Our study was aimed to verify the role of sibling species in local biodiversity in fresh and brackish water bodies in both countries including watersheds of two common seas (Azov and Black Seas) and two reference (Caspian and White Seas) seas. The first results of this study are discussed.

В.Р. Алексеев (ЗИН РАН alekseev@zin.ru) и **В.И. Монченко** (ИЗ НАНУ vmon@izan.kiev.ua)

ИССЛЕДОВАНИЕ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ У КОПЕПОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАРКОДИНГА В РАМКАХ РОССИЙСКО-УКРАИНСКОГО МЕЖДУНАРОДНОГО ПРОЕКТА – ДОСТИЖЕНИЯ, ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Виды-двойники обладают внешним сходством, т.е. сходством по морфологическим критериям, но различающиеся по другим признакам. Они генетически изолированы и при совместном обитании занимают

разные экологические ниши. Этот феномен известен еще с XIX века, но реальным изучением видов двойников среди водных беспозвоночных ученые в нашей стране и за рубежом занялись сравнительно недавно. Интерес к видам двойникам возник в связи с постановкой крупной международной научной программы по изучению биоразнообразия, а также с появлением объективных и относительно быстрых методов выявления этих видов, прежде всего молекулярно-генетической диагностики. Дополнительный интерес к проблеме видов двойников обусловлен развитием исследований по биологическим инвазиям. Недавними работами с использованием баркодинга как критерия длительности изоляции было показано, что в Балтийском море популяция такого массового вида как *Eurytemora affinis* уже в значительной степени (от 10 до 100%) вытесняется видом двойником попавшим сюда из Северной Америки (Алексеев и др. 2009).

Веслоногие раки являются важнейшей группой водных экосистем и активно исследуются как экологами так и систематиками разных стран. Интерес к изучению этих ракообразных определяется их широкой биотопической валентностью, высокой устойчивостью к антропогенным нагрузкам, хорошо разработанной классической систематикой. Соперода, как и другие виды ракообразных активно расселяются вследствие роста транспортных потоков водным путем, а также климатических изменений, однако этот процесс в указанном регионе недостаточно оценен из-за отсутствия здесь специальных исследований. Многие виды циклопид, особенно среди представителей южной фауны, хорошо известны, как промежуточные хозяева различных паразитических организмов, так и как естественное депо столь серьезных патогенных организмов, как холера. Проведенное исследование было направлено на оценку роли видов двойников у веслоногих раков в формировании биологического разнообразия водных экосистем двух стран. Целью его было сопоставить уровень биологической изоляции и накопленных за период этой изоляции различий в геноме и морфологических особенностях у копепод северных регионов России и южных популяций этих же видов в Украине. Работа выполнялась в водоемах бассейнов 4 внутренних морей, из которых два (Азовское и Черное) являются общими для России и Украины, а два других (Белое, Балтийское) активно исследуются международным научным сообществом в связи с проблемой расселения чужеродных видов беспозвоночных организмов. Первые результаты, изучения близкородственных видов в Украине и России, а также наличие в Зоологическом институте РАН приборной базы для изучения нуклеотидной последовательности в геномах ракообразных, позволили получить ряд значительных результатов в исследовании роли видов двойников в формировании фаунистических комплексов водоемов значительной по площади части Европы и исследовать процессы расселения видов вселенцев в водоемах обеих стран.

Elena Fefilova

Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch, Russian Academy of Science

fefilova@ib.komisc.ru

POTENTIAL SIBLING SPECIES AMONGST FRESHWATER HARPACTICIDS

At present, order Harpactiformes include more than thousand freshwater species from three families. Relatively with other Copepod orders, biology and ecology freshwater harpacticoids are studied poorly, systematic is founded on features of external morphology. Amongst marine harpacticoids are known sibling species, for instance *Coullana canadensis* and *Coullana sp.*, *Tisbe holothuriae* and *T. battagliai*, they are morphological similar, but having behavioural or ecological differences (Bergmans, Janssens, 1988; Frey, Lonsdale, Snell, 1998). Study of genomes of some freshwater harpacticoid species, on our opinion, will allow revealing sibling forms amongst ones. They are widespread species with high degree of morphological variability: *Bryocamptus zschokkei*, *Maraenobiotus brucei* and *M. insignipes*, *Epactophanes richardi*, *Moraria schmeili*. There is expecting based on the data about biology and ecology of *Canthocamptus staphylinus* that it is group of species. *C. staphylinus* is studied relatively well due to large for harpacticoids sizes, wide geographical spreading and ecological potential (it inhabits the water bodies from temporary puddles to large lakes). The species is known as stenothermic and cold-lovely, warm period it spend in diapause (Borutsky, 1952; Sarvala, 1979; Kurashov, 1994, 1996). Our observations of *C. staphylinus* in the different type water bodies in the northern regions and in experiments give cause for to study species using molecular-genetic methods. This study was supported by bilateral RFBR-Ukraine grant N 10-04-90420

Елена Фефилова

Учреждение РАН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

fefilova@ib.komisc.ru

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ВИДЫ СРЕДИ ПРЕСНОВОДНЫХ ГАРПАКТИЦИД

В настоящее время отряд гарпактицид насчитывает более тысячи обитающих в пресных водах видов, относящихся к трем семействам. Сравнительно с другими отрядами веслоногих раков, биология и экология пресноводных гарпактицид изучена слабо, систематика основывается на признаках внешней морфологии. Среди морских представителей этого отряда известны виды двойники, например, *Coullana canadensis* и *Coullana sp.*, *Tisbe holothuriae* и *T. battagliai*, сходные по морфологическим признакам, но имеющие поведенческие различия или по отношению к факторам среды (Bergmans, Janssens, 1988; Frey, Lonsdale, Snell, 1998). Исследование геномов некоторых пресноводных видов, по нашему мнению, позволит выявить среди последних криптические таксоны. К ним

относятся широко распространенные виды, обладающие высокой степенью изменчивости морфологических признаков: например, *Bryocamptus zschokkei*, *Maraenobiotus brucei* и *M. insignipes*, *Epracrophanes richardi*. Остается окончательно неясным положение в систематике морфологически сходных *Moraria schmeili* и *M. mrazeki*. Сведения о биологии и экологии *Canthocamptus staphylinus* дают основание предполагать в нем сборный вид. Последний изучен сравнительно хорошо благодаря крупным для гарпактицид размерам, широкому географическому распространению и эвритопности (населяет водоемы от временных луж до крупных озер). О биологии *C. staphylinus* известно, что вид stenotherмный холодолюбивый, теплый период года проводит в состоянии покоя (Боруцкий, 1952; Sarvala, 1979; Курашов, 1994; Kurashov, 1996). Наши наблюдения этого вида в водоемах различного типа в северных регионах и в экспериментальных условиях не согласуются с существующими виде представлениями, что могло бы дать повод для дальнейшего изучения *C. staphylinus* с применением молекулярно-генетических методов.

Lesya Garlitska¹, Neretina Tatyana², Mugue Nikolay³

¹ Odesa Branch Institute of Biology of Southern Seas, NASU, Odesa, 65125, Ukraine garlitska@gmail.com

² Nikolai Pertsov White Sea Biological Station of Moscow State University, Moscow 119992, Russia

³ Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS, Moscow, Russia

GENETIC ISOLATION AMONG SYMPATRIC MORPHS OF A MEIOBENTHIC COPEPOD FROM GEOGRAPHICALLY REMOTE REGIONS

Nannopus palustris (Huntemanniidae: Harpacticoida) is a world-wide distributed, euryhaline species with female polymorphism. In particular, its populations inhabiting littoral of South Carolina, USA, are known to have 80–90% of females possessed straight terminal setae and up to 10% possessed an unusual notch on the basal part of each principle terminal seta of the caudal ramus. *N. palustris* was formerly assumed to be a single, cosmopolitan but highly variable species. Genetic sequencing of the South Carolina population, however, showed that notched morphs were genetically distinct from other forms in both 28S rDNA and mitochondrial *cytb* haplotypes (Staton et al 2005). Recently, both notched and straight setae females have been found at the Black River Bight (the White Sea) in similar ratio. Preliminary genetic analysis of D1 region of 28S rDNA also shows clear distinction between these forms: straight setae females and males demonstrate 3% difference from notched females.

Interestingly, males with notched caudal rami have been never found, neither in South Carolina nor in the White Sea.

Thus, our finding of clear genetic differences within small sampling areas from geographically and historically distinct regions suggests that the wide-spread variation previously reported as geographic variation (Por 1968, Wells, 1971) is not just polymorphism within this single “cosmopolitan” species. We suppose that *N. palustris* represents a cosmopolitan complex of sympatric species, which may significantly differ at reproductive, physiological, and ecological levels.

Гарлицкая Л.А.¹, Неретина Т.В.², Мюге Н.С.³

¹ Одесский филиал Института биологии южных морей им. А.О.Колвалевского, НАНУ, Одесса, 65125, Украина garlitska@gmail.com

² Беломорская биологическая станция им. Н.Перцева Московского государственного университета, Москва, 119992, Россия

³ Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова, РАН, Москва, 119334, Россия

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗОЛЯЦИЯ ВНУТРИ СИМПАТРИЧЕСКИХ МОРФ МЕЙОБЕНТОСНОЙ КОПЕПОДЫ ГЕОГРАФИЧЕСКИ УДАЛЕННЫХ РЕГИОНОВ

Nannopus palustris (Huntemanniidae: Harpacticoida) – широкораспространенный, эвригалинный вид с полиморфизмом у самок. В частности, известно, что его популяции, населяющие побережье Южной Каролины (США), составляют 80–90% самок с прямыми терминальными щетинками, а почти 10% имеют необычную насечку на базальной части основной терминальной щетинки фурки. *N. palustris* считается единым космополитическим и очень изменчивым видом.

Генетическое секвенирование популяции Южной Каролины, однако, показало, что морфы с насечкой генетически отличались от других форм как в 28S рДНК так и митохондриальном *cytb* гаплотипах (Staton et al 2005). Недавно, в излучине Черной Реки (Белое море) были найдены самки как с насеченными, так и с прямыми щетинками в аналогичной пропорции. Предварительный генетический анализ D1 области 28S рДНК также показывает четкое различие между этими формами: самки и самцы с прямыми щетинками демонстрируют 3% отличие от самок с насеченными щетинками. Интересно, что самцы с насеченными фуркальными ветвями не были найдены ни в Южной Каролине, ни на Белом море.

Таким образом, обнаруженное нами четкое генетическое различие в пределах небольших участков географически и исторически различных регионов показывает, что шорокораспространенная изменчивость,

сообщавшаяся ранее как географические вариации (Por 1968, Wells, 1971) не только полиморфизм в пределах одного этого "космополитического" вида. Мы полагаем, что *N. palustris* представляет собой космополитический комплекс симпатрических видов, которые могут существенно отличаться на репродуктивном, физиологическом и экологическом уровнях.

В.Н. Иваненко (МГУ им МВ Ломоносова, ivanenko@mail.bio.msu.ru)

К ПРИМЕНЕНИЮ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ В ОЦЕНКЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ НА ПРИМЕРЕ ВЕСЛОНОГИХ РАКООБРАЗНЫХ – СИМБИОНТОВ СКЛЕРАКТИНИЕВЫХ КОРАЛЛОВ

Впервые на примере веслоногих ракообразных – симбионтов (паразитов, комменсалов и мутуалистов) кораллов проведена оценка эффективности использования ДНК штрихкодов 5'-фрагмента первой субъединицы митохондриального гена, кодирующего белок цитохром-С-оксидазу, для оценки разнообразия фауны морских беспозвоночных. Материал собран в сентябре 2010 г на коралловых рифах острова Лизард (Большой барьерный риф, Тихий океан) на глубинах до 30 м с применением легководолазного снаряжения и подводной фотоаппаратуры. В ходе работы исследовано морфологическое разнообразие и ДНК штрихкоды 112 экземпляров 68 видов веслоногих ракообразных отрядов Siphonostomatoida и Pseudoscorpionida – симбионтов 34 видов склерактиниевых кораллов. Впервые на примере симбиотических копепод показано, что ДНК штрихкодирование позволяет проводить быструю и качественную оценку как разнообразия копепод, так и их распространения на разных видах хозяев. Полученные результаты выявили необходимость проведения дальнейших работ, направленных на полевые сборы и диагностику симбиотических копепод, создание коллекций животных и их ДНК экстрактов, а также формирование базы данных с изображениями и библиотекой ДНК штрихкодов симбиотических копепод и их хозяев, собранных в ходе проведенных работ.

V.N. Ivanenko (Moscow State University, ivanenko@mail.bio.msu.ru)

TO APPLICATION OF DNA-BARCODING IN EVALUATION OF BIODIVERSITY OF MARINE INVERTEBRATES ON AN EXAMPLE OF CRUSTACEAN COPEPODS - SYMBIONTS OF SCLERACTINIAN CORALS

For the first time on an example of crustacean copepods – symbionts (parasites, commensals and mutualists) of corals evaluation of efficiency of DNA-barcodes

(COI) for study of biodiversity of marine invertebrates was conducted. The material was collected by SCUBA in September 2010 on coral reefs around the Lizard Island (Great Barrier Reef, Pacific Ocean) on depths to 30 m with using of underwater photcamera. As a result morphological diversity and DNA barcodes of 112 specimens of 68 species of crustacean copepods representing orders Siphonostomatoida and Poecilostomatoida - symbionts of 34 species of scleractinian corals was investigated. It is shown that DNA-barcodes allow conducting fast and efficient evaluation of diversity of copepods and their distributions on the corals hosts. The results revealed necessity of further works on sampling and identification of copepods, maintaining of collections of vouchers and their extracted DNA, creation of database including images and DNA-barcodes of symbiotic copepods and their hosts.

Dmitry Lajus (SPb State University, Russia dlajus@yahoo.com), **N.M. Sukhikh & V.R. Alekseev** (both -Zoological Institute, S.Peterburg)

DO MORPHOLOGICALLY SIMILAR SPECIES IN COPEPODS ALWAYS REPRESENT TRUE TWIN SPECIES?

Twin species (which are also called cryptic or sister species) by definition are good biological species without clear morphological differences. It is considered that typically twin species represent a specific stage of speciation when a gene flow between populations has been already broken, but species-specific adaptations have not yet resulted in clear morphological differences. This explains an interest of evolutionary biologists to this phenomenon. At the same time, conclusions about twin status of species can also result from non-sufficient attention of researchers to morphological analysis.

In Copepods, twin species are becoming a frequently mentioned phenomenon. At the same time, an analysis of literature sources indicates that typically a conclusion about twin status of studied species is often based on genetic studies only without appropriate morphological studies. Deductions about absence of morphological differentiation in these cases are usually made on the basis of previous taxonomical investigations without their critical analysis.

As an example we are explored a situation with a brackish water copepod *Eurytemora affinis* which is considered a complex of twin species. This conclusion has been made after molecular-genetic study which involved several local populations from vast distribution range (Lee 1999). Several clearly genetically differentiated forms have been identified. Further morphological study which utilized three traditional morphologic characters, did not find differences between these forms (Lee and Frost 2002). However more recent and detailed morphological analyses revealed a number of not only quantitative but also qualitative morphological differences which allowed to describe a new

species *E. carolleae* (Alekseev and Souissi 2011). Our comparison of American and European clades of *Eurytemora* using range of morphological methods also confirmed evident differentiation between them.

Therefore, a critical analysis of situation with twin species in *Eurytemora* complex shows that previous conclusion about twin-species status of this form was rather obtained due to non-sufficient attention of authors to morphological analysis than to true twin status of *Eurytemora* species. In this case we have no reasons to assume the specific stage of speciation of the complex when species already approached reproductive isolation but did not manifest morphological differences. Based on literature analysis, we may suggest that this case is quite typical for many other copepod studies where attention to morphological studies is not always sufficient.

Д.Л. Лайус (СПбГУ, Россия), **Н. М. Сухих, В.Р. Алексеев** (оба - ЗИН РАН)

ВСЕГДА ЛИ МОРФОЛОГИЧЕСКИ СХОДНЫЕ ВИДЫ КОПЕПОД ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ ВИДЫ-ДВОЙНИКИ?

Виды-близнецы – это хорошие биологические виды без заметных морфологических различий. Считается, что обычно виды-близнецы представляют собой определенный этап видообразования, когда потока генов между популяциями уже нет, но видовые адаптации еще не привели к явным морфологическим различиям. В связи с этим виды-двойники представляют особый интерес с точки зрения эволюционной биологии. В то же время, вывод о том, что виды являются двойниками, может быть следствием недостаточного внимания исследователей к морфологическому анализу.

Виды-двойники все чаще отмечаются среди копепод. Однако, анализ литературы показывает, что обычно вывод о двойниковом статусе изученных видов основан только на генетических исследованиях без адекватного морфологического анализа. Заключение об отсутствии морфологической дифференциации в этих случаях обычно делается на основании предыдущих таксономических исследований без их критического анализа.

В качестве примера мы изучили ситуацию с солоноватоводной копеподой *Eurytemora affinis*, считающейся комплексом видов-близнецов. Этот вывод был сделан в результате молекулярно-генетического исследования, которое охватывало ряд популяций из огромного ареала (Lee, 1999). Было выявлено несколько генетически дифференцированных форм. Последовавшие за этим морфологические исследования, в которых использовались три традиционных морфологических признака, не

позволили обнаружить различий между этими формами (Lee and Frost, 2002). Однако проведенный недавно детальный морфологический анализ выявил ряд не только количественных, но и качественных морфологических отличий, что позволило описать новый вид *E. carolleae* (Алексеев и Souissi 2011). Наше сравнение американской и европейской клады *Eurytemora* с использованием спектра морфологических методов также подтвердил очевидные морфологические отличия между ними.

Таким образом, критический анализ ситуации с комплексом видов-двойников *Eurytemora* показывает, что более ранний вывод о двойниковом статусе этих видов был обусловлен, в первую очередь, недостаточным вниманием авторов к их морфологическому анализу, а не их истинному двойниковому статусу. В данном случае у нас нет никаких оснований считать, что виды находятся на той стадии видообразования, когда уже имеется репродуктивная изоляция, но еще нет морфологических различий. Анализ литературы позволяет предположить, что этот случай вполне типичен для многих других исследований копепод когда детальным морфологическим исследованиям не всегда уделяется достаточное внимание.

M.R. Miracle 1, V.R. Alekseev 2, V. Monchenko 3, V. Sentandreu 4 & E. Vicente 1

1 Dept Microbiology and Ecology, ICBiBE, 46100 Burjassot, University of Valencia, Spain, email: rosa.miracle@uv.es.

2 Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, University emb. 1, St. Petersburg 199034, Russia, e-mail: valekseev@yahoo.com.

3 Institute of Zoology

NAS Ukraine, B.Khmelnitsky str.15, Kiev 06101, Ukraine.

4 SCSIE, 46100 Burjassot, University of Valencia, Spain.

MOLECULAR-GENETIC BASED REVISION OF THE *ACANTHOCYCLOPS ROBUSTUS* GROUP

Taxonomical position and relations among species in so named *Acanthocyclops robustus* complex is complicate and ambiguous. Beginning from F. Kiefer's designation of *A. robustus* Sars as older synonym of *Acanthocyclops americanus* Marsh, a lot of contradictory data on ecological, morphological and behavioural differences inside this complex have been accumulated. Molecular-genetic tool (barcode COI) was applied to handle the problem with taxonomy in this genus. For analysis we used alcohol preserved specimens collected from the *terra typica* and/or type water bodies when known. The type populations used in this study

include: *A. robustus* specimens collected from Oslo, Norway, *A. americanus* from Wisconsin, USA, *Acanthocyclops vernalis* from Peterhof, Russia, *Acanthocyclops trajani* from Etang de Noes, France and *Acanthocyclops einslei*

from Lake Creteil, France. Individuals of the *A. robustus* complex from several other localities in Spain, France and USA were also compared, using both molecular-genetic and morphological approaches. COI tree analysis revealed that *A. robustus* and *A. vernalis* from the type localities are different species that are well separated

species from all other *Acanthocyclops* studied from other sites. Specimens from the type locality of *A. trajani* and *A. einslei*, from France, although with some small differences between them, were placed together by the COI analysis in the group of *Acanthocyclops* indicated as *A. americanus* from Wisconsin and other sites in USA. Populations from other sites in Spain and France with morphologies similar to *A. trajani* or to *A. einslei* were also placed inside the *A. americanus* group that possibly reflects the traces of species invasion into Europe. Inside the *A.*

americanus group is possible some subdivision accounting for the two forms *A. trajani* and *A. einslei*, although they are scarcely differentiated by COI. Re-erection of *A. americanus* as a valid species evaluated as a younger synonym and separation of it from North European species, such as *A. robustus* and *A. vernalis* is suggested. These three species are re-described under previous names and an updated key for the species of the genus *Acanthocyclops* is proposed.

This study was partly supported by bilateral RFBR-Ukraine grant 10-04-90420 Ukr and the grant CGL2009-12229 from the Spanish MCINN

M. Miracle (University of Valencia, Spain); **V.I.Monchenko** (Institute of zoology, MEBRC NAS Ukraine, Kiev); **V.R.Alekseev** (Zoological Institute, St.Peterburg); **L.P.Gaponova** (MEB RC NAS Ukraine, Kiev)

CRYPTIC SPECIES IN *ACANTHOCYCLOPS VERNALIS* (COPEPODA:CYCLOPOIDA): EVIDENS FROM CROSSBREEDING EXPERIMENTS.

It is known that in many cases the same species of cyclops according to one author play a positive role as intermediate host for some helminth and by other authors in this relation it is sterile. Those data count up to 20 (Monchenko, 2003). In all these cases, we consider, a question is on sibling species. The most useful criteria for distinguishing sibling species are lack of interbreeding and differences in karyology (Price, 1958; Mayr, 1963; Monchenko, 2000, etc.). The presence (or absence) of reproductive isolation is the most effectively demonstrated using cross breeding tools.

For our experiments we used small Petri dishes or object-plate with pit for small water-reservoir for 1-2 cyclopes. The feed was *Paramecium* (one time for 2-3 days). As object for initial experiments we used problematic *A. americanus* f. *spinosa* from Kiev water-reservoir and from pond remote up to 400 km [some authors consider last as subspecies, as form or as synonym (Yeatman, 1959)] and *A. vernalis* from temporary pool in vicinity of Kiev.

We assigned evidence of infertility to four categories:

females produced one or two weakly developed egg sacs which contained 1-5 eggs per sac. This reduced clutch size contrasts with the typical size of 50-100 eggs per clutch in the parental (control) lines. Eggs were nonviable and after 10-12 days they were covered by fungi. This was the most common evidence of sterility, empty egg membranes, absence of egg membranes or egg sacs, and incomplete copulation or absence of copulation.

All these evidence of infertility (or sterility) in different numbers were obtained in experimental specimen. In all cases obtained biological results were analogous. The geography of the investigated water-bodies (for both cyclops- species) was enlarged to two different water-bodies in Kiev region, many water-bodies in Crimea, river Dniester, Danube delta and lower Dnieper (Kakhovka water-reservoir). There were some differences in process of reciprocal copulating: large males *A. americanus spinosus* (M=969 μ , n=20) more successfully refrained on small *A. vernalis* females (M=1019 μ , n=26), instead of more weak males *A. vernalis* (M=816 μ , n=21) cannot keep on strong females *A. americanus spinosus* (M=1356 μ , n=23).

This investigation was led under financial support of NAS Ukraine bilateral RFBR-Ukraine grant N 10-04-90420

М. Миракле (Университет Валенсии, Испания), **В. И. Монченко** (Институт зоологии, НЦЭБМ НАН Украины, Киев), **В. Р. Алексеев** (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург), **Л.П. Гапонова** (НЦЭБМ НАН Украины, Киев)

КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ У *ACANTHOCYCLOPS VERNALIS* (COPEPODA:CYCLOPOIDA): ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СКРЕЩИВАНИЮ

Известно, что во многих случаях одни и те же виды циклопов согласно одному автору играют положительную роль как промежуточные хозяева некоторых гельминтов, а другие авторы считают, что они в этом отношении стерильны. Этих данных нами собрано около 20 (Monchenko, 2003). Во всех этих случаях, мы считаем, речь идет о видах-двойниках. Наиболее существенными критериями для различия видов-двойников считается отсутствие скрещиваемости и различия в кариологии (Price, 1958; Mayr, 1963; Monchenko, 2000, etc.). Наличие (или отсутствие) репродуктивной изоляции наиболее эффективно демонстрируется проведением экспериментальных скрещиваний.

Для наших экспериментов мы использовали малые чашки Петри или предметные стекла с углублением для формирования маленьких резервуаров воды для 1-2 циклопов. Кормили *Paramecium* (один раз в 2-3 дня). Как объект для первоначальных экспериментов использовался проблематичный *A. americanus spinosus* из Киевского водохранилища и из пруда в 400 км [некоторые авторы считают последний как подвид, как

форму или как синоним (Yeatman, 1959)] и *A. vernalis* из временного водоема в окрестностях г. Киева.

Как свидетельства стерильности спариваний мы использовали четыре критерия:

1. самка продуцирует одно или два слабо развитых яйцевых мешка, которые содержат 1-5 яйца в каждом мешке. Этот редуцированный объем кладки контрастирует с типичным количеством – 50-100 яиц в кладке контрольной линии. Яйца были нежизнеспособные и через 10-12 дней покрывались гифами грибов. Эти отношения рассматриваются как наиболее распространенные доказательства стерильности,
2. пустые яйцевые мембраны,
3. отсутствие яйцевых мембран или яйцевых мешков,
4. дефектная копуляция или отсутствие копуляции.

Все эти доказательства неплодовитости (или стерильности) в разном соотношении были представлены у экспериментальных пар циклопов. Во всех случаях полученный биологический результат был аналогичным. География исследованных водоемов (для обоих видов циклопид) распространялась на два различных региона Киева, многие водоемы в Крыму, реку Днестр, дельту Дуная и нижний Днепр (Каховское водохранилище). Наблюдались некоторые отличия в процессе реципрокных скрещиваний: большие самцы *A. americanus spinosus* (M=969 мкм, n=20) более успешно удерживались на небольших самках *A. vernalis* (M=1019 мкм, n=26), в то время как более слабые самцы *A. vernalis* (M=816 мкм, n=21) не могли удержаться на крупных самках *A. americanus spinosus* (M=1356 мкм, n=23).

Эти исследования проведены при финансовой поддержке НАН Украины и российско-украинским грантом N 10-04-90420.

В. И. Монченко (Институт зоологии, НЦЕБМ НАН Украины, Киев), **Л.П. Гапонова** (НЦЕБМ НАН Украины, Киев), **Л. В. Самчишина** (НЦЕБМ НАН Украины, Киев)

КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ В ГРУППЕ *EUCYCLOPS SERRULATUS* (COPEPODA: CYCLOPOIDA): ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО СКРЕЩИВАНИЮ

Для реципрокных скрещиваний были взяты особи *Eucyclops serrulatus* из бассейнов Балтийского (пруд Санкт-Петербург, Россия) и Черного морей (водоемы бассейнов Днепра и Днестра).

Реципрокные скрещивания между географически удаленными популяциями *Eucyclops serrulatus*, которые принадлежат к одному речному бассейну, оказались такими же успешными, как и между особями одной и той же популяции. Мы проводили такие исследования для популяций бассейна Днепра и бассейна Днестра.

Попытки скрещиваний особей из популяций бассейна Днепра с таковыми из популяций бассейна Днестра дали негативные результаты. Спаривание происходило у 20% пар из 15 исследованных нами. В этом случае у самок формировались 1) один или два слабо развитых яйцевых мешка, содержащих 1-4 яйца, однако они были нежизнеспособными; 2) гомогенная яйцевая масса; 3) пустые яйцевые мембраны.

Eucyclops serrulatus и морфологически близким ему видом – *Eucyclops macruroides* не скрещиваются, что отмечено в предыдущих работах (Монченко, 2003). Такие исследования проведены для популяций бассейна Днепра и бассейна Днестра.

Реципрокные скрещивания между географически удаленными популяциями, а именно из Балтийского и Черного морей, оказались такими же успешными, как и между особями одной и той же популяции.

Эти исследования проведены при финансовой поддержке НАН Украины.

V.I.Monchenko (Institute of zoology, MEBRC NAS Ukraine, Kiev), **L.P. Gaponova** (MEBRC NAS Ukraine, Kiev), **L.V. Samchyshyna** (MEBRC NAS Ukraine, Kiev)

CRYPTIC SPECIES IN *EUCYCLOPS SERRULATUS* (COPEPODA:CYCLOPOIDA): RESULTS OF CROSSBREEDING EXPERIMENTS.

The specimens of *Eucyclops serrulatus* from of Baltic Sea basin (pond in the village Ropsha, St. Petersburg, Russia) and Black Sea basin (water-reservoirs of Dnieper and Dniester basins) were taken for crossbreeding experiments.

The reciprocal crossings between geographic remote populations of *Eucyclops serrulatus* which belonging to the same basin were as well successful as the reciprocal crossing between individuals the same population. Such investigations were carried out for populations from Dnieper basin and Dniester basin.

Individuals of *Eucyclops serrulatus* from Dnieper basin and Dniester basin were crossed. These crosses were unsuccessful. Copulations were observed in 20% pairs from 15 investigated pairs. In this cases females produced: 1) one or two weakly developed egg sacs which contained 1-4 eggs per sacs. Eggs were nonviable; or 2) homogenous egg mass or 3) empty egg membranes.

The reciprocal crossings between *Eucyclops serrulatus* and morphological close to species – *Eucyclops macruroides* demonstrated sterility that was recorded in previous publications (Monchenko, 2003). Such investigations were carried out for populations from Dnieper basin and Dniester basin.

The reciprocal crossing between geographic remote populations of *Eucyclops macruroides* such as populations from Baltic Sea basin and Black Sea basin were as well successful as the reciprocal crossing between individuals of the same population.

This investigation was led under financial support of NAS Ukraine.

Nikolai S Mugue

(Institute of Developmental Biology RAS, Institute of Fishery and Oceanography)

SPECIES FLOCK – FROM SIMULATION MODEL TO MODEL ORGANISM

Cryptic species and Species flocks are very different at the first glance. For the cryptic species the similar, barely distinguishable morphology accompanied by well established genetic differentiation. On the other hand, all forms consisting a flock of species are remarkably different, but genetic differentiation is often obscure. However, co-existence of both, cryptic species and species flock members are relied on ecological niche partitioning and assortative mating.

Recently attention was drawn to the repeated species flocks, when similar forms could arise independently in different basins. Large Africans barbs *Labeobarbus* spp. in Ethiopia and *Eubosmina* species group in Europe are examples of repeated flocks. Multiple limnetic – anadromous form pairs of threespined stickleback *Gasterosteus aculeatus* also illustrate multiple origin of similar forms in lakes, which are independently connected with sea basin.

We will present our data on stickleback races formation in the young freshwater lakes recently separated from estuary on the Kandalaksha bay of the White Sea. Also results of individual-based computer simulation will be presented to elucidate the genetic processes which accompanied the race formation. Disruptive selection alone is not capable to produce distinctive forms under realistic parameters, however the presence of low frequency recessive alleles for assortative mating loci may tremendously facilitate the distinctive races under the very mild coefficient of selection. Race formation is accelerated when adaptive for new environment alleles and alleles of assortative mating are recruited from low frequency standing variation.

Continuous uplift of seacoast on the west part of the White Sea produced number of freshwater lakes, partially isolated from sea and inhabited by threespined sticklebacks. We have studied variation in mitochondrial DNA (D-loop region), adaptive locus *Eda1* and seven presumably neutral microsatellite loci in stickleback populations in the lakes with different age and history. Four stages of freshwater race formation were revealed. At the beginning, recently separated lake is used by marine population as a spawning ground (anadromous stage). Then, resident form became common and admixes with anadromous fish during spawning. Frequency of “freshwater” *Eda1* allele (low armored fish) raises as a result of positive selection in freshwater environment, and deviation from Hardy-Weinberg equilibrium can be observed as a deficiency of *Eda1* heterozygotes. On the third stage the reproductive isolation became fixed as a result of co-segregation of new assortative mating allele within small subset of resident fish. At this stage mtDNA haplotypes diversity within resident fish became very low (only one or two haplotypes) due to founder effect and

Frequency of *Eda1* heterozygotes drops significantly as a Wahlund effect. The last stage of this succession is separation of lakes from the sea by swamps and rapids, preventing anadromous form from entering the lakes. At the final stage only resident fish with fixed “freshwater” *Eda1* alleles are present. Observed different stages of freshwater race formation are concordant with computer simulation results.

Consequences and possible application of described model for understanding *Eubosmina* and other flocks will be discussed. Cryptic flocks, formed by recruiting of low frequency alleles present in standing variation (both adaptive loci and assortative mating system) could be erroneously interpreted as a good cryptic species.

Н. С. Мюге

Институт Биологии развития РАН / ВНИРО

«КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ» И «КРИПТИЧЕСКИЕ БУКЕТЫ ВИДОВ» – ОТ МОДЕЛИ К МОДЕЛЬНЫМ ВИДАМ

«Криптические виды» и «букеты видов» на первый взгляд являются противоположными по своей сути явлениями. В первом случае виды морфологически достаточно сходны, однако хорошо различаются генетически. С «букетами видов» (*species flock*) все обстоит ровно наоборот – виды морфологически заметны, но генетические различия часто трудноуловимы.

Однако сосуществование в условиях симпатрии как видов-двойников, так и «букетов видов» основано на разделении видами ресурсов и на ассортативном скрещивании, препятствующему полной гибридизации. В случае аллопатрического нахождения морфологически схожих форм, существенные генетические различия между одной морфой из разных местообитаний может привести к ошибочной интерпретации этих форм как пары криптических видов. Известны повторяющиеся букеты видов, независимо образующих в разных водоемах набор сходных морфотипов, но образующиеся независимо из одного широко распространенного вида. В качестве примеров таких повторяющихся «флоков» можно привести гексаплоидных барбусов Эфиопии, виды рода *Eubosmina*, а также ряд других «букетов». К такому же повторяющемуся комплексу видов можно отнести и хорошо известные пары *benthic-limnetic* и анадромная-жилая формы трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus*.

Нами будут представлены результаты исследования формообразования у трехиглой колюшки в молодых пресноводных водоемах Кандалакшского залива Белого моря, а также результаты компьютерного моделирования видообразования для диплоидных организмов. Результат моделирования показывает, что дизруптивный отбор при отсутствии ассортативного скрещивания хотя и приводит к провалу гетерозигот, но при биологически осмысленных параметрах не приводит к формообразованию. Однако при

наличии рецессивного мутантного аллеля по локусу ассортативного скрещивания, формообразование протекает быстро с фиксацией у новой формы адаптивных аллелей по локусам приспособленности и репродуктивной изоляции. Рецессивный характер аллеля по ассортативному скрещиванию позволяет его длительное существование в качестве минорного аллеля в предковых популяциях, значительно ускоряя формирование новых пар форм.

Разновозрастные озерные популяции колюшки изучались с использованием митохондриального маркера (Д-петля), адаптивного локуса *Eda1*, а также 7 нейтральных микросателлитных локусов. Нами выявлены четыре стадии формирования пресноводной расы в водоемах. На первом этапе в недавно отшнуровавшемся от моря водоеме (в недавнем прошлом бывшем морском заливе) происходит распреснение воды, однако колюшка использует водоем только для нереста. На втором этапе формируется жилая форма, повышается частота «пресноводного» аллеля по локусу *Eda1* (снижение числа боковых костных щитков), гибридизация анадромной и жилой формы приводит к некоторому снижению гетерозигот по *Eda1* локусу по отношению к ожидаемому. На третьем этапе происходит формирование репродуктивной изоляции, что приводит к провалу гетерозигот по *Eda1* и резкому снижению гаплотипного разнообразия мтДНК на фоне присутствия высокополиморфной анадромной формы. Завершающим этапом сукцессии является формирование гомогенной жилой популяции, при блокировании доступа из моря в связи с заболачиванием протоков. Все этапы наблюдаемого формообразования у колюшки хорошо согласуются с результатами компьютерного моделирования.

В заключение будут представлены результаты возможного приложения этой модели к пониманию формообразования в роде *Eubosmina* и у других ветвистоусых раков. Криптические флоры, формируемые не в результате новых мутаций, а за счет комбинации имеющегося фонового полиморфизма (как по адаптивным, так и по локусам ассортативного скрещивания) могут ошибочно интерпретироваться как криптические виды.

N. Sukhikh 1, A. Souissi 2, S. Souissi 2 & V.R. Alekseev 1

1 Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, University emb. 1, St. Petersburg

199034, Russia, e-mail: valekseev@yahoo.com 2 Université Lille Nord de France F-59000 Lille,

France, USTL, LOG, Station Marine de Wimereux, F-62930 Wimereux, France, CNRS-UMR 8187, 28 av. Foch, F-62930 Wimereux, France.

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC STUDY ON SIBLING SPECIES IN *EURYTEMORA AFFINIS*-GROUP

The estuarine copepod, *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880) was suspected for a long time of being Holarctic species recorded in cold and temperate latitudes of North America, Europe, and Asia. In fact, recent molecular-genetic studies have demonstrated that *E. affinis* represents a cryptic species complex or subspecies morphologically close but isolated for million years. This species complex is widely distributed in coastal mainly brackish water environments, but also in limnetic freshwater ecosystems near the sea. In Asia, *E. affinis* is found in the Caspian Sea, in freshwater area in the Kurile Islands (Russia) and in Hokkaido (Japan). The North Atlantic clade of *E. affinis* from Chesapeake Bay was recently described as a new species *Eurytemora carolleeae* Alekseev & Souissi, 2011. The habitat of this new species is located in North America but also in the Baltic

Sea in Europe due to a recent human mediate invasion. To separate these two sibling species, new morphological characters of both male and female were established. They consist on the structure of mandible and some morphometric indexes of rudiment legs 5. In this study we analyzed morphological and molecular-genetic futures to specify two other populations of *E. affinis* from the Caspian Sea and the Bering Sea (The Far East of Russia) on the basis of their quite distant mitochondrial gene COI. The Caspian and Pacific clades were also outlined by Dr Carol Lee with molecular-genetic tools but never characterized as new forms morphologically. *E. affinis* from the Caspian Sea was traditionally evaluated as an element of the Arctic relict complex that colonized the freshwater part of the sea, about 10000 years ago after glacier melting. On the basis of a deep morphological study and phylogenetic analysis, we came to a conclusion that this clade of *E. affinis* has possibly more ancient origin related to the Thetis Sea

or to the period when American and Eurasian continental fauna were really connected. This form occupied, in many characters, an intermediate position between the European clad of *E. affinis* and *E. carolleeae* and is also close to the Asian clad from The Far East.

Acknowledgments: We are thankful to Dr. Carol Lee for generous sharing with us by some sequences of *Eurytemora*. This study was supported by Biodiversity grant, bilateral RFBR-Ukraine grant N 10-04-90420 Ukr_a and SEINE AVAL program.

I.Yu.Zajdykov, Major T.Yu., Kirilchik S. V, Sukhanova L. V, Naumova E.Yu.

(Limnological institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, Uhlan-Batorskaja, 3, Irkutsk 664033, Russia.)

THE PRELIMINARY RESULTS OF THE MORPHOLOGICAL AND GENETIC ANALYSIS OF THE POLYMORPHISM OF *EPISCHURA BAICALENSIS* (COPEPODA, CALANOIDA).

Epischura baicalensis is the relict endemic species found in Lake Baikal, in the Bratsk reservoir, and, presumably, in the Ust-Ilim Reservoir. The length of the areal and the possible isolation in the reservoirs suggests the presence of the population structure.

The parallel use of the morphological and molecular-genetic methods is very prospectively in the study of the intraspecific population subdivision.

The analysis of pores and other exoskeleton microstructures of arthropods can be informative for the systematic constructions of different levels (Alexeev, Naumova, 2005). The analysis of the location and number of such structures on the cephalon surface was conducted to identify the morphological heterogeneity of *E. baicalensis*. We used females from samples taken at central stations of North basin (29 individuals) and South basin (27 individuals) of Lake Baikal. The statistically significant differences between the two groups of animals were found. The degree variability of the quantity of the integumentary structures is different on the different cephalon parts. Maxillary and thoracic regions of the cephalon are most suitable for the analysis because the differences of weapons of those parts were significant for these samples at $p < 0,05$. In a preliminary analysis of several samples from the Bratsk reservoir and the south-baikalian samples were also found differences. The differences may indicate the population intraspecific subdivision of *Epischura* within Lake Baikal and beyond.

Fragment of mitochondrial CO1 gene has been tested as a genetic marker. Nine specimens from Southern Baikal were analyzed. Total DNA for molecular analysis was extracted from the egg sacs of individual copepods (live or ethanol preserved). Universal PCR primers LCOI 1490 и HCOI 2158 (Folmer, 1994) were used to amplify and sequence a 652 bp fragment of the gene. Dream-taq polymerase (Fermentas) was used for amplification. In analyzed 620 bp fragment 19 polymorphic sites were identified. Substitutions were at the third position of codon and silent. Transition / transversions ratio was 6.5. The index of nucleotide diversity was 0.02.

Additional primers were designed to amplify mtDNA CO1 of *epischura* (L-TTGGA ACTCTTTATTTACTTGCTG and R-CAAATAAATGTTGGTATAAAATAG). Stable product was amplified using small amount of total DNA (for example, extracted from fragments of ethanol preserved individuals stored for a long time). The designed primers are nested to the universal LCOI 1490 and 2158 HCOI (Folmer, 1994).

The preliminary results indicate that the selected markers are suitable for studies of the intraspecific polymorphism of *Epischura baicalensis*.

This work was partly supported by the Integration project of SB RAS № 37 and by bilateral RFBR-Ukraine grant N 10-04-90420

**И. Ю. Зайдыков, Майор Т.Ю., Кирильчик С. В. , Суханова Л. В.,
Наумова Е.Ю.**

(Лимнологический институт ЛИН СО РАН, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск
664033, Россия.)

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА
МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА
EPISCHURA BAICALENSIS (COPEPODA, CALANOIDA)

Epischura baicalensis – эндемичный реликтовый вид, обитающий в озере Байкал, в Братском водохранилище, и, предположительно, в Усть-Илимском водохранилище. Протяженность ареала и возможная изолированность в водохранилищах позволяет предположить наличие популяционной структуры.

В исследованиях внутривидовой подразделенности перспективно параллельное использование морфологических и молекулярно-генетических и методов.

В систематических построениях различного уровня информативен анализ расположения пор и других микроструктур экзоскелета артропод (Алексеев, Наумова, 2005). Для выявления морфологической неоднородности байкальской эпишуры проведен анализ расположения и количества таких структур на поверхности цефалона. Использовались самки из проб, отобранных на центральных станциях Северной (29 особей) и Южной (27 особей) котловин озера Байкал. Выявлены статистически достоверные различия между исследованными выборками. При этом изменчивость количества структур на разных участках цефалона отличалась. Для дальнейшего анализа наиболее пригоден район максиллярного и торакального участков цефалона, поскольку отличия вооружения этих частей были достоверны для данных выборок при $p < 0,05$. Также обнаружены отличия при предварительном сравнении нескольких образцов из Братского водохранилища с Байкальскими выборками. Выявленные различия могут свидетельствовать о существовании внутривидовой подразделенности байкальской эпишуры внутри озера и за его пределами.

В качестве популяционно-генетического маркера на девяти особях эпишуры (Южный Байкал) протестирован фрагмент гена первой субъединицы цитохром оксидазы (CO1) митохондриальной ДНК (мтДНК). Суммарную ДНК для молекулярного анализа выделяли из яйцевых мешков эпишуры. Выделение ДНК проводили как из живых, так и из фиксированных в 96% этаноле яйцевых мешков. Для амплификации гена CO1 мтДНК использовали универсальные праймеры LCOI 1490 и HCOI 2158 (Folmer, 1994). Фрагмент ДНК ожидаемого размера был получен при использовании полимеразы Dream-taq (Fermentas). Размер анализируемого фрагмента составил 620 пар нуклеотидов. Выявлено 19 позиций с нуклеотидными заменами. Все замены являются синонимичными и

расположены в 3-ей позиции кодона. Соотношение транзиций/трансверсий равно 6,5. Показатель нуклеотидного разнообразия равен 0,02. Выявленный полиморфизм свидетельствует о применимости данного маркера для популяционно-генетического анализа *E. baicalensis*. Подобраны дополнительные праймеры для амплификации фрагмента гена CO1 мтДНК байкальской эпишуры (L-ТТGGAACTCTTTATTTACTTGCTG и R-CAAAATAAATGTTGGTATAAAATAG), что позволило получать стабильный продукт амплификации с суммарной ДНК, выделенной из фрагментов тела единичных особей разного времени хранения. Поскольку подобранные праймеры являются внутренними по отношению к универсальным LCOI 1490 и HCOI 2158 (Folmer, 1994), при необходимости, возможно использование техники «гнездовой» ПЦР. Предварительные результаты показывают, что используемые маркеры пригодны для исследования внутривидового полиморфизма *Epischura baicalensis*.

Работа частично поддержана интеграционным проектом СО РАН № 37 и российско-украинским грантом 10-04-90420