

Московский государственный университет  
имени М.В.Ломоносова

Биологический факультет

На правах рукописи  
УДК 597.552.2:575.852:575.86

ОСИНОВ  
Александр Георгиевич

**ЛОСОСЕВЫЕ РЫБЫ (SALMONIDAE, SALMONIFORMES):  
ПРОИСХОЖДЕНИЕ, ЭВОЛЮЦИЯ, ФИЛОГЕНИЯ, СИСТЕМАТИКА, ОХРАНА**

03.00.10 – иктиология



Диссертация на соискание ученой степени  
доктора биологических наук  
в виде научного доклада

Москва - 2004

Работа выполнена на кафедре ихтиологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук	М.В.Мина
доктор биологических наук, профессор	Л.А.Животовский
доктор биологических наук, профессор	О.Ф.Гриценко

**Ведущая организация:** институт проблем экологии и эволюции им.  
А Н Северцова РАН (Москва)

Защита состоится 19 ноября 2004 г. в 15.30 на заседании диссертационного совета Д 501.001.53 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора биологических наук в Московском государственном университете им. М.В.Ломоносова по адресу: 119992, ГСП-2, Москва, Ленинские горы, МГУ им. М.В.Ломоносова, биологический факультет, аудитория № 557.  
Факс (095)939-15-45.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического факультета Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова.

Диссертация в виде научного доклада разослана 11 октября 2004 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Т.И.Куря



**Актуальность исследования.** Лососевые рыбы семейства Salmonidae, куда входят сиги и вальки (подсем. Coregoninae), хариусы (подсем. Thymallinae) и ленки, таймени, форели, лососи и голецы (подсем Salmoninae), имеют важное экономическое, рекреационное и научное значение. У рыб это одно из немногих семейств, все представители которого являются тетраплоидами (Ohno, 1970; Васильев и др., 1991). Благодаря важному экономическому значению, высокой экологической, морфологической и генетической изменчивости, лососевые рыбы являются объектом самых разнообразных научных исследований. Тем не менее, многие основополагающие вопросы, связанные с происхождением лососевых рыб, временем и способом тетраплоидизации генома их диплоидного предка, временем дивергенции основных таксонов, филогенией и систематикой, объемом отряда Salmoniformes и надотряда Protacanthopterygii и их положением в системе Teleostei, остаются открытыми. Нет полного согласия по числу видов во многих родах и по числу родов в Salmoninae, отсутствует четкое понимание того, с чем связано огромное биоразнообразие у лососевых рыб и как оно возникло, как должна строиться система его охраны и рационального использования. Загрязнение многих водоемов, строительство дамб и других гидротехнических сооружений, широкий масштаб садкового и других способов промышленного выращивания лососевых рыб, многочисленные попытки акклиматизации и обмена между разными популяциями, нерациональный промысел и браконьерство оказывают негативное влияние на природные популяции лососевых рыб, приводя многие из них (включая отдельные уникальные формы и редкие виды) к деградации и полному уничтожению.

**Цель и задачи исследования.** Основной целью исследования, основанного на анализе изменчивости по аллозимам, ядерной и митохондриальной ДНК, является решение ряда основных проблем, связанных с происхождением, эволюцией, филогенией и систематикой лососевых рыб отряда Salmoniformes. Для этого были поставлены следующие задачи:

- определить репродуктивные (для симпатрических и парапатрических форм) и филогенетические взаимоотношения между основными представителями трех видовых комплексов (species complex) - «*Brachymystax lenok*», «*Salvelinus alpinus* – *S. malma*» и «*Salmo trutta*», возможные механизмы и время их образования и на их примере обсудить проблемы вида, видообразования и охраны основных компонентов биоразнообразия у лососевых рыб;
- провести ревизию филогенетических взаимоотношений между основными представителями Salmoninae и Salmonidae;
- провести анализ филогенетических взаимоотношений между примитивными представителями Euteleostei, уточнить объем отряда Salmoniformes и надотряда Protacanthopterygii и их положение в системе Teleostei;



- на основании палеонтологических данных провести калибровку "молекулярных" часов и представить наиболее вероятные датировки, связанные с происхождением лососеобразных и щукообразных рыб и основными этапами их эволюции.

**Научная новизна.** В работе на основании анализа генетической изменчивости проведена ревизия целого комплекса проблем, связанных с происхождением, эволюцией, филогенией и систематикой отряда Salmoniformes, включая все уровни иерархии. На популяционно-видовом уровне показано, что структура существующего биоразнообразия, выявленная с помощью генетических маркеров, значительно отличается от той, которая предполагалась исходя из данных морфологического анализа. Показано огромное влияние, которое оказали на расселение и видообразование у лососевых рыб события ледниковых периодов. Приведены примеры аллопатрического, симпатрического и гибридного способов видообразования. Проведена ревизия филогенетических и систематических отношений между основными таксонами (роды, подроды) подсемейства Salmoninae. Подтверждена филогенетическая близость *Brachymystax* и *Hucho*, а также *Parasalmo* и *Oncorhynchus*. Показано, что включение *Parahucho* в современный род *Hucho*, привело к образованию парафилитического таксона, а выделение гольца Световидова (*Salvelinus svetovidovi*) в род *Salvelinus* филогенетически не обосновано. Общее число родов в Salmoninae таким образом равно 6, а при объединении *Brachymystax* и *Hucho*, может быть сокращено до 5. Подтверждены обоснованность объединения в рамках Salmoniformes только тетраплоидных представителей лососевых рыб и сестринские взаимоотношения Salmoniformes и Esociformes Salmoniformes, Esociformes, Osmeriformes и, скорее всего, Stomiiformes, представляя собой базальные таксоны в Euteleostei и в рамках традиционной систематики могут быть объединены в надотряд Protacanthopterygii, однако объем и монофилия последнего пока строго не определены. На основании проведенного анализа определены митохондриальные и ядерные гены, которые могут быть использованы для определения молекулярных датировок. Впервые на основании «молекулярных часов», которые были откалиброваны и проверены на точность по большому числу палеонтологических данных, получены датировки для всех основных этапов эволюции лососеобразных и щукообразных рыб.

**Практическая значимость работы.** Лососевые рыбы являются важным компонентом многих водных экосистем, многие из них имеют большое экономическое и рекреационное значение. Важным условием для грамотной эксплуатации рыбных запасов и реализации различных программ по промышленному выращиванию, акклиматизации и поддерживающему воспроизводству, как и для других природоохранных мероприятий, является знание популяционно-генетической структуры вида, четкие представления об основных компонентах биоразнообразия. В работе представлен подход, показывающий как с использованием популяционно-генетического и филогенетического методов анализа могут решаться подобные проблемы. Многие из полученных в ходе выполнения данной работы данных имеют приоритетное значение, они в значительной мере меняют или дополняют современные представления о происхождении, эволюции и филогении лососевых рыб, в связи с чем могут быть рекомендованы для использования в различных

курсах по ихтиологии (и другим биологическим дисциплинам) в высших учебных заведениях

**Основные положения, выносимые на защиту.**

- 1 *Brachymystax lenok* complex представлен двумя филогенетическими линиями ("острорылым" и "тупорылым" ленками), репродуктивно изолированными в зонах симпатрии. Два филогенетических группы ("атлантической" и "дунайской") с низким уровнем интрогрессивной гибридизации представлен на территории бывшего Советского Союза *Salmo trutta* complex. *Salvelinus alpinus* - *S. malma* complex представлен тремя основными филогенетическими группами: арктического гольца Евразии, гольца Таранца и мальмы.
2. Ревизия филогенетических и таксономических отношений в подсемействе Salmoninae обосновывает выделение 6 родов *Hucho*, *Brachymystax*, *Salmo*, *Parahucho*, *Salvelinus*, *Oncorhynchus Hucho* и *Brachymystax* филогенетически близки и по аналогии с *Parasalmo* и *Oncorhynchus* (sensu Vladykov, 1963) также могут быть объединены в рамках одного рода.
3. Отряд Salmoniformes должен включать только тетраплоидные виды лососевых рыб. Сестринской группой для него являются Esociformes. Эти два отряда вместе с Osmeriformes и, скорее всего, Stomiiformes, являются примитивными представителями Euteleostei. Их объединение в рамках надотряда Profacanthopterygii возможно, однако, его объем и монофилия пока строго не определены.
4. Анализ соответствия оценок времен дивергенции таксонов, полученных по нескольким митохондриальным и ядерным генам, между собой и палеонтологическими данными, указывает на надежность молекулярных датировок. Согласно которым расхождение Esociformes и Salmoniformes произошло 85-95 млн. лет назад, расхождение трех подсемейств Salmonidae – 37-46 млн. лет назад, образование шести родов Salmoninae датируется интервалом от 4 до 30 млн лет назад, а возраст современных видов колеблется от 3-8 млн лет до 5-20 тыс. лет.

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались на научно-производственном совещании по атлантическому лососю (Рига, 1982), координационном совещании по лососевидным рыбам (Ленинград, 1983), III Всесоюзном совещании по генетике, селекции и гибридизации рыб (Тарту, 1986), III Всесоюзном совещании по лососевидным рыбам (Тольятти, 1988), V (Stockholm, Sweden, 1985) и IX (Napoli-Trieste, Italy, 1997) Европейских конгрессах ихтиологов, ежегодных совещаниях американского общества ихтиологов и герпетологов (New York, USA, 1987; Edmonton, Canada, 1995), международном симпозиуме по биохимической генетике и таксономии рыб (Belfast, Great Britan, 1991), V конгрессе европейского общества эволюционной биологии (Arnhem, the Netherlands, 1997), международном совещании по гольцу (ISACF workshop) на Камчатке (1998) и научных коллоквиумах кафедры ихтиологии МГУ.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 45 научных работ.

**Благодарности.** Автор глубоко признателен Г.Г.Новикову, А.К.Карпову, В.П.Васильеву, Е.Д.Васильевой, С.Д.Павлову, С.С.Алексееву, Д.А.Павлову, И.А.Черешневу, В.С.Лебедеву

и многим другим коллегам и друзьям, способствовавшим выполнению этой работы.

## **Материалы и методы**

### *Анализ изменчивости по аллелимам*

Для электрофоретического анализа использовались кусочки тканей мышцы, печени, сердца и глаз. Электрофорез проводили по двум основным методикам (Davis, 1964; Peacock et al., 1965) в полиакриламидном геле. Обозначение ферментных локусов и аллелей проводили в соответствии с принятой для лососевых рыб номенклатурой (Allendorf, Utter, 1979; Shaklee et al., 1990). В анализ в разное время входило 12-17 ферментных систем, кодируемых 25- 41 геном локусом. Для интерпретации наблюдаемой в изолюкусных парах изменчивости обычно использовалась модель двух дисомных локусов с одинаковыми частотами общих аллелей или проводился поиск модели наследования с помощью метода наибольшего правдоподобия и программы Isoloci (Waples, 1988). Для анализа уровня генетической изменчивости отдельных популяций использовались оценки средней гетерозиготности на локус (H), доли полиморфных локусов (P, критерий 0,99) и среднего числа аллелей на локус. Достоверность различий по частотам аллелей между выборками проверяли тестом на гомогенность. Для анализа уровня генетической дивергенции популяций рассчитывались стандартные дистанции Нея (Nei, 1972), их несмещенные оценки (Nei, 1978) и другие дистанции (Rogers, 1972; Wright, 1978, Cavalli-Sforza, Edwards, 1967). Построение деревьев проводили с помощью дистантных методов UPGMA (Sneath, Sokal, 1973), NJ (Saitou, Nei, 1987), взвешенных (WLS; Fitch, Margoliash, 1967) и невзвешенных (LS; Cavalli-Sforza, Edwards, 1967; FITCH и KITSCH; Felsenstein, 1993) наименьших квадратов и Distance Wagner (DW; Farris, 1972). Для анализа использовали пакеты программ BIOSYS-1 (release 1.7) (Swofford, Selander, 1989), SYSTAT 7.0 (SPSS Inc., 1997), PHYLIP 3.53 (Felsenstein, 1993). При анализе филогенетических взаимоотношений также применяли кладистические методы анализа. Для модели "признак = локус" (MPL) использовали парсимонию Фитча (Fitch, 1971). В одном из вариантов этого анализа (MPLdw), чтобы уменьшить вклад признаков, склонных к реверсиям и параллелизмам, использовали процедуру динамического взвешивания (Goloboff, 1993, 1997). Также использовали модель "признак = аллель" (MPA; Mickevich, Johnson, 1976; Mickevich, Mitter, 1981). Анализ проводили с помощью программ HENNING86 (Farris, 1988), PAUP 3.11 (Swofford, 1993), PEE-WEE (Goloboff, 1997). Устойчивость клад на дереве оценивали с помощью бутстрэп анализа (Felsenstein, 1985). Использовали по 1000 псевдореплик для каждого дерева. Анализ проводили в рамках пакетов программ PHYLIP и RANDOM CLADISTICS (Siddall, 1994). Анализ взаимного расположения популяций в пространстве главных координат с использованием модифицированных дистанций Роджерса проводили в рамках пакета программ NTSYS (version 1.80) (Rohlf, 1993). Анализ генного разнообразия (Nei, 1973; Chakraborty, 1980; Chakraborty et al., 1982) проводили с поправкой только на размер выборки (Nei, Chesser, 1983), используя программу GENESTAT-PC (Lewis, Whitkus, 1989). Основные данные об использованном для электрофоретического анализа материале приведены в табл. 1.

Таблица 1. Основные данные о материалах<sup>1</sup>, использованных в работе

Группа	Аллозимы					ДНК <sup>2</sup>							
	ро- дов (n)	ви- дов (n)	попу- ляций (n)	рыб (n)	локусов (n)	ро- дов (n)	ви- дов (n)	попу- ляций (n)	рыб (n)	участок, ген	длина последо- ватель- ти (н.п.)	сек- вени- рова- ние	RFLP, рестрик- таз (n)
Salvelinus alpinus- S malma complex	-	>1	53+58	911+	28-38	-	>1	83	153	<b>D-loop</b>	552	+	-
Salmo trutta complex	-	>1	25	1584	35-39	-	>1	15	30	<b>D-loop</b>	310	+	-
									121	<b>D-loop, ND-5/6, cyt-b</b>	4500	-	196
Brachymystax lenox complex	-	>1	15/27	341/1948	30/1	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmoninae	7	18	85	2922	36	8	18	20	23	<b>GH1,2C</b>	1387	+	-
						3	7	9	9	<b>GH1,2 exons</b>	636	+	-
						4	7	7	7	<b>Vtg-A,B exons</b>	813	+	-
Coregoninae	1	2	10	230	24-36	1	1	1	1	<b>GH1C</b>	1387	+	-
						1	2	2	2	<b>GH1 exons</b>	636	+	-
						1	1	1	1	<b>Vtg-A,B exons</b>	813	+	-
Thymallinae	1	2	7	60	36	1	1	1	2	<b>GH1C</b>	1387	+	-
						1	1	1	1	<b>RAG1</b>	1473	+	-
						1	1	1	1	<b>Vtg-A,B exons</b>	813	+	-
Salmoninae + Coregoninae	-	-	-	-	-	5	6	6	8	<b>5 мт-генов</b>	6690	+	-
						3	3	3	3	<b>RAG1</b>	1473	+	-
						3	4	4	4	<b>родопсин</b>	802	+	-
Esociformes	-	-	-	-	-	1	1	1	1	<b>5 мт-генов</b>	6690	+	-
						4	7	7	7	<b>RAG1</b>	1473	+	-
						2	2	2	2	<b>GH1 exons</b>	636	+	-
						1	1	1	1	<b>родопсин</b>	802	+	-
Osmeriformes	-	-	-	-	-	1	1	1	1	<b>5 мт-генов</b>	6690	+	-
						1	1	1	1	<b>GH1 exons</b>	636	+	-
						2	2	2	2	<b>родопсин</b>	802	+	-
						2	2	2	2	<b>RAG1</b>	1473	+	-

Примечание. 1- данные о видах (и генах), которые были использованы для анализа филогенетических взаимоотношений между основными представителями Teleostei и Protacanthopterygii, приведены в тексте и в подписях к рисункам. 2- мтДНК выделена жирным шрифтом, первичные данные, которые были взяты из литературных источников и GenBank, указаны курсивом. Для всех таксонов приведены длины выровненных ортогольных (и паралогичных) последовательностей

## *Анализ изменчивости митохондриальной и ядерной ДНК*

Анализ изменчивости митохондриальной ДНК (мтДНК) включал секвенирование сегмента 5'-конца контрольного участка длиной в 310 пар оснований (нп), а также RFLP анализ двух соседних сегментов, амплифицированных в ПЦР. Один из них целиком охватывал участок ND-5/6 (примерно 24 т.нп), а второй сегмент (около 21 т.нп) включал контрольный участок (D-петля) и ген цитохрома b (сyt-b). На предварительном этапе для RFLP анализа было использовано 19 рестриктаз, из которых затем были выбраны те, данные по которым были наиболее информативны. Технические детали выделения, амплификации, секвенирования и RFLP анализа приведены в статьях (Bernatchez, Osinov 1995, Осинов, Берначе, 1996; Brunner et al., 2001).

Также были использованы нуклеотидные последовательности 12 митохондриальных (мт) белок-кодирующих и шести ядерных генов, которые были взяты из банка данных DDBJ/EMBL/GenBank. Для анализа филогенетических взаимоотношений внутри и между отрядами Salmoniformes и Esociformes и времени дивергенции их основных таксонов были использованы данные по 26 видам лососеобразных, 7 видам щукообразных, трем видам корюшкообразных рыб. В анализ по определению оценок относительных и абсолютных времен дивергенции таксонов Salmoniformes и Esociformes вошли последовательности интрона C (GH-1C, GH-2C) и 6 экзонов двух паралогичных генов гормона роста (GH-1 и GH-2), экзонов двух паралогичных генов вителлогенина (Vtg-A, Vtg-B), гены RAG1 и родопсина, а также пять митохондриальных белок-кодирующих генов: субъединицы 1 (COI) и 3 (COIII) цитохромоксидазы, субъединицы 4 (ND4) и 5 (ND5) NADH дегидрогеназы и цитохром b). Выравнивание последовательностей проведено вручную и с использованием программы CLUSTAL W (Thompson et al., 1994). Участки, содержащие крупные делеции или инсерции, из анализа исключались. Для двух пар генов (Vtg-A, Vtg-B и GH1, GH2) паралогичные и ортологичные последовательности экзонов были выравнены относительно друг друга.

Филогенетический анализ методом максимального правдоподобия (ML) был выполнен с использованием пакета программ PAUP version 4.0b10 (Swofford, 2001). Для каждого набора данных был проведен поиск оптимальной мутационной модели с помощью программы Modeltest (Posada, Crandall, 1998), работающей в тандеме с PAUP. При выборе оптимальной модели предпочтение отдавали той, которая была получена на основе иерархических тестов отношения правдоподобия (hLRT criterion). Выбранная модель была использована в PAUP для эвристического поиска лучшего ML дерева. Различия между ML деревом, построенном на основании оптимальной модели эволюции, и ML деревом, для которого вводилось ограничение на топологию, оценивались с помощью SH теста (Shimodaira, Hasegawa, 1999).

Филогенетический анализ методом максимальной экономии (MP) для каждого набора данных был выполнен в PAUP с помощью эвристического поиска оптимального дерева. Делеции и пробелы, возникшие при выравнивании последовательностей, трактовались как утерянные данные. Взвешивание соотношения транзиций и трансверсий не проводилось. Непараметрический бутстрэп анализ для MP деревьев включал 1000 повторов для каждого набора данных.



Для уточнения взаимоотношений между лососеобразными и другими представителями Protacanthopterygii были использованы данные по гену RAG1, а также объединенные данные по гену RAG1 и 12 мт-генам (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, COI, COII, COIII, ATP6, ATP8, *cyt-b*), которые были проанализированы у большого числа таксонов. Номера последовательностей генов, взятых из GenBank, приведены в статье (Осинов, Лебедев, 2004).

Так как число видов, для которых одновременно есть данные по RAG1 и мт-генам, ограничено, для проведения анализа филогенетических взаимоотношений между основными таксонами (семейства, подотряды, отряды) Protacanthopterygii (и Teleostei в целом), были использованы "составные" таксоны. Каждый из них объединяет последовательность RAG1 одного вида и последовательность мт-генов другого, по возможности филогенетически близкого. При этом, объединяемые виды всегда образуют монофилетическую группу относительно всех прочих анализируемых таксонов.

Анализ объединенных данных проводили с использованием MP алгоритма, а также ML метода на основе Байесова подхода (Huelsenbeck, Ronquist, 2001) в рамках программы MrBayes 3.0. MP дерево строилось на основании анализа всех типов замен в трех положениях кодонов у гена RAG1 и в первых двух положениях кодонов у 12 мт-генов. Бутстрэп анализ включал 1000 повторов. Байесов анализ проводили с использованием двух независимых GTR+G+I моделей. Одна была использована для данных по всем типам замен в трех положениях гена RAG1 и другая - для всех типов замен в первых двух положениях кодонов у 12 мт-генов. Параметры роста цепи: 100000 генераций, 4 параллельные цепи, сохранено 1000 деревьев; первые 500 деревьев в конечный анализ не включены.

Для проверки соотношения нуклеотидного состава среди последовательностей гена RAG1 и 12 мт-генов, представленных в анализе, использовали хи-квадрат тест, имеющийся в PAUP

#### *Определение оценок относительных и абсолютных времен дивергенции таксонов*

Для оценки относительных времен дивергенции таксонов был использован метод, допускающий нестрогое постоянство скоростей молекулярной эволюции (relaxed molecular clock) для разных линий (Thorne et al., 1998; Kishino et al., 2001), реализованный в программе Multidivtime. На первом этапе для определения относительных оценок времен дивергенции таксонов использовали каждый набор молекулярных данных по отдельности: 5 мт-генов, экзоны Vtg-A, экзоны Vtg-B, GH-1C, GH-2C, экзоны GH-1, экзоны GH-2, ген родопсина, RAG1. При этом, для каждого набора данных вводились ограничения на топологию дерева (согласно предварительно установленной для дерева Salmoninae топологии) и проводился поиск оптимальной модели мутационных замен (в PAUP), которая затем была использована в Multidivtime. На втором этапе с помощью регрессионного анализа проводили проверку согласованности данных, полученных по каждому набору данных, между собой. Данные по генам, для которых было получено наибольшее соответствие, использовали для анализа по объединенным данным.

Для калибровки молекулярных часов использовали две основные калибровочные точки и одну дополнительную. Первая калибровочная точка связана с предполагаемым временем возникновения тихоокеанских форелей (*Parasalmo sensu Vladikov, 1963*) и дихотомии *Parasalmo /Oncorhynchus*. Для расчетов использовали три возможные датировки для этой точки: 5, 7 и 8 млн. лет назад – исходя из анализа палеонтологических данных (Smith, 1981, 1992; Behnke, 1992; Stearley, Smith, 1993). Вторая калибровочная точка связана с временем появления *Novumbra* и дихотомии *Novumbra/Esox* и основана на самой древней находке *Novumbra (N.oregonensis)* (Cavender, 1986), которая была обнаружена в Орегоне и датируется средним олигоценом. В расчетах использовали две датировки для этой точки (29 и 33 млн. лет назад). Дополнительная калибровочная точка связана с несколькими находками двух видов *Eosalmo*, которые датируются средним-верхним эоценом (45–40 млн. лет назад) (Сычевская, 1988; Wilson, Li, 1999). Исходя из предполагаемого положения *Eosalmo* на филогенетическом дереве *Salmonidae* (Wilson, Williams, 1992; Stearley, Smith, 1993; Wilson, Li, 1999), эта точка соответствует дихотомии *Thymallinae /Salmoninae*. Тем не менее, учитывая, что находки *Eosalmo* являются самыми древними, а положение этого таксона на филогенетическом дереве *Salmonidae* все же может быть другим, мы использовали датировку этих находок для двух возможных дихотомий, а именно для *Thymallinae/Salmoninae* и *Coregoninae/Thymallinae+Salmoninae*.

## **Глава 1. Биоразнообразие, виды и видовые комплексы у лососевых рыб.**

### **Происхождение и эволюционная истории некоторых видов.**

Популяционно-генетическая и географическая структура видов является отражением действия как современных демографических и эволюционных процессов, так и событий исторического прошлого (Nei, 1987; Slatkin, 1987; Avise, 1994). Среди последних, особое место занимают события ледниковых периодов, в результате которых ареалы большинства видов претерпевали значительную реорганизацию, многие локальные популяции (формы, виды) вымирали, другие становились изолятами или совершали значительные миграции, вступали во вторичные контакты, последствия которых, судя по имеющимся генетическим данным и результатам моделирования, могли значительно различаться (Liou, Price, 1994; Ibrahim et al., 1996; Hewitt, 1996, 1999; Templeton, 1998; Avise et al., 1998; Bernatchez, Wilson, 1998). С событиями плейстоценовых ледниковых периодов некоторые авторы (Behnke, 1972) связывают и происхождение основных компонентов существующего биоразнообразия у лососевых рыб. Хотя наличие большого числа экологически и морфологически своеобразных форм у лососевых рыб, многие из которых обитают в условиях симпатрии, признается всеми, в вопросах об их филогении и таксономическом статусе, мнения разных исследователей расходятся. С введением в практику ихтиологических исследований методов, основанных на анализе генетически детерминированных признаков, которые позволили более точно оценивать уровень репродуктивной изоляции и генетической дивергенции таксонов и их филогенетические связи, многие спорные вопросы стали постепенно решаться. В качестве генетических

маркеров до недавнего времени наиболее популярными были аллозимы, а теперь их место все чаще занимают мини- и микросателлиты и другие нуклеотидные последовательности кодирующих и не кодирующих участков ядерных и митохондриальных генов (Avisé, 1994). Решению филогенетических, систематических и таксономических проблем в рамках нескольких сложно структурированных видов, в отношении которых нередко используется термин "видовой комплекс" (species complex), были посвящены и некоторые наши исследования, основные результаты которых приведены ниже.

### ***Brachymystax lenok complex***

Берг (1948) признавал один вид ленка *B. lenok*. Ленок является чисто пресноводным видом и его расселение возможно только при наличии связей между разными речными бассейнами, поэтому даже популяции соседних рек, впадающих в океан, например, популяции тупорылого ленка Приморья, являются репродуктивно изолированными. Ареал ленка на территории России располагается от Приморья и северо-восточной части Сибири на востоке до бассейна Оби на западе. Ленок также обитает в Корее, Китае и Монголии. Выделяют две морфологические формы ленков: острорылую и тупорылую. Острорылые и тупорылые ленки в районах симпатрии морфологически (по форме костей черепа, числу жаберных тычинок), различаются достаточно четко, однако на ареале диагностические признаки у обеих форм демонстрируют клинальную изменчивость и трансgressируют между собой, что не позволяет рассматривать их в ранге двух таксономических видов (Алексеев и др., 1986). В этой связи было предложено их объединение в рамках одного комплексного вида (Мина, 1986). Для объяснения клинальной изменчивости была выдвинута гипотеза встречного расселения двух форм (Алексеев и др., 1986), согласно которой свое движение навстречу друг другу острорылый ленок начал с запада на восток, а тупорылый соответственно с востока на запад. В зонах контакта исходно морфологически близких, но частично репродуктивно изолированных форм, происходил процесс, известный как смещение признаков, вследствие чего их морфологические различия по ходу встречного движения постепенно увеличивались. Рассматривалась и гипотеза независимого (полифилитического) образования двух форм ленка в разных локальностях (Мина, Васильева, 1979; Васильева, Мина, 1980; Борисовец и др., 1983).

Анализ 15 популяций двух форм ленка (реки Пыжа, Кальджир и оз. Маркаколь (все из бассейна Оби), оз. Фролиха и р. Селенга (обе из бассейна Байкала), р. Куанда и оз. Леприндокан (объединены в одну выборку), р. Моркока, верховье Вилюя, р. Ундюлюнг (все – бассейн Лены), р. Хор (бассейн Амура), реки Самарга, Единка, Венюковка (объединены в одну выборку - северное Приморье (бассейн Японского моря)) и р. Таежная (центральное Приморье, бассейн Японского моря), тестированных по 31 аллозимному локусу, выявил следующую картину. Из 11 полиморфных локусов, два диаллельных локуса позволяют дифференцировать две формы на большей части ареала. В локусе PGI-2 у острорылого ленка фиксирован или близок к фиксации аллель \*100, а у тупорылого ленка аллель \*65. Высокая частота обоих аллелей выявлена только в популяции тупорылого ленка из центрального Приморья. В локусе SOD-3\* у тупорылого ленка фиксирован или близок к

фиксации аллель \*125, а у острорылового ленка этот локус или полиморфен (бассейн Лены, р Яна) или фиксирован аллель \*100 (бассейны Байкала и Оби). Исключение составляет популяция острорылового ленка из реки Омолон (бассейн Колымы), в которой фиксирован аллель SOD-3\*125 (Осинов и др., 1990).

В зонах симпатрии (бассейны Амура и Лены) и парапатрии (бассейн Оби) обе формы репродуктивно изолированы, в пользу чего свидетельствует наличие у них фиксированных (или близких к фиксации) альтернативных аллелей сразу в нескольких локусах. Аллозимные данные подтвердили достоверность морфологического анализа по идентификации гибридов F1. Исходя из имеющихся данных (Алексеев, 1983, 1985; Алексеев, Кириллов, 1985; Осинов и др., 1990; Алексеев и др., 2003), доля гибридов F1 в разные годы колеблется по локальностям от нуля до 13.7%. Хотя во всех зонах симпатрии гибридизация дальше гибридов F1 обычно не идет, появление здесь сразу в нескольких локусах у одной или обеих форм в качестве редкого аллеля ( $p < 0.05$ ) основного аллеля другой формы, указывает на возможность эпизодического и крайне ограниченного потока генов между ними (Осинов и др., 1990; Осинов, 1993). Интрогрессивной гибридизацией объясняется и обнаружение одного из гаплотипов мтДНК острорылой формы у тупорылового ленка (Шедько, 2003). В пользу того, что существует отбор против гибридов F1 свидетельствуют не только генетические, но и другие данные. Так в отличие от чистых форм, у которых не было отмечено проблем с оплодотворением икры и нарушений в развитии, при оплодотворении икры самки острорылой формы спермой самца тупорылой формы, около 45% яиц не оплодотворялось, а у значительной части яиц были отмечены нарушения в ходе развития (Павлов, 1993). Кроме этого отмечено, что гибриды F1 встречаются преимущественно среди особей младших возрастных групп, что также предполагает их постепенную элиминацию (Алексеев, 1983).

Анализ генного разнообразия (30 локусов, включая 19 мономорфных) у ленка выявил следующую картину. Для обеих форм, характерны низкие уровни средней гетерозиготности популяций ( $H_S$ ) и высокие значения общего генного разнообразия ( $H_T$ ). У острорылой формы значения  $H_S$  колеблются от 0.005 до 0.046 (среднее  $H_S=0.0311$ ;  $H_T=0.0726$ ), а у тупорылой от 0.000 до 0.020 (среднее  $H_S=0.0078$ ;  $H_T=0.0607$ ). У острорылового ленка доля генного разнообразия, приходящаяся на изменчивость внутри популяций, составляет около 43% от  $H_T$ , тогда как у тупорылового она не превышает 13%, что является самым низким значением этого показателя среди всех изученных видов лососевых рыб. Это указывает на то, что эффективный размер популяций ленка отдельных речных бассейнов претерпевал значительное сокращение, причем не исключено, что у тупорылового ленка первое "горлышко бутылки" прошла его предковая популяция, еще до начала ее расселения по современному ареалу. На различия между популяциями внутри речных бассейнов у тупорылового ленка приходится около 0.16% от  $H_T$ , а у острорылового около 4.6%, что свидетельствует о наличии сейчас или в недалеком прошлом генного обмена между ними. Большую часть компоненты, приходящейся на различия между популяциями, составляют различия между речными бассейнами (52.6% у острорылового ленка и 87% у тупорылового). Если рассматривать обе формы в рамках одного вида, то внутри популяций сосредоточено

лишь 23,9% от  $H_T$ , на различия между формами приходится 28,8%, на различия внутри (2,1%) и между речными бассейнами - 45,2% от общего генного разнообразия

Для обеих форм характерен высокий уровень генетической дивергенции популяций. Значения оценок стандартных генетических дистанций  $D_{ST}$  между популяциями тупорылой формы колеблются от 0,000 до 0,139, среднее - 0,067, а у острорылой формы от 0,000 до 0,097, среднее значение - 0,050. Дистанции, рассчитанные между популяциями двух форм, колеблются от 0,042 до 0,195, среднее - 0,103. И хотя все исследованные популяции каждой из двух форм, образуют на UPGMA дендрограмме свой кластер, данная топология не устойчива. Так например, если предположить, что появление уникального аллеля PGM-2\*120, который обнаружен (и фиксирован) только в одной выборке ( $p$  Таежная,  $n=6$ ), связано с конформацией нативной белковой молекулы аллеля PGM-2\*100, то при анализе данных без учета аллеля PGM-2\*120 порядок кластеризации ряда выборок существенно меняется (Осинов, 1993). Тем не менее, аллозимные данные находят более экономное объяснение, если исходить из того, что каждая из двух форм ленка представляет собой монофилитическую линию, а основы постпопуляционных изолирующих механизмов между ними возникли в период их длительной географической изоляции, до начала встречного расселения двух форм (Осинов и др., 1990; Осинов, 1993). Приблизительное время дивергенции двух форм ленка оценено по аллозимным данным в  $0,79 \pm 0,38$  млн. лет (Осинов, 1993) и в 1-2 млн лет по мтДНК данным (Shed'ko et al., 1996). Учитывая, что расселение ленка на ареале могло происходить только пресноводным путем, а также то, что судя по аллозимным данным, расселение на значительные расстояния могло быть достаточно быстрым, то есть связь образовывалась сразу между несколькими речными бассейнами, логично связать это с образованием грандиозных приледниковых водоемов, которые по мнению некоторых авторов (Волков, Волкова, 1981; Гроссвальд, 1999), объединяли многие речные системы Сибири в ледниковое и послеледниковое время.

На основании анализа электрофоретических (Осинов и др., 1990) и морфологических данных, была выдвинута гипотеза множественного гибридного видообразования (Мина, 1992). Согласно этой гипотезе, предполагается, что в ходе встречного расселения двух форм, в результате их первого контакта, предположительно в бассейне Лены, образовались новые гибридные виды тупорылого и острорылого ленка, которые репродуктивно изолированы не только между собой (в условиях симпатрии), но и от исходных (родительских) форм. Таким образом, и тупорылая и острорылая формы представлены несколькими безмерными, в понимании Майра (1974), видами. Если в одном из речных бассейнов, где во вторичный контакт вступили две формы ленка, гибридизация носила локальный характер, то можно было бы ожидать одновременное присутствие в пределах одного бассейна не только двух вновь образованных "гибридных" форм тупорылого и острорылого ленка, но и хотя бы одной из двух родительских форм. Наиболее вероятно было бы обнаружить подобную ситуацию в бассейне Лены, учитывая ее размеры, и то, что именно здесь, скорее всего, впервые пришли во вторичный контакт две "генетически чистые" родительские формы тупорылого и острорылого ленка. Судя по уровню генетической дивергенции, все тестированные в бассейне Лены популяции

тупорылылого и острорылого ленков из четырех зон симпатрии, максимальное расстояние между которыми превышало 1.5 тыс км, представляют только одну тупорылую и одну острорылую формы. Полностью отвергнуть гипотезу множественного гибридного видообразования сложно, однако сделанные на ее основе предсказания пока не находят подтверждения (Осинов, 1993).

Таким образом, все разнообразие популяций ленков, скорее всего, может быть сведено в рамках двух монофилитических линий. Учитывая, что на всех участках ареала, где острорылые и тупорылые ленки обитают симпатрично, они репродуктивно изолированы, есть основания рассматривать их в ранге биологических видов (Осинов и др., 1990; Осинов, 1993). О таксономической самостоятельности двух форм свидетельствуют и полученные в последнее время морфологические данные, на основе которых острорылый ленок диагностируется как *B. lenok s. stricto*, а тупорылый – как *B. tumensis* (Шедько, 2003).

### ***Salvelinus alpinus* - *S. malma* complex**

Гольцы рода *Salvelinus* одна из наиболее спорных в таксономическом отношении группа лососевых рыб (Behnke, 1984, 1989; Савваитова, 1989; Глубоковский, 1995; Черешнев и др., 2002; Vasil'eva, Stygar, 2000). Согласно Бергу (1948, 1949) на территории бывшего Советского Союза обитает 12 видов гольцов. Другие авторы признают валидность от 2 (Савваитова, 1989) до 15-17 видов (Викторовский, 1978; Глубоковский и др., 1993; Глубоковский, 1995; Черешнев и др., 2002). На первом этапе работ нами была проанализирована аллозимная изменчивость по 34 локусам в 24 популяциях (включая симпатрические формы) арктического гольца из Норвегии, Финляндии, Мурманской области и Таймыра, а также использованы литературные данные еще по 29 европейским популяциям (Осинов и др., 1996). Из 34 локусов, полиморфными оказались только 7, причем только в трех локусах (sMDH-3,4\*, EST-2\*) альтернативные аллели имели высокие частоты (от нуля до 1). Для арктического гольца Евразии характерны низкие значения оценок абсолютного генного разнообразия ( $H_S=0.023$  и  $H_T=0.0372$ ). Какой-либо географической структурированности на этом огромном участке ареала у него не выявлено. Из 39.3% общего генного разнообразия, приходящегося на различия между популяциями, 2.8% приходится на различия между выборками внутри речных бассейнов, включая различия между симпатрическими формами, 21.2% – на различия между популяциями разных речных бассейнов внутри регионов и 15.3% – на различия между популяциями разных географических регионов. Низкий уровень аллозимной изменчивости и относительно слабая генетическая дифференциация популяций арктического гольца на разных участках ареала от Британских до Новосибирских островов отмечалась и другими исследователями (Ferguson, 1981; Andersson et al., 1983; Hindar et al., 1986; Политов и др., 1998).

Последующий анализ гольцов из семи забайкальских озер, в дополнение к трем таймырским, показал, что уровни аллозимной изменчивости и генетической дифференциации популяций из этого региона также низкие (Осинов, 2002). Это касается и симпатрических форм гольца из 8 озер, включая голец Дрягина и боганидскую палию,

которые ранее были описаны как разные виды, хотя, судя по достоверным различиям по частотам аллелей некоторых локусов, некоторые формы в той или иной мере репродуктивно изолированы. Обособленное положение занимает популяция карликового гольца из оз. Гольцовое, в которой близок к фиксации уникальный аллель GPI-B1\*75, однако появление этого аллеля, скорее всего, связано с мутацией *de novo*. Данные анализов по аллозимам (Осинов, 2002) и мтДНК (Brunner et al., 2001) свидетельствуют о том, что заселение Таймыра и Забайкалья происходило в послеледниковое время, скорее всего, из одного ледникового рефугиума, а образование разных форм гольца в исследованных нами озерах шло на основе симпатрического формообразования.

При включении в анализ популяций северной и южной форм мальмы характер дифференциации популяций на ареале *S. alpinus* - *S. malma* complex резко меняется (Crane et al., 1994; Осинов, Павлов, 1998). Так, на UPGMA дендрограмме популяции северной формы мальмы Камчатки и популяции южной формы мальмы Сахалина образуют два сестринских кластера, а все популяции арктического гольца Евразии объединяются в третий кластер (бутстрэп поддержка 85%) (Осинов, Павлов, 1998). При этом для северной формы мальмы, как и для арктического гольца, характерны низкие уровни аллозимной изменчивости и генетической дифференциации популяций. Чтобы выяснить некоторые вопросы, связанные с происхождением северной формы мальмы и особенностями ее расселения по ареалу, был собран и проанализирован материал по нескольким популяциям Чукотки и Камчатки, включая мальму и белого гольца из бассейна р. Камчатки (согласно Глубоковскому (1977) это - разные виды), которые были сопоставлены с аллозимными данными для 9 популяций северной формы из Северной Америки (Everett et al., 1997). Основные результаты этого анализа (Осинов, 1999; Осинов, 2002) следующие. Из 38 аллозимных локусов, включенных в анализ, полиморфизм выявлен в 17 локусах, однако только в 9 локусах редкие аллели имели частоты выше 0.05. Согласно данным анализа генного разнообразия (использованы только полиморфные локусы), большая часть генного разнообразия сосредоточена в популяциях (в среднем 90.4%). На различия между популяциями внутри регионов приходится 7.12% и между регионами, а это Камчатка, Чукотка и Северная Америка, приходится только 2.48% от общего генного разнообразия. На дендрограммах какая-либо географическая структура не выявляется. Это указывает или на возможность генного потока между регионами (данные по мечению этого не исключают) и/или на то, что время дивергенции популяций северной мальмы мало. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что все современные популяции северной формы мальмы ведут свое начало от одной генетически обедненной предковой популяции, которая расселилась по ареалу в послеледниковое время из одного ледникового рефугиума, а не двух, как это предполагали другие авторы. Для мальмы, каменного и белого гольца из бассейна р. Камчатки характерен низкий уровень генетической дифференциации и их происхождение, скорее всего, связано с симпатрическим формообразованием. Имеющиеся генетические данные не позволяют однозначно ответить на вопрос об уровне их репродуктивной изоляции. При сравнении с северной формой мальмы у южной формы значительно выше уровни аллозимной изменчивости и

генетической дифференциации популяций. Например, согласно анализу генного разнообразия, проведенного по 19 полиморфным локусам, для популяций южной формы мальмы Сахалина и Курильских островов, характерны высокие значения абсолютных оценок ( $H_S=0.1319$  и  $H_T=0.1642$  против  $H_S=0.0367$  и  $H_T=0.0406$  у северной формы) (Салменкова, Омельченко, 2000; Осинов, 2002). На различия между популяциями Курильских островов и Сахалина приходится 8.36% и на различия между популяциями внутри регионов – 11.26% от  $H_T$  (Салменкова, Омельченко, 2000).

Для уточнения взаимоотношений между разными формами арктического гольца и мальмы, мы провели сравнительный анализ своих и литературных данных по 28 аллозимным локусам, тестированных в 49 популяциях с разных участков ареала *S. alpinus-S. malma* complex, добавив к ним одну популяцию кунджи *S. leucotaenidis* в качестве аутгруппы (Осинов, 2001). У южной формы мальмы достаточно четко обособлены три региональные группы популяций (южная Аляска, Япония, Сахалин + Курильские острова). Уровень генетической дивергенции северной формы мальмы от южной ( $0.054 < D_{Nei} < 0.150$ , среднее –  $0.086$ ) сопоставим с уровнем дивергенции между тремя группами южной формы мальмы ( $0.047 < D_{Nei} < 0.174$ , среднее –  $0.096$ ). По уровню генетической дивергенции северная форма мальмы приблизительно равноудалена от южной формы из Северной Америки и южной формы с Сахалина и Южных Курильских островов. Генетические дистанции между мальмой и арктическим гольцом колеблются от  $0.089$  до  $0.218$ , среднее –  $0.137$ , а между арктическим гольцом и гольцом Таранца от  $0.065$  до  $0.129$ , среднее –  $0.097$ . Уровень генетической дивергенции представителей *S. alpinus-S. malma* complex от *S. leucotaenidis* значителен ( $0.173 < D_{Nei} < 0.401$ , среднее –  $0.291$ ). Как и ранее (Crane et al., 1994, Осинов, Павлов, 1998) генетически наиболее близкой к *S. leucotaenidis* оказалась мальма Японии ( $D=0.173-0.236$ ) и Сахалина ( $D=0.187-0.244$ ).

У основания всех филогенетических деревьев (NJ, DW и UPGMA: при построении были использованы разные генетические дистанции) находится южная форма мальмы из Японии, которая, скорее всего, ближе всех к предполагаемому общему предку *S. malma-S. alpinus* complex. На всех деревьях популяции арктического гольца Евразии и из штата Мэн в Северной Америке образует один кластер, который объединяется с кластером гольца Таранца, представленного популяциями из Северной Америки и с Чукотки. На UPGMA дереве к этому кластеру присоединяется большой кластер, в который входят северная форма мальмы, а также южная мальма из Северной Америки, Сахалина и Курил. На NJ дереве к кластеру, объединяющего арктического гольца Евразии и гольца Таранца примыкает кластер южной мальмы из Северной Америки, затем идет кластер северной мальмы, а после нее южная мальма Сахалина и Курил. Если на UPGMA дереве две формы мальмы, с одной стороны, и арктический гонец с гольцом Таранца, с другой, представляют две, предположительно, монофилетические группы в *S. alpinus - S. malma* complex (см. также Осинов, Павлов 1998), то по NJ дереву можно говорить лишь об монофилитичности отдельных групп (арктического гольца Евразии вместе с гольцом из штата Мэн, гольца Таранца, а также трех групп южной мальмы (по отдельности)), что частично совпадает с результатами филогенетического анализа 9 популяций мальмы и арктического гольца из



Европы и Северной Америки, проведенного по аллозимным данным Крайн с соавторами (Crane et al., 1994) Хотя основные клады присутствуют на UPGMA и NJ деревьях, их бутстрэп поддержка относительно низкая (от 30 до 75%) (Осинов, 2001).

Необходимо отметить, что среди включенных в сравнительный анализ форм, одним из наименее изученных остается голец Таранца из Азии Согласно Черешневу с соавторами (2002) его ареал в Азии в основном ограничен Чукоткой, хотя не исключено, что он доходит и до Новосибирских островов (Глубоковский, Черешнев, 1981) В этом отношении интересны данные аллозимного анализа гольца из оз Улахан-Силиян-Кюель в верховьях р Яны и карликового гольца из чукотского оз. Найвак, для сравнения с которыми были использованы данные по гольцам Таймыра и Забайкалья (Осинов, 2002) и данные по гольцу Таранца из оз Аччен (Омельченко и др., 1998) У гольца из оз. Улахан-Силиян-Кюель присутствуют аллели, которые характерны для чукотских гольцов, но полностью отсутствуют у арктического гольца Евразии На UPGMA дендрограмме, все тестированные нами популяции гольцов делятся на два кластера в один объединяются все популяции Таймыра и Забайкалья, а во второй - две популяции с Чукотки и голец из бассейна Яны Полученные данные свидетельствуют о наличии двух филогенетических групп гольцов, одна из которых представлена арктическим гольцом Евразии, а другая гольцом Таранца. Гонец из Яны морфологически ближе к гольцам из Забайкалья и Таймыра, а генетически ближе к чукотским популяциям гольца Таранца (Осинов и др., 2003) Тем не менее, этот голец несет в себе черты обеих групп, что указывает на его филогенетически "промежуточное" положение между гольцом Таранца и арктическим гольцом Евразии или имевшую место в послеледниковое время интрогрессивную гибридизацию. По аллозимным данным к гольцу Таранца филогенетически близок и голец из оз Черечень (бассейн Колымы). По данным анализа мтДНК популяции гольца из бассейна Колымы также относятся к группе гольца Таранца (Радченко, 2004). Важно отметить, что точного соответствия между данными генетического и морфологического анализов в отношении принадлежности отдельных популяций и форм гольцов (и мальмы) к определенной филогенетической группе нет (Осинов и др., 2003, Гудков и др., 2003)

В результате анализа секвенированного фрагмента контрольного участка мтДНК длиной 552 нп у 159 особей, взятых из 83 популяций, было выявлено 69 гаплотипов (Brunner et al., 2001). На филогенетических деревьях обособленное положение, как и следовало ожидать, заняли гаплотипы, выявленные у *S. namaycush*, *S. leucotaenis*, *S. fontinalis*. Гаплотипы, выявленные в популяциях, у форм и видов, которые обычно включаются в *S. alpinus* - *S. malma* complex, образовали 5 клад, которые объединяются в одну большую кладу, по отношению к которой *Salvethymus svetovidovi* является сестринской группой. Отдельные клады (и соответствующие им филогенетические группы) образовали все популяции мальмы (Bering group), популяции арктического гольца из штата Мэн и провинции Квебек в Северной Америке (Acadia group), популяции арктического гольца из Центральной и Северной Европы (Atlantic group), популяции арктического гольца Таймыра и Забайкалья (Siberia group), популяции арктического гольца из Северной Америки (за исключением популяций из шт. Мэн и Квебека), а также голец Таранца из реки

Сеутакан и два вида (*S. elgyticus* и *S. boganidae*) из озера Эльгыгыттын на Чукотке (Arctic group). Три группы гаплотипов (Acadia, Atlantic, Siberia) филогенетически близки и образуют одну супергруппу (Brunner et al., 2001). В целом, основные филогенетические группы, выделенные по данным анализов мтДНК и аллозимов, совпали (Осинов, 2001; Brunner et al., 2001). Отметим, что согласно данным обоих анализов, группа гольца Таранца представлена популяциями арктического гольца, обитающими восточнее р. Маккензи в Северной Америке (а также, популяциями из залива Аляска (мтДНК данные по ним отсутствуют)), на Чукотке, включая два вида гольцов из оз. Эльгыгыттын (аллозимные данные есть, но они не надежны), а также в бассейнах Колымы и Яны. Основные различия в результатах анализов по аллозимам и мтДНК следующие. По аллозимным данным популяции арктического гольца Европы, Таймыра и Забайкалья образуют одну группу, тогда как по мтДНК данным их две (Atlantic, Siberia). По мтДНК данным северная и южная формы мальмы четко не дифференцируются (Bering group), а по аллозимным данным они четко обособлены. По аллозимным данным гонец Таранца является сестринским таксоном для арктического гольца Евразии (включая популяции из Мэн и Квебека в Северной Америки), а по мтДНК данным он является сестринским таксоном для всей клады, включающей мальму и арктического гольца Евразии (вместе с популяциями из Мэн и Квебека). Учитывая особенности эволюции ядерной и митохондриальной ДНК, небольшой эволюционный возраст большинства таксонов *S. alpinus*-*S. malma* complex, а также то, что многие из них вступали во вторичный контакт и несут следы интрогрессивной гибридизации, последствия которой проявляются по разным генетическим признакам по-разному, некоторые несовпадения по данным разных анализов вполне ожидаемы. Если попытаться оценить время дивергенции между основными филогенетическими группами в рамках *S. alpinus*-*S. malma* complex, приняв, что скорость молекулярной эволюции мтДНК (и контрольного района) у лососевых рыб составляет 1% за 1 млн лет, то мы получим диапазон от 1.2 до 2.5 млн лет, однако, необходимо отметить, что с учетом высокого уровня предкового полиморфизма, полученные оценки времени дивергенции некоторых таксонов могут быть существенно завышены. Возраст длинноперой палии *S. svetovidovi* составляет около 3 млн лет, что соответствует представлениям некоторых авторов (Черешнев, Скопец, 1993).

Хотя полученные генетические данные (Осинов, 2001; Brunner et al., 2001) выявили достаточно непротиворечивую схему филогенетических взаимоотношений между разными представителями *S. alpinus* - *S. malma* complex, вопрос о таксономическом статусе отдельных форм и филогенетических групп остался во многом открытым. Учитывая, что на всех участках ареала северная и южная формы мальмы репродуктивно изолированы от гольца Таранца, мальма соответствует статусу биологического вида. Данных, по которым можно было бы судить о наличии зон вторичного контакта между северной и южной формами мальмы и об их репродуктивных взаимоотношениях, очень мало (Behlke, 1980, 1984; Гриценко и др., 1998; Шедько, 2002; Омельченко и др., 2002), а для разных групп южной формы их практически нет. Филогенетические взаимоотношения между разными формами (и группами) мальмы также до конца не установлены, в связи с чем обсуждать

их таксономический статус пока преждевременно Нет данных о зонах симпатрии и репродуктивных взаимоотношениях между арктическим гольцом Евразии и гольцом Таранца, за исключением некоторых данных об имевшей место интрогрессивной гибридизации между представителями этих двух групп в Северной Америке (Behnke, 1980, Kornfield, Kirchie, 1994, Wilson et al., 1996). Отметим, что если новые генетические данные позволят однозначно установить, что голец Таранца является сестринским таксоном не для арктического гольца Евразии, а для одной из форм мальмы или для всей клады (мальма+ арктический голец), то это будет серьезным аргументом в пользу его видового статуса Видовой статус белого гольца из бассейна р Камчатки более чем проблематичен, поскольку по аллозимным и мтДНК данным уровень генетической дивергенции между ним и мальмой очень низкий, обе формы относятся к одной филогенетической группе, а репродуктивная изоляция между ними строго не доказана. Это касается и многих других симпатрических форм гольцов, которые принадлежат к одной филогенетической группе и строгая изоляция между которыми не доказана В отношении боганидской палии с Таймыра и из оз Эльгыгыттын, которых некоторые авторы сводят в рамках одного вида (Глубоковский и др., 1993; Черешнев и др., 2000) отметим, что согласно данным анализа мтДНК, они относятся к разным филогенетическим группам (Brunner et al., 2001; Радченко, 2003) То есть, если в оз Эльгыгыттын не произошел перенос мтДНК от малоротой палии к боганидской в результате интрогрессивной гибридизации, объединение "боганидских" палий с Таймыра и из оз Эльгыгыттын следует признать ошибочным (Осинов, 2002)

### **Кумжа и филогенетически близкие ей виды (*Salmo trutta complex*)**

Ареал кумжи охватывает огромную территорию от бассейна Белого моря на северо-востоке и бассейна Аральского моря на юго-востоке до побережья Атлантического океана (от Северной Африки до Исландии) (Берг, 1948; Elliott, 1994) На территории бывшего Советского Союза Бергом (1948) у кумжи выделено 6 подвидов. Один, *Salmo trutta trutta*, населяет бассейны Баренцева, Балтийского и Белого морей. Второй, *S. trutta labrax*, обитает в Черном море Третий, *S. trutta caspius* - в Касписком. В бассейне Аральского моря, в частности в бассейне Амударьи, Берг выделил жилую форму (форель) в подвид *S. trutta oxianus*, а проходную форму - в подвид *S. trutta aralensis* Кроме этого, в отдельный подвид он выделил форель из оз Эйзенам (*S. trutta ezenami*), а форель из оз Севан - в отдельный вид *S. ischchan* с несколькими экологическими формами. Некоторые авторы до сих пор используют эту систему Берга, в том числе и при разработке стратегии охраны отдельных популяций и форм (Павлов и др., 1994).

Данные аллозимного анализа, проведенного по 29 локусам, выявили высокий уровень изменчивости в большинстве популяций кумжи северных и южных бассейнов ( $H_S=0.055-0.104$ ) и их значительную генетическую дифференциацию (Осинов, 1984, 1989, 1990а, б) На этом фоне крайне низкий уровень аллозимной изменчивости у 4-х форм севанской форели ( $H_S=0.000-0.002$ ) и их слабая генетическая дифференциация (достоверные различия между несколькими формами выявлены по частотам аллелей 1 локуса; при этом  $D_{Ne}$  между всеми формами равны 0.000) указывали на то, что севанская форель прошла

узкое "горлышко бутылки", причем это произошло до начала ее экологической дифференциации в озере (Осинов, 1989, 1990а). Аллозимные данные явно свидетельствовали о несостоятельности гипотезы Владимирова (1944), согласно которой происхождение разных форм севанской форели связано с несколькими этапами изоляции озера от его притоков и соответственно поэтапном вселении кумжи в озеро. Они также не подтвердили мнение Рухяна (1984) о том, что алабалах – это ручьевая форма кумжи, вторично вселившаяся в бассейн озера уже после образования севанской форели. Аллозимные данные подтвердили мнение некоторых авторов о симпатрическом формообразовании севанских форелей (Дадибян, 1971, 1986; Дорофеева, Рухян, 1982), хотя предполагаемые этими авторами порядок и время образования разных форм, не совсем верны (Осинов, 1990а). Низкий уровень аллозимной изменчивости ( $H_S=0.011$  и  $0.024$ ), при высоком уровне генетической дивергенции ( $D_{Nei}=0.074$ ), был выявлен между популяциями двух притоков Амударьи, что также было объяснено прохождением этими популяциями горлышка бутылки (Осинов, 1990б). Если для коррекции эффекта "горлышка бутылки" (Nei et al., 1975; Chakraborty, Nei, 1977) в качестве исходного уровня средней гетерозиготности в этих популяциях принять его значение в куринской популяции, значение  $D_{Nei}$  резко падает (Осинов, 1990б). В этой связи, определение истинного уровня генетической дивергенции двух аральских популяций кумжи и времени их изоляции становится проблематичным.

Результаты проведенного анализа по аллозимам (36 локусов) и мтДНК 18 популяций кумжи из бассейнов северных (Белое, Балтийское, Баренцево) и южных (Черное, Каспийское, Аральское) морей и одной из форм севанской форели (гегаркуни) показали следующее (Bernatchez, Osinov, 1995; Осинов, Берначе, 1996). Все популяции кумжи северных морских бассейнов имеют только "атлантические" (Atlantic), а все популяции кумжи южных морских бассейнов – "дунайские" (Danubean) мт-гаплотипы и могут быть соответственно отнесены к двум из пяти, ранее выявленных на ареале кумжи, филогенетическим группам (еще Adriatic (AD), Marmoratus (MA) и Mediterranean (ME)) (Bernatchez et al., 1992). Значительный уровень генетической дивергенции между группами и наличие у каждой группы нескольких молекулярных апоморфий, свидетельствуют в пользу их монофилитичности (Giuffra et al., 1994; Bernatchez, Osinov, 1995). Данные по мтДНК указывают на то, что их образование шло в условиях аллопатрии, и их изоляция была длительной. Средний уровень дивергенции "атлантической" и "дунайской" групп значителен и составляет около 1.8% дивергенции нуклеотидных последовательностей мтДНК и  $D_{Nei}=0.1$  по аллозимам (Осинов, Берначе, 1996). На обеих UPGMA дендрограммах, построенных по дистанциям Нея (для аллозимов) и оценкам среднего числа нуклеотидных замен (для мтДНК), четко выделяются два основных кластера, один из них объединяет все "северные", а другой – все "южные" выборки кумжи. Порядок объединения части выборок внутри каждого кластера по аллозимным и мтДНК данным не совпадает. Севанская форель отдельного кластера не образует; по аллозимным данным она объединяется с черноморскими выборками, а по мтДНК данным – с каспийскими. Популяции каждого морского бассейна отдельных кластеров не образуют. На бутстрэп NJ

дереве, построенном по данным для отдельных гаплотипов, каждая из двух клад, объединяющая только AT и DA гаплотипы соответственно, имеет 100% поддержку. Относительно высокую бутстрэп поддержку имеет клада, объединяющая 6 гаплотипов, которые выявлены только в бассейне Черного моря (78%), и два гаплотипа севанской форели (70%) Два последних гаплотипа различаются одной нуклеотидной заменой и объединяются в кладу с несколькими каспийскими гаплотипами, минимальное различие от которых составляет 1-2 замены Эти данные еще раз подтверждают то, что обособление предковой популяции севанской форели от каспийских популяций (бассейна Куры), произошло относительно недавно (в поздне- или послеледниковое время). Если по мтДНК данным число частных (то есть выявленных в одной локальности) гаплотипов составляет 83%, то число частных аллелей составляет 9%. Хотя число аллелей, выявленных соответственно только в "атлантической" или в "дунайской" группе, значительно, только в одном локусе MEP-1\* у этих групп фиксированы альтернативные аллели. Это еще раз указывает на то, что скорость мутирования и фиксации замен, как и время достижения реципрокной монофилии, по мтДНК и аллозимным локусам значительно различаются (Nei, 1987; Avise, 1994). Учитывая, что эффективный размер популяций по мтДНК в среднем в 4 раза (при равном соотношении полов) меньше, чем по ядерной ДНК, митохондриальный геном сильнее подвержен дрейфу генов (Birky et al., 1983). В этом отношении интересны данные по двум аральским выборкам. По аллозимным и мтДНК данным, уровень генетической дивергенции между двумя выборками значителен. Для обеих выборок характерен низкий уровень гетерозиготности по аллозимам и одновременно высокий уровень нуклеотидного разнообразия по мтДНК, причем если в одной из них (р Софидарон) различия между одним (условно предковым) и 3 другими гаплотипами составляют 1 замену, то во второй (р. Сардармиана) различия между 5 гаплотипами составляют от 1 до 4 мутационных шагов В качестве объяснения подобного несоответствия между данными по аллозимам и мтДНК было высказано следующее предположение. Время дивергенции двух популяций значительно, а "горлышко бутылки", которое также имело место относительно давно, вероятно прошла только популяция р Сардармиана ( $H_s=0.011$ ), а низкий уровень гетерозиготности по аллозимам в популяции Софидарон ( $H_s=0.024$ ) частично может быть объяснен выборочной ошибкой ( $n=14$ ), включая так называемый эффект Аллендорфа-Феллса (Allendorf, Phelps, 1981). Если предположить, что скорость мутирования мтДНК в этих популяциях (или, по крайней мере, в одной (р.Сардармиана)) по каким- то причинам была высокой, то прошедшего после "голышка бутылки" времени оказалось достаточным для восстановления высокого уровня изменчивости по мтДНК, но не по аллозимам (Осинов, Берначе, 1996).

Анализ генного разнообразия, проведенного по 39 аллозимным локусам (включая 12 мономорфных), показал следующее. Значения  $H_s$  и  $H_t$  составили: для популяций кумжи северных морских бассейнов 0.077 и 0.096, для популяций южных морских бассейнов (севанскую форель объединили с каспийскими популяциями) – 0.055 и 0.087 и для всех популяций кумжи в целом – 0.065 и 0.122 соответственно. При этом для "атлантической" группы на различия между популяциями одного морского бассейна пришлось 7.4%, а на

различия между популяциями разных морских бассейнов – 12,4% от общего генного разнообразия. Соответствующие оценки для “дунайской” группы составили 28,9 и 7,9%, а для всех популяций кумжи соответственно – 13,6 и 7,4%. На различия между “атлантической” и “дунайской” группами пришлось 25,7% от общего генного разнообразия. В целом, полученные генетические данные однозначно указали на то, что кумжа на территории бывшего Советского Союза представлена двумя филогенетическими группами, причем следов интрогрессивной гибридизации между ними по мтДНК данным не выявлено, а по аллозимным данным они минимальны. Наибольшее число генетически уникальных популяций сосредоточено в бассейнах Черного, Каспийского и Аральского морей, причем их нельзя идентифицировать как разные подвиды, так как некоторые филогенетически близкие популяции распределены по разным морским бассейнам.

Сравнительный анализ данных по аллозимной и митохондриальной изменчивости, выявленной нами и другими авторами, а также анализ геологических и геоморфологических данных (Квасов, 1975; Пуннинг, Раукас, 1985), позволили не только уточнить число и вероятное расположение некоторых ледниковых рефугиумов кумжи, пути послеледникового расселения и места вторичных контактов представителей разных филогенетических групп, но и лучше понять эволюционную историю всей группы, именуемой *Salmo trutta* complex (Осинов, Берначе, 1996). Значительные уточнения претерпела гипотеза о происхождении “анцестральной” и “современной” форм (обе принадлежат к “атлантической” группе) (Ferguson, Fleming, 1983; Hamilton et al., 1989). Так в ледниковое время у “атлантической” группы было не два, а минимум три ледниковых рефугиума. Помимо рефугиума, который располагался южнее современной береговой линии Балтийского моря, откуда впоследствии вышла “современная” форма (диагностический признак – фиксация LDH-5\*90 аллеля), и второго рефугиума, который располагался где-то южнее Британских островов, откуда вышла “анцестральная” форма (Hamilton et al., 1989), был еще один рефугиум на Иберийском полуострове, а также, возможно, еще один рефугиум, который располагался к юго-востоку от бассейна Белого моря. Для кумжи каждого из трех последних рефугиумов характерно специфическое сочетание аллелей некоторых локусов, а также предполагается изначальное отсутствие аллеля LDH-5\*90. Наличие рефугиума на Иберийском полуострове подтверждено последними генетическими данными (Weiss et al., 2000; Bouza et al., 2001; Presa et al., 2002). Таким образом, заселение северных морских бассейнов в послеледниковое время шло из нескольких рефугиумов, хотя вероятность расселения на север кумжи из “иберийского” рефугиума оценивается близкой к нулю (Weiss et al., 2000). Интересны результаты вторичных контактов, которые мы можем оценить по существующим генетическим данным (табл 2).

Согласно данным сравнительного анализа аллозимных данных, в шведском озере Буннерсьорна (L. Bunnarsjöarna) во вторичный контакт вступили “современная” форма (“атлантическая” группа) и популяция “дунайской” группы (Осинов, Берначе, 1996). У обеих форм из этого озера обнаружен аллель EST-2\*90, который полностью отсутствует в других

Таблица 2. Данные о некоторых симпатрических и парапатрических формах (видах) в рамках *Salmo trutta* complex

Водоем, страна	Число форм	Дифференциация (экологическая, м-морфологическая)	Репродуктивная изоляция (о-отсутствует, ч-частичная, с-строгая)	Происхождение (а-аллопатрическое, п-парапатрическое, с-симпатрическое, г-гибридное, и-интродукция)	Уровень интрогессивной гибридизации <sup>1</sup>	филогенетическая группа:		Уровень дивергенции по аллозимам (D <sub>Nei</sub> )	По данным
						мтДНК <sup>2</sup> (рДНК)	аллозимы		
оз Буннерсьорна, Швеция	2	м (по размеру), э-?	с	а	I-в, II-о	-	AT, DA	0 025	1,2
оз Лох Мелвин, Ирландия	3	м (по размеру и окраске), э	с, ч-?	а, с-?	I-м, с-?, II-о, м	AT (rAT)	AT	0.03-0.08	3,4,2,5,7
р. Дору (разные притоки), Испания	2	м, э: не выявлена	ч, с	а	I, II <sup>o</sup> , о, м, с	AT (rMEDA)	AT	0 010-0.066	6,7
р По (разные притоки), Италия	2	м (по окраске), э-?	ч, с	а, и	I-м, II-м, о, с	ME, AD, MA, AT (rMEDA, rMA)	MA, AD-ME, AT	0 123-0.190	8,5,7
оз Гарда (бассейн р. По)	1 (2?)	м, э: значительная	с	г	I-в, II-о	AD+MA+ME+AT (rME)	MA+AD+ME	0 101-0.166	8,5,7
р Дунай (притоки), Швейцария, Германия	1(2 ?)	м,э: не выявлена	о, ч-?	а, г, и	I-в, II-с?	AT/AT, DA	AT/AT, DA	0 001-0.010	9,5
оз Севан, Армения	4 (3)	м-отн слабая (кроме 1-ой), э-значительная	ч, с-?	с	I-в, II-м, о	DA (rDA)	DA	0.000-0.001	10,2,5,7
р Амударья (два притока), Таджикистан	2	м, э: не выявлена	с	а (п-?)	I-с, II-о	DA (rMEDA)	DA	0 068	11,2,7

Примечание 1- I- в прошлом, II- в настоящем; о- отсутствует, м- минимальный, с- существенный, в- высокий. 2- по мтДНК. AT- атлантическая, DA- дунайская, ME- средиземноморская, AD- адриатическая, MA- matmoratus; по рДНК (указаны в скобках): rAT- атлантическая, rAD-адриатическая, rME- средиземноморская, rMEDA- юго-восток Атлантики, северо-запад Средиземного моря и частично бассейн Аральского моря, rMA- matmoratus, rDa- дунайская; форма, интродуцированная человеком, выделена жирным шрифтом, ни в одном из указанных водоемов самостоятельной популяции не образует. По данным. 1- Ryman et al., 1979; 2- Осинов, Бернач, 1996; 3- Ferguson, Taggart, 1991, 4-McVeigh et al., 1995, Hynes et al., 1996, 5-Bernatchez, 2001; 6-Bouza et al., 2001; Antunes et al., 2001; 7-Presa et al., 2002; 8-Giuffra et al., 1994,1996; 9-Largiadier, Scholl, 1995; Riffel et al., 1995; 10-Осинов, 1989, 1990а; Bernatchez, Osinov, 1995; 11-Осинов, 1990б

популяциях "атлантической" группы, но имеет высокие частоты, включая фиксацию, во многих популяциях "дунайской" группы (Осинов, Берначе, 1996). В настоящее время две формы строго репродуктивно изолированы, что подтверждается фиксацией альтернативных аллелей в локусе LDH-1\* (Ryman et al., 1979).

В ирландском озере Лох Мэлвин (Lough Melvin) выявлены три репродуктивно изолированные формы (Ferguson, Taggart, 1981; McVeigh et al., 1995). По аллозимным и мтДНК данным все три формы принадлежат к "атлантической" группе. Предполагается, что две из них представляют собой "современную" и "анцестральную" формы, а происхождение третьей связывают или с аллопатрическим (вселение в озеро еще одной формы неизвестного происхождения) (McVeigh et al., 1995; Hynes et al., 1996) или с симпатрическим (Cawdery, Ferguson, 1988; Hamilton et al., 1989; Осинов, Берначе, 1996) способами видообразования.

В разных притоках реки Дору (R Duero) присутствуют минимум две формы "атлантической" группы, одна из которых является аборигенной (из "иберийского" рефугиума), а вторая, судя по присутствию аллеля LDH-5\*90, относится к "современной" форме из "балтийского" рефугиума. Формы репродуктивно изолированы, хотя для разных локальностей внутри бассейна этой реки, отмечены разные уровни интрогрессивной гибридизации между ними (Bouza et al., 2001).

В разных притоках бассейна реки По (R Pò) в Италии анализ мтДНК выявил присутствие гаплотипов 4 филогенетических групп кумжи, причем появление здесь "атлантических" гаплотипов связывают с рыбохозяйственной деятельностью человека (Giuffra et al., 1994, 1996). По окраске и по уровню репродуктивной изоляции от других четко обособлена мраморная форель. Некоторые популяции кумжи из этого бассейна несут гены ME+AD групп, что свидетельствует об имевшей место в прошлом интрогрессивной гибридизации. В расположенном в бассейне этой реки оз. Гарда (L. Garda) обитает морфологически своеобразная, глубоководная форма, которую большинство авторов рассматривает в ранге вида *Salmo carpio*. У этой формы выявлены гаплотипы четырех филогенетических групп, причем появление у нее AT гаплотипов связывают с рыбохозяйственной деятельностью человека. Если по соотношению гаплотипов разных филогенетических групп у *S. carpio* преобладают AD (56%) и MA (25%) (на ME приходится 13%, а на AT- 6%), то по аллозимным данным у нее порядка 50 % аллелей MA и 50% AD+ME. Генетические данные прямо указывают на гибридное происхождение *S. carpio*. От обитающего в одном из притоков *S. marmoratus* он репродуктивно изолирован, хотя в прошлом между ними был обмен генами. Его репродуктивные взаимоотношения с обитавшей ранее в озере кумжей не известны, по причине исчезновения последней. Считается, что у *S. carpio* есть две формы, отличающиеся временем нереста, но генетические данные есть только для одной из них.

В бассейне Дуная выявлены мт-гаплотипы DA и AT групп (Bernatchez et al., 1992; Bernatchez, 2001). Появление последних скорее всего, связано, как с событиями ледникового и послеледникового времени, когда посредством приледниковых озер образовывалась связь между бассейном Дуная и реками бассейна Балтийского моря, так и с деятельностью



человека, которым в течение более 100 лет в Дунае для рыбоводных целей используется кумжа Балтийского бассейна. Анализ аллозимной изменчивости показал, что популяции кумжи разных участков Дунайского бассейна несут разный процент генов "атлантической" и "дунайской" групп кумжи. Во многих выборках для нескольких пар локусов выявлено неравновесие по сцеплению (Largiadet, Scholl, 1995). Существующие данные не позволяют установить, является ли достаточно высоким уровень интрогрессивной гибридизации естественным феноменом, исторически сложившимся в данном бассейне, или он отражает последствия рыбохозяйственной деятельности человека. Как уже отмечалось, на территории бывшего Советского Союза гибридных популяций или явных следов интрогрессивной гибридизации между двумя этими формами не выявлено.

В дополнение к случаям симпатрического или парапатрического обитания нескольких форм кумжи, приведенных в табл.2, можно добавить еще несколько, например, наличие нескольких экологических форм форелей в Охридском озере (L. Ohrid), которые описаны в рамках одного вида *Salmo letnica* (Karaman, 1924). Четыре формы различаются по местам и времени нереста, морфологическим и остеологическим признакам (Stefanovic, 1948; Stankovic, 1953; Дорощеева и др., 1983). По данным анализа мтДНК, у форели этого озера присутствуют гаплотипы AD ("адриатической" группы) (Apostolidis et al., 1997; Bernatchez et al., 1992; Bernatchez, 2001). Однако, поскольку не известно сколько форм попало в этот анализ, судить о способе образования и уровне репродуктивной изоляции разных форм не представляется возможным.

Итак, согласно данным анализа мтДНК, на ареале *Salmo trutta* complex, выявлено пять филогенетических групп гаплотипов, которым соответствуют пять филогенетических групп популяций (Bernatchez et al., 1992; Giuffra et al., 1994, 1996; Bernatchez, Osinov, 1995), хотя с учетом того, что многие популяции бассейна Средиземного моря несут следы интрогрессивной гибридизации (присутствуют гаплотипы сразу двух или трех групп (AD, ME, MA), их филогенетическая идентификация проблематична. Три эти группы являются филогенетически близкими и значительно удалены от AT и DA (Bernatchez, 2001). По мтДНК данным время дивергенции разных филогенетических групп приблизительно оценивается в 0.5-2 млн. лет. По данным анализа гена трансферрина (Antunes et al., 2002) и фрагмента рибосомной ДНК (Presa et al., 2002) выявляется несколько другая, чем по мтДНК, структура филогенетических взаимоотношений внутри этого комплекса (см. табл.2). Эти данные еще раз свидетельствуют о том, что генные деревья, полученные по разным генам могут различаться и их не всегда можно отождествлять с популяционными (видовыми) деревьями (Nei, 1987; Avise, 1994; Moore, 1995; Nichols, 2001), а также о вероятно более сложной филогенетической структуре и эволюционной истории этого комплекса.

Резюмируя, можно утверждать, что проведенные генетические исследования позволили глубже понять популяционно-генетическую и филогенетическую структуру трех видовых комплексов, их эволюционную историю, выявить основные компоненты существующего в их рамках биоразнообразия и с определенной долей уверенности предполагать время и механизмы их происхождения. На сегодняшний день разнообразные

модели видообразования, включая аллопатрическую, парапатрическую, симпатрическую (разные варианты) и другие считаются реально реализуемыми в природе, так как они основаны не только на эмпирических данных, но и находят свое подтверждение в рамках теоретических исследований и компьютерного моделирования (Liou, Price, 1994; Kondrashov, Kondrashov, 1999; Diekmann, Doebeli, 1999; Via, 2001; Turelli et al., 2001; От, 2001; Schluter, 2001) В пользу той или иной модели видообразования свидетельствуют и наши генетические данные. Так, например, образование экологических форм севанских форелей или некоторых озерных форм гольцов Забайкалья и Таймыра, явно происходило в условиях симпатрии, тогда как образование разных филогенетических групп кумжи, как и двух ее форм в озерах Буннерсьорна и Лох Мелвин или двух форм ленка, является результатом аллопатрического видообразования. Много данных указывает на имевшую место интрогрессивную гибридизацию между разными популяциями (формами, видами) лососевых рыб, явно гибридное происхождение имеет *S. caprio* из оз. Гарда, и, тем не менее, оценить роль, которую гибридизация играет в процессе видообразования, за исключением некоторых ситуаций (например, когда в результате гибридизации происходит изменение ploidy), достаточно сложно (см. Barton, 2001).

Хотя полученные генетические данные и позволяют лучше понять эволюционный процесс, связанный с образованием существующего биоразнообразия, однозначного ответа на вопрос о таксономическом статусе разных форм или филогенетических линий они не дают. С одной стороны, это связано с недостаточностью данных по отдельным таксонам, а с другой, с отсутствием единой концепции вида. На сегодняшний день существует более 20 концепций вида, но ни одна из них не признана большинством исследователей в качестве универсальной (Mayden, 1997; Heu, 2001; Mallet, 2001). По-прежнему не прекращаются дебаты по поводу того, что же из себя представляют виды и как их идентифицировать. Одни концепции вида делают упор на понимание и определение процессов, ведущих к образованию новых эволюционных групп, а другие сосредоточены на определении методов и подходов по разграничению таксонов. При этом подчеркивается, что определение таксонов в любом случае является делом субъективным, то есть "решение проблемы вида без осознания исследователями своей собственной роли, как конфликтующих между собой сторон, не возможно" (Heu, 2001). Большинство авторов признает реальность видов, но некоторые при этом уточняют, что это справедливо, например, не в отношении всего политипического вида, а только в отношении конкретных локальных форм и на данном отрезке времени (Mallet, 2001). С учетом разных интересов у таксономистов и эволюционных биологов, а также популярности той или иной концепции вида, наблюдаются периодически повторяющиеся процессы "объединительства" или "дробительства" существующих таксонов, хотя отдельные приверженцы двух этих подходов сосуществуют всегда. Как уже отмечалось, число видов гольцов, признаваемых разными исследователями на территории России, колеблется от 2 до 15-17. У кумжи, после того, как число форм, описанных в ранге видов, естественным образом сократилось с 50 до 1 (Behnke, 1986), а общее число признаваемых большинством исследователей видов в роде *Salmo* составило 4-5, началась новая эра таксономических перетрясок. Так, Коттелат

(Kottelat, 1997), который является сторонником филогенетической концепции вида (Crawcraft, 1983, 1989, Donoghue, 1985), в рамках *Salmo tutta complex* признает 27 видов, куда, кстати, вошли и все формы, перечисленные в табл 2 (за исключением двух форм из бассейна Амударьи). Все определения сделаны им только на основании морфологических (это могут быть и особенности окраски) признаков, при полном игнорировании известных ему генетических и молекулярных данных. Значительные изменения он предлагает и для других групп лососевых рыб, например, у европейских сигов рода *Coregonus* он выделяет 44 монофилитические эволюционные единицы (вида). При обсуждении результатов генетического анализа мы отмечали, что отдельные формы и филогенетические линии в рамках трех видовых комплексов, действительно удовлетворяют критериям минимум одной (биологической) концепции вида и повышение таксономического статуса некоторых из них в будущем, особых возражений не вызывает. Однако, главное различие между нашей позицией и той, которую занимает, например, Коттелат, состоит в том, что ревизия таксономического статуса должна проводиться с учетом как морфологических, так и генетических данных, причем их должно быть достаточно, чтобы оценить уровень морфологического и генетического разнообразия на всем ареале и определить филогенетические связи между всеми вовлеченными в анализ таксонами.

В различных руководствах по охране существующего биоразнообразия нередко подчеркивается, что объектом охраны может стать любая уникальная природная популяция, причем ее таксономический статус (вид, подвид или локальная форма) значения не имеет (Laikre et al, 1999). Хотя по существу это утверждение верно, однако, в силу различных причин (экономических, политических и этических) в реальной жизни приоритет часто отдается охране таксонов более высокого ранга. Среди разных концепций, предложенных для организации охраны биоразнообразия на популяционно-видовом уровне, наибольшее признание на Западе получила модель под названием "Evolutionary Significant Units" (ESU), которая была адаптирована и для лососевых рыб (Waples, 1991, 1995, 1998, Allendorf, Waples, 1996). Под ESU понимается популяция или группа популяций, которая, во-первых, существенно репродуктивно изолирована от других конспецифичных популяций и, во-вторых, представляет собой важный компонент в эволюционном наследии данного вида (Waples, 1991). При выделении ESU важное место занимают как генетические, так и экологические и другие биологические данные. Модель допускает существование нескольких уровней иерархии внутри вида и поэтому позволяет выделять ESU, начиная с локальных популяций и далее до отдельных метапопуляций и их групп (филогенетических линий), создавая целостную систему охраны. Для нее разработаны принципы (критерии) и их количественные оценки по выделению ESU разного уровня, которые среди прочих учитывают такие параметры как вероятность вымирания, эффективный размер и абсолютная численность популяций, их динамика во времени, а также возможные, в том числе и неблагоприятные эффекты таких мероприятий как поддерживающее воспроизводство и гибридизация (e.g. Allendorf et al, 1997; Laikre et al, 1999). Эта модель, с учетом вносимых в нее дополнений (e.g. Fraser, Bernatchez, 2001),

может быть применена и при разработке стратегии охраны биоразнообразия в рамках трех исследованных нами (равно как и других) видовых комплексов. Так, например, у обеих форм ленка и у кумжи "дунайской" группы, учитывая высокий уровень генетической дивергенции популяций разных речных бассейнов, в качестве ESU могут быть выделены, те из них, численность которых низка или начинает резко сокращаться, а также каждая из двух популяций кумжи из бассейна Амударьи (Осинов, 1993; Осинов, Берначе, 1996). Учитывая высокий уровень экологической дифференциации и низкую численность разных форм севанской форели, статус ESU может быть придан не только этому виду в целом, но и отдельным экологическим формам (даже при отсутствии четких генетических данных, подтверждающих репродуктивную изоляцию всех форм между собой). В то же время, придание статуса ESU проходной форме кумжи (например, черноморскому лососю) означает, что проходная форма репродуктивно изолирована от жилой (форели), а это, судя по имеющимся генетическим данным, не так.

## Глава 2. Происхождение и филогения лососевых рыб Salmonidae

### *Лососевые рыбы: автотетраплоиды или сегментные аллотетраплоиды?*

Полиплоидное происхождение лососевых рыб было предсказано Свердсоном (Svardson, 1945). Хотя предложенная им модель полиплоидизации оказалась ошибочной, само предположение - правильным. Последующие исследования показали, что в отличие от Catostomidae и некоторых представителей Cyprinidae, которые являются аллотетраплоидами, лососевые – автотетраплоиды, хотя возможность того, что они являются сегментными аллотетраплоидами, то есть возникли в результате гибридизации близкородственных видов, полностью исключить нельзя (Ohno, 1970; Васильев, 1977; Allendorf, Thorgaard, 1984; Ferris, 1984). В пользу автотетраплоидии у лососевых свидетельствовали следующие факты. формирование мультивалентов в мейозе, высокое число изолюков и тетрасомическое наследование некоторых из них (Ohno, 1970, Allendorf, Thorgaard, 1984). В пользу сегментной аллотетраплоидии свидетельствуют: отсутствие четкой связи между уровнем дивергенции дуплицированных локусов и их положением на хромосоме (удаленностью от центромеры) (Johnson et al, 1987), и некоторые результаты кинетического анализа ДНК (Омельченко, Герасименко, 1981).

Астауровым (1969) и Шульцом (Schultz, 1969) была предложена модель происхождения тетраплоидных видов в два этапа: на первом - в результате гибридизации двух диплоидных видов образуется однополая (партеро- или гиногенетическая) триплоидная форма и на втором – в результате ее гибридизации с одним из родительских видов возникает тетраплоидная форма. Эта модель была полностью подтверждена при обнаружении диплоидно-триплоидно-тетраплоидного комплекса у щиповок рода *Cobitis* в р. Москва (Васильев, Васильева, 1982, Осинов и др., 1983; Васильев и др., 1983). У одной из двух гиногенетических тетраплоидных форм было выявлено достаточно много самцов, что могло указывать на возможность перехода части особей к бисексуальному размножению, однако проведенный электрофоретический анализ показал, что все они принадлежат к одному клону (Васильев и др., 1991) В Японии были обнаружены три

бисексуальных диплоидных вида и три бисексуальных тетраплоидных вида рода *Cobitis*, два из которых являются аллотетраплоидами, а механизм тетраплоидизации генома третьего пока точно не установлен (Ueno et al., 1980, Васильев, 1983, Saitoh et al., 2000, Kitagawa et al., 2003; Saitoh, 2003) Отличительной особенностью трех японских комплексов щиповок является отсутствие клональных форм, в том числе триплоидной формы, хотя их присутствие в прошлом исключить нельзя. Нужно отметить, что тетраваленты в мейозе были выявлены как у одной аллотетраплоидной японской щиповки (Saitoh, 2003), так и у тетраплоидной формы из бассейна р. Москвы (Васильев и др., 1991), что еще раз подчеркивает условность этого признака в качестве доказательства автотетраплоидии. Таким образом, способ тетраплоидизации генома предка лососевых рыб все еще остается под вопросом, причем сегментная аллотетраплоидизация, на наш взгляд, выглядит более вероятной. Существующие данные свидетельствуют в пользу того, что для большинства изученных видов рыб (Васильев и др., 1991), а также в целом для позвоночных животных (Spring, 1997), характерна аллополиплоидия.

#### **Филогения Salmonidae по данным аллозимного анализа**

В анализ вошли следующие роды и виды Salmonidae. Из Salmoninae: *Salmo* (*S. trutta* ("дунайская" группа (TRUS) и "атлантическая" группа (TRUN)) и *S. salar* (ATLS)), *Parasalmo* (*P. mykiss* (MYKI)), *Oncorhynchus* (*O. masou* (MASU), *O. gorbuscha* (PINK), *O. keta* (CHUM), *O. kisutch* (COHO), *O. nerka* (SOCK), *O. tshawytscha* (CHIN)), *Salvelinus* (*S. alpinus* (ALPI), *S. malma* (MALM), *S. leucomaenis* (LEUC)), *Hucho* (*H. taimen* (ТАИМ)), *Parahucho* (*P. peryi* (PERY)), *Brachymystax* (*B. lenok* (LENS- острорылая форма и LENS- тупорылая форма)) Из Thymallinae: *Thymallus arcticus* (ТНУА) и *T. thymallus* (ТНУТ)) Из Coregoninae: *Coregonus lavaretus* (LAVR- несколько форм) и *C. peled* (PELD). Филогенетический анализ проводили дистантными (NJ, LS, WLS, UPGMA, KITSCH и FITCH) и кладистическими (MPL, MPA) методами на основании данных по 32-36 аллозимным локусам (Osinov, Lebedev, 2000). Отдельно анализировали данные по 17 видам Salmoninae и по 21 виду Salmonidae. Основные результаты анализа следующие. Наиболее устойчивы филогенетические отношения между видами внутри родов (рис 1). Так, например, на всех филогенетических деревьях порядок объединения всех клад в роде *Oncorhynchus* не менялся, и все они имели высокую бутстрэп поддержку: (PINK+SOCK) – 40-86%, (PINK+SOCK+CHUM) - 72-86%, (CHIN+COHO) - 65-86%, (PINK+SOCK+CHUM)+(CHIN+COHO)) – 52-86%, (PINK+SOCK+CHUM)+(CHIN+COHO))+MASU))) - 76-94%. Монофилия клад (*Oncorhynchus* +*Parasalmo*) (бутстрэп поддержка 76-98%) и (*Hucho* + *Brachymystax*) (бутстрэп поддержка 68-97%), сомнений не вызывает. Относительно надежна клада ((*Hucho*+*Brachymystax*) +*Salmo*), ее бутстрэп поддержка - 39-85%. Альтернативная клада ((*Oncorhynchus*+*Parasalmo*)+*Salmo*) встречается значительно реже и надежной поддержки не имеет. Положение *Parahucho* остается неопределенным, обычно он присоединяется или к кладе ((*Hucho*+*Brachymystax*)+*Salmo*) или к *Salvelinus*. Положение корня может быть указано с только с относительной надежностью, но наиболее вероятная гипотеза, исходя из анализа с помощью внешней группы, базальное положение *Salvelinus* (бутстрэп поддержка 38-

57%). Положение, наиболее приемлемое с точки зрения принципа молекулярных часов (UPGMA и KITSCH деревья) а именно - базальное положение *Oncorhynchus* (бутстрэп поддержка 42-57%), при включении внешней группы, никакой поддержки не получает. Альтернативные и наиболее вероятные по настоящим данным варианты укоренения - *Parahucho* или основание клады ((*Hucho*+*Brachymystax*)+ *Salmo*), также ни одним методом значимо не поддерживаются. Монофилия всех трех подсемейств Salmonidae подтверждается высокими значениями бутстрэп поддержки (68-100%).

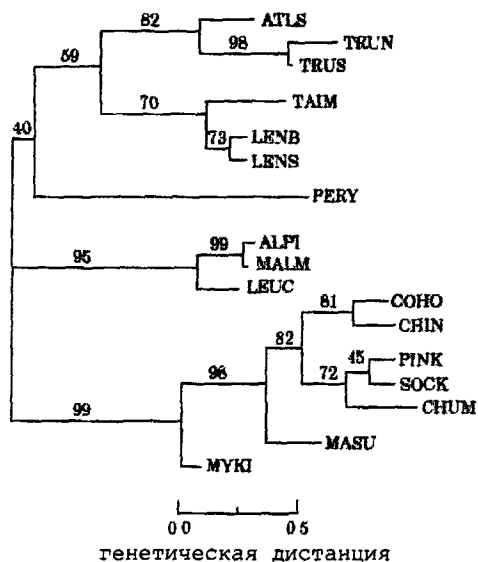


Рис. 1. Бескорневое LS дерево, построенное по дистанциям Нэя (Nei, 1972) для 17 видов Salmoninae. На ветвях указаны бутстрэп оценки (в % от 1000 повторов).

Для анализа филогенетических взаимоотношений между разными таксонами Salmoninae, а также Thymallinae (1 вид) и Coregoninae (1-2 вида) нами были извлечены из Genbank последовательности интрона С и экзонов двух паралогичных генов гормона роста, двух паралогичных генов вителлогенина и некоторых других генов, которые ранее (для такого же или несколько иного набора видов) были исследованы другими авторами. Филогенетические взаимоотношения между исследованными видами, полученные нами, в целом хорошо соответствовали тем, что были описаны другими авторами. С учетом наших и литературных данных, филогенетические взаимоотношения между разными таксонами Salmonidae определяются достаточно надежно.

#### **Филогения Salmonidae: результирующая гипотеза**

Некоторые систематики рассматривают сигов, хариусов и собственно лососевых в ранге семейств (Решетников и др., 1989, 2002, Черешнев и др., 2002), однако большинство – в ранге подсемейств семейства Salmonidae (Norden, 1961; Световидов и др., 1975, Kendall, Benke, 1984, Stearley, Smith, 1993; Nelson, 1994) Филогенетические взаимоотношения между тремя подсемействами пока однозначно не разрешены. Многие морфологи полагают, что из современных представителей Salmonidae ближе всех к предковой форме лососевых рыб располагаются Coregoninae, за ними идут Thymallinae и далее Salmoninae (Kendall, Behnke, 1984; Sanford, 1990, Wilson, Williams, 1992; Stearley, Smith, 1993; Wilson, Li, 1999) Данные по коротким диспергированным элементам (SINEs; Kido et al., 1994) поддерживают эти представления. Данные по аллозимам (Osinov, Lebedev, 2000), паралогичным генам вителлогенина (Buisine et al., 2002; наши данные) и гену RAG1 (наши данные), вопрос о филогенетических взаимоотношениях трех подсемейств Salmonidae однозначно не решают. Таким образом, вариант, что сестринским таксоном для Salmoninae являются Thymallinae, выглядит лишь несколько предпочтительнее других.

По своей структуре подсемейства Coregoninae и Thymallinae значительно проще Salmoninae. Хариусовые представлены только одним родом, а сиговые – двумя (*Coregonus* и *Prosopium*) (Nelson, 1994) или, как считают некоторые исследователи (Решетников и др., 2002), тремя (включая *Stenodus*). Согласно аллозимным данным, *Stenodus leucichthys* располагается у основания клады *Coregonus* (Bodaly et al., 1991; Ermolenko, 1992, Vuorinen et al., 1998), а согласно молекулярным данным, попадает внутрь этой клады (Bernatchez et al., 1991, Lockwood et al., 1993; Sajdak, Phillips, 1997). В этой связи родовой статус *Stenodus* выглядит весьма проблематичным, хотя этот таксон, скорее всего, является одним из наиболее древних в *Coregonus*. Филогенетические проблемы, которые решаются с привлечением молекулярных данных в рамках подсемейства Thymallinae, связаны с анализом взаимоотношений внутри и между видами и уточнением их числа (e.g. Koskinen et al., 2002). Филогенетические и систематические проблемы, связанные с Salmoninae, значительно серьезнее. До недавнего времени среди исследователей не было согласия не только по числу видов в отдельных родах и их филогении, но и по числу (оно колеблется от 5 до 10) и филогении самих родов. Топологии дерева Salmoninae, построенного как по разным морфологическим (Norden, 1961; Kendall, Behnke, 1984; Smith, Stearley, 1989; Дорофеева, 1989, 1999, Sanford, 1990; Stearley, Smith, 1993; Глубоковский, 1995, Wilson, Li, 1999), так и по разным генетическим данным (Phillips, Pleyte, 1991; Shed'ko et al., 1996; Олейник, 1997; Oakley, Phillips, 1999; Osinov, Lebedev, 2000; Шедько, 2002; Phillips et al., 2004; наши данные), в значительной степени различаются.

Тем не менее, сравнительный анализ филогенетических деревьев, полученных при раздельном анализе разных наборов генетических данных (Осинов, 1991; Oakley, Phillips, 1999, Osinov, Lebedev, 2000, Phillips et al., 2000; Brunner et al., 2001; Buisine et al., 2002, Snoj et al., 2002; настоящая работа), как и совместный анализ разных наборов молекулярных данных (Crespi, Fulton, 2004), позволяют внести ясность в филогенетические взаимоотношения между основными представителями подсемейства Salmoninae, а также выявить явные ошибки, связанные с их классификацией. Основные результаты

филогенетического анализа по разным наборам генетических данных могут быть обобщены следующим образом. Согласно данным по интрону GH-2C (Oakley, Phillips, 1999; наши данные), у основания филогенетического дерева Salmoninae находится клада (*Brachymystax* + *Hucho*) Сестринские взаимоотношения *Brachymystax* и *Hucho*, как и значительная дивергенция от них *Parahucho*, надежно подтверждаются аллозимными и молекулярными данными, в связи с чем объединение *Parahucho* и *Hucho* в рамках рода *Hucho* является ошибочным (Осинов, 1991; Phillips et al., 1995; Shed'ko et al., 1996; Oakley, Phillips, 1999; Osinov, Lebedev, 2000), а вот объединение *Brachymystax* и *Hucho* выглядит вполне обоснованным (Осинов, 1999) Филогенетическое положение *Parahucho*, с учетом всех данных, все еще остается неопределенным (Oakley, Phillips, 1999; Osinov, Lebedev, 2000; Шедько, 2002; Crespi, Fulton, 2004; наши данные). Необходимо отметить, что если в результате новых исследований будет показано, что *Parahucho* является сестринским таксоном для клады (*Brachymystax* + *Hucho*), только тогда эти три таксона могут быть объединены в рамках одного "большого" рода, что, кстати, уже ранее предлагалось (Behnke, 1966) *Salmo* является сестринской группой для клады (*Salvelinus* + *Oncorhynchus*) (Oakley, Phillips, 1999; Buisine et al., 2002; наши данные). Важно отметить, что, согласно имеющимся молекулярным данным, *Acantholingua ohridana* (Oakley, Phillips, 1999, Phillips et al., 2000, Phillips et al., 2004, наши данные), а также *Salmothymus obtusirostrus* (Snoj et al., 2002) располагаются внутри клады *Salmo*, где занимают промежуточное положение между *S. trutta* и *S. salar* Результаты этих исследований указывают на необоснованность придания этим таксонам родового ранга (см также Световидов, 1975; Ахундов, Медников, 1976) и на ошибочную интерпретацию их филогенетических отношений с другими представителями Salmoninae некоторыми морфологами (e.g. Stearley, Smith, 1993; Wilson, Li, 1999).

Филогенетические взаимоотношения между многими видами гольцов рода *Salvelinus* установлены с разной степенью надежности. Это связано как с недостатком генетических данных по некоторым из них, так и с их некоторой противоречивостью. По аллозимным данным у основания клады *Salvelinus* располагается *S. fontinalis*, за которым идет *S. namaycush* (Crane et al., 1994; наши данные) Согласно анализу объединенных данных по ядерным генам, эти два вида объединяются в кладу, которая является сестринской группой по отношению к группе остальных видов гольцов (Crespi, Fulton, 2004). Эта группа видов, согласно аллозимным и большинству молекулярных данных, представлена двумя сестринскими кладами. Первая включает *S. leucomaenis* + *S. confluentus*, а вторая - *S. alpinus*, *S. malma* и близкие им виды, которые обычно объединяются под общим названием *S. alpinus* complex (например, Савваитова, 1989; Brunner et al., 2001) или *S. alpinus* - *S. malma* complex (например, Осинов, 2001) Как уже отмечалось, по данным анализа сегмента контрольного района, голец Световидова из оз. Эльгыгытгын, который был описан в качестве представителя нового рода *Salvethymus* (Черешнев, Скопец, 1990), занимает положение сестринской группы для клады *S. alpinus* complex, а не для всей клады *Salvelinus* (Brunner et al., 2001), что ставит под сомнение обоснованность придания ему родового ранга



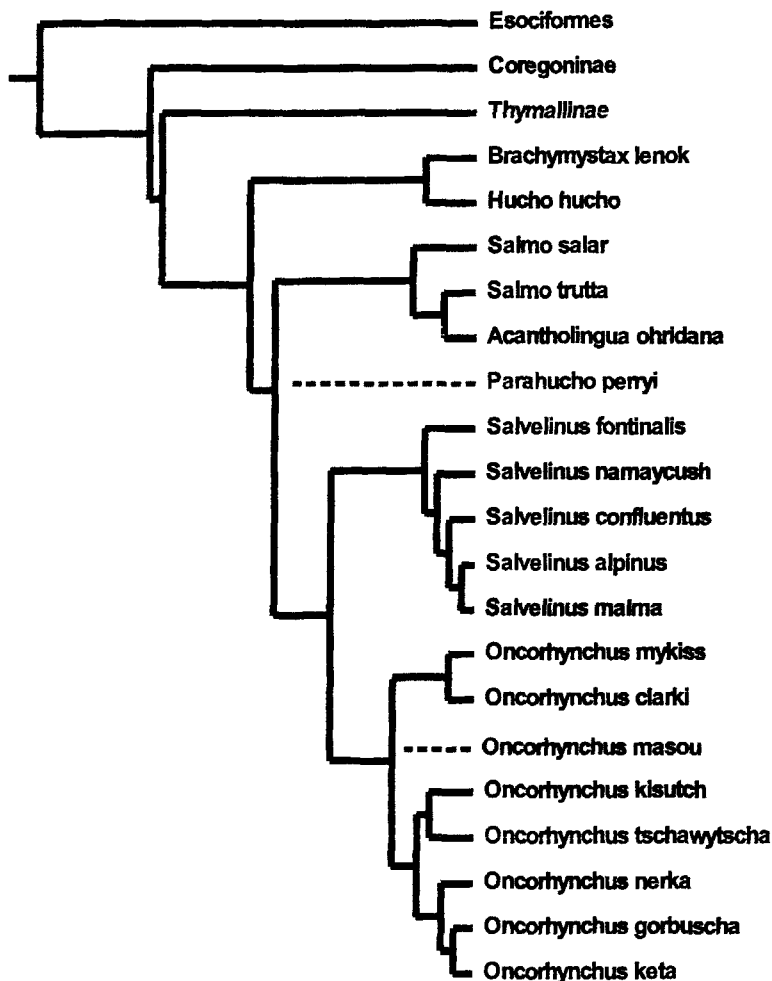
Последнюю большую кладу на дереве Salmoninae образуют виды тихоокеанских форелей *Parasalmo* (sensu Vladykov, 1963) и тихоокеанских лососей *Oncorhynchus* s. str. Согласно данным по аллозимам (Осинов, 1999; Osinov, Lebedev, 2000) и по интронам GH-1C и GH-2C (без сима Oakley, Phillips, 1999; наши данные), *Parasalmo* надежно занимает положение сестринской группы для *Oncorhynchus* и основные клады совпадают. Однако, если по аллозимным данным, сима занимает положение сестринского таксона по отношению к остальным видам *Oncorhynchus* s. str., что соответствует традиционным представлениям об их филогении (Stearley, Smith, 1993; Utter, Allendorf, 1994), то согласно анализу объединенных данных по ядерным генам, сима является сестринским таксоном для клады *Parasalmo* (Crespi, Fulton, 2004). Таким образом, по имеющимся аллозимным и молекулярным данным, филогенетические взаимоотношения между основными таксонами Salmonidae выглядят достаточно надежными (за редким исключением) и могут быть представлены следующим образом (рис 2). В отношении числа родов Salmoninae, отметим, что исходя из данных филогенетического анализа, оно в принципе может быть определено по-разному. Например, принимая объединение *Parasalmo* и *Oncorhynchus* в рамках одного рода, было бы логично объединить и *Hucho* с *Brachymystax* (Осинов, 1999). Пока же, учитывая, что *Parasalmo* уже вошел в *Oncorhynchus*, а *Salmothyms* и *Acantholingua* должны войти в *Salmo*, как и *Salvethymus* - в *Salvelinus*, то вместе с *Brachymystax*, *Hucho* и *Parahucho* число родов Salmoninae равно 6.

### Глава 3. Salmoniformes и Protacanthopterygii: объем и филогения

#### Основные результаты анализа по гену RAG1

В анализ включены последовательности гена RAG1 48-ми видов костистых рыб, а также *Amia calva* (Amiiformes) и *Scaphirhynchus albus* (Acipenseriformes). На бутстрэп MP дереве, построенном с учетом всех типов замен в трех положениях кодонов, надежно выделяются следующие основные клады: Teleostei – 100%, Ostariophysi – 94%, Euteleostei – 79%. В отношении клады Euteleostei основные различия между ML деревом (рис. 3), полученном с помощью GTR+G+I модели ( $\alpha = 1.1640$ ,  $\text{pinvar} = 0.3735$ ), и единственным MP деревом, состояли в следующем. На единственном оптимальном MP дереве галаксиевые являются сестринским таксоном для остальных Euteleostei, которые представлены двумя большими сестринскими кладами: первая представлена (*Argentinoidea* + ((*Eurypterygii* + (*Salmoniformes* + *Esociformes*))), вторая - (*Stomiiformes* + *Osmeroidea*). На бутстрэп MP дереве 6 основных клад Euteleostei расходятся из одной точки (неразрешимая полихотомия), при этом каждая из этих клад имеет высокую поддержку. *Argentiniiformes* (88%), *Eurypterygii* (99%), *Salmoniformes* + *Esociformes* (100%), *Osmeriformes* (97%) и *Stomiiformes* (100%).

Различия между ML деревом, построенном на основании оптимальной модели эволюции (рис 3), и ML деревом, для которого было введено ограничение на топологию, предполагающее монофилию группы *Salmoniformes* + *Esociformes* + *Osmeroidea* + *Argentinoidea* + *Stomiiformes*, оцененные с помощью SH теста (*Shimodaira*, Hasegawa, 1999), не достоверны ( $p = 0.27$ ).



**Рис. 2.** Топология филогенетического дерева Salmonidae (детализировано только для Salmoninae). Длины ветвей приведены условно; ветви, показанные пунктиром, означают, что положение этих таксонов однозначно не определено.

#### **Основные результаты анализа объединенных данных (RAG1+12 мт-генов)**

В анализ вошли данные по 43-м видам рыб, для 14 видов одновременно имелись данные по гену RAG1 и 12-ти мт-генам, остальные были объединены в пары, каждая из которых представляла один крупный таксон. Один из видов, входящих в эту пару, был представлен последовательностью гена RAG1, а второй объединенной последовательностью 12-ти мт-генов. Длина выровненных последовательностей для гена

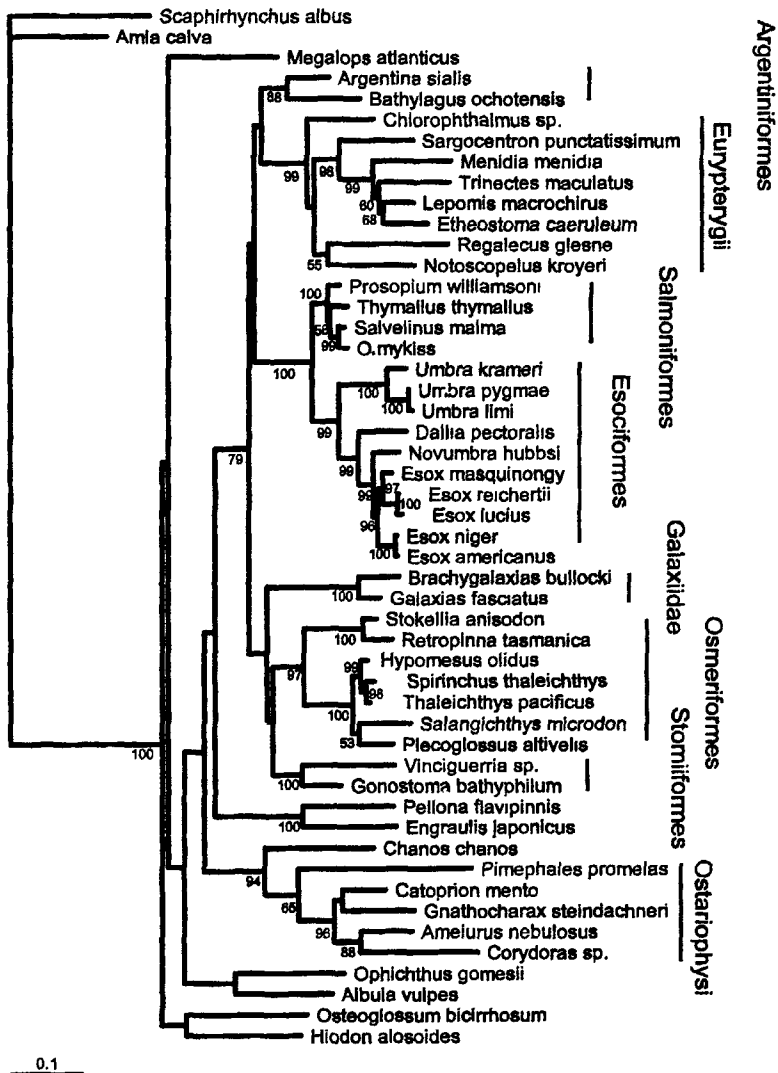


Рис. 3. ML дерево, построенное на основании анализа всех типов замен в трех положениях кодонов гена RAG1. На ветвях указаны оценки бутстрэп поддержки (в % от 1000 повторов) соответствующих клад на MP дереве. Длина ветвей соответствует числу замен на сайт.

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ  
 БИБЛИОТЕКА  
 С.Петербург  
 00 000 АН

RAG1 составила 1656 н.п. а для 12 мт-генов - 10833 н.п. На основании МР анализа всех типов замен в трех положениях кодонов у гена RAG1 и в первых и вторых положениях у 12 мт-генов получено единственное МР дерево (рис 4). У основания дерева Teleostei расположилась клада (Osteoglossomorpha + Elopomorpha), однако на бутстрэп МР дереве эта клада поддержки не имеет. Бутстрэп поддержка клады Euteleostei составляет 98%. Сестринской группой для Euteleostei является клада (Ostariophysi + (Clupeiformes + Gonorynchiformes)). Esociformes надежно объединяются с Salmoniformes и занимают положение сестринской группы для клады, которая включает остальных представителей Protacanthopterygii и Eurypterygii. Галаксиевые достаточно надежно объединяются со стомиевыми. Эта клада является сестринской для клады ((плекоглоссовые + саланговые) + ретропинновые). Бутстрэп поддержка клады Eurypterygii составляет 95%.

При Байесовом анализе была использована модель GTR+G+I с отдельными наборами параметров для гена RAG1 и 12-ти мт-генов соответственно. Значения частот нуклеотидов, параметра формы гамма-распределения и доли инвариантных сайтов у этих моделей следующие для гена RAG1 -  $p(A) = 0.23$ ,  $p(C) = 0.30$ ,  $p(G) = 0.17$ ,  $\alpha = 1.2672$ ,  $pinvar = 0.3955$ , для 12 мт-генов -  $p(A) = 0.22$ ,  $p(C) = 0.30$ ,  $p(G) = 0.29$ ,  $\alpha = 0.7046$ ,  $pinvar = 0.4813$ . В основании дерева Teleostei достаточно уверенно расположилась клада Osteoglossomorpha. На Байесовом дереве 100%-ные значения апостериорной вероятности имеют клада Teleostei, клада (Ostariophysi + (Clupeiformes + Gonorynchiformes)), которая также надежно занимает положение сестринской группы для клады Euteleostei. 100% вероятность имеет клада (Salmoniformes + Esociformes), которая уверенно занимает положение сестринской группы для клады (Argentiniformes + ((Eurypterygii + ((Galaxiidae + (Stomiiformes + Osmeriformes)))))).

### **Объем и филогения надотряда Protacanthopterygii.**

Появление отряда Salmoniformes и надотряда Protacanthopterygii связано с ревизией филогенетических и систематических взаимоотношений между представителями современной ихтиофауны, предпринятой Гринвудом с соавторами (Greenwood et al., 1966). В отряд лососеобразных они включили 8 подотрядов: Salmonoidei (хариусовые, сиговые, лососевые, корюшковые, плекоглоссовые), Argentinoidei, Galaxioidei, Esocoidei, Bathylaconoidei, Myctophoidei, а также под вопросом Stomioidei и Alepocephaloidei. Отряд Salmoniformes эти авторы рассматривали как принципиальный элемент во вновь образованном надотряде Protacanthopterygii, куда также вошли Gonorynchiformes, Cetomimiformes и Stenothrissiformes, включение Ostariophysi осталось под вопросом. Надотряд Protacanthopterygii они рассматривали в качестве примитивной группы в Euteleostei (Greenwood et al., 1966). Позднее объем и филогения Protacanthopterygii неоднократно пересматривались (Rosen, 1974, 1982; Fink, Weitzman, 1982; Lauder, Liem, 1983; Sanford, 1990; Nelson, 1994; Johnson, Patterson, 1996). Все морфологи согласны с тем, что Protacanthopterygii представляют собой группу примитивных представителей Euteleostei, однако в вопросах о том, входят ли в эту группу Ostariophysi и каковы филогенетические взаимоотношения между разными таксонами, мнения резко расходятся.

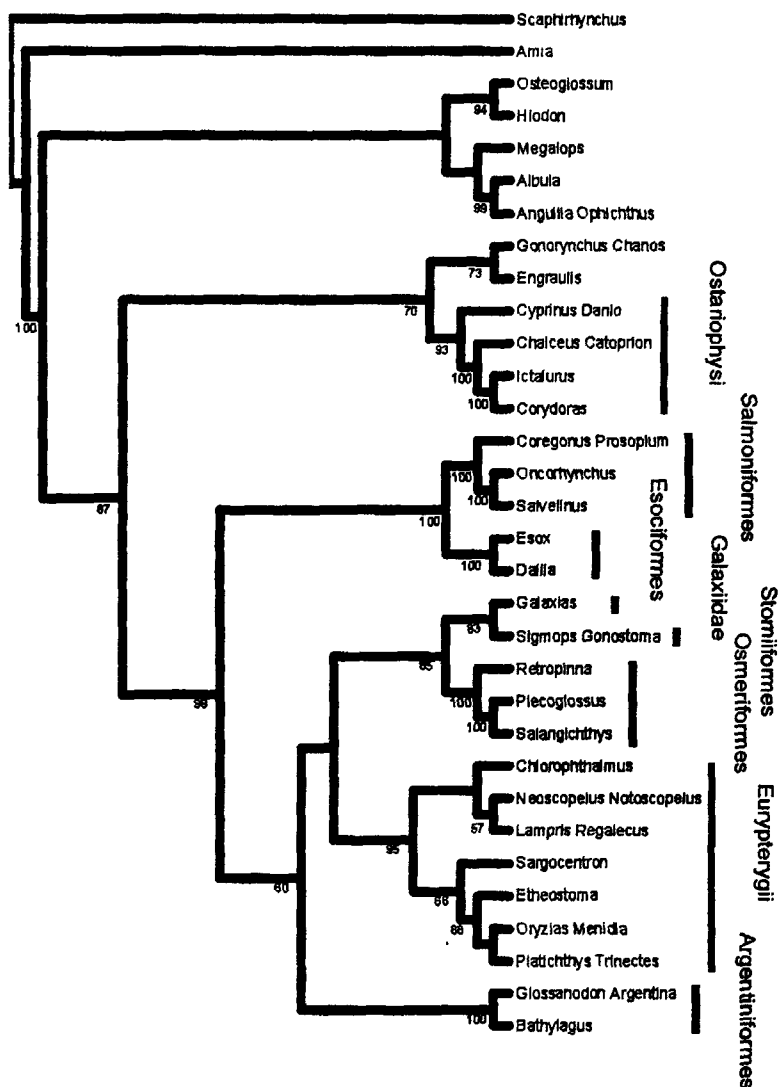


Рис. 4. Единственное МР дерево (длины ветвей приведены условно), полученное при анализе объединенных данных (RAG1+12 мт-генов), которые включают все типы замен в трех положениях кодонов у гена RAG1 и в первых двух положениях кодонов у мт-генов. Оценки бутстрэп поддержки (в % от 1000 повторов) приведены на ветвях. На ветвях дерева указаны только родовые названия (слева для вида, проанализированного по мт-генам и справа - для вида, проанализированного по гену RAG1).

Согласно Нельсону (Nelson, 1994), Protacanthopterygii занимают в Euteleostei предположительно промежуточное положение между Ostariophysii и Neoteleostei и включают в себя три отряда. Это Esociformes (щуковые и умбровые), Osmeriformes (корюшковые, саланговые, ретропинновые, галаксиевые, аргентиновые, гладкоголовые и другие) и Salmoniformes (лососевые), причем предполагается, что корюшкообразные и лососеобразные являются сестринскими таксонами. Salmoniformes включает только одно семейство Salmonidae. По мнению Нельсона, каждый из трех отрядов представляет собой монофилетическую группу, в то время как вопрос о монофилии Protacanthopterygii остается открытым. Отметим, что Protacanthopterygii (sensu Nelson, 1994) по своему объему фактически соответствует Salmoniformes (sensu Rosen, 1974). Не меньший объем имеет Salmoniformes и с точки зрения отечественных исследователей, которые также включают в него и Stomiatoidei (Расс, Линдберг, 1971; Решетников и др., 1989).

Существующие молекулярные данные (Zaragüeta-Bagils et al., 2002; Ishiguro et al., 2003; López et al., 2004; Осинов, Лебедев, 2004) немногочисленны, имеются для ограниченного числа таксонов Euteleostei, частично противоречивы, и, тем не менее, позволяют ответить на некоторые принципиальные вопросы, связанные с филогенией и объемом Protacanthopterygii. Во-первых, они надежно указывают на то, что Ostariophysii не входят в кладу Euteleostei, а располагаются ближе к базальной части дерева Teleostei, хотя их точное положение пока нельзя считать установленным. Согласно анализу митохондриальных генов, Alepocephaloidea надежно занимают положение сестринской группы для Clupeomorpha, и поэтому они должны быть выведены из Osmeriformes и Protacanthopterygii в целом (Ishiguro et al., 2003).

Во-вторых, молекулярные данные надежно объединяют в одну кладу Esociformes и Salmoniformes (sensu Nelson) (Bernardi et al., 1993; Zaragüeta-Bagils et al., 2002; Ishiguro et al., 2003; López et al., 2004; Осинов, Лебедев, 2004). На различных филогенетических деревьях, построенных по морфологическим данным (e.g. Rosen, 1974; Lauder, Liem, 1983; Johnson, Patterson, 1996), положение Esociformes среди примитивных представителей Euteleostei является особенно неустойчивым, причем только Вильямс (Williams, 1987) предположил, что Esociformes и Salmoniformes являются сестринскими группами. Разные молекулярные данные частично противоречивы, что не позволяет однозначно определить положение этой клады на филогенетическом дереве Euteleostei (см., например, рис.3 и 4).

На филогенетических деревьях Euteleostei, построенных по разным наборам молекулярных данных (Ishiguro et al., 2003; López et al., 2004; Осинов, Лебедев, 2004), помимо клад Eurypterygii и (Salmoniformes + Esociformes), с разной степенью надежности выделяются еще несколько основных клад, однако их объем и взаимоотношения не всегда совпадают. Согласно мтДНК данным, Stomiiformes надежно занимают положение сестринской группы для Eurypterygii (Ishiguro et al., 2003), вместе с которыми они образуют группу Neoteleostei (Nelson, 1994). По другим молекулярным данным, например, RAG1 и RAG1 + 12S + 16S (Lopez et al., 2004) или RAG1 + 12 мт-генов (Байесово дерево; Осинов, Лебедев, 2004), стомиевые надежно занимают место сестринской группы для клады, включающей корюшковых, плекоглоссовых, саланговых и ретропинновых, или

объединяются с галаксиевыми, вместе с которыми являются сестринской группой для вышеуказанной клады (данные по RAG1 + 12 мт-генов: МР дерево (рис 4)). Отметим, что в этом случае, при анализе обоих наборов объединенных молекулярных данных (RAG1 + 12S + 16S и RAG1 + 12 мт-генов), мт-гены "свою" топологию в отношении положения стомиевых не навязывают. Как уже отмечалось ранее, для стомиевых, галаксиевых и некоторых других представителей Protacanthopterygii характерно высокое содержание GC в третьих положениях кодонов гена RAG1 (López et al , 2004), в связи с чем их объединение в кладу может быть обусловлено конвергентным сходством. Однако, как показал дополнительный МР анализ (Осинов, Лебедев, 2004), филогенетическую близость перечисленных выше таксонов вряд ли можно объяснить смещением нуклеотидного состава. Согласно нашим данным, стомиевые явно тяготеют к корюшковым и галаксиевым, а не к Eurypterygii, как это следует из данных анализа мт-генов (Ishiguro et al , 2003)

По существующим молекулярным данным (Ishiguro et al , 2003; López et al , 2004; Осинов, Лебедев, 2004), галаксиевые занимают базальное положение в кладе, которая объединяет корюшковых, плекоглоссовых, саланговых и ретропинновых (данные по мт-генам), а также стомиевых (данные по RAG1, RAG1 + 12S + 16S, RAG1 + 12 мт-генов). Положение Argentinoidea остается не установленным, так как оно на дереве Euteleostei меняется в зависимости от набора молекулярных данных и метода анализа. Уточнить положение гладкоголововидных (Alepocephaloidea), которых морфологи обычно сближают с аргентиновыми (Fink, Weitzman, 1982, Lauder, Liem, 1983; Sanford, 1990; Nelson, 1994), но которые по мтДНК данным относительно надежно заняли место сестринской группы для Clupeomorpha (Ishiguro et al., 2003), по ядерным генам (например, RAG1), ввиду отсутствия данных, пока не представляется возможным.

На филогенетических деревьях, построенных на основании анализа нуклеотидных последовательностей генов RAG1 (фрагмент длиной около 600 н.п.) и родопсина, сестринской группой для клады (Salmoniformes + Esociformes) являются представители Osmeriformes (*P. altivelis* или *N. neocaledonicus*), а вся эта клада Protacanthopterygii (sensu Nelson), согласно данным по гену родопсина, является сестринской группой для Neoteleostei (=Eurypterygii) (Zaragüeta-Bagils et al , 2002). При анализе всех замен в первых и вторых положениях кодонов 12-ти белок-кодирующих и 22-х tRNA генов мтДНК, клада (Argentinoidea + Osmeroidei) на консенсусном МР дереве относительно надежно занимает место сестринской группы для Neoteleostei (Ishiguro et al , 2003). Авторы отмечают, что если ввести ограничение на топологию дерева, предполагая монофилию группы, включающей Salmoniformes, Esociformes, Argentinoidea и Osmeroidei, но без Alepocephaloidea, то вновь полученное дерево статистически достоверно не отличается от исходного, то есть монофилию Protacanthopterygii (sensu Nelson) отвергать полностью нельзя. Согласно нашим результатам по гену RAG1, различия между ML деревьями, на одно из которых введено ограничение на топологию, предполагающее монофилию группы Salmoniformes + Esociformes + Osmeroidea + Argentinoidea + Stomiiformes, не достоверны. Таким образом, данные по гену RAG1 монофилию Protacanthopterygii, причем с включением в их состав стомиевых, также полностью не исключают.

Резюмируя имеющиеся молекулярные данные по примитивным представителям Euteleostei, нужно отметить следующее. Вся эта группа, после того как ее однозначно покинули Ostarhiophysi и, вероятно, Alepoccephaloidea, действительно представляет собой группу примитивных (по отношению к Eurypterygii) представителей Euteleostei, что в целом не противоречит исходному определению Protacanthopterygii (Greenwood et al., 1966). Вопрос о том, является ли эта группа монофилетической с позиций традиционной систематики, в рамках которой допускается существование поли- и парафилетических таксонов, является вторичным. Большинство морфологов, которые объединяли в рамках надотряда Protacanthopterygii примитивных представителей Euteleostei, также скептически относились к его монофилии. Для современной филогенетической систематики проблема монофилии таксона является ключевой, в связи с чем реконструкция родственных отношений между сохранившимися до наших дней линиями базальной дивергенции Euteleostei и вопрос о монофилии Protacanthopterygii являются принципиальными. Как уже отмечалось, существующие молекулярные данные монофилию Protacanthopterygii в целом не поддерживают, но и полностью не отвергают. Окончательно филогенетические связи между всеми примитивными представителями Euteleostei, а также сестринская группа для Eurypterygii (Neoteleostei) могут быть надежно установлены только с привлечением новых данных.

#### Глава 4. Эволюционная история Salmoniformes

##### **Основные результаты анализа разных наборов молекулярных данных с помощью программы Multidivtime**

Наибольшее соответствие между собой показали оценки относительных времен дивергенции, полученные по 5 мт-генам, RAG1 и Vtg-A, которые и были использованы для анализа по объединенным данным. На основании оценок относительных времен и разных значений датировок для каждой из двух основных калибровочных точек были рассчитаны оценки абсолютных времен дивергенции таксонов (табл. 3). Из нескольких возможных датировок для двух этих точек, были выбраны те, которые хорошо согласуются между собой, и использованы в качестве временных ограничений, для каждой из этих точек, когда проводили анализ по двум точкам одновременно. Кроме этого, приведены результаты анализа при использовании трех калибровочных точек, для которых были введены соответствующие временные ограничения.

Среди возможных датировок, принятых нами для двух основных калибровочных точек, две можно сразу отбросить как несостоятельные (табл.3). Это датировки в 5 и 7 млн. лет назад, как предполагаемого времени дивергенции *Parasalmo* и *Oncorhynchus*. Полученные на их основе абсолютные значения оценок времени дивергенции многих таксонов значительно ниже тех, что следуют из палеонтологических данных. Это касается времени дивергенции *Esox/Novumbra* (18.8 млн. лет назад против 29-33 млн. лет) и *Thymallinae/Salmoninae* (24.2 млн. лет назад против 40-45 млн лет), если согласиться с утверждением палеонтологов, что *Eosalmo* является сестринским таксоном для *Salmoninae*



Таблица 3. Оценки относительных и абсолютных времен дивергенции представителей лососеобразных и щукообразных рыб, рассчитанные по объединенным молекулярным данным (5 мт-генов+ RAG1+Vtg-A) с помощью программы Multidivtime, и использованием одной, двух и трех калибровочных точек

Дихотомия, таксоны, ген	относительные времена ± s.e.									
	абсолютные времена ± s.e. (в млн. лет)									
<i>O kis/O tsh</i>	0.062690 ± 0.024498	3.4	4.7	5.4	5.2	5.9	5.4 ± 1.7	5.4 ± 1.7	5.5 ± 1.7	
<i>Parasalmo/Oncorhynchus</i>	0.092445 ± 0.021869	5.0	7.0	8.0	7.7	8.8	8.0 ± 1.4(a)	8.0 ± 0.6(a)	8.0 ± 0.6(a)	
<i>S fon/S alp</i>	0.064685 ± 0.018251	3.5	4.9	5.6	5.4	6.1	5.7 ± 1.4	5.7 ± 1.3	5.9 ± 1.4	
<i>Salvelinus/Oncorhynchus</i>	0.195262 ± 0.035182	10.6	14.8	16.9	16.3	18.5	17.2 ± 2.4	17.0 ± 1.9	17.8 ± 2.0	
<i>Salmo/Salvelinus+Oncorhynchus</i>	0.269241 ± 0.045154	14.6	20.4	23.3	22.4	25.5	23.7 ± 3.9	23.4 ± 3.9	24.8 ± 2.9	
Thymallinae/Salmoninae	0.447170 ± 0.055677	24.2	33.9	38.7	37.3	42.4	39.7 ± 6.7	38.7 ± 2.5	42.3 ± 1.4(c)	
Coregoninae/Thymallinae+Salmoninae	0.491417 ± 0.055814	26.6	37.2	42.5	40.9	46.6	43.6 ± 7.3	42.5 ± 1.4(c)	46.2 ± 2.9	
Vtg-A/Vtg-B	0.898142 ± 0.081106	48.6	68.0	77.7	74.8	85.2	79.8 ± 14.3	78.4 ± 10.8	83.4 ± 11.4	
<i>E luc/E mas</i>	0.216973 ± 0.042716	11.7	16.4	18.8	18.1	20.6	19.4 ± 2.7	19.7 ± 2.8	19.3 ± 2.8	
<i>E.nig/E luc+E.mas</i>	0.289164 ± 0.048483	15.6	21.9	25.0	23.5	27.4	25.7 ± 2.4	25.7 ± 2.4	25.8 ± 2.4	
<i>Esox/Novumbra</i>	0.347961 ± 0.053080	18.8	26.3	30.1	29.0	33.0	30.9 ± 1.2(b)	30.9 ± 1.1(b)	31.0 ± 1.1(b)	
<i>Dallia/Esox+Novumbra</i>	0.556747 ± 0.063781	30.1	42.2	48.2	46.4	52.8	50.3 ± 6.2	50.0 ± 5.8	51.1 ± 6.1	
<i>U.pyg/U kra</i>	0.247174 ± 0.052870	13.4	18.7	21.4	20.6	23.4	22.4 ± 5.2	22.1 ± 5.0	22.8 ± 5.2	
<i>Umbra/Esox+Novumbra+Dallia</i>	0.767544 ± 0.079759	41.5	58.1	66.4	64.0	72.8	69.8 ± 10.6	69.2 ± 9.7	71.4 ± 10.0	
Salmoniformes/Esociformes	1.000000 ± 0.075868	54.1	75.7	86.5	83.3	94.8	90.3 ± 13.7	88.8 ± 10.4	93.6 ± 11.0	
Число калибровочных точек		1	1	1	1	1	2	3	3	
Заданные ограничения для калибровочных точек		-	-	-	-	-	7 < a < 9 29 < b < 33	7 < a < 9 29 < b < 33	7 < a < 9 29 < b < 33	

Примечание. Датировки, по которым проводилась калибровка молекулярных часов, выделены жирным шрифтом (пояснения в тексте). Полные видовые названия приведены на рис. 2 и 3.

(Wilson, Li, 1999), а также дихотомии *Esociformes/Salmoniformes*, учитывая, что возраст наиболее древних находок щукообразных рыб не менее 80 млн лет (Wilson et al., 1992). Оценки абсолютных времен дивергенции таксонов, полученные при использовании других значений для двух калибровочных точек, с учетом их значительных ошибок, в принципе не противоречат существующим палеонтологическим данным. Оценки абсолютных времен дивергенции таксонов, полученные в Multidivtime на основании анализа по двум и трем калибровочным точкам, демонстрируют хорошее соответствие между собой и в целом (некоторые противоречия мы обсудим ниже) хорошо согласуются с существующими палеонтологическими данными. Учитывая, что филогенетические взаимоотношения между основными таксонами *Salmoniformes*, а также *Esociformes* (Lopez et al., 2000, 2004; см. также рис.3), можно считать установленными, на основании имеющихся палеонтологических и молекулярных датировок можно реконструировать основные этапы их эволюционной истории.

### **Эволюционная история лососевых рыб: молекулярные и палеонтологические датировки**

Для успешной реконструкции эволюционной истории любой систематической группы необходимо соблюдение минимум двух основных условий. Во-первых, наличие надежных палеонтологических данных, по которым можно реконструировать все основные этапы эволюции этой группы, и, во-вторых, - относительно надежное знание филогенетических взаимоотношений между ее представителями. Палеонтологические находки лососевых рыб относительно немногочисленны, причем достоверность определения или возраст некоторых из них подвергался сомнению даже самими палеонтологами и морфологами (Smith, 1981, 1992; Allison, Bond, 1983; Cavender, 1986; Сычевская, 1988; Wilson, Williams, 1992; Глубоковский, 1995). Палеонаходки распределены по временной шкале крайне неравномерно. Из эоцена известны только 4 находки двух видов *Eosalmo* (Сычевская, 1986; Wilson, Li, 1999), концом олигоцена датируется только одна находка лёнка *Brachymystax bikinensis* (Сычевская, 1986). К более поздним находкам относятся голец *Salvelinus* sp из Невады (возраст не менее 10 млн лет; Cavender, 1986), *Palaeolox larsoni* из миоцен-плиоцена Орегона - таксон, который впоследствии относили и к *Hucho*, и к *Salvelinus* (Kimmel, 1975; Smith, 1981; Сычевская, 1988; Stearley, Smith, 1993), и две очень проблематичные, на наш взгляд, находки *Hucho* sp, одна из которых (с Витимского нагорья) датируется олигоценом – средним миоценом (Сычевская, 1988), а вторая (из Айдахо) датируется миоценом (Smith, 1981). Основная часть находок лососевых рыб датируется поздним миоценом, плиоценом и плейстоценом (Smith, 1981; Cavender, 1986, Сычевская, 1988; Stearley, Smith, 1993). До недавнего времени не лучше дело обстояло и со знанием филогении лососеобразных (особенно Salmoninae) и щукообразных рыб, так как филогенетические схемы, предложенные разными палеонтологами и морфологами (например, Stearley, Smith, 1993, Nelson, 1994; Глубоковский, 1995; Wilson, Li, 1999), в значительной степени различались между собой и во многом отличны от той, что получена по молекулярным данным и принята в данной работе. Серьезную попытку

реконструировать эволюционную историю Salmonidae предпринял Бенке (Behnke, 1992), который проанализировал все известные палеонаходки лососевых рыб и наложил их на предполагаемую филогенетическую схему, хотя и она оказалась во многом ошибочной. По его мнению, появление тетраплоидного предка произошло 100 млн лет назад, расхождение трех подсемейств - 45-50 млн. лет назад, первый этап дивергенции в Salmoninae, с которым связано появление двух эволюционных групп, одна из которых представлена *Hucho* (включая *Parahucho*), *Brachymystax* и *Salvelinus*, а вторая - *Salmo* и *Oncorhynchus* (включая *Parasalmo*), имел место 30-40 млн. лет назад. Разделение *Salmo* и *Oncorhynchus* произошло 15 млн. лет назад, а разделение *Parasalmo* и *Oncorhynchus* - 5 млн лет назад. Попытки установить время тетраплоидизации генома по некоторым генетическим данным дали разброс оценок от 80-100 (Lim et al., 1975) до 3-25 млн лет назад (Schmidke et al., 1979, Schmidke, Kandt, 1981) и поэтому оно осторожно оценивается в 25-100 (Allendorf, Thorgaard, 1984) или 50-100 млн. лет назад (Allendorf, Waples, 1996)

Согласно полученным нами данным, разделение Salmoniformes и Esociformes, скорее всего, имело место 85-95 млн. лет назад. Тетраплоидизация генома предка лососевых рыб, вероятно, произошла относительно быстро (в пределах нескольких миллионов лет) после разделения линий лососеобразных и щукообразных рыб. В пользу этого свидетельствуют данные по паралогичным генам. Так, если восстановление дисомии и начало дивергенции двух паралогичных генов гормона роста связаны с этапом разделения Salmonidae на три подсемейства (Phillips et al., 2004; настоящая работа), данные по паралогичным генам вителлогенина свидетельствуют об их значительно более длительной независимой эволюции (75-85 млн лет). Есть аналогичные данные и по другим паралогичным генам (Buisine et al., 2002; наши неопубликованные данные), из которых следует еще один важный вывод. Вне зависимости от того, являются ли лососевые рыбы автотетраплоидами или сегментными аллотетраплоидами, образование тетраплоидного бисексуального предка лососевых рыб произошло задолго до того, как началось расхождение современных подсемейств. Согласно нашим данным, разделение трех современных подсемейств лососевых рыб произошло в течение короткого периода времени в вероятном диапазоне от 38 до 46 млн. лет назад, то есть приблизительно на 40-50 млн лет позже того, как возник бисексуальный тетраплоидный предок лососевых рыб

Начало дивергенции внутри Salmoninae связано с обособлением предка современных *Brachymystax* + *Hucho* (Oakley, Phillips, 1999; данная работа). Многие морфологи полагают, что у основания филогенетического дерева Salmoninae располагается *Brachymystax* (Norden, 1961; Stearley, Smith, 1993; Wilson, Li, 1999) или клада (*Brachymystax* + (*Hucho* + *Parahucho*)) (Дорофеева, 1989). К сожалению, на оценки датировок по интронам С генов гормона роста влияют существенные систематическая и случайная ошибки, в связи с чем точно определить время дивергенции линий, одна из которых ведет к *Brachymystax* + *Hucho*, а другая - к остальным представителям Salmoninae, по ним достаточно сложно. С помощью регрессионного анализа (данные по GH-1,2C и мтДНК) можно лишь грубо оценить это время в 27-32 млн. лет назад, что в принципе хорошо соответствует датировке находки ленка *B. bikhnensis* из отложений верхнего

олигоцена в Приморье (Сычевская, 1986, 1988). Отметим, что, несмотря на то, что находка ленка представлена достаточно полным скелетом, ее определение вызывает сомнение (Глубоковский, 1995). По фрагменту жаберной крышки из джилидинской свиты с Витимского нагорья, которая датируется олигоценом – средним миоценом, описан *Hucho* sp. (Сычевская, 1989) *Hucho* sp. из Айдахо датируется миоценом (Smith, 1981). Три эти находки указывают на то, что расхождение *Hucho* и *Brachymystax* произошло относительно давно, а это противоречит существующим генетическим данным и заставляет усомниться в обоснованности или их определения, или в их датировках. По аллозимным данным их расхождение произошло 1-2 млн. лет назад (Осинов, 1991), а по митохондриальным – 2-3 млн. лет назад (Shed'ko et al., 1996). Даже если принять во внимание возможную ошибку при выборе коэффициентов пропорциональности, которые эти авторы использовали при расчете оценок времени дивергенции таксонов, с введением поправки, они все равно не превышают 4-6 млн. лет назад. Нам не известно, насколько надежно определение *Hucho* sp. из Северной Америки и его точный возраст, поэтому лишь заметим, что современные представители *Brachymystax* и *Hucho* там отсутствуют и других палеонаходок, кроме много раз переопределенного *Hucho larsoni* (см. выше), там не обнаружено. В отношении находки *Hucho* sp. с Витимского нагорья, на наш взгляд, допущена ошибка в определении. По мнению Е.Д. Васильевой (личное сообщение), фрагмент жаберной крышки, по которому было проведено определение, мог принадлежать и не лососевой рыбе. Еще раз подчеркнем, что все морфологи (за исключением Глубоковского (1995)) ошибочно включают *Parahucho* в род *Hucho*, причем если одни из них считают, что *Hucho* и *Brachymystax* являются сестринскими таксонами (Kendall, Behnke, 1984, Дорофеева, 1989; Sanford, 1990, Глубоковский, 1995), то другие помещают их в разные клады (Stearley, Smith, 1993; Wilson, Li, 1999).

Со следующими этапами дивергенции внутри ветви, ведущей к остальным современным представителям Salmoninae, связано обособление *Parahucho* и *Salmo*. Судя по данным, которыми мы располагаем в отношении *Salmo*, это произошло 22-25 млн. лет назад. Палеонаходок этих рыб очень мало и самая древняя из них это находка *Salmo derzhavini* из плиоцена Кавказа (Владимиров, 1946). 16–18 млн. лет назад произошло обособление предка *Salvelinus*. Возраст самой древней находки гольца рода *Salvelinus* составляет не менее 10 млн. лет (Cavender, 1986). Обособление *Oncorhynchus* началось с появления предка *Parasalmo* (sensu Vladykov, 1963), вероятно, около 10 млн. лет назад. Расхождение *Parasalmo* и *Oncorhynchus* s. str. началось 8-9 млн. лет назад. Такой представляется последовательность и время прохождения основных этапов эволюции лососевых рыб, которые, несмотря на отдельные совпадения, в значительной мере отличаются от представлений Бенке (Behnke, 1992) или Девлина (Devlin, 1993), который также попытался восстановить некоторые этапы эволюции лососевых рыб на основании анализа данных по генам гормона роста, предполагая, что тетраплоидизация генома у предка лососевых рыб произошла 50 млн. лет назад.

Полученные данные позволяют реконструировать и основные этапы эволюции щукообразных. Среди морфологов нет полного согласия в отношении филогении и

систематики этой группы рыб (Берг, 1955, Rosen, 1974, Сычевская, 1976, 1986, Wilson, Williams, 1992; Nelson, 1994) Согласно Нельсону (1994), отряд *Esociformes* состоит из двух семейств: *Esocidae* включает всех современных и некоторых ископаемых щук, *Umbridae* включает – роды *Dallia*, *Novumbra* и *Umbra* Сычевская (1976) выделяет *Dallia* и *Novumbra* в семейство *Dalliidae*, а ископаемые виды из родов *Palaeoesox* и *Boitshysia* в семейство *Palaeoesocidae*, полагая, что первые близки к предковой форме умбрид, а вторые - к предковой форме *Dallia* На основании анализа кариотипов и количества ДНК на клетку, Бимиш с соавторами (Beamish et al., 1971) высказали сомнения по поводу объединения *Umbra*, *Novumbra* и *Dallia* в рамках одного семейства Анализ фрагментов *cyt-b* и 16S rRNA позволил определить филогенетические взаимоотношения между основными представителями *Esociformes*, которые выглядели следующим образом (((*Esox* + *Novumbra*) + *Dallia*)) + *Umbra*) (Lopez et al., 2000) Дерево с тождественной топологией и высокой бутстрэп поддержкой всех клад получено при анализе данных по гену RAG1 (López et al., 2004; настоящая работа) и объединенных данных по RAG1 + 12S + 16S Из этих данных следует, разделение внутри *Esociformes* началось с обособления двух линий, одна из которых ведет к современным представителям *Esox* + *Novumbra* + *Dallia* (*Esocidae*), а другая к *Umbridae* Это разделение произошло 64-73 млн лет назад На следующем этапе дивергенции внутри линии *Esocidae* имело место обособление *Dallia* (46-53 млн. лет назад) Разделение *Esox/Novumbra* произошло 29-33 млн. лет назад. Происхождение нескольких видов щук и умбрид также относительно древнее и попадает в интервал от 18 до 27 млн лет назад В этой связи отметим следующие древние находки щукообразных: *Boitshysia* – палеоцен - ранний эоцен, *Palaeoesox* – средний эоцен, *Esox* – *E. tiemani* и *E. kronnei* – эоцен, *Proumbra* и *Umbra* – олигоцен, *Novumbra* – средний олигоцен, *Dallia* – поздний миоцен, остальные виды - от среднего олигоцена до позднего плейстоцена (Сычевская, 1976, 1988; Wilson, Williams, 1992; Grande, 1999) По некоторым фрагментам костей черепа из позднемиоценовых отложений в Северной Америке были описаны самые древние ископаемые виды *Oldmanesox canadensis* и *Estesesox foxi* (Wilson et al., 1992) Все эти датировки и определение таксонов, в принципе, хорошо согласуются с предложенными нами молекулярными датировками, за исключением двух случаев Речь идет о *E. tiemani* и *E. kronnei* Возраст *E. tiemani* из Северной Америки определен в 60 млн лет. Авторы отмечают, что по явно адаптивным признакам, связанным с характером питания и локомоторной функцией, этот вид имеет большое сходство с современными щуками, однако другие признаки сближают его с умбровыми (Wilson, Williams, 1992). Авторы полагают, что *E. tiemani* является сестринским таксоном для современных щук Этот вид представлен несколькими находками из разных мест и его возраст, скорее всего, определен верно, однако его положение на филогенетическом дереве *Esociformes* и родовое название вызывают большое сомнение Скорее всего, он находится у основания линии щуковых (*Esocidae*) и является сестринским таксоном для клады ((*Esox* + *Novumbra*) + *Dallia*), и поэтому не может быть отнесен к роду *Esox*. *E. kronnei*, описанная по единственному экземпляру, на основании низкого числа позвонков ( $n = 47$ ) и наличия 2-х *epuralla* (у представителей подрода *Esox* их 3, у *Dallia* – 1 и у умбрид 1-2) отнесена к

подроду *Kenoza* и датируется верхним палеоценом (Grande, 1999). Отнесение этой палеонаходки на основании двух этих признаков к подроду *Kenoza* не выглядит убедительным. Подобное определение противоречит молекулярным данным. Согласно молекулярным датировкам, разделение подродов *Evox/Kenoza* не превышает 28 млн. лет назад. В этой связи отметим, что взгляды разных палеонтологов и морфологов на филогенетические взаимоотношения даже современных представителей щукообразных рыб крайне противоречивы (см. Берг, 1955; Nelson, 1972; Сычевская, 1976, 1986; Nelson, 1994) и, как свидетельствуют молекулярные данные, во многом ошибочны, в том числе и система Нельсона (Nelson, 1972), на которую в своем сравнительном анализе полагался Гранде (Grande, 1999). В целом, на основании проведенного анализа, можно констатировать, что многие датировки и определения таксонов, сделанные палеонтологами, верны, что позволяет использовать их для калибровки и проверки точности молекулярных часов. Тем не менее, есть таксоны, чье определение, возраст или филогенетическое положение вызывают сомнения, так как вступают в явное противоречие с молекулярными данными. Для таких находок желательна повторная перепроверка, выполненная самими палеонтологами и морфологами. При появлении новых достоверных палеонтологических данных можно будет провести дальнейшую корректировку молекулярных датировок.

## ВЫВОДЫ

1. Согласно проведенному анализу, репродуктивные и филогенетические взаимоотношения между основными представителями трех видовых комплексов выглядят следующим образом. *Brachymystax lenok* complex представлен двумя филогенетическими группами ("острорылым" и "тупорылым" ленками), которые в зонах симпатрии репродуктивно изолированы. *Salmo trutta* complex на территории бывшего Советского Союза представлен двумя филогенетическими группами ("атлантической" и "дунайской"), для которых характерен низкий уровень интрогрессивной гибридизации. Севанская форель входит в "дунайскую" группу, ее обособление и образование экологических форм связано с поздне- или послеледниковым временем. *Salvelinus alpinus* - *S. malma* complex представлен тремя основными филогенетическими группами: арктическим гольцом Евразии (вместе с североамериканскими популяциями гольца из штата Мэн и провинции Квебек), гольцом Таранца и мальмой. Гольц Таранца в зонах симпатрии строго репродуктивно изолирован от обеих форм мальмы. Важную роль в образовании существующего в рамках трех видовых комплексов биоразнообразия играли события плейстоценовых ледниковых периодов. Генетические данные позволяют реконструировать эволюционную историю этих комплексов, выявить эволюционно значимые компоненты существующего в них биоразнообразия, имеют важное значение для определения таксономического статуса и разработки стратегии охраны.
2. Ревизия филогенетических и таксономических взаимоотношений в подсемействе Salmoninae указывает на правомочность выделения не более 6 родов: *Hucho*,

*Brachymystax*, *Salmo*, *Parahucho*, *Salvelinus*, *Oncorhynchus*. *Hucho* является сестринским таксоном для *Brachymystax*, а не для *Parahucho*, в связи с чем последний должен быть выведен из рода *Hucho*. Уровень генетической дивергенции между *Brachymystax* и *Hucho* ниже, чем между *Parasalmo* и *Oncorhynchus*. Так как последние сейчас объединены в один род *Oncorhynchus*, представляется целесообразным также объединить ленков и тайменей в один род *Hucho*. *Salvelthymus* должен войти в состав рода *Salvelinus*, а *Salmothymus* и *Acantholingua* - в род *Salmo*. Филогенетические взаимоотношения между всеми родами (за исключением *Parahucho*) установлены.

3. Отряд *Salmoniformes* должен включать только тетраплоидных представителей лососевых рыб. Сестринским таксоном для *Salmoniformes* являются щукообразные *Esociformes*.
4. Отряды *Salmoniformes*, *Esociformes*, *Osmeriformes* (без *Alepocephaloidea*), а также, вероятно, *Stomiiformes*, являются примитивными представителями *Euteleostei*, и на этом основании могут быть объединены в рамках надотряда *Protacanthopterygii*, однако, монофилия и объем последнего пока строго не установлены.
5. Согласно молекулярным и палеонтологическим данным, расхождение *Esociformes* и *Salmoniformes* произошло 85-95 млн лет, а расхождение трех подсемейств *Salmonidae* - 38-46 млн лет назад. Образование шести родов *Salmoninae* происходило в интервале от 4 до 30 млн лет назад. Возраст современных видов колеблется от 3-8 млн лет (некоторые виды *Salvelinus* и *Oncorhynchus*) до 5-20 тыс лет (например, *Salmo ischchan*).

#### Список публикаций по теме диссертации

1. Осинов А.Г. 1983. О генетическом сходстве севанской форели *Salmo ischchan* Kessler и беломорской кумжи *Salmo trutta* L. // Морфология, структура популяций и проблемы рационального использования лососевидных рыб. Л.: Наука. С.150-152.
2. Васильев В.П., Васильева Е.Д., Осинов А.Г. 1983. Первое свидетельство в пользу основной гипотезы сетчатого видообразования у позвоночных. // Докл.АН СССР Т.271 № 4. С.1009-1012.
3. Осинов А.Г., Васильева Е.Д., Васильев В.П. 1983. Гибридное происхождение однополной триплоидной формы рода *Cobitis* (*Cobitidae*, *Pisces*) // Докл.АН СССР Т.272. № 3 С.716-718
4. Осинов А.Г. 1984. К вопросу о происхождении современного ареала кумжи *Salmo trutta* L. (*Salmonidae*): данные по биохимическим маркерам генов // Вопросы ихтиол. 1984 Т.24 Вып.1. С.11-23.
5. Vasil'ev V., Vasil'eva K., Osinov A. 1985. The first evidence of the main hypothesis of reticular speciation in vertebrates // Abstr. Fifth Congr Europ Ichthyol (Stockholm, Sweden, 1985).
6. Осинов А.Г. 1986. Межвидовая генетическая дивергенция и некоторые вопросы филогении лососей р *Salmo* // Тезисы докл. 3 Всесоюз. совещ. генетики, селекции и гибридизации рыб (Тарту, 1986г.). М.: Наука. С.156-157.

7. Васильев В П, Осинов А Г, Васильева Е Д 1986. Диплоидно- полиплоидные комплексы у рыб // Тезисы докладов 3 Всесоюз.совещ. генетике, селекции и гибридизации рыб (Тарту,1986). М.:Наука.С.34-35.
- 8 Осинов А Г 1988 Кумжа *Salmo trutta* L. (Salmonidae) бассейнов Черного и Каспийского морей: популяционно- генетический анализ // Генетика.Т 24 № 12 С.2172-2186.
- 9 Осинов А.Г.1988 К вопросу о происхождении севанской форели *Salmo ischchan* Kessler популяционно-генетический подход // Тезисы докл. 3 Всесоюз совещ. по лососевид рыбам (Тольятти,1988). Тольятти. С.228-230.
- 10 Осинов А.Г.1989 Межвидовая генетическая дивергенция и некоторые вопросы филогении лососей р.*Salmo* // Генетика в аквакультуре. Л.:Наука.С.97-107
- 11 Осинов А Г 1989 Низкий уровень генетической изменчивости и дифференциации у экологических форм севанской форели *Salmo ischchan* Kessler // Генетика. Т.25. № 10. С.1827-1835.
- 12 Васильева Е Д., А Г.Осинов, В.П Васильев. 1989 К проблеме сетчатчатого видообразования у позвоночных: диплоидно- триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae) I Диплоидные виды // Вопросы ихтиол.Т.29. Вып.5. С.705-717.
- 13 Vasil'ev V P, Vasil'eva E D., Osinov A G 1989 Evolution of diploid-triploid-tetraploid complex in fishes of genus *Cobitis* (Pisces,Cobitidae) // Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates (eds R M Dowley, J P Bogart). New York: N Y.State Museum Bulletin N.466 P.153-169
- 14 Осинов А Г, Васильева Е Д, Васильев В П.1990. К проблеме сетчатого видообразования у позвоночных: диплоидно-триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae) II. Характеристика триплоидной формы // Вопросы ихтиол Т.30 №2. С.214-220.
- 15 Васильев В П, Васильева Е Д., Осинов А.Г.1990 К проблеме сетчатого видообразования у позвоночных: диплоидно-триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae). III Происхождение триплоидной формы // Вопросы ихтиол Т.30.Вып.4. С.543-550.
- 16 Осинов А.Г.1990 а К проблеме происхождения севанской форели *Salmo ischchan* Kessler популяционно-генетический подход // Журн.общ.биол. Т.51. № 6. С.817-827
- 17 Осинов А Г 1990 б Некоторые данные об уровне генетической изменчивости и дифференциации форелей *Salmo trutta* L. (Salmonidae) Таджикистана // Вестн МГУ сер 16 Биология № 1. С 37-41
- 18 Осинов А Г, Ильин И И, Алексеев С С 1990 Формы ленка рода *Brachymystax* в свете данных популяционно-генетического анализа // Зоол.журн. Т.69. № 8 С.76-90
- 19 Васильев В.П, Васильева Е Д, Осинов А Г 1990 К проблеме сетчатого видообразования у позвоночных: диплоидно-триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae). IV. Тетраплоидные формы // Вопросы ихтиол. Т.30. Вып.6. С 908-919.
- 20 Осинов А.Г 1991 Генетическая дивергенция и филогенетические взаимоотношения ленков р *Brachymystax* и тайменей родов *Hucho* и *Parahucho* // Генетика Т 27. № 12



C.2127-2136.

- 21 Васильев В.П., Осинов А.Г., Васильева Е.Д. 1991 К проблеме сетчатого видообразования у позвоночных: диплоидно-триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae) V Происхождение полиплоидных видов // Вопросы ихтиол. Т.31 Вып.2. С.202-215.
- 22 Osinov A.G. 1991. Genetic divergence and phylogenetic relationships between lenoks of genus *Brachymystax* and huchens of genera *Hucho* and *Parahucho* / Abstr. Symp. Biochem. Genet. Taxon. Fish (Queen's University, Belfast 22-26 July, 1991) // Belfast: Queen's Univ. P. 49.
- 23 Яхненко В.М., Осинов А.Г., Мамонтов А.М. 1992 Морфологическая и популяционно-генетическая дифференциация байкальского озерного сига *Coregonus lavaretus baicalensis* Dyb. // Генетика. Т.28. № 7. С.139-150.
- 24 Osinov A.G. 1992. Biochemical polymorphism, population-genetic structure, speciation and phylogenetic relationships between fishes of subfamily Salmoninae // *Nordic J. Freshw. Res.* No.67. P.94-95.
- 25 Васильев В.П., Васильева Е.Д., Осинов А.Г. 1993 Эволюция диплоидно-триплоидно-тетраплоидного комплекса рода *Cobitis* (Cobitidae) / Гибридизация и проблема вида у позвоночных (ред. О.Л.Россолимо) // Тр Зоол. музея МГУ. Т.30. С.6-33.
- 26 Осинов А.Г. 1993. Встречное расселение, вторичный контакт и видообразование у ленков рода *Brachymystax* (Salmonidae, Salmoniformes) // Генетика. Т.29. № 4. С.654-669.
- 27 Осинов А.Г., Павлов С.Д. 1993. О генетическом сходстве камчатских благородных лососей и американской радужной форели // Вопросы ихтиол. Т.33. Вып.5. С.626-630.
- 28 Bernatchez L., Osinov A.G. 1995 Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation // *Molecular Ecology.* V.4. P.285-297.
- 29 Осинов А.Г., Павлов С.Д., Максимов В.А. 1996. Аллозимная изменчивость и генетическая дифференциация популяций арктического гольца *Salvelinus alpinus* L. на ареале от Балтики до Таймыра // Генетика. Т.32. № 4. С.547-559.
- 30 Osinov A.G., Pavlov S.D. 1995. Allozyme variation and genetic differentiation of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., populations in the range from the Baltic to Taimyr / Program and Abstr. Seventy-Fifth Annual Meet. Amer. Soc. Ichtyol. Herpetol. (Univ. Alberta, Edmonton, Canada, 1995). P.153.
31. Осинов А.Г., Берначе Л. 1996. "Атлантическая" и "дунайская" филогенетические группы у кумжи, *Salmo trutta* complex: генетическая дивергенция, эволюция и охрана // Вопросы ихтиол. Т.36. Вып.6. С.762-786
- 32 Осинов А.Г., Павлов С.Д. 1998. Аллозимная изменчивость и генетическая дивергенция популяций арктического гольца и мальмы *Salvelinus alpinus*-*S. malma* complex) // Вопросы ихтиол. Т.38. Вып.1. С.47-61.
- 33 McMeel O., Prodohl P., Osinov A., Ferguson A. 1997 Genetic diversity as revealed by DNA markers in the brown trout (*Salmo trutta*) complex (Salmonidae) / Abstr. Ninth Congress. Europ. Ichthyol. (Napoli-Trieste, Italy, 1997). P.58.

34. Brunner P C., Osinov A., Wilson C.C., Bernatchez. L. 1997. Comparative analyses of microsatellite and mtDNA markers: Holarctic differentiation in the Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) complex // Abstr Fifth Congres. Europ.Soc.Evol.Biol. (The Netherlands, 1997). P.5.
35. Osinov A G 1998 *Salvelinus alpinus* –*S malma* complex: genetic data, phylogeny, and systematics / Abstr. ISACF workshop (Kamchatka, Russia). Vladivostok. P.28-29.
36. Osinov A G 1999 The Dolly Varden (*Salvelinus malma*) of Eurasia and the charrs of the Kamchatka River basin data from allozyme analysis // ISACF Inform.Ser. No.7.P.173-181.
37. Осинов А Г 1999 Лососевые рыбы *Salmo*, *Parasalmo* и *Oncorhynchus*: генетическая дивергенция, филогения и классификация // Вопросы ихтиол. Т.39. Вып.5. С.595-611.
38. Osinov A.G , Lebedev V S 2000. Genetic divergence and phylogeny of the Salmoninae based on allozyme data // J. Fish. Biol. V.57. P.354-381.
39. Осинов А Г 2001 Эволюционные взаимоотношения между основными таксонами *Salvelinus alpinus*- *S.malma* complex: результаты сравнительного анализа аллозимных данных разных авторов // Вопросы ихтиол. Т.41. Вып.2. С.167- 183.
40. Brunner P C , Douglas M.S., Osinov A., Wilson C.C , Bernatchez L. 2001. Holarctic phylogeography of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* complex) inferred from mitochondrial DNA sequences // Evolution. V.55. P.573- 586.
41. Осинов А Г. 2002 Арктический голец *Salvelinus alpinus* (L.) Забайкалья и Таймыра: генетическая дифференциация и происхождение // Вопросы ихтиол. Т.42. № 2 С.149-160.
42. Осинов А.Г. 2002 Северная форма мальмы *Salvelinus malma* Азии и Северной Америки: аллозимная изменчивость, генетическая дифференциация, происхождение // Вопросы ихтиол. Т.42 № 5. С.664-677.
43. Осинов А Г., Алексеев С.С., Кириллов А Ф 2003 Арктический голец *Salvelinus alpinus* из озера Улахан-Силян-Кюель (бассейн реки Яна): биология, морфология, генетика, филогения // Вопросы ихтиол. Т.43 № 1. С.58-72.
44. Павлов Д.А , Осинов А.Г. 2004. Основные особенности раннего онтогенеза у лососеобразных рыб (*Salmoniformes*)и других представителей *Protacanthopterygii* в связи с филогенией // Вопросы ихтиол. Т.44. № 3. С.293-312
45. Осинов А Г , Лебедев В.С. 2004 Лососевые рыбы (*Salmonidae*, *Salmoniformes*): положение в надотряде *Protacanthopterygii*, основные этапы эволюционной истории, молекулярные датировки // Вопросы ихтиол. Т.44. № 6. С 738-765.

Принято к исполнению 08/10/2004  
Исполнено 09/10/2004

Заказ № 358  
Тираж 100 экз

---

ООО «11-й ФОРМАТ» ИНН 7726330900  
Москва, Балаклавский пр-т, 20-2-93  
(095) 747-64-70  
(095) 318-40-68  
[www.autoreferat.ru](http://www.autoreferat.ru)

№ 18909

РНБ Русский фонд

2005-4

16049