

Genetic structure of an amphipod species *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) marituji* Bazikalova, 1945 in the Lake Baikal basin

Original Article

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Saranchina A.E.¹, Govorukhina E.B.¹, Romanov N.A.¹, Filippov A.V.²,
Timofeyev M.A.¹, Drozdova P.B.^{1,2,*}

¹ Irkutsk State University, Karl Marx st. 1, Irkutsk, 664003, Russia

² Baikal Research Centre, Rabochaya st. 5v, Irkutsk, 664011, Russia

ABSTRACT. Hundreds of Baikal amphipod species form a so-called species flock, and *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) marituji* Bazikalova, 1945 is one of the most widespread representatives of this group in the southern part of Lake Baikal. Despite this, nothing is known about the genetic structure of this species. In this study, we identified three genetic lineages of *E. marituji* based on the sequences of a mitochondrial gene cytochrome c oxidase subunit I (COI) and a nuclear gene 18S rRNA. We designated these lineages as the southern (S), western (W) and central (C) lineages. While the three lineages are geographically separated in Baikal, they are mixed in the Angara and Yenisey rivers. The age of the last common ancestor is estimated at 3.6 million years ago. We also observed first- and second-generation hybrids, which at the moment prevents us from considering these lineages as separate biological species. In addition, based on the literature and our observations, we hypothesise that the previous findings of a distinct species *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) viridis* (Dybowski, 1874) in the Yenisey River should be attributed to *E. marituji*.

Keywords: Angara, Yenisei, *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) viridis*, cytochrome c oxidase, phylogenetics

For citation: Saranchina A.E., Govorukhina E.B., Romanov N.A., Filippov A.V., Timofeyev M.A., Drozdova P.B. Genetic structure of an amphipod species *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) marituji* Bazikalova, 1945 in the Lake Baikal basin // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - P. 681-701. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-4-681

1. Introduction

The Baikal representatives of the Amphipoda order (Crustacea) are one of the prime examples of the "species flock". To date, more than 350 endemic species and subspecies have been described (Takhteev, 2019). As autochthonous dwellers of Lake Baikal (Sherbakov, 1999), which is estimated to be 25-70 million years (my) old (Mats et al., 2011), they have inhabited all existing ecological niches. Amphipods inhabit at all depths (0642 m) and have various feeding types (from algae to parasitism) and life forms (pelagic, benthic and symbiotic) (Takhteev, 2000). Numerous studies have estimated the genetic diversity of Baikal amphipods from different ecotopes of the lake (Yampolsky et al., 1994; Sherbakov et al., 1998; Gomanenko et al., 2005; Daneliya et al., 2011; Daneliya and Väinölä, 2014; Gurkov et al., 2019; Zaidykov et al., 2023). Littoral amphipods are an interesting group in this regard,

being easily accessible for capture and study. The intraspecific genetic distance for some species is often comparable to the interspecific distance for non-Baikal amphipods, suggesting cryptic diversity (Gurkov et al., 2019). At the same time, all Baikal amphipods reside within the *Gammarus* clade according to molecular data (Macdonald III et al., 2005).

We will use the same terms as in our previous works (Drozdova et al., 2022; Saranchina et al., 2024). A set of similar sequences of one gene, as determined by a species delimitation method will be referred to as a haplogroup. In this study, a genetic lineage will refer to a group of animals with separate haplogroups for each marker gene.

In our previous work on the genus *Eulimnogammarus* Bazikalova, 1945 it was found that the formerly single species *E. verrucosus* (Gerstfeldt, 1858) splits into three geographically separated lineages in Baikal (Gurkov et al., 2019). Subsequently,

*Corresponding author.

E-mail address: drozdovapb@gmail.com (P.B. Drozdova)

Received: July 18, 2025; **Accepted:** August 08, 2025;

Available online: August 31, 2025

© Author(s) 2025. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



pre- and postzygotic barriers were checked and genome sizes were different for all three lineages (Drozdova et al., 2022). As no qualitative morphological distinctions were found, we assert that these lineages are cryptic species. Although the *E. vittatus* (Dybowsky, 1874) species also have separate lineages, the genetic distance between them is smaller than the distances between the *E. verrucosus* lines (Gurkov et al., 2019). A different pattern emerges for *E. cyaneus* (Dybowsky, 1874): it does not form clearly defined genetic lineages, and different geographical populations can interbreed freely (Drozdova et al., 2025). The littoral species *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) comprises four haplogroups by the cytochrome oxidase subunit I (COI) gene sequences, and the distance between one of these groups and the other is comparable to the distance between the *E. verrucosus* and *E. vittatus* lines (Gomanenko et al., 2005; Bukin et al., 2018; Drozdova et al., 2024).

It should be noted that the distribution of the genetic lineages of all aforementioned species correlates with the spots where they were caught. In particular, it has been established that there are different lineages of the *E. verrucosus* and *E. vittatus* inhabiting the different banks of the Angara River, the single Baikal outflow (Gurkov et al., 2019). The minimum geographic distance between the river's source banks is only 1 km, which is a distance the animals could potentially cover. For *E. verrucosus* cryptic species are shown to blend at the Angara source but one of them dominates over the other one downstream. Distinctions in diets, breeding season, preferred temperature or other ecological features have not been identified, so the reasons for the replacement of one species by another are unknown. One more interesting fact is that the age of the last common ancestor reaches 4 my, whereas the age of the Angara is only 70–120 thousand years (Saranchina et al., 2024). A study of the genetic origin of the Baikal amphipod in the Angara River may shed light on the ongoing evolutionary processes in Baikal.

In this article, we focus on another *Eulimnogammarus* species, *Eulimnogammarus* (*Philolimnogammarus*) *marituji* Bazikalova, 1945 (Bazikalova, 1945). This littoral species is found at depths of 0-30 m (Kamaltynov, 2009), whose body length ranges from 16 to 25 mm, during the winter-summer breeding season. The species is widespread particularly in the southern part of the lake (Govorukhina, 2005) and is also one of the dominant species along the water course (based on our observations). Despite this, the *E. marituji* phylogeny remains unstudied. Currently, there is only one transcriptome for a single specimen available in the NCBI Genbank database, which was produced as part of a project on the phylogeny of all Baikal amphipods species (Naumenko et al., 2017).

2. Materials and methods

2.1. Sampling

A total number of 67 *E. marituji* individuals were caught and analysed. Amphipods were collected from 14 spots, six of which were located at the shore of

Lake Baikal, seven in the Angara River and one in the Yenisey River. The exact dates and coordinates for each animal are listed in Supplementary Table S1. The animals were caught with a hand net at depths of 0–0.5 m; most of the samples were photographed before fixation in ethanol. The amphipods were identified as *E. marituji* according to the morphological key (Bazikalova, 1945).

2.2. DNA extraction, PCR and markers genes sequencing

DNA was extracted from the pleopods and pereopods using an S-sorb commercial kit (Syntol). The tube containing the tissue and two steel beads was placed in a TissueLyser (Qiagen) and homogenised at a maximum speed for 1.5 min. Subsequent extraction was performed according to the manufacturer's instructions but the lysis step was one hour long instead of five minutes. The 5' regions of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene and nuclear 18S rRNA gene were used as marker fragments. To amplify the COI gene, 2x BioMaster HS-Taq (BioLabMix) and 2.5x real-time PCR reaction mix (Syntol) were used. 5x ScreenMix (Evrogen) and 2x BioMaster HS-Taq (BioLabMix) were used to amplify the 18S rRNA fragment. Eight primers for the COI polymerase chain reaction were as follows: LCO_Eve_F1 (TCTCTACTAATCATAAAGATATCGG), Eve_F5 (AGAGCTATCTCAGACTTTGAATC), COI_LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG), jgLCO1490 (TITCIACIAAYCAYAARGAYATTGG) and HCO_Eve_R1 (TAAACTTCTGGATGGCCAAAGAATCA), Eve_R5 (TGCCAGTAGGAAGTGCATA), COI_HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA), jgHCO2198 (TAIACYTCIGGRTGICCRARAAYCA). The 18S rRNA gene was amplified using the 18SF (CCTAYCTGGTTGATCCTGCCAGT) and 18S700R (CGCGGCTGCTGGCACCAGAC) primers. The LCO_Eve_F1/HCO_Eve_R1 and Eve_F5/Eve_R5 primers pairs were taken from our previous work (Saranchina et al., 2024). COI_LCO1490/COI_HCO2198 is a universal pair commonly used to amplify invertebrate COI fragments (Folmer et al., 1994). jgLCO1490/jgHCO2198 primers were constructed based on COI_LCO1490/COI_HCO2198 primers to broaden their taxonomic scope (Geller et al., 2013). 18SF/18S700R were designed for studies in amphipods (Englisch et al., 2003). Forwards and reverse primers were used in various combinations for each sample (see Supplementary Table S1). The PCR programme was as follows: 95°C 5 min, then 30 cycles with the steps of 95°C for 30 sec, 53°C for 1 min and 72°C for 1 min, with a final step of 72°C for 5 min out of the cycle.

PCR efficiency was tested using gel electrophoresis in a 1% agarose gel in 1x TAE buffer. The obtained PCR products were purified using Cleanup Standard or Cleanup Mini kits (Evrogen) for COI fragments and ColGen (Syntol) for the 18S rRNA gene. Sanger sequencing method was performed according to the standard protocol with a modified reagent volume (BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit, Life Technologies): A ready reaction mix was added at a volume of 1 µL and a buffer at a volume of 2 µL per reac-

tion. The same pairs of primers were used for sequencing both genes. Fragment separation and analysis were performed using a Nanophor 05 sequencer (Institute for Analytical Instrumentation RAS) (Alekseev et al., 2019; Bocharova et al., 2021).

2.3. DNA sequence analysis

The raw sequences were basecalled using Mutation Surveyor V5.1 (Minton et al., 2011) and saved in.ab1 format in the Chromas V2.6.6 (Technelysium) program. Alignment to the reference and calculation of the final consensus were performed using the UGENE V41.0 program (Okonechnikov et al., 2012). Reference sequences for the western species of *E. verrucosus* were obtained from the NCBI database: COI fragment NC_023104.1 (Rivarola-Duarte et al., 2014) and 18S fragment AY926773.1 (Macdonald III et al., 2005).

In addition to our own data, we also included the sequences from NCBI in the phylogenetic networks (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). The sequences of *E. cyaneus* MK887733.1 (Gurkov et al., 2019) and *E. viridis* AY926664.1 (Macdonald III et al., 2005) were used as outgroups for the COI network. One *E. marituji* COI sequence was retrieved from raw transcriptome sequence data (Naumenko et al., 2017). Based on this data, a de novo assembly was obtained (Drozdova et al., 2022), in which the COI sequence was searched using the exonerate utility (Harrison et al., 2024), with the sequence NC_023104 also being used as a query (Rivarola-Duarte et al., 2014). The authors indicate that the specimen was caught near the Bolshie Koty settlement. In the case of the 18S gene, the sequences from *E. cyaneus* FJ752393.1 and *E. viridis* AY926774.1 (Macdonald III et al., 2005) were used as outgroups. The COI network comprised 72 sequences, 69 of which are animals obtained during this study. One sequence was taken from transcriptome data (Naumenko et al., 2017), and two new sequences belong to the *E. viridis* species. Two more sequences serve as outgroups. The 18S rRNA network comprises 72 sequences, three of which belong to the *E. viridis* species, with no transcriptome data from (Naumenko et al., 2017) used. The *E. cyaneus* 18S rRNA sequence KX341964 was used as an outgroup (Romanova et al., 2016).

The sequences were aligned using the Kalign algorithm (Lassmann and Sonnhammer, 2005) and trimmed manually in the UGENE programme (Okonechnikov et al., 2012) to the shortest sequence. The COI alignment was 516 bp long, while the 18S rRNA alignment was 449 bp long. The resulting files were loaded into SplitsTree V4.18.1 (Huson, 1998) to construct networks. The presence of a barcoding gap was assessed with ASAP (Assemble Species by Automatic Partitioning) algorithm through the SpartExplorer web interface (<https://spartexplorer.mnhn.fr/>; Puillandre et al., 2021; Miralles et al., 2022). A calibrated phylogeny was produced using beast V2.7.3 (Bouckaert et al., 2014) with the optimized relaxed clock model. Calibration was performed based on the previously defined rate of 0.01773 substitutions per my for the COI gene in gammarid amphipods (Copilaş-Ciocianu et

al., 2019). The reliability of the obtained estimates was assessed using Tracer V1.7.2 (Rambaut et al., 2018).

The R programming environment V4.3.2 (R Core Team, 2024) in RStudio V2023.09.1 was used for data visualisation. The following packages were used for the maps, which were drawn using Stamen Design's data and distributed by Stadia Maps (<https://stadiamaps.com/stamen/>), and phylogenetic networks: ape V5.7 (Paradis and Schliep, 2019); dplyr V1.1.1 (Wickham et al., 2023a); ggmap V3.0.2 (Kahle and Wickham, 2013); ggplot2 V3.4.2 (Wickham and Sievert, 2016); ggtree V3.2.1 (Wang et al., 2020); openxlsx V4.2.5 (Schauberger and Walker, 2023); phangorn V2.10.0 (Shavit et al., 2007); reshape2 V1.4.4 (Wickham, 2007, p. 200); scales V1.2.1 (Wickham and Seidel, 2022); tangle V1.1.0 (Schliep et al., 2021); tidyr V1.3.0 (Wickham et al., 2023b); treeio V1.18.1 (Wang et al., 2020). The final compilation was performed using Inkscape V1.1.2 software (<https://inkscape.org/>).

All code and initial data are available at the GitHub repository (https://github.com/SaranchinaAlexandra/E.marituji_article_data). The sequences obtained during this work are available at the NCBI Genbank database; the accession numbers are PV804880–PV804946 (COI) and PV810004–PV810071 (18S rRNA).

3. Results

3.1. *E. marituji* genetic lineages

To estimate the genetic diversity of the *E. marituji* populations, we used two marker genes with different origins and substitution rates. The cytochrome c oxidase subunit one (COI) fragment is a commonly used marker gene for crustacean phylogenetics. However, this gene has its flaws: the mitochondrial genetic signal can diverge from that of the nuclear markers (Eberle et al., 2020). To avoid this, in addition to the COI fragment, we also sequenced a more conservative nuclear marker: the first fragment of the 18S rRNA gene. Analysis of the two marker genes in 67 animals from Lake Baikal and the Angara and Yenisey Rivers showed that the *E. marituji* species diverged into three groups according to the COI gene sequences (Fig. 1A). This delimitation was confirmed using the ASAP method, which returned three partitions as the best scheme. Two specimens appeared to be hybrids based on the 18S rRNA gene; these are labelled as haplogroup (H) (Fig. 1B).

We labelled the resulting lineages according to their distribution in Baikal since in the rivers they occurred together (see below). The central lineage (C) included the animals sampled at the central Baikal basin shore and the Angara River. Specimens from the western Baikal shore and the Yenisey River constituted the western lineage (W). The southern lineage (S) included amphipods from the southern Baikal shore (the Angara source served as a barrier between the southern (S) and western (W) animals), and from the Angara and Yenisey rivers.

Two specimens (AmspA11 and GRA3, see Supplementary Table S1) turned out to be 18S rRNA hybrids. At the split network they are labelled as

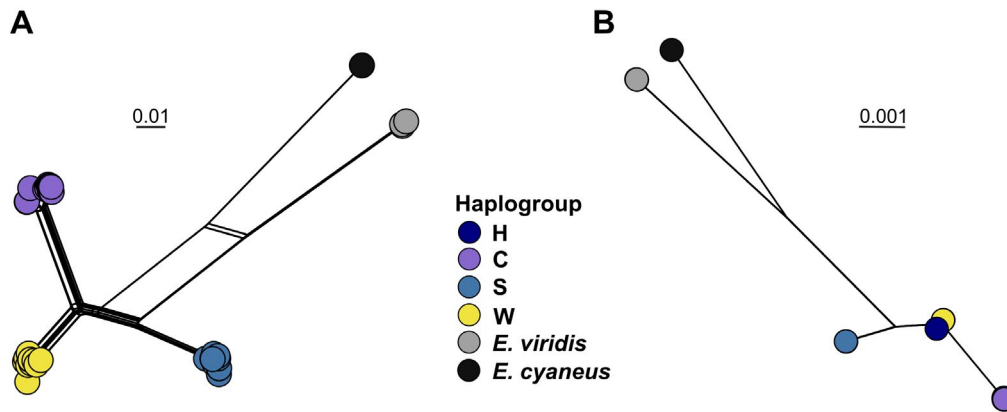


Fig.1. Split phylogenetic networks based on COI (A) and 18S rRNA (B) fragments. The *E. cyaneus* and *E. viridis* sequences serve as outgroups. The hybrid haplogroup (H), which is present only on the 18S network, is labelled with a dark-blue circle.

(H) (Fig. 1B). At position 488 (when aligning to the *Drosophila melanogaster* COI LC025528.1), guanine occurred only in the W haplogroup, while adenine was found in the other two groups. At position 510, cytosine characterised the S haplogroup, while thymine occurred in the W and C haplogroups (Fig. 2C). According to the COI sequence, AmspA11 belonged to the S haplogroup, meaning that AmspA11 was a first-generation hybrid of S and W lineages (Fig. 2A). In the case of GRA3, the COI sequence belonged to the C haplogroup (Fig. 2B). Inheritance of traits of all three lineages indirectly suggests the fertility of first-generation hybrids and free crossbreeding of all genetic lineages. Based on these data, we can also hypothesise the presence of the C lineage in the Angara River.

Three animals were caught at the Olkhon gate spot and determined as *E. marituji* based on the morphological characters. However, according to both marker gene sequences they belonged to the *E. viridis* species. At the networks, they clustered with the outgroups (Fig. 1).

3.2. Geographical distribution of *E. marituji* genetic lineages

In this study, we analysed the animals from 14 sampling spots from Lake Baikal, as well as the Angara and Yenisey rivers (Fig. 3C).

In the lake, the sampling was performed in six spots, namely Port Baikal, Listvyanka village, Bolshie Koty village (Fig. 3E), near the Sarma River estuary, Cape Uyuga (Fig. 3B), and the Olkhon gate channel (this spot is not shown on the map, because the animals from this spot turned out to be *E. viridis*). According to the data obtained, Baikal is inhabited by all three genetic lineages of *E. marituji*. The central (C) haplogroup was found in the central basin at the following spots: near the Sarma river estuary (one animal) and near the Uyuga cape (six samples) (Fig. 3B). The W representatives were found in Listvyanka and Bolshie Koty villages (14 and 3 individuals, respectively). At the Angara source on the opposite shore, the Port Baikal spot was inhabited by S haplogroups of *E. marituji* (two amphipods) (Fig. 3E).

The animals were also sampled in seven spots along the Angara River, the only Baikal outflow. Two

of these were in the Irkutsk reservoir: the Bolshaya rechka and Korolok Bay areas were inhabited by the C haplogroup (four animals per spot) (Fig. 3E). In Angara in Irkutsk, five spots were analysed: Verhnyaya naberezhnaya (one sample), between the Glazkovskij and Akademicheskij bridges on the left bank (four samples), near the Glazkovskij bridge on the left bank (four samples), near the Glazkovskij bridge on the right bank (five animals), and Yakobi (six animals). *E. marituji* in these locations belonged to C and S lineages. At the Verhnyaya naberezhnaya and Yakobi spots, we caught C representatives, and at the spot near the Glazkovskij bridge on the left bank all four were S. On the right bank near the Glazkovskij bridge, we caught four S animals and one C animal. Three S lineage representatives and one C lineage representative were found at the spot between the bridges on the left bank (Fig. 3D). The detected hybrids were sampled at

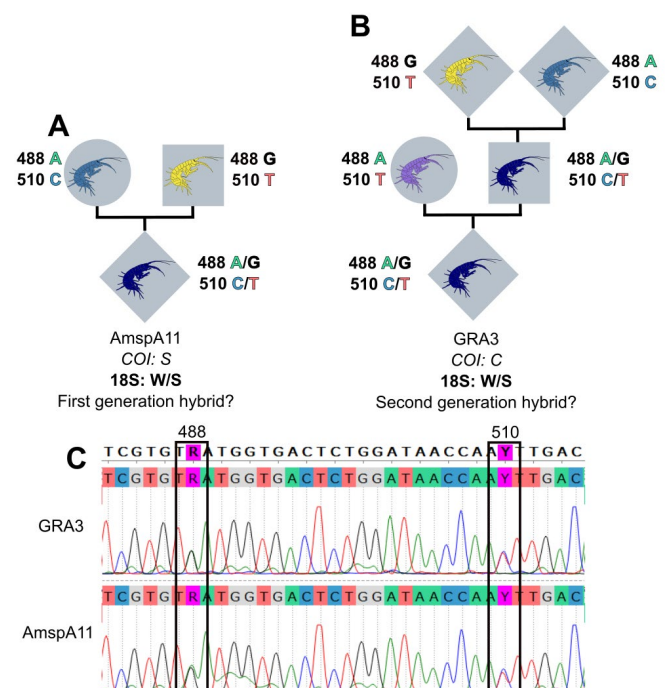


Fig.2. Possible origin of hybrid specimens of *E. marituji*. A, hypothetical origin of the AmspA11 specimen. B, hypothetical origin of the GRA3 specimen. C, part of the 18S rRNA gene sequencing chromatogram showing heterozygous substitutions (designated as degenerate nucleotides R and Y).

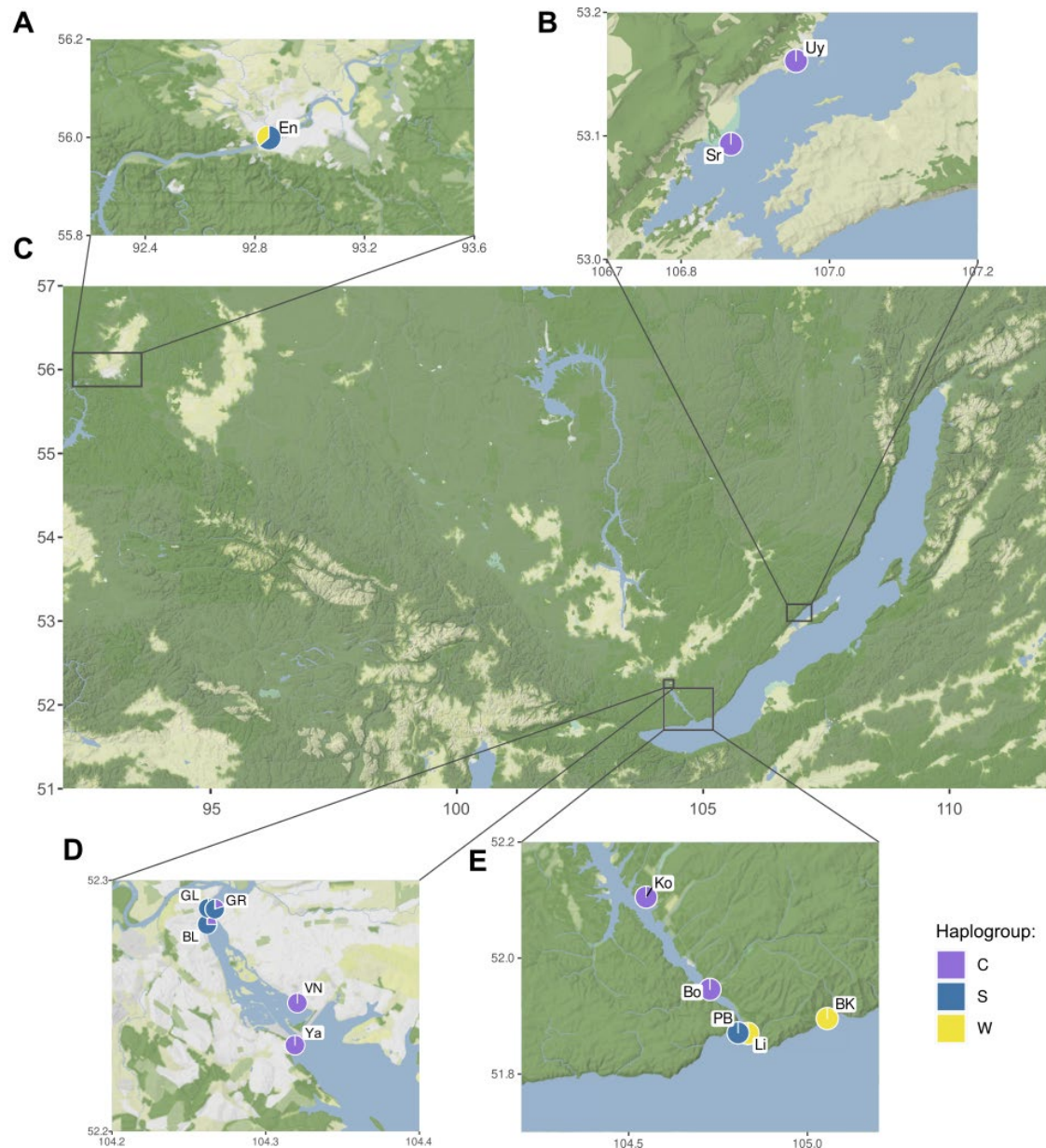


Fig.3. Geographical distribution of *E. marituji* based on COI haplogroups. A, sampling spot in the Yenisey River. En, Yenisey River in Krasnoyarsk. B, spots in Lake Baikal (central basin). Sr, near the Sarma River estuary; Uy, near Cape Uyuga. C, general geographical area of sampling. D, sampling spots in the Angara river within the territory of the Irkutsk city. GL, near to the Glazkovskij bridge on the left bank; GR, near to the Glazkovskij bridge on the right bank; BL, between the Glazkovskij and Akademicheskij bridges on the left bank; VN, Verhnyaya naberezhnaya; Ya, Yakobi beach. E, spots in the southern Baikal basin and Irkutsk reservoir. See Supplementary Table S1 for exact coordinates and sample sizes.

the Glazkovskij bridge on the left bank and at the spot between the bridges on the left bank. On the map they are marked according to their COI gene haplogroup (C and S, respectively).

Eleven animals were analysed from a single catching spot near the Posadnyi island in the Yenisey River, into which the Angara River flows. According to the results, seven of the animals belonged to the S haplogroup and four animals were W representatives (Fig. 3A).

3.3. The age of *E. marituji* genetic lineages

As the time frame in which a species may have emerged is important for understanding its evolution, we estimated the age of the last common ancestor for all genetic lineages. The evolutionary history of all

three lineages relative to the *E. cyaneus* outgroup was calculated using Bayesian phylogeny and molecular clock calibration. The length of the analyzed COI fragment equalled 707 bp. The W and S lineages were the closest and diverged 2.6 my ago (95% highest posterior probability interval (95% HPD 1.4–4.7 my)). The first lineage to separate was C; the split occurred 3.6 my ago (95% HPD 2.1–5.5 my) (Fig. 4).

4. Discussion

4.1. Separation within the *E. marituji* species

The study demonstrates that the *E. marituji* species comprises at least three genetic lineages, as determined by COI and 18S rRNA marker genes. The western (W) and southern (S) lineages appear to be the clos-

est, having diverged around 2.6 my ago (Fig. 4). The third lineage, the central (C) lineage is a sister lineage to the first two and separated from them by around 1 my. We also detected two hybrids: the first generation W/S hybrid and the second generation W/S/C animal (Fig. 2).

The obtained data raise the question of whether the discovered genetic lineages constitute distinct species. This is quite a complex issue, which can be tackled with different approaches. The first approach is based on an exclusively morphological method of species delimitation. In the case of Baikal amphipods, this point of view was actively promoted by Prof. Vadim V. Takhteev (Takhteev, 2000). For a long period in the history of science, this was the only available approach, but the development of the universal and relatively inexpensive sequencing methods is rendering this paradigm obsolete. The second species delimitation method is based on comparing the indicators from different bioinformatic algorithms comparing the genetic distances. However, a key issue with this approach is that there are multiple algorithms, which often yield conflicting results. Despite this, they answer one specific question, in the end the final result will strongly depend on the input data and methods chosen (Miralles et al., 2024). The third method is directly related to the biological species concept, specifically the criterion of the ability to freely cross and generate fertile offspring (Bickford et al., 2007). The main problem with this method is the inability to check reproductive barriers for the vast majority of animal species. This species delimitation approach forms part of integrative taxonomy, which considers genetic and reproductive barriers (Hupalo et al., 2023). Fortunately for researchers studying Baikal amphipods, this method is available for at least for some of the species. In our works, we have examined pre- and postzygotic barriers in the *E. verrucosus* and *E. cyaneus* lineages. The obtained data show a positive correlation between the degree of genetic separation and reproductive barriers (Drozdova et al., 2022; 2025). However, the best choice seems to be combining genetic data, reproductive analysis, and morphology. Knowledge of all these features would provide a complete picture of the evolution of a species group.

With regard to *E. marituji*, the obtained data are merely the first step in answering the question of species delimitation. The COI-based genetic distances between *E. marituji* haplogroups are smaller than that of *E. verrucosus*, which clearly has post- and prezygotic barriers. At the same time, however, the genetic distance within *E. marituji* is larger than within the *E. cyaneus* species which have no barriers (Drozdova et al., 2025).

The discovery of hybrids implies the possibility of crossing between all three lineages and the fertility of the first generation hybrids, which hints at a presence of a single biological species. However, cross-breeding experiments must be conducted under controlled laboratory conditions to check this hypothesis. Unfortunately, it is currently impossible to create a laboratory culture of Baikal endemic amphipods and test the fertility of the first generation. However, it makes sense to conduct the experiments on pre- and

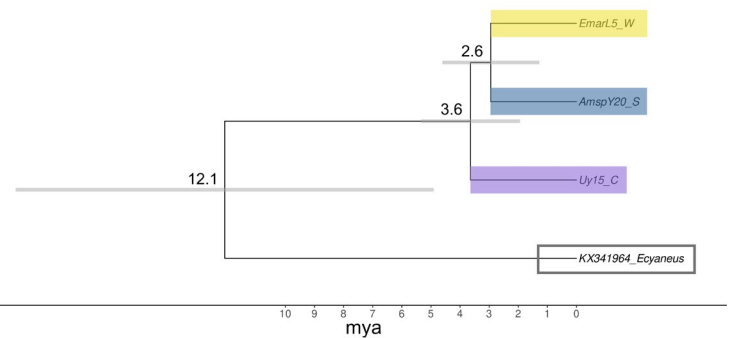


Fig.4. Calibrated Bayesian phylogeny of the *E. marituji* genetic lineages based on the COI fragments. The *E. cyaneus* sequence serves as an outgroup. Numbers at nodes indicate the predicted age of the last common ancestor of the two haplogroups in millions of years. The grey lines correspond to the 95% highest posterior density interval.

postzygotic barriers using the previously established design (Drozdova et al., 2022; 2025).

The data on the reproduction of *E. marituji* in nature is quite controversial. Earlier works mention a winter–spring breeding season (Bazikalova, 1945; Gavrilov, 1949; Bekman and Den'gina, 1969). However, a newer investigation obtained through two years of monitoring the Angara source, suggests that *E. marituji* has a winter–summer breeding period and possibly delays reproduction in the autumn (Govorukhina, 2005). Our data confirm this view (Fig. 5). Females with developed eggs of all genetic lineages were captured from mid-June until the end of July, and ovigerous W female was also noted in the beginning of April. Among the photographs, we found a female at stage IV of maturity, *i.e.* with highly developed juveniles in the marsupium (Bazikalova, 1941) in a precopula (amplexus) (Fig. 5B). This behaviour is characteristic of small relatively thermophilic amphipods in Baikal and beyond (Asochakov and Popova, 2020; Drozdova et al., 2025; Geisler, 1944). The suggested mechanism is that warmer conditions allow for a shorter incubation time and, consequently, an increased number of reproductive cycles per year. According to the obtained data, *E. marituji* can be classified as a species with several breeding cycles per year.

4.2. The geographical distribution of *E. marituji* genetic lineages

The geographical distribution of *E. marituji* lineages in Lake Baikal has parallels to the distribution of other Baikal species. In particular, the separation by the Angara source is also characteristic for *E. verrucosus* and *E. vittatus* (Gurkov et al., 2019). A separate haplogroup inhabiting the western bank of the central basin was discovered for another Baikal amphipod species, *G. fasciatus* (south-western population according to the authors) (Bukin et al., 2018). The small number of sampling points did not allow us to correlate the geological events that had occurred in the lake with the evolutionary history of the species in a manner similar to that

of the aforementioned studies. However, we can draw some conclusions about the distribution of *E. marituji* in the Angara and Yenisey rivers. In the Angara River S, and W representatives are more common (Fig. 3D, E). The presence of W haplogroup hybrids and W animals in the Yenisey River indicates their existence in the Angara River. We can assume that the W and S representatives enter the river with the stream since they both inhabit the Angara source (Fig. 3E). Explaining the presence of C in the river is more difficult based on our results. It is most likely that the *E. marituji* C lineage spreads southwards along the western Baikal shore, but such animals were absent from the samples taken in the Listvyanka and Bolshie Koty villages due to small sample size (17 individuals in total) were simply not present. Further studies with greater geographic coverage and a larger sample size are needed to address this issue.

4.3. The history of studying *E. marituji* and *E. viridis* species

During this study, three amphipod specimens were collected in the Olkhon Gate strait and identified as *E. marituji* using the morphological key (Supplementary Table S1). However, further sequencing revealed that they were close to the individuals of *Eulimnogammarus viridis* (Dybowsky, 1874) analyzed by other authors (Macdonald III et al., 2005) (Fig. 1, 5G). The morphology of these two species is very similar; in the only existing morphological key, they are distinguished by only one qualitative and two quantitative features (Bazikalova, 1945) (Supplementary Table S2). As with *E. marituji*, the type location of *E. viridis* is southern Baikal (Bazikalova, 1945; Kamaltynov, 2009). Both species are abundant at the source of the Angara and have similar ecological features (body length of 25–26 mm (Bazikalova, 1945; Govorukhina, 2005), habitat depth of 0–30 m, and a preference for pebble floor (Kamaltynov, 2009)). They also have similar body colouration (Fig. 5).

Yet the main source of confusion is the information about the distribution of these species in the Angara River. Earlier works has noted that *E. viridis* is a common species in various parts of the Angara (Bazikalova, 1957; Dorogostaysky, 1917; Golyshkina, 1969; Kamaltynov, 2009; Kozhov, 1931) and even Yenisey rivers (Greze, 1957). However, according to more recent sources and our own observations, this species has not been recorded in Angara (Takhteev, 2009; Mekhanikova, 2016). At the same time, the species *E. marituji* was widespread in our samples from the Angara and Yenisey rivers, a pattern that was not observed in the earlier studies. Furthermore, the first description of *E. marituji* was made 70 years after the first description of *E. viridis* (Bazikalova, 1945). Such contradictions can be explained by several possible scenarios. *E. viridis* may have predominated over *E. marituji* but the ratio may have reversed over time. This could be related to an increase in anthropogenic impact, such as the construction of dams and the subsequent formation of reservoirs (since the 1950s to the present day). Another possible reason is their morphological similarity. The initial description of *E. viridis* is rather minimalistic by modern standards (Dybowsky, 1874), and this may have been the reason for the confusion. An additional obstacle could be that the morphological features of amphipods inhabiting the Angara River tend to differ from those of lake amphipods (Bazikalova, 1957). The external appearance of the animal (all morphological traits, including those not significant for the species identification) could also change drastically, which is also the case for *E. marituji* (Fig. 5).

It is noteworthy that recent publications mention the presence of *E. viridis* in the Yenisey River (in the publication it is referred by the name of the subgenus *Philolimnogammarus viridis*, rather than *Eulimnogammarus viridis*) (Zuyev et al., 2011; Andrianova et al., 2018; Kravchuk et al., 2021). The *E. marituji* species had never been seen in the Yenisey before it was described in this paper. However, all 11 animals analyzed from the river belonged to *E. marituji*. So, there is a chance

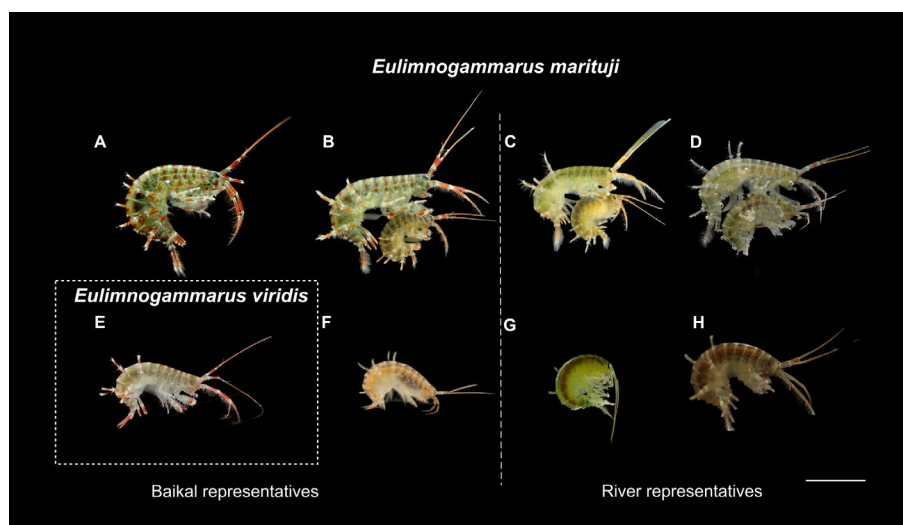


Fig.5. *E. marituji* from different locations. A, a specimen sampled nearby the Listvyanka settlement (W); B, a precopula sampled nearby the Listvyanka settlement; C, a precopula from the Angara River in the Irkutsk city (S); D, a precopula from the Irkutsk reservoir (C); E, an *E. viridis* individual from the Olkhon gate; F, an individual from Baikal caught in the Cape Uyuga area (C); G, an animal from the Angara River in the Irkutsk city (C); H, an amphipod sampled in the Yenisey River (S). Scale bar is equal to 1 cm.

that the animals initially identified as *E. (P.) viridis* are *E. marituji*. As we noted earlier, the morphological differences between the two species are very subtle, and the conditions in the river can alter some of these diagnostic traits. In the further studies of the Baikal amphipod fauna, we would recommend combining morphological expertise with genotyping of specimens.

5. Conclusions

This study established the genetic structure of the Baikal littoral species *Eulimnogammarus marituji* in Lake Baikal and in the Angara and Yenisey rivers. Based on cytochrome c oxidase (COI) and 18S rRNA marker gene sequences, this species contains at least three genetic lineages: central (C), western (W) and southern (S). According to the obtained data, all three lineages can coexist in the rivers, but in the lake they are geographically separated. The estimated time of the last common ancestor's existence of all lineages was about 3.6 my ago. First- and second-generation hybrids between different lineages were recorded in the Angara River, which is indirect evidence against considering the genetic lineages within *E. marituji* separate biological species. Based on our data and the literature we suggest that the amphipods abundant in the Yenisei River, determined as *E. (P.) viridis*, may belong to *E. marituji*.

Acknowledgements

The authors are grateful to to the team of the Institute of Biology at Irkutsk State University for assistance in sampling and helpful discussions. The study was supported by the Russian Science Foundation, project number 22-14-00128-P, <https://rscf.ru/project/22-14-00128/>

Conflict of interest

The authors declare no competing financial or personal interests.

References

- Alekseev Ya.I., Belov D.A., Belov Yu.V. 2019. Multichannel capillary genetic analyzer. Patent RU 2707949 C1. (in Russian)
- Andrianova A.V., Yakubaylik O.E., Shan'ko Y.V. 2018. Modern data on the spatial distribution of the Baikal amphipods in the Yenisei River and their visualization in the geoinformational web system. Russian Journal of Biological Invasions 9: 299–312. DOI: [10.1134/S2075111718040021](https://doi.org/10.1134/S2075111718040021)
- Asochakov A.A., Popova V.I. 2020. A brief overview of the behavioral strategies of newborn amphipods (Crustacea; Amphipoda) during the intramarisupial stage of the life cycle. Modern Science 6–2: 14–17. (in Russian)
- Bekman M.Yu., Den'gina R.S. 1969. Benthic population and food resources of Baikal fish. In: Biologicheskaya produktivnost' vodoemov Sibiri [Biological productivity of water bodies in Siberia]: 42–47. (in Russian)
- Bazikalova A.Ya. 1941. Materials on the study of reproduction of Baikal amphipods. Izvestiya Akademii Nauk SSSR. Seriya biologicheskaya [Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR: Biology Series] 3: 407–426. (in Russian)
- Bazikalova A.Ya. 1945. Amphipods of Lake Baikal. Trudy Baikalskoi limnologicheskoi stantsii AN SSSR [Proceedings of the Baikal Limnological Station of the Academy of Sciences of the USSR] 11: 1–440. (in Russian)
- Bazikalova A.Ya. 1957. On amphipods of the Angara River. Trudy Baikalskoi limnologicheskoi stantsii AN SSSR [Proceedings of the Baikal Limnological Station of the Academy of Sciences of the USSR] 15: 377–387. (in Russian)
- Bickford D., Lohman D.J., Sodhi N.S. et al. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. Trends in Ecology and Evolution 22: 148–155. DOI: [10.1016/j.tree.2006.11.004](https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004)
- Bocharova D.V., Alekseev Ya.I., Volkov A.A. et al. 2021. Determination of the maximum length of DNA in a polymer based on linear poly(N,N-dimethylacrylamide) decoded with an accuracy of 99% by capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence. Journal of Analytical Chemistry 76: 1408–1413. DOI: [10.1134/S106193482110004X](https://doi.org/10.1134/S106193482110004X)
- Bouckaert R., Heled J., Kühnert D. et al. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. PLOS Computational Biology 10: e1003537. DOI: [10.1371/journal.pcbi.1003537](https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537)
- Bukin Yu.S., Petunina J.V., Sherbakov D.Yu. 2018. The mechanisms for genetic diversity of Baikal endemic amphipod *Gmelinoides fasciatus*: Relationships between the population processes and paleoclimatic history of the lake. Russian Journal of Genetics 54: 1059–1068. DOI: [10.1134/S1022795418090053](https://doi.org/10.1134/S1022795418090053)
- Copilaş-Ciocianu D., Sidorov D., Gontcharov A. 2019. Adrift across tectonic plates: molecular phylogenetics supports the ancient Laurasian origin of old limnic crangonyctid amphipods. Organisms Diversity and Evolution 19: 191–207. DOI: [10.1007/s13127-019-00401-7](https://doi.org/10.1007/s13127-019-00401-7)
- Daneliya M.E., Kamaltynov R.M., Väinölä R. 2011. Phylogeography and systematics of *Acanthogammarus* s. str., giant amphipod crustaceans from Lake Baikal. Zoologica Scripta 40: 623–637. DOI: [10.1111/j.1463-6409.2011.00490.x](https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2011.00490.x)
- Daneliya M.E., Väinölä R. 2014. Five subspecies of the *Dorogostaiskia parasitica* complex (Dybowsky) (Crustacea: Amphipoda: Acanthogammaridae), epibionts of sponges in Lake Baikal. Hydrobiologia 739: 95–117. DOI: [10.1007/s10750-013-1671-x](https://doi.org/10.1007/s10750-013-1671-x)
- Dorogostaysky V.Ch. 1917. About the crustacean fauna of the Angara River. Ezhegodnik Zoologicheskogo Muzeya Rossiskoj Akademii Nauk [Yearbook of the Zoological Museum of the Russian Academy of Sciences] 21: 302–322. (in Russian)
- Drozdova P.B., Madyarova E.V., Gurkov A.N. et al. 2024. Lake Baikal amphipods and their genomes, great and small. Vavilov Journal of Genetics and Breeding 28: 317–325. DOI: [10.18699/vjgb-24-36](https://doi.org/10.18699/vjgb-24-36)
- Drozdova P., Saranchina A., Madyarova E. et al. 2022. Experimental crossing confirms reproductive isolation between cryptic species within *Eulimnogammarus verrucosus* (Crustacea: Amphipoda) from Lake Baikal. International Journal of Molecular Sciences 23: 10858. DOI: [10.3390/ijms231810858](https://doi.org/10.3390/ijms231810858)
- Drozdova P., Shatilina Z., Mutin A. et al. 2025. The curious case of *Eulimnogammarus cyaneus* (Dybowsky, 1874): Reproductive biology of a widespread endemic littoral amphipod from Lake Baikal. Jez-A 343(2): 285–293. DOI: [10.1002/jez.2891](https://doi.org/10.1002/jez.2891)
- Dybowsky B.N. 1874. Contributions to a more detailed knowledge of the lower crustaceans of the gammarid group found in Lake Baikal. St. Petersburg, W. Besobrasoff & Comp. DOI: [10.5962/bhl.title.9945](https://doi.org/10.5962/bhl.title.9945) (in German)
- Eberle J., Ahrens D., Mayer C. et al. 2020. A plea for standardized nuclear markers in metazoan DNA taxonomy. Trends in Ecology and Evolution 35: 336–345. DOI: [10.1016/j.tree.2019.12.003](https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.12.003)

- Englisch U., Coleman C.O., Wägele J.W. 2003. First observations on the phylogeny of the families Gammaridae, Crangonyctidae, Melitidae, Niphargidae, Megalurotidae and Oedicerotidae (Amphipoda, Crustacea), using small subunit rDNA gene sequences. *Journal of Natural History* 37: 2461–2486. DOI: [10.1080/00222930210144352](https://doi.org/10.1080/00222930210144352)
- Folmer O., Black M., Hoeh W. et al. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294–299.
- Gavrilov G.B. 1949. On the issue of the breeding season of amphipods and isopods of Lake Baikal. *Doklady Akademii Nauk SSSR [Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR] LXIV*: 739–742. (in Russian)
- Geisler S.F.S. 1944. Studies on the postembryonic development of *Hyalella azteca* (Saussure). *Biology Bulletin* 86: 6–22. DOI: [10.2307/1537947](https://doi.org/10.2307/1537947)
- Geller J., Meyer C., Parker M. et al. 2013. Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources* 13: 851–861. DOI: [10.1111/1755-0998.12138](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12138)
- Golyshkina R.A. 1969. Zoobenthos of the Angara River. Cand. Sc. Dissertation, Irkutsk State University, Irkutsk, Russia. (in Russian)
- Gomanenko G.V., Kamaltynov R.M., Kuzmenkova Z.V. et al. 2005. Population structure of the Baikalian amphipod *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing). *Russian Journal of Genetics* 41(8): 907–912. DOI: [10.1007/s11177-005-0179-5](https://doi.org/10.1007/s11177-005-0179-5)
- Govorukhina E.B. 2005. Biology of reproduction, seasonal and daily dynamics of the population of littoral and sublittoral amphipod species of Lake Baikal. Cand. Sc. Dissertation, Irkutsk State University, Irkutsk, Russia. (in Russian)
- Greze V.N. 1957. Fish forage resources in the Yenisei River and their utilization. In: *Izvestiya Vsesoyuznogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Ozer'nogo i Rechnogo Rybnogo Khozyaistva*, tom XLI [Bulletin of the All-Union Scientific Research Institute of Lake and River Fisheries, volume XLI]. Moscow. (in Russian)
- Gurkov A., Rivarola-Duarte L., Bedulina D. et al. 2019. Indication of ongoing amphipod speciation in Lake Baikal by genetic structures within endemic species. *BMC Evolutionary Biology* 19: 138. DOI: [10.1186/s12862-019-1470-8](https://doi.org/10.1186/s12862-019-1470-8)
- Harrison P.W., Amode M.R., Austine-Orimoloye O. et al. 2024. *Ensembl 2024*. *Nucleic Acids Research* 52: D891–D899. DOI: [10.1093/nar/gkad1049](https://doi.org/10.1093/nar/gkad1049)
- Hupało K., Copilas-Ciocianu D., Leese F. et al. 2023. Morphology, nuclear SNPs and mate selection reveal that COI barcoding overestimates species diversity in a Mediterranean freshwater amphipod by an order of magnitude. *Cladistics* 39(2): 129–143. DOI: [10.1111/cla.12520](https://doi.org/10.1111/cla.12520)
- Huson D.H. 1998. SplitsTree: analyzing and visualizing evolutionary data. *Bioinformatics* 14 (1): 68–73. DOI: [10.1093/bioinformatics/14.1.68](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/14.1.68)
- Kahle D., Wickham H. 2013. ggmap: Spatial Visualization with ggplot2. *R Journal* 5: 144. DOI: [10.32614/RJ-2013-014](https://doi.org/10.32614/RJ-2013-014)
- Kamaltynov R.M. 2009. Higher crustaceans (Amphipoda: Gammaroidea) of Angara and Yenisey. In: *Index of Animal Species Inhabiting Lake Baikal and its Catchment Area*. Novosibirsk, II(1), pp. 297–329. (in Russian)
- Kozhov M.M. 1931. Materials on the fauna of the Angara River. *Izvestiya Biologo-Geograficheskogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta [Bulletin of the Biological-Geographical Research Institute] V(4)*: 59–67. (in Russian)
- Kravchuk E.S., Dubovskaya O.P., Shulepina S.P. et al. 2021. Effect of anthropogenic factors on the ecosystem of the Yenisei River anabranch within the city of Krasnoyarsk. *Journal of Siberian Federal University. Biology* 14(2): 208–237. DOI: [10.17516/1997-1389-0331](https://doi.org/10.17516/1997-1389-0331)
- Lassmann T., Sonnhammer E.L. 2005. Kalign – an accurate and fast multiple sequence alignment algorithm. *BMC Bioinformatics* 6: 298. DOI: [10.1186/1471-2105-6-298](https://doi.org/10.1186/1471-2105-6-298)
- Macdonald III K.S., Yampolsky L., Duffy J.E. 2005. Molecular and morphological evolution of the amphipod radiation of Lake Baikal. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35: 323–343. DOI: [10.1016/j.ympev.2005.01.013](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.01.013)
- Mats V.D., Shcherbakov D.Yu., Efimova I.M. 2011. Late Cretaceous-Cenozoic history of the Lake Baikal depression and formation of its unique biodiversity. *Stratigraphy and Geological Correlation* 19: 404–423. DOI: [10.1134/S0869593811040058](https://doi.org/10.1134/S0869593811040058)
- Mekhanikova I.V. 2016. Amphipods (Crustacea, Amphipoda) of the source area of the Angara River and Irkutsk reservoir (1978–2008 years). *Zoologicheskii Zhurnal [The Journal of Zoology]* 95: 826–836. DOI: [10.7868/S0044513416070060](https://doi.org/10.7868/S0044513416070060) (in Russian)
- Minton J.A.L., Flanagan S.E., Ellard S. 2011. Mutation Surveyor: Software for DNA sequence analysis. In: Theophilus B., Rapley R. (Eds.) *PCR Mutation Detection Protocols. Methods in Molecular Biology*, vol 688. Humana Press. DOI: [10.1007/978-1-60761-947-5_10](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-947-5_10)
- Miralles A., Ducasse J., Brouillet S. et al. 2022. SPART: A versatile and standardized data exchange format for species partition information. *Molecular Ecology Resources* 22(1): 430–438. DOI: [10.1111/1755-0998.13470](https://doi.org/10.1111/1755-0998.13470)
- Miralles A., Puillandre N., Vences M. 2024. DNA barcoding in species delimitation: From genetic distances to integrative taxonomy. In: DeSalle R. (Ed.), *DNA Barcoding*. Springer US. New York, pp. 77–104. DOI: [10.1007/978-1-0716-3581-0_4](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3581-0_4)
- Naumenko S.A., Logacheva M.D., Popova N.V. et al. 2017. Transcriptome-based phylogeny of endemic Lake Baikal amphipod species flock: fast speciation accompanied by frequent episodes of positive selection. *Molecular Ecology* 26: 536–553. DOI: [10.1111/mec.13927](https://doi.org/10.1111/mec.13927)
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. et al. 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 28: 1166–1167. DOI: [10.1093/bioinformatics/bts091](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091)
- Paradis E., Schliep K. 2019. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* 35: 526–528. DOI: [10.1093/bioinformatics/bty633](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633)
- Puillandre N., Brouillet S., Achaz G. 2021. ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources* 21: 609–620. DOI: [10.1111/1755-0998.13281](https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281)
- R Core Team. 2024. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. URL: <https://www.R-project.org/>
- Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67: 901–904. DOI: [10.1093/sysbio/syy032](https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032)
- Rivarola-Duarte L., Otto C., Jühling F. et al. 2014. A first glimpse at the genome of the Baikalian amphipod *Eulimnogammarus verrucosus*. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 322: 177–189. DOI: [10.1002/jez.b.22560](https://doi.org/10.1002/jez.b.22560)
- Romanova E.V., Aleoshin V.V., Kamaltynov R.M. et al. 2016. Evolution of mitochondrial genomes in Baikalian amphipods. *BMC Genomics* 17: 1016. DOI: [10.1186/s12864-016-3357-z](https://doi.org/10.1186/s12864-016-3357-z)
- Saranchina A., Mutin A., Govorukhina E. et al. 2024. Genetic diversity in a Baikal species complex *Eulimnogammarus verrucosus* (Amphipoda: Gammaroidea) in the Angara River, the only outflow of Lake Baikal. *Zoologica Scripta* 53: 867–879. DOI: [10.1111/zsc.12681](https://doi.org/10.1111/zsc.12681)
- Schauberger P., Walker A. 2023. openxlsx: Read, write and edit xlsx files. URL: <https://ycphs.github.io/openxlsx/index.html>

- Schliep K., Vidal-Garcia M., Solis-Lemus C. et al. 2021. tanggle: Visualization of phylogenetic networks. URL: <https://klausvigo.github.io/tanggle/>
- Shavit L., Penny D., Hendy M.D. et al. 2007. The problem of rooting rapid radiations. *Molecular Biology and Evolution* 24: 2400–2411. DOI: [10.1093/molbev/msm178](https://doi.org/10.1093/molbev/msm178)
- Sherbakov D.Y., Kamaltynov R.M., Ogarkov O.B. et al. 1998. Patterns of evolutionary change in Baikalian gammarids inferred from DNA sequences (Crustacea, Amphipoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10(2): 160–167. DOI: [10.1006/mpev.1997.0482](https://doi.org/10.1006/mpev.1997.0482)
- Sherbakov Yu.D. 1999. Molecular phylogenetic studies on the origin of biodiversity in Lake Baikal. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 92–95. DOI: [10.1016/S0169-5347\(98\)01543-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01543-2)
- Takhteev V.V. 2000. Essays on the amphipods of Lake Baikal (systematics, comparative ecology and evolution). Irkutsk: Irkutsk University Publishing House. (in Russian)
- Takhteev V.V. 2009. On the amphipod fauna of the source section of the Angara River. *Baikal'skiy Zoologicheskii Zhurnal [Baikal Journal of Zoology]* 3: 9–12. (in Russian)
- Takhteev V.V. 2019. On the current state of taxonomy of the Baikal Lake amphipods (Crustacea, Amphipoda) and the typological ways of constructing their system. *Arthropoda Selecta* 28: 374–402. DOI: [10.15298/arthsel.28.3.03](https://doi.org/10.15298/arthsel.28.3.03)
- Wang L.-G., Lam T.T.-Y., Xu S. et al. 2020. Treeio: An R package for phylogenetic tree input and output with richly annotated and associated data. *Molecular Biology and Evolution* 37: 599–603. DOI: [10.1093/molbev/msz240](https://doi.org/10.1093/molbev/msz240)
- Wickham H. 2007. Reshaping data with the reshape package. *Journal of Statistical Software* 21: 1–20. DOI: [10.18637/jss.v021.i12](https://doi.org/10.18637/jss.v021.i12)
- Wickham H., François R., Müller K. et al. 2023. dplyr: A grammar of data manipulation. URL: <https://dplyr.tidyverse.org>
- Wickham H., Vaughan D., Girlich M. 2023. tidyr: Tidy messy data. URL: <https://tidyr.tidyverse.org>
- Wickham H., Seidel D. 2022. scales: Scale functions for visualization. URL: <https://scales.r-lib.org>
- Wickham H., Sievert C. 2016. ggplot2: Elegant graphics for data analysis. New York: Springer. DOI: [10.1007/978-3-319-24277-4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4)
- Yampolsky L.Y., Kamaltynov R.M., Ebert D. et al. 1994. Variation of allozyme loci in endemic gammarids of Lake Baikal. *Biological Journal of the Linnean Society* 53(4): 309–323. DOI: [10.1111/j.1095-8312.1994.tb01015.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1994.tb01015.x)
- Zaidykov I.Y., Naumova E.Y., Sukhanova L.V. 2023. MtDNA polymorphism of *Macrohectopus branickii* Dybowski, 1974 (Amphipoda) – an endemic pelagic key species of Lake Baikal. In: Chaplina T. (Ed.), *Complex Investigation of the World Ocean (CIWO-2023)* Springer Nature Switzerland, Cham, pp. 223–229. DOI: [10.1007/978-3-031-47851-2_26](https://doi.org/10.1007/978-3-031-47851-2_26)
- Zuyev I.V., Semenova E.M., Shulepina S.P. et al. 2011. Feeding of grayling *Thymallus* sp. in the middle reaches of the Yenisei River. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta [Journal of Siberian Federal University Biology]* 4(3): 281–292. DOI: [10.17516/1997-1389-0171](https://doi.org/10.17516/1997-1389-0171) (in Russian)

Генетическая структура вида амфипод *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus)* *marituji* Bazikalova, 1945 в бассейне озера Байкал

Оригинальная статья
LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Саранчина А.Е.¹, Говорухина Е.Б.¹, Романов Н.А.¹, Филиппов А.В.²,
Тимофеев М.А.^{1,2}, Дроздова П.Б.^{1,2,*}

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», ул. Карла Маркса 1, Иркутск, 664003, Россия

² Байкальский исследовательский центр, ул. Рабочая 5в, Иркутск, 664011, Россия

АННОТАЦИЯ. Сотни видов амфипод озера Байкал формируют так называемый букет видов, и *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) marituji* Bazikalova, 1945 — один из самых распространенных его представителей в южной части озера. Но несмотря на это, о генетической структуре ни в озере Байкал, ни за его пределами ничего не известно. В данном исследовании обнаружено, что *E. marituji* состоит как минимум из трех генетических линий по митохондриальному маркерному гену первой субъединицы цитохром с-оксидазы (COI) и ядерному гену 18S рРНК. В данной работе они обозначены как южная (S), западная (W) и центральная (C). В Байкале все три линии разделены географически, но в реках Ангара и Енисей они обитают совместно. Последний общий предок всех филогенетических групп существовал порядка 3,6 млн. лет назад. В данной работе удалось зафиксировать гибридов первого и даже второго поколения, что не позволяет рассматривать генетические линии как отдельные биологические виды на данном этапе. Кроме того, на основе анализа литературных источников, а также данных этой работы, можно выдвинуть предположение, что вид амфипод, определяемый как *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) viridis* (Dybowsky, 1874) в реке Енисей, на самом деле является видом *E. marituji*.

Ключевые слова: Ангара, Енисей, *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) viridis*, цитохром с-оксидаза, филогенетика

Для цитирования: Саранчина А.Е., Говорухина Е.Б., Романов Н.А., Филиппов А.В., Тимофеев М.А., Дроздова П.Б. Генетическая структура вида амфипод *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) marituji* Bazikalova, 1945 в бассейне озера Байкал // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - С. 681-701. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-4-681

1. Введение

Одним из ярких примеров «букета видов» являются байкальские представители отряда Amphipoda (Crustacea). На данный момент описано более 350 эндемичных видов и подвидов (Takhteev, 2019). Будучи автохтонными обитателями озера Байкал (Sherbakov, 1999), оценочный возраст которого 25–70 млн лет (Мац и др., 2011), они заселили все существующие экологические ниши. Амфиподы обитают на всех глубинах озера (0–1642 м), имеют разнообразный спектр питания (от растительного до паразитического), разные жизненные формы (пелагические, бентосные и симбиотические) (Тахтеев, 2000). Во множестве работ, посвященных генетическому разнообразию байкальских амфипод, исследованы животные из разных экотопов Байкала (Yampolsky et al., 1994; Sherbakov et al., 1998;

Гоманенко и др., 2005; Daneliya et al., 2011; Daneliya and Väinölä, 2014; Gurkov et al., 2019; Zaidykov et al., 2023). Интересной в этом отношении и легкодоступной для отлова и изучения группой являются литоральные амфиподы. Генетическое расстояние между разными представителями одного вида часто сопоставимо с межвидовым расстоянием для небайкальских амфипод, что позволяет говорить о криптическом разнообразии (Gurkov et al., 2019). В то же время, все байкальские амфиподы по молекулярным данным входят в состав рода *Gammarus* (Macdonald III et al., 2005).

При обсуждении биоразнообразия важно договориться о терминах; в данной статье будут использованы те же понятия, что и в предыдущих работах (Drozдова et al., 2022; Saranchina et al., 2024). Набор схожих последовательностей одного гена, отделен-

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: drozdovapb@gmail.com (П.Б. Дроздова)

Поступила: 18 июля 2025; **Принята:** 08 августа 2025;

Опубликована online: 31 августа 2025

© Автор(ы) 2025. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



ный методом разграничения видов, будем называть гаплогруппой. Термин «генетическая линия» будет использован для обозначения группы животных, имеющей отдельные гаплогруппы для каждого маркерного гена.

Ранее в работах, посвященных видам рода *Eulimnogammarus* Bazikalova, 1945, было обнаружено, что прежде единый вид *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858) в Байкале дифференцирован на три далекие генетические линии, разделенные географически (Gurkov et al., 2019). Позже у этих групп были обнаружены пост- и презиготические барьеры, а также разница в размере геномов (Drozdova et al., 2022). Поскольку у представителей всех трех линий не нашли качественных морфологических различий, можно утверждать, что они являются криптическими обособленными видами. Вид *Eulimnogammarus vittatus* (Dybowsky, 1874) также имеет отдельные генетические линии, хотя генетическое расстояние несколько меньше, чем между линиями *E. verrucosus* (Gurkov et al., 2019). Иную картину можно наблюдать в случае вида *Eulimnogammarus cyaneus* (Dybowsky, 1874). Данный вид не формирует четко сформированные генетические линии, и представители разных популяций могут свободно скрещиваться между собой (Drozdova et al., 2025; Gurkov et al., 2019). Литоральный вид *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) формирует четыре гаплогруппы по маркерному гену первой субъединицы цитохром с-оксидазы (COI), и расстояние между одной группой и тремя остальными сравнимо с расстоянием в группах видов *E. verrucosus* и *E. vittatus* (Гоманенко и др., 2005; Букин и др., 2018; Дроздова и др., 2024).

Стоит отметить, что распространение генетических линий всех перечисленных выше видов коррелирует с точками отлова. В частности, для видов *E. verrucosus* и *E. vittatus* установлено, что на разных берегах единственного истока, реки Ангары, обитают разные генетические линии (Gurkov et al., 2019). Минимальное расстояние между берегами в истоке всего около 1 км — это дистанция, потенциально преодолимая для животных. Для *E. verrucosus* показано смешение криптических видов вблизи истока Ангары, вероятно, связанное с большой скоростью течения, но ниже по течению один вид доминирует над другим. Различий по спектру питания, сезону размножения, предпочитаемой температуре и другим экологическим характеристикам пока не найдены, и причины замещения в реке одного вида другим пока не установлены. Еще одним интересным фактом является то, что возраст общего предка этих двух криптических видов составляет порядка 4 млн. лет, в то время как возраст самой Ангары оценивается в 70–120 тыс. лет (Saranchina et al., 2024). Исследование генетического происхождения амфипод в реке Ангаре позволит пролить свет на эволюционные процессы, происходящие в Байкале.

Данная работа посвящена еще одному виду рода *Eulimnogammarus*, *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) marituji* Bazikalova, 1945 (Базикалова, 1945). Этот литоральный вид встречается на глубинах от 0 до 30 м (Камалтынов, 2009),

длина тела варьирует от 16 до 25 мм, имеет зимне-летний период размножения. Распространен преимущественно в южной части Байкала, является одним из доминирующих видов в истоке (Говорухина, 2005) и русле (наши данные) реки Ангары. Несмотря на это, генетическое разнообразие вида ранее не изучали. В базе данных NCBI находится транскриптом одного экземпляра *E. marituji*, сделанный в рамках исследования филогении всех видов байкальских амфипод (Naumenko et al., 2017).

2. Материалы и методы

2.1. Отлов животных

Всего было отловлено и проанализировано 67 экземпляра *E. marituji* из 14 точек, из которых шесть в Байкале, семь в реке Ангаре и одна из реки Енисей. Дата и координата отлова для каждого животного из каждой точки указаны в Табл. 1 приложения. Амфипод вылавливали сачком на глубине 0–0,5 и фотографировали перед фиксацией в этаноле. Амфиподы были определены как представители вида *E. marituji* по морфологическому ключу (Базикалова, 1945).

2.2. Выделение ДНК, ПЦР и секвенирование маркерных последовательностей

ДНК выделяли из переопод и плеопод животных с помощью коммерческого набора S-Corb (Синтол). Пробирку с тканями и двумя стальными шариками помещали в гомогенизатор TissueLyser (Qiagen) на максимальной скорости на 1,5 минуты. Дальнейшее выделение ДНК проводили согласно инструкции производителя, но этап лизирования тканей составлял один час вместо предписанных пяти минут. В качестве маркерных последовательностей использовали первую часть митохондриального гена первой субъединицы цитохром с-оксидазы (COI), а также первую часть более консервативного ядерного гена 18S рРНК. Для амплификации COI использовали готовые смеси 2X BioMaster HS-Taq (БиоЛабМикс) и 2,5x реакционную смесь для ПЦР-РВ (Синтол). Для амплификации ядерного гена 18S рРНК использовали 5x ScreenMix (Евроген) и 2,5x реакционную смесь для ПЦР-РВ (Синтол). Для амплификации фрагмента COI были использованы четыре пары праймеров: LCO_Eve_F1 (TCTCTACTAATCATAAAGATATCGG), Eve_F5 (AGAGCTATCTCAGACTTTGAATC), COI_LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG), jgLCO1490 (TTTCIACIAAYCAYAARGAYATTGG) и HCO_Eve_R1 (TAAACTTCTGGATGGCCAAAGAATCA), Eve_R5 (TGCCAGTAGGAAGTGGGATA), COI_HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA), jgHCO2198 (TAIACYTCIGGRTGICRAARAAYCA). Для амплификации гена 18S рРНК использовали праймеры: 18SF (CCTAYCTGGTTGATCCTGCCAGT) и 18S700R (CGCGGCTGCTGGCACCAGAC). Праймеры LCO_Eve_

F1/HCO_Eve_R1 и Eve_F5/Eve_R5 использовали в прошлой работе (Saranchina et al., 2024). Пара праймеров COI_LCO1490/COI_HCO2198 является стандартной для амплификации COI беспозвоночных (Folmer et al., 1994). Пара праймеров jgLCO1490/jgHCO2198 сконструирована на основе COI_LCO1490/COI_HCO2198 с целью расширения таксономического спектра (Geller et al., 2013). Праймеры 18SF/18S700R были разработаны для изучения амфипод (Englisch et al., 2003). Прямые и обратные праймеры использовали в разных комбинациях для каждой пробы (Табл. 1 приложения). Программа для амплификации была следующей: 95°C 5 мин, затем 30 циклов с шагами 95°C 30 сек, 53°C 1 мин, 72°C 1 мин, и последний шаг 72°C 5 мин, не включенный в цикл.

Качество прошедшей реакции проверяли с помощью гель-электрофореза в 1%-ном агарозном геле в 1x буфере TAE. Полученный ПЦР-продукт очищали с помощью коммерческих наборов Cleanup Standard или Cleanup Mini (Евроген) для фрагментов гена COI и набора ColGen (Синтол) в случае фрагментов 18S рРНК. Секвенирование по методу Сэнгера проводили по стандартному протоколу с изменением объемов реактивов (BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit, Life Technologies): готовую реакционную смесь использовали в объеме по 1 мкл, а буфер — по 2 мкл на реакцию. Для секвенирования обоих генов использовали те же праймеры, что и для ПЦР. Разделение и анализ фрагментов проводили с использованием прибора Нанофор-05 (Институт аналитического приборостроения РАН) (Бочарова и др., 2021; Алексеев и др., 2019).

2.3. Анализ полученных данных

Сырые прочтения обрабатывали в программе Mutation Surveyor V 5.1. (Minton et al., 2011) и сохранены в формате ab1 в программе Chromas V 2.6.6. (Technelysium). Выравнивание прочтений и получение итоговой консенсусной последовательности осуществляли в программе UGENE V 41.0 (Okonechnikov et al., 2012). В качестве опорных последовательностей для сборки использовали гены западного вида *E. verrucosus* из базы данных NCBI: для COI фрагмент NC_023104.1 (Rivarola-Duarte et al., 2014), для 18S AY926773.1 (Macdonald III et al., 2005).

Помимо полученных нами данных, в филогенетические сети также включили последовательности из базы данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). Для сети, построенной по гену COI, в качестве внешней группы использовали последовательность *E. cyaneus* MK887733.1 (Gurkov et al., 2019) и *E. viridis* AY926664.1 (Macdonald III et al., 2005). Также в сеть включена последовательность *E. marituji*, извлеченная из сырых данных секвенирования транскриптомов из статьи (Naumenko et al., 2017). На основе этих данных была получена сборка (Drozdova et al., 2022), в которой с помощью утилиты exonerate (Harrison et al., 2024) проводили поиск последовательности COI; в качестве запроса

также использовали последовательность NC_023104 (Rivarola-Duarte et al., 2014). Согласно информации в статье, данный экземпляр отловлен около поселка Большие Коты (Naumenko et al., 2017). Для гена 18S в качестве внешних групп использовали последовательности *E. cyaneus* FJ752393.1 и AY926774.1 (Macdonald III et al., 2005) для *E. viridis*. Количество последовательностей для сети по COI составило 72. Из них 69 получены в ходе данной работы, одна последовательность из данных секвенирования транскриптома (Naumenko et al., 2017), две полученные нами последовательности принадлежат виду *E. viridis* и еще две являются внешними группами. Для сети, построенной по гену 18S, количество последовательностей также 72, но последовательностей для амфипод вида *E. viridis* три, а последовательности из (Naumenko et al., 2017) нет. Для филогенетического древа в качестве внешней группы использовали последовательность гена 18S вида *E. cyaneus* KX341964 (Romanova et al., 2016).

Все последовательности были выровнены алгоритмом Kalign (Lassmann and Sonnhammer, 2005) и обрезаны вручную в программе UGENE (Okonechnikov et al., 2012) по самой короткой последовательности. Общая длина выравнивания гена COI составила 516 пар нуклеотидов (п.н.), в случае фрагмента 18S рРНК — 449 п.н. Получившиеся файлы загрузили в программу SplitsTree V4.18.1 (Huson, 1998) для построения сетей. Наличие разрыва между внутри- и межгрупповой изменчивостью (barcoding gap) было установлено с помощью алгоритма ASAP (Assemble Species by Automatic Partitioning) через онлайн-утилиту SpartExplorer (<https://spartexplorer.mnhn.fr/>; Puillandre et al., 2021; Miralles et al., 2022). Для построения калиброванной филогении использовали пакет beast V2.7.3 (Bouckaert et al., 2014) и модель оптимизированных ослабленных молекулярных часов; калибровку проводили на основе скорости накопления замен в COI — 0,01773 замены за 1 млн лет, определенной ранее для гаммаридных амфипод (Copilaș-Ciocianu et al., 2019). Качество полученных данных анализировали с помощью пакета Tracer V1.7.2 (Rambaut et al., 2018).

Для визуализации использовали язык программирования R V4.3.2 (R Core Team, 2024) в оболочке RStudio V2023.09.1. Для отрисовки карт от компании Stamen Design и распространяемых компанией Stadia Maps (<https://stadiamaps.com/stamen/>), а также для филогенетических сетей и деревьев использовали пакеты: ape V5.7 (Paradis and Schliep, 2019); dplyr V1.1.1 (Wickham et al., 2023a); ggmap V3.0.2 (Kahle and Wickham, 2013), ggplot2 V3.4.2 (Wickham and Sievert, 2016); ggtree V3.2.1 (Wang et al., 2020); openxlsx V4.2.5 (Schauberger and Walker, 2023); phangorn V2.10.0 (Shavit et al., 2007); reshape2 V1.4.4 (Wickham, 2007); scales V1.2.1 (Wickham and Seidel, 2022); tanggle V1.1.0 (Schliep et al., 2021); tidyr V1.3.0 (Wickham et al., 2023b); treeio V1.18.1 (Wang et al., 2020). Для сборки полученных изображений использовали программное обеспечение Inkscape V1.1.2. (<https://inkscape.org/>).

Используемый код и исходные данные доступны в репозитории GitHub (https://github.com/SaranchinaAlexandra/E.marituji_article_data). Полученные в данном исследовании последовательности доступны в базе данных NCBI под номерами PV804880–PV804946 (COI) и PV810004–PV810071 (18S рРНК).

3. Результаты

3.1. Генетические линии *E. marituji*

Для оценки популяционно-генетического разнообразия *E. marituji* использовали два маркерных гена с разным происхождением и с разной скоростью накопления замен. Для филогении беспозвоночных, в частности, ракообразных, наиболее распространенный маркер — это фрагмент первой субъединицы цитохром с-оксидазы, однако данный маркер имеет недостаток: генетический сигнал митохондриальных генов может расходиться с сигналом, полученным от ядерных маркеров (Eberle et al., 2020). Чтобы избежать подобного исхода, кроме участка COI использовали участок более консервативного ядерного гена 18S рРНК. Анализ 72 животных из Байкала, Ангары и Енисея по двум маркерным генам показал разделение вида *E. marituji* на три группы (Рис. 1). Два экземпляра оказались гибридами по гену 18S рРНК; они обозначены как гаплогруппа (H) (Рис. 1Б).

Получившиеся генетические линии названы по точке отлова из озера Байкал (см. ниже), поскольку в Ангаре и Енисее обитают представители разных генетических линий. Центральная гаплогруппа (С) включает в себя животных, отловленных на побережье центральной котловины Байкала, а также в Ангаре. Западная линия (W) состоит из особей, отловленных на западном берегу озера и в Енисее. К южной гаплогруппе (S) относятся животные с южного побережья Байкала (здесь исток Ангары служит условным барьером между южной (S) и западной (W) гаплогруппами), а также из Ангары и Енисея.

Два экземпляра, отловленные в черте Иркутска, (AmspA11 и GRA3, Табл. 1 приложения) оказались гибридами по гену 18S рРНК, на сплит-

сети они обозначены как гаплогруппа H (Рис. 1Б). В позиции 488 (при выравнивании на COI *Drosophila melanogaster*, LC025528.1) наблюдали смесь сигналов гуанина, встречающегося в этой позиции только у гаплогруппы W, и аденина, который встречается у остальных двух. В позиции 510 встречается цитозин (есть только у S) и тимин, встречающийся у W и С (Рис. 2В). По гену COI AmspA11 относится к группе S. Из этого можно заключить, что это животное является гибридом линий S и W (Рис. 2А). В случае же пробы GRA3 последовательность COI относится к группе С (Рис. 2Б). Вероятнее всего, этот экземпляр гибрид второго поколения, по материнской линии унаследовавший С гаплогруппу COI, а по отцовской гетерозиготные S/W гаплогруппы 18S. Наследование характеристик всех трех линий косвенно свидетельствует о фертильности потомства первого гибридного поколения и свободном скрещивании всех трех генетических линий между собой. Также на основании этих данных можно предположить присутствие в Ангаре линии W.

В проливе Ольхонские Ворота нами были выловлены три животных, которые по морфологическому ключу были определены как *E. marituji*, но по последовательностям обоих маркерных генов совпали с другим видом, *E. viridis*. На сетях они являются частью внешней группы (Рис. 1).

3.2. Географическое распределение генетических линий *E. marituji*

В данном исследовании проанализированы животных в 14 различных точках из озера Байкал, реки Ангары и реки Енисей (Рис. 3В).

В Байкале животные были отобраны в шести точках, а именно: в порту Байкал, в пос. Листвянка, в пос. Большие Коты (Рис. 3Д), около устья реки Сарма, у мыса Уюга (Рис. 3Б), а также в проливе Ольхонские Ворота (точка на карте не показана, так как выловленные животные оказались видом *E. viridis*). Согласно полученным данным, Байкал населяют три генетические линии *E. marituji*. В центральной котловине обитает центральная гаплогруппа в точках около устья реки Сарма (одно животное), и у мыса Уюга (шесть животных) (Рис. 3Б). В посел-

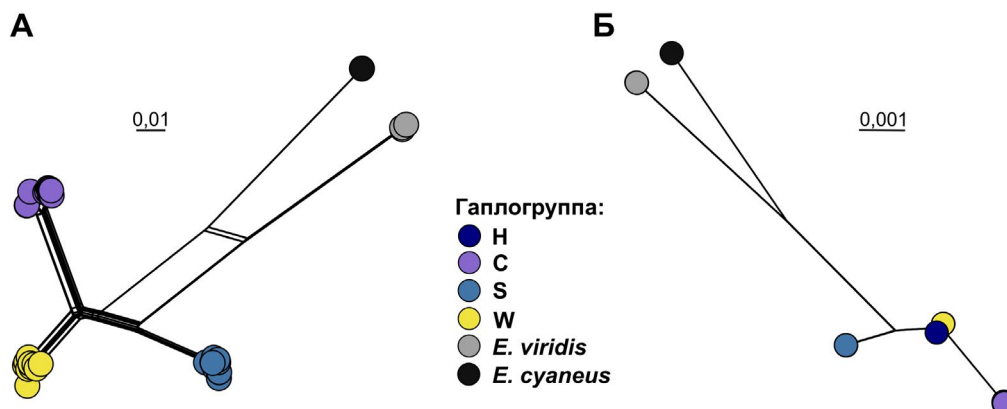


Рис.1. Филогенетические сплит-сети, построенные по последовательностям генов COI (А) и 18S рРНК (Б). Последовательности видов *E. cyaneus* и *E. viridis* являются внешними группами. Гибридная группа (H) обозначена темно-синим кружком и присутствует только на сети последовательностей 18S.

ках Листвянка и Большие Коты обнаружены представители западной линии (W) (14 и 3 особи соответственно). На противоположном берегу истока Ангары, в порту Байкал обитают южные (S) *E. marituji* (двое животных) (Рис. 3Д).

В реке Ангаре, которая является единственным истоком Байкала, животные были отобраны в семи точках. В двух точках в Иркутском водохранилище, Большая речка и залив Королок, обитают животные генетической линии С (проанализировано по четыре животных в каждой точке) (Рис. 3Д). В черте города Иркутска апробировано пять точек: Верхняя набережная (одно животное); между мостами, левый берег (четыре животных); Глазковский мост, левый берег (четыре животных); Глазковский мост, правый берег (пять животных) и Якоби (шесть животных). *E. marituji* в данных локациях относятся к линиям С и S. В точках Верхняя набережная и Якоби нами выловлены представители гаплогруппы С, а в точке у Глазковского моста на левом берегу все четыре — S представители. На правом берегу около Глазковского моста встречены четыре представителя линии S и один экземпляр линии С. В точке между мостами на левом берегу три из S и один из С гаплогруппы (Рис. 3Г). Встреченные нами гибриды из точек, расположенных на левом берегу Глазковского моста и между мостами, отмечены на карте по гену COI и принадлежат к гаплогруппам С и S соответственно.

Из одной точки отлова около острова Посадный в реке Енисей, в которую впадает Ангара, проанализировано 11 животных. Согласно обоим маркерным генам они принадлежат к генетическим линиям S (семь экземпляров) и W (четыре экземпляра) (Рис. 3А).

3.3. Время разделения трех генетических линий *E. marituji*

Поскольку для понимания эволюции вида важно представлять, в каких временных рамках оно могло происходить, провели оценку возраста последнего общего предка для всех генетических линий. Эволюционную историю всех трех линий по отношению к внешней группе *E. suapeus* рассчитали с помощью байесовской филогении и молекулярных часов. Длина проанализированного отрезка COI составила 707 п.н. Ближайшими из трех линий оказались западная (W) и южная (S) группы, чье расхождение случилось 2,6 млн лет назад (интервал 95%-ной наивысшей апостериорной вероятности (95% HPD 1,4–4,7 млн лет)). Раньше всех от общего предка трех групп отделилась центральная (C) генетическая линия, порядка 3,6 (95% HPD 2,1–5,5 млн лет) млн лет назад (Рис. 4).

4. Обсуждение

4.1. Деление внутри вида *E. marituji*

В данной работе впервые показано, что вид *E. marituji* состоит из как минимум трех генетических линий по маркерным генам цитохром с-оксидазы и

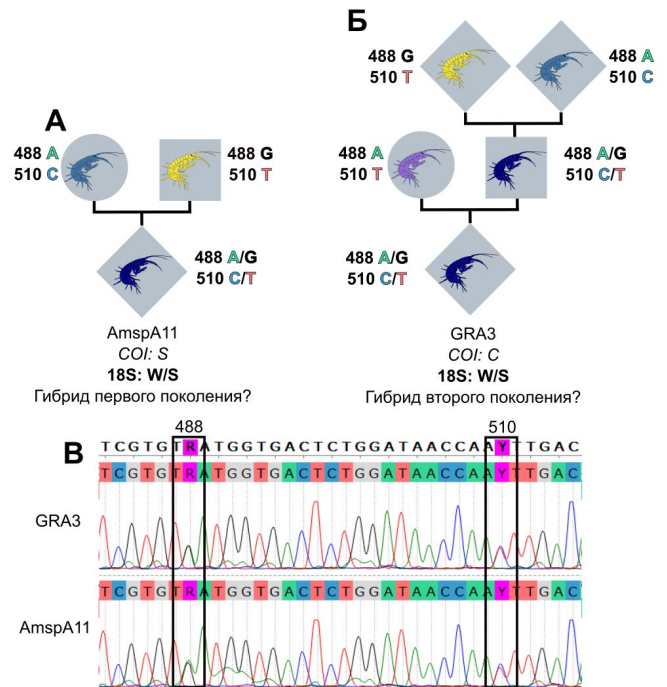


Рис.2. Происхождение гибридных экземпляров *E. marituji*. А — гипотетическое происхождение экземпляра AmspA11. Б — гипотетическое происхождение экземпляра GRA3. В — часть хроматограмм секвенирования гена 18S рРНК с гетерозиготными заменами (обозначены как вырожденные нуклеотиды R и Y).

18S рРНК. Западная (W) и южная (S) линии оказались наиболее близкими, и разделились порядка 2,6 млн лет назад (Рис. 4). Третья, центральная линия (C), является сестринской для первых двух, и отделилась от них раньше примерно на 1 млн лет. При этом в проанализированных нами животных встретился гибрид W/S первого поколения и гибрид W/S/C второго поколения (Рис. 2).

Полученные данные заставляют задаться вопросом о том, являются ли обнаруженные генетические линии отдельными видами. Это очень комплексный вопрос, к ответу на который существует несколько подходов. Один из подходов основан на разделении видов исключительно по морфологическим признакам. В случае байкальских амфипод данную точку зрения активно продвигал В.В. Тахтеев (Тахтеев, 2000). Это направление было единственным доступным на протяжении долго периода истории науки, однако с появлением универсальных и относительно дешевых методов секвенирования эта парадигма постепенно уходит в прошлое. Второй метод основан на показателях различных биоинформатических алгоритмов разделения видов, сравнивающих генетические дистанции. Однако одной из главных проблем этого подхода является существование сразу нескольких подобных алгоритмов, которые могут делать противоположные выводы, каждый из которых имеет свои достоинства и недостатки, в частности преувеличивать значение генетической дистанции. При этом все они отвечают на один конкретный практический вопрос, и в итоге конечный результат будет сильно зависеть от вводных данных и выбранных

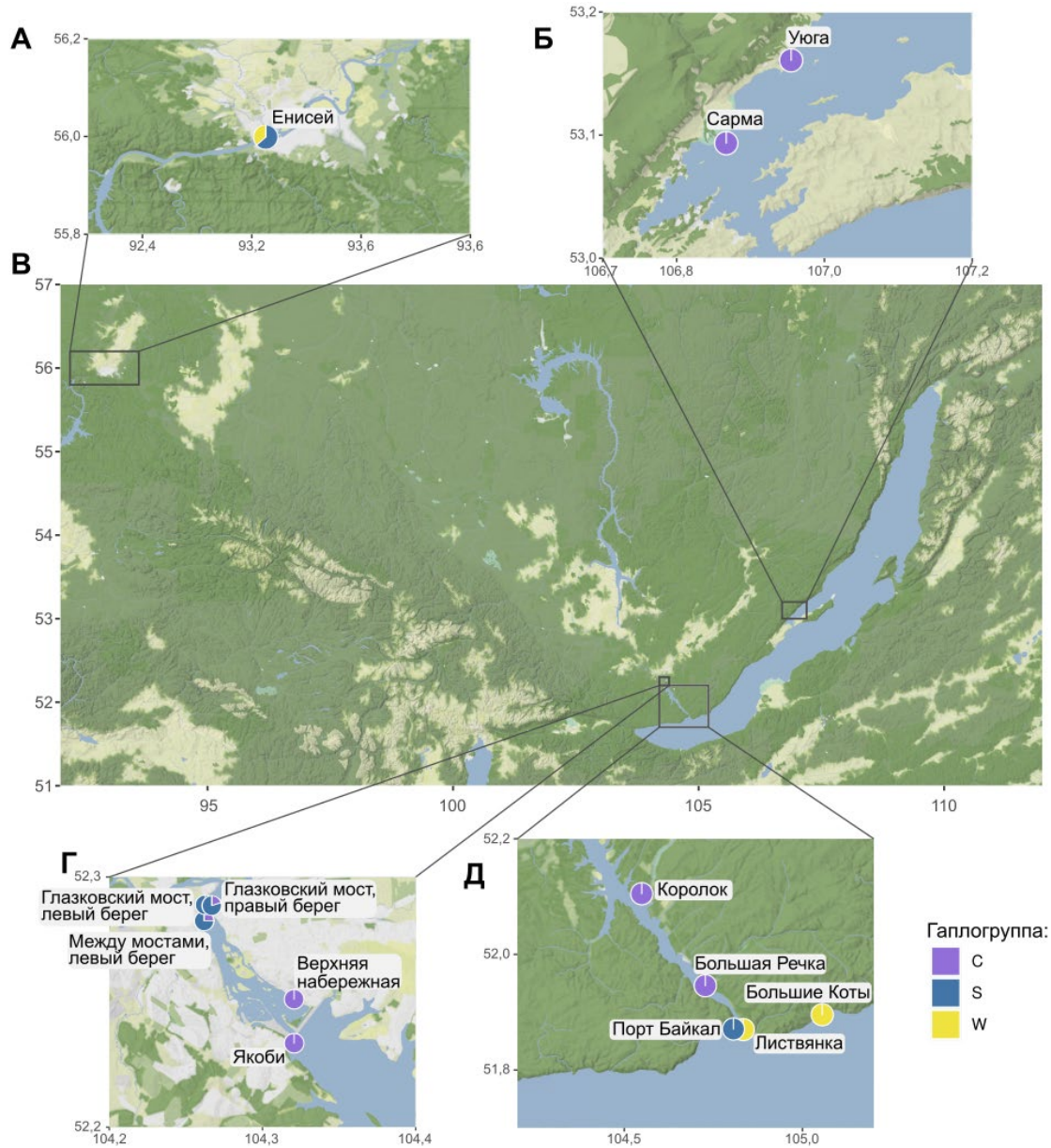


Рис.3. Географическое распределение *E. marituji* по гаплогруппам COI. А — точка сбора в реке Енисей, Б — в озере Байкал (центральная котловина), В — общая география отбора проб, Г — точки сбора в реке Ангаре в черте города Иркутска, Д — точки в южной котловине озера и Иркутском водохранилище. Количество животных в каждой точке см. в Табл. 1 приложения.

методов (Miralles et al., 2024). Третий подход напрямую отсылает к самому термину “биологический вид”, а конкретно к той его части, где говорится о способности свободного скрещивания и рождению фертильного потомства (Bickford et al., 2007). Главная проблема этого подхода в невозможности проверки репродуктивных барьеров для подавляющего большинства животных. Данный метод разделения видов является частью интегративной таксономии, учитывающей и генетику, и репродуктивные барьеры (Нурало et al., 2023). К счастью, для исследователей байкальских амфипод этот подход доступен, по крайней мере для части видов. Ранее пре- и постзиготические барьеры были экспериментально проверены для генетических групп видов *E. verrucosus* и *E. suaneus*. Полученные данные говорят о наличии положительной корреляции степени генетического разделения и репродуктивных барьеров (Drozdova et al., 2022; 2025). Тем не менее, наи-

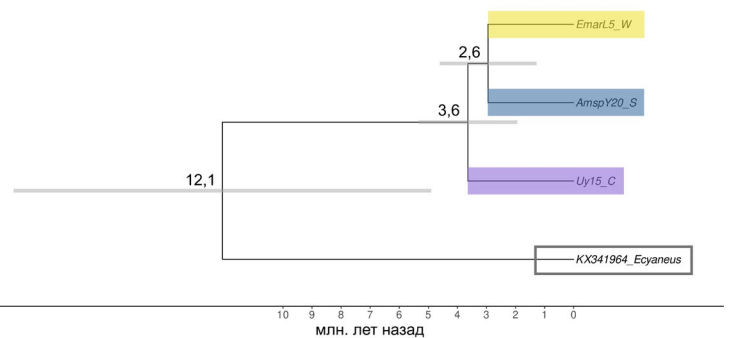


Рис.4. Калиброванная байесовская филогения генетических линий *E. marituji*, основанная на фрагменте COI. Последовательность *E. suaneus* служит внешней группой. Числа на узлах показывают предсказанный возраст существования последнего общего предка двух групп в млн лет. Серые линии соответствуют 95% интервалу наивысшей апостериорной вероятности.

лучшим вариантом является комбинация не только генетики и репродукции, но и морфологии. Знания о всех аспектах дадут максимально полную картину эволюции конкретной группы видов.

Возвращаясь к *E. marituji*, можно сказать, что полученные данные являются только первым шагом на пути к ответу на вопрос о единстве вида. Генетическое расстояние по гену COI между группами *E. marituji* меньше, чем между группами *E. verrucosus*, у которых имеется четко выраженные пре- и постзиготические барьеры. Но в тоже время разделение внутри *E. marituji* больше, чем у вида *E. cyaneus*, у которого этих барьеров нет (Drozdova et al., 2025).

Обнаруженные гибриды косвенно свидетельствуют о возможности скрещивания всех трех генетических линий, а также о фертильности гибридов первого поколения, что является признаком единого вида. Однако, чтобы полноценно подтвердить или опровергнуть данную теорию, нужно провести эксперименты по скрещиванию в контролируемых лабораторных условиях. К сожалению, на данный момент не получилось воссоздать лабораторную культуру байкальских амфипод, и возможность проверить фертильность первого поколения остается неосуществимой. Тем не менее, возможно провести эксперименты по пост- и презиготическим барьерам, отработанные нами ранее (Drozdova et al., 2022; 2025).

Информация о размножении *E. marituji* в природных условиях несколько противоречива. В ранних работах указывают зимне-весенний сезон размножения (Базикалова, 1945; Бекман и Деньгина, 1969; Гаврилов, 1949). Но по последним данным, полученным в ходе двухгодичного мониторинга литорали в истоке Ангары, *E. marituji* имеет зимне-летний период размножения и, возможно, замедляет размножение осенью. (Говорухина, 2005). Полученные в данной работе сборы подтверждают последнюю точку зрения (Рис. 5). Самки с развивающимися яйцами всех трех генетических линий были

выловлены с середины июня по конец июля, а также в начале апреля были зафиксированы яйценосные самки линии W. В отловах была обнаружена самка на IV стадии половой зрелости (Базикалова, 1941), с развившейся молодью в выводковой камере, в прекопуле (амплексусе) (Рис. 5Б). Такое поведение характерно для маленьких и теплолюбивых амфипод, как в самом Байкале, так и за его пределами (Geisler, 1944; Drozdova et al., 2025; Асочаков и Попова, 2020). Это явление объясняют тем, что такие виды обитают в более теплых условиях, и это позволяет сократить срок вынашивания потомства, и как следствие, увеличивается количество репродуктивных циклов в году. Согласно данным этого исследования, *E. marituji* можно отнести к видам, имеющим несколько циклов размножения в год.

4.2. Географическое распределение генетических линий *E. marituji*

Географическое распределение генетических линий *E. marituji* в озере Байкал соотносится с распространением других байкальских видов. В частности, деление истоком Ангары характерно также для видов *E. verrucosus* и *E. vittatus* (Gurkov et al., 2019). Отдельная гаплогруппа, обитающая на западном берегу центральной котловины, обнаружена у другого байкальского вида *Gmelinoides fasciatus* (авторы называют ее юго-западной) (Букин и др., 2018). Меньшее количество точек отбора не позволяет нам сходным, с авторами исследований, образом сопоставить геологические события, происходившие с озером, и эволюционную историю вида. Тем не менее, можно сделать некоторые выводы о распределении *E. marituji* в реках Ангаре и Енисее. В Ангаре преобладают представители южной (S) и центральной (C) генетических линий (Рис. 3Г, Д). Найденный гибрид западной гаплогруппы (W), а также присутствие представителей W в реке Енисей свидетельствуют о их наличии также и в Ангаре. Можно предположить, что представители W и S

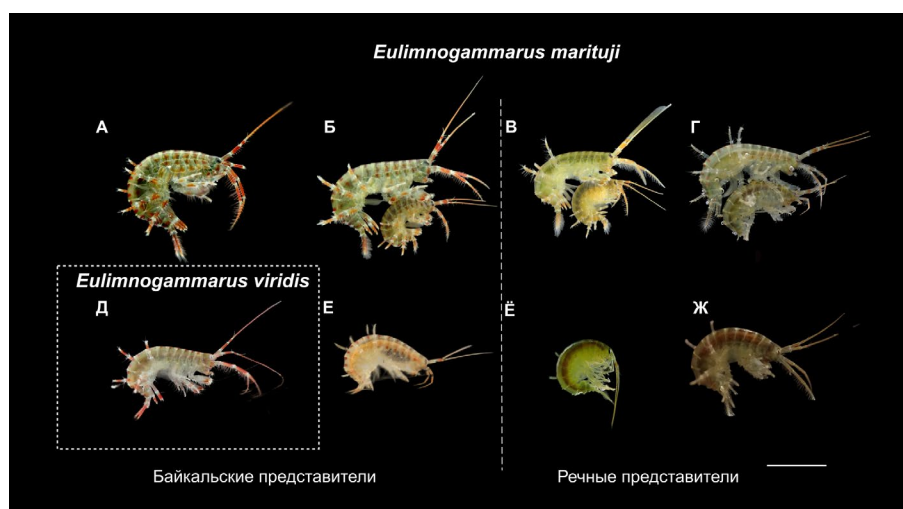


Рис.5. Внешний вид представителей *E. marituji*, отловленных в разных точках. А — экземпляр, выловленный около пос. Листвянка (W), Б — прекопула, выловленная около пос. Листвянка (W), В — прекопула из реки Ангары в черте города Иркутска (S), Г — прекопула из Иркутского водохранилища (C), Д — вид *E. viridis* из пролива Ольхонские Ворота, Е — экземпляр из Байкала, отловленный в районе мыса Уюга (C), Ё — животное из реки Ангары в черте города Иркутска (C), Ж — экземпляр из реки Енисей (S). Размерная линейка равна 1 см.

попадают в реку с течением, так как в Байкале обе они обнаружены у самого истока Ангары (Рис. 3Д). Объяснить присутствие линии С на основе имеющихся данных сложнее. Вероятнее всего, линия С *E. marituji* распространяется в южном направлении по западному берегу Байкала, а в проанализированных нами животных из поселков Листвянка и Большие Коты (общее кол-во животных 17) их просто не оказалось. Для решения этого вопроса нужны последующие исследование с большим географическим покрытием и большей выборкой.

4.3. История изучения видов *E. marituji* и *E. viridis*

В ходе данного исследования в проливе Ольхонские Ворота (Табл. 1 приложения) были исследованы три экземпляра амфипод, которые по морфологическому ключу были определены как *E. marituji*, но дальнейший анализ последовательностей показал их сходство с проанализированными другими авторами экземпляром, принадлежащим к виду *Eulimnogammarus viridis* (Dybowski, 1874) (Macdonald III et al., 2005) (Рис. 1, 5Е). Морфология этих видов схожа, и в единственном существующем ключе их отделяет один качественный признак и два количественных (Базикалова, 1945) (Табл. 2 приложения). Как и у *E. marituji*, типовое местонахождение *E. viridis* — это южный Байкал (Базикалова, 1945; Камалтынов, 2009). Оба вида распространены в истоке Ангары, имеют схожую экологическую характеристику (длина тела до 25-26 мм (Базикалова, 1945; Говорухина, 2005), глубина обитания 0-30 м, оба предпочитают галечный грунт) (Камалтынов, 2009), оба вида имеют очень схожую окраску (Рис. 5).

Но главной путаницу вносит информация о распространении этих видов в Ангаре. В ранних работах *E. viridis* часто встречаются в реке на разных ее участках (Базикалова, 1957; Голышкина, 1969; Дорогостайский, 1917; Кожов, 1931; Камалтынов, 2009) и даже в Енисее (Грезе, 1957). Но в более современных источниках (Тахтеев, 2009; Механикова, 2016), а также наших собственных сборах данный вид в реке не отмечен. В то же время, согласно данному исследованию, вид *E. marituji* широко распространен в Ангаре и Енисее. При этом в ранних исследованиях подобной картины не наблюдалось. Более того, описание вида *E. marituji* было сделано позже на 70 лет описания *E. viridis* (Базикалова, 1945). Эту ситуацию можно объяснить несколькими вариантами. Возможно, вид *E. viridis* превалировал над *E. marituji*, но с течением времени их соотношение изменилось на противоположное. В частности, это могло бы быть связано с увеличением антропогенной нагрузки в виде возведения каскада плотин и последующего формирования водохранилищ (с 1950-х по настоящее время). Другой причиной может служить их морфологическая схожесть. Первоописание *E. viridis* довольно минималистично по современным стандартам (Dybowski, 1874), что могло послужить причиной путаницы.

Дополнительной препятствием может служить тот факт, что морфологические характеристики амфипод, обитающих в реках, могут изменяться и не совпадать с характеристиками животных из озера (Базикалова, 1957). Внешний облик животных (совокупность всех морфологических признаков, в том числе не значимых для определения вида) также может кардинально изменяться, в том числе для вида *E. marituji* (Рис. 5).

Заслуживает внимания тот факт, что в современных источниках информации о фауне амфипод Енисея отмечают присутствие *E. viridis* (в публикациях указан по названию подрода как *Philolimnogammarus viridis*, а не *Eulimnogammarus viridis*) (Андрианова и др., 2018; Кравчук и др., 2021; Зуев и др., 2011). Вид *E. marituji* до описания в данной работе в Енисее ни разу замечен не был. Тем не менее, все 11 проанализированных нами животных из Енисея принадлежали к виду *E. marituji*. Существует вероятность, что животные, ранее определенные как *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) viridis*, на самом деле являются *E. marituji*. Как отмечено выше, морфологические отличия между ними очень тонкие, и речные условия могут изменить некоторые морфологические характеристики, в том числе и видоспецифичные. В дальнейших исследованиях речной фауны байкальских амфипод можно рекомендовать совмещать морфологическое определение с генотипированием образцов.

5. Выводы

В ходе данного исследования установлена генетическая структура литорального вида байкальских амфипод *Eulimnogammarus marituji* в озере Байкал, а также реках Ангаре и Енисее. Данный вид подразделяется на три генетические линии по маркерным генам цитохром с-оксидазы и 18S рРНК — центральную (С), западную (W) и южную (S). Согласно полученным данным, в реках все три линии могут обитать совместно, в то время как в Байкале они географически разделены. Рассчитанное время существования последнего общего предка *E. marituji* составило около 3,6 млн. лет назад. В реке Ангаре удалось зафиксировать гибридов разных генетических линий, предположительно первого и второго поколения, что является свидетельством в пользу генетического единства морфологического вида. На основе полученных данных, а также анализа литературных источников в данном исследовании выдвигается предположение, что амфиподы из Енисея, ранее определяемые как *Eulimnogammarus (Philolimnogammarus) viridis*, на самом деле принадлежат к виду *E. marituji*.

Благодарности

Авторы приносят благодарность коллективу НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ» за помощь в отлове и ценные советы. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-14-00128-П, <https://rscf.ru/project/22-14-00128/>.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Алексеев Я.И., Белов Д.А., Белов Ю.В. 2019. Многоканальный капиллярный генетический анализатор. Патент RU 2707949 С1.

Андрианова А.В., Якубайлик О.Э., Шанько Шанько Ю.В. 2018. Современные данные о пространственном распределении байкальских амфипод в реке Енисей и их визуализация в геоинформационной веб-системе. *Российский журнал биологических инвазий* 3: 2–19. DOI: [10.1134/S2075111718040021](https://doi.org/10.1134/S2075111718040021)

Асочаков А.А., Попова В.И. 2020. Краткий обзор поведенческих стратегий новорожденных бокоплавов (Crustacea; Amphipoda) во время внутримарсупиального этапа жизненного цикла. *Modern Science* 6-2: 14–17.

Базикалова А.Я. 1941. Материалы по изучению размножения байкальских амфипод. *Известия АН СССР. Серия биологическая* 3: 407–426.

Базикалова А.Я. 1945. Амфиподы озера Байкал. *Труды Байкальской лимнологической станции* XI: 1–440.

Базикалова А.Я. 1957. Об амфиподах реки Ангары. *Труды Байкальской лимнологической станции* XV: 377–387.

Бекман М.Ю., Деньгина Р.С. 1969. Население бентали и кормовые ресурсы рыб Байкала. В: *Биологическая продуктивность водоемов Сибири*. Москва, С. 42–47.

Бочарова Д.В., Алексеев Я.И., Волков А.А. и др. 2021. Определение максимальной длины ДНК, расшифровываемой с точностью 99%, в полимере на основе линейного N,N-полидиметилакриламида методом капиллярного гель-электрофореза с лазер-индуцируемой флуоресценцией. *Журнал аналитической химии* 76 (12): 1100–1106. DOI: [10.31857/s0044450221100042](https://doi.org/10.31857/s0044450221100042)

Букин Ю.С., Петунина Ж.В., Щербаков Д.Ю. 2018. Механизмы формирования внутривидового генетического разнообразия у байкальской эндемичной амфиподы *Gmelinoides fasciatus*: связь популяционных процессов с палеоклиматической историей озера. *Генетика* 54(9): 1036–1046.

Гаврилов Г.Б. 1949. К вопросу о времени размножения амфипод и изопод оз. Байкал. *Доклады АН СССР* LXIV: 739–742.

Говорухина Е.Б. 2005. Биология размножения, сезонная и суточная динамика населения литоральных и сублиторальных видов амфипод озера Байкал. Дисс. ... канд. биол. наук. Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия.

Гольшклина Р.А. 1969. Зообентос реки Ангары. Дисс. ... канд. биол. наук. Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия.

Гоманенко Г.В., Камалтынов Р.М., Кузьменкова Ж.В. и др. 2005. Популяционная структура байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing). *Генетика* 41(8): 1108–1114.

Грезе В.Н. 1957. Кормовые ресурсы рыб реки Енисей и их использование. *Известия всесоюзного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства*, том XIV. Москва.

Дорогостайский В.Ч. 1917. О фауне ракообразных реки Ангары. *Ежегодник Зоологического музея Российской академии наук* 21: 302–322.

Дроздова П.Б., Мадьярова Е.В., Гурков А.Н. и др. 2024. Байкальские амфиподы и их геномы, большие и малые.

Вавиловский журнал генетики и селекции 28: 317–325. DOI: [10.18699/vjgb-24-36](https://doi.org/10.18699/vjgb-24-36)

Зуев И.В., Семенова Е.М., Шулепина С.П. и др. 2011. Питание хариуса *Thymallus* sp. в среднем течении р. Енисей. *Журнал Сибирского федерального университета. Биология* 4(3): 281–292. DOI: [10.17516/1997-1389-0171](https://doi.org/10.17516/1997-1389-0171)

Камалтынов Р.М. 2009. Высшие ракообразные (Amphipoda: Gammaroidea) Ангары и Енисея. В: *Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна*. Новосибирск; II(1): 297–329.

Кожов М.М. 1931. Материалы к фауне реки Ангары. *Известия биолого-географического научно-исследовательского института* V(4): 59–67.

Кравчук Е.С., Дубовская О.П., Шулепина С.П. и др. 2021. Влияние антропогенных факторов на экосистему протоки р. Енисей в черте города Красноярска. *Журнал Сибирского федерального университета. Биология* 14(2): 208–237. DOI: [10.17516/1997-1389-0331](https://doi.org/10.17516/1997-1389-0331)

Мац В.Д., Щербаков Д.Ю., Ефимова И.М. 2011. Позднемеловая–кайнозойская история Байкальской впадины и формирование уникального биоразнообразия Байкала. *Стратиграфия. Географическая корреляция* 19: 40–61.

Механикова И.В. 2016. Амфиподы (Crustacea, Amphipoda) истока реки Ангары и Иркутского водохранилища (1978–2008 гг.). *Зоологический журнал* 95: 826–836. DOI: [10.7868/S0044513416070060](https://doi.org/10.7868/S0044513416070060)

Тахтеев В.В. 2000. Очерки о бокоплавах озера Байкал (систематика, сравнительная экология, эволюция). Иркутск: издательство Иркутского государственного университета.

Тахтеев В.В. 2009. О фауне амфипод истокового участка реки Ангара. *Байкальский зоологический журнал* 3: 9–12.

Bickford D., Lohman D.J., Sodhi N.S. et al. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 148–155. DOI: [10.1016/j.tree.2006.11.004](https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004)

Bouckaert R., Heled J., Kühnert D. et al. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLOS Computational Biology* 10: e1003537. DOI: [10.1371/journal.pcbi.1003537](https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537)

Copilaş-Ciocianu D., Sidorov D., Gontcharov A. 2019. Adrift across tectonic plates: molecular phylogenetics supports the ancient Laurasian origin of old limnic crangonyctid amphipods. *Organisms Diversity and Evolution* 19: 191–207. DOI: [10.1007/s13127-019-00401-7](https://doi.org/10.1007/s13127-019-00401-7)

Daneliya M.E., Kamal'tynov R.M., Väinölä R. 2011. Phylogeography and systematics of *Acanthogammarus* s. str., giant amphipod crustaceans from Lake Baikal. *Zoologica Scripta* 40: 623–637. DOI: [10.1111/j.1463-6409.2011.00490.x](https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2011.00490.x)

Daneliya M.E., Väinölä R. 2014. Five subspecies of the *Dorogostaiskia parasitica* complex (Dybowsky) (Crustacea: Amphipoda: Acanthogammaridae), epibionts of sponges in Lake Baikal. *Hydrobiologia* 739: 95–117. DOI: [10.1007/s10750-013-1671-x](https://doi.org/10.1007/s10750-013-1671-x)

Drozдова P., Saranchina A., Madyarova E. et al. 2022. Experimental crossing confirms reproductive isolation between cryptic species within *Eulimnogammarus verrucosus* (Crustacea: Amphipoda) from Lake Baikal. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 10858. DOI: [10.3390/ijms231810858](https://doi.org/10.3390/ijms231810858)

Drozдова P., Shatilina Z., Mutin A. et al. 2025. The curious case of *Eulimnogammarus cyaneus* (Dybowsky, 1874): Reproductive biology of a widespread endemic littoral amphipod from Lake Baikal. *Jez-A* 343(2): 285–293. DOI: [10.1002/jez.2891](https://doi.org/10.1002/jez.2891)

Dybowsky B.N. 1874. Contributions to a more detailed knowledge of the lower crustaceans of the gammarid group

found in Lake Baikal. St. Petersburg, W. Besobrasoff & Comp. DOI: [10.5962/bhl.title.9945](https://doi.org/10.5962/bhl.title.9945) (in German)

Eberle J., Ahrens D., Mayer C. et al. 2020. A plea for standardized nuclear markers in metazoan DNA taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution* 35: 336–345. DOI: [10.1016/j.trec.2019.12.003](https://doi.org/10.1016/j.trec.2019.12.003)

Englisch U., Coleman C.O., Wägele J.W. 2003. First observations on the phylogeny of the families Gammaridae, Crangonyctidae, Melitidae, Niphargidae, Megaluropidae and Oedicerotidae (Amphipoda, Crustacea), using small subunit rDNA gene sequences. *Journal of Natural History* 37: 2461–2486. DOI: [10.1080/00222930210144352](https://doi.org/10.1080/00222930210144352)

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

Geisler S.F.S. 1944. Studies on the postembryonic development of *Hyalella azteca* (Saussure). *Biology Bulletin* 86: 6–22. DOI: [10.2307/1537947](https://doi.org/10.2307/1537947)

Geller J., Meyer C., Parker M. et al. 2013. Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources* 13: 851–861. DOI: [10.1111/1755-0998.12138](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12138)

Gurkov A., Rivarola-Duarte L., Bedulina D. et al. 2019. Indication of ongoing amphipod speciation in Lake Baikal by genetic structures within endemic species. *BMC Evolutionary Biology* 19: 138. DOI: [10.1186/s12862-019-1470-8](https://doi.org/10.1186/s12862-019-1470-8)

Harrison P.W., Amode M.R., Austine-Orimoloye O. et al. 2024. Ensembl 2024. *Nucleic Acids Research* 52: D891–D899. DOI: [10.1093/nar/gkad1049](https://doi.org/10.1093/nar/gkad1049)

Hupálo K., Copilaş-Ciocianu D., Leese F. et al. 2023. Morphology, nuclear SNPs and mate selection reveal that COI barcoding overestimates species diversity in a Mediterranean freshwater amphipod by an order of magnitude. *Cladistics* 39(2): 129–143. DOI: [10.1111/cla.12520](https://doi.org/10.1111/cla.12520)

Huson D.H. 1998. SplitsTree: analyzing and visualizing evolutionary data. *Bioinformatics* 14 (1): 68–73. DOI: [10.1093/bioinformatics/14.1.68](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/14.1.68)

Kahle D., Wickham H. 2013. ggmap: Spatial Visualization with ggplot2. *R Journal* 5: 144. DOI: [10.32614/RJ-2013-014](https://doi.org/10.32614/RJ-2013-014)

Lassmann T., Sonnhammer E.L. 2005. Kalign – an accurate and fast multiple sequence alignment algorithm. *BMC Bioinformatics* 6: 298. DOI: [10.1186/1471-2105-6-298](https://doi.org/10.1186/1471-2105-6-298)

Macdonald III K.S., Yampolsky L., Duffy J.E. 2005. Molecular and morphological evolution of the amphipod radiation of Lake Baikal. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35: 323–343. DOI: [10.1016/j.ympev.2005.01.013](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.01.013)

Minton J.A.L., Flanagan S.E., Ellard S. 2011. Mutation Surveyor: Software for DNA sequence analysis. In: Theophilus B., Rapley R. (Eds.) *PCR Mutation Detection Protocols. Methods in Molecular Biology*, vol 688. Humana Press. DOI: [10.1007/978-1-60761-947-5_10](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-947-5_10)

Miralles A., Ducasse J., Brouillet S. et al. 2022. SPART: A versatile and standardized data exchange format for species partition information. *Molecular Ecology Resources* 22(1): 430–438. DOI: [10.1111/1755-0998.13470](https://doi.org/10.1111/1755-0998.13470)

Miralles A., Puillandre N., Vences M. 2024. DNA barcoding in species delimitation: From genetic distances to integrative taxonomy. In: DeSalle R. (Ed.), *DNA Barcoding*. Springer US. New York, pp. 77–104. DOI: [10.1007/978-1-0716-3581-0_4](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3581-0_4)

Naumenko S.A., Logacheva M.D., Popova N.V. et al. 2017. Transcriptome-based phylogeny of endemic Lake Baikal amphipod species flock: fast speciation accompanied by frequent episodes of positive selection. *Molecular Ecology* 26: 536–553. DOI: [10.1111/mec.13927](https://doi.org/10.1111/mec.13927)

Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. et al. 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 28: 1166–1167. DOI: [10.1093/bioinformatics/bts091](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091)

Paradis E., Schliep K. 2019. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* 35: 526–528. DOI: [10.1093/bioinformatics/bty633](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633)

Puillandre N., Brouillet S., Achaz G. 2021. ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources* 21: 609–620. DOI: [10.1111/1755-0998.13281](https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281)

R Core Team. 2024. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. URL: <https://www.R-project.org/>

Rambaut A., Drummond A.J., Xie D. et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67: 901–904. DOI: [10.1093/sysbio/syy032](https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032)

Rivarola-Duarte L., Otto C., Jühling F. et al. 2014. A first glimpse at the genome of the Baikalian amphipod *Eulimnogammarus verrucosus*. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 322: 177–189. DOI: [10.1002/jez.b.22560](https://doi.org/10.1002/jez.b.22560)

Romanova E.V., Aleoshin V.V., Kamaltynov R.M. et al. 2016. Evolution of mitochondrial genomes in Baikalian amphipods. *BMC Genomics* 17: 1016. DOI: [10.1186/s12864-016-3357-z](https://doi.org/10.1186/s12864-016-3357-z)

Saranchina A., Mutin A., Govorukhina E. et al. 2024. Genetic diversity in a Baikalian species complex *Eulimnogammarus verrucosus* (Amphipoda: Gammaroidea) in the Angara River, the only outflow of Lake Baikal. *Zoologica Scripta* 53: 867–879. DOI: [10.1111/zsc.12681](https://doi.org/10.1111/zsc.12681)

Schauberger P., Walker A. 2023. openxlsx: Read, write and edit xlsx files. URL: <https://ycphs.github.io/openxlsx/index.html>

Schliep K., Vidal-Garcia M., Solis-Lemus C. et al. 2021. tanggle: Visualization of phylogenetic networks. URL: <https://klausvigo.github.io/tanggle/>

Shavit L., Penny D., Henny M.D. et al. 2007. The problem of rooting rapid radiations. *Molecular Biology and Evolution* 24: 2400–2411. DOI: [10.1093/molbev/msm178](https://doi.org/10.1093/molbev/msm178)

Sherbakov D.Y., Kamaltynov R.M., Ogarkov O.B. et al. 1998. Patterns of evolutionary change in Baikalian gammarids inferred from DNA sequences (Crustacea, Amphipoda) *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10(2): 160–167. DOI: [10.1006/mpev.1997.0482](https://doi.org/10.1006/mpev.1997.0482)

Sherbakov Yu.D. 1999. Molecular phylogenetic studies on the origin of biodiversity in Lake Baikal. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 92–95. DOI: [10.1016/S0169-5347\(98\)01543-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01543-2)

Takhteev V.V. 2019. On the current state of taxonomy of the Baikalian Lake amphipods (Crustacea, Amphipoda) and the typological ways of constructing their system. *Arthropoda Selecta* 28: 374–402. DOI: [10.15298/arthsel.28.3.03](https://doi.org/10.15298/arthsel.28.3.03)

Wang L.-G., Lam T.T.-Y., Xu S. et al. 2020. Treeio: An R package for phylogenetic tree input and output with richly annotated and associated data. *Molecular Biology and Evolution* 37: 599–603. DOI: [10.1093/molbev/msz240](https://doi.org/10.1093/molbev/msz240)

Wickham H. 2007. Reshaping data with the reshape package. *Journal of Statistical Software* 21: 1–20. DOI: [10.18637/jss.v021.i12](https://doi.org/10.18637/jss.v021.i12)

Wickham H., François R., Müller K. et al. 2023. dplyr: A grammar of data manipulation. URL: <https://dplyr.tidyverse.org>

Wickham H., Vaughan D., Girlich M. 2023. tidyr: Tidy messy data. URL: <https://tidyr.tidyverse.org>

Wickham H., Seidel D. 2022. scales: Scale functions for visualization. URL: <https://scales.r-lib.org>

Wickham H., Sievert C. 2016. ggplot2: Elegant graphics for data analysis. New York: Springer. DOI: [10.1007/978-3-319-24277-4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4)

Yampolsky L.Y., Kamaltynov R.M., Ebert D. et al. 1994. Variation of allozyme loci in endemic gammarids of Lake Baikal. *Biological Journal of the Linnean Society* 53(4): 309–323. DOI: [10.1111/j.1095-8312.1994.tb01015.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1994.tb01015.x)

Zaidykov I.Y., Naumova E.Y., Sukhanova L.V. 2023. MtDNA polymorphism of *Macrohectopus branickii* Dybowski, 1974 (Amphipoda) – an endemic pelagic key species of Lake Baikal. In: Chaplina T. (Ed.), Complex Investigation of the World Ocean (CIWO-2023) Springer Nature Switzerland, Cham, pp. 223–229. DOI: [10.1007/978-3-031-47851-2_26](https://doi.org/10.1007/978-3-031-47851-2_26)