

## Филогения лососевидных рыб (Salmonoidei) по данным анализа митохондриального гена COI (баркодинг)

В. С. АРТАМОНОВА<sup>1,2</sup>, О. В. КОЛМАКОВА<sup>2</sup>, Е. А. КИРИЛЛОВА<sup>1</sup>, А. А. МАХРОВ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН  
119071, Москва, Ленинский просп., 33  
E-mail: valar99@mail.ru

<sup>2</sup> Институт биофизики федерального исследовательского центра  
“Красноярский научный центр СО РАН”  
660036, Красноярск, Академгородок, 50/50

Статья поступила 22.11.2017

Принята к печати 22.12.2017

### АННОТАЦИЯ

Представлены результаты анализа частичной последовательности митохондриального гена COI и кодируемой этим участком гена аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы у представителей 11 родов лососевидных рыб. Для аминокислотных последовательностей построены варианты сети, где в качестве внешней группы фигурируют представители предполагаемых предковых групп – щуковидных (Esocidae) или корюшковидных (Osmeridae). Показано, что при таком виде анализа корюшковидные оказываются ближе к лососевидным, чем щуковидные, и их присутствие в сети в этом качестве гораздо лучше объясняет имеющиеся данные по морфологии и кариологии лососевидных. Многие результаты работы являются принципиально новыми. В частности, показано замедление молекулярной эволюции хариусовых (Thymallidae). Сделан вывод о том, что к предку лососевых из современных родов наиболее близки арктические гольцы (*Salvelinus*). Подтверждено предположение о филогенетической близости родов *Brachymystax*, *Hucho* и *Salmo*. Обсуждена возможность того, что именно изменения в аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы ведут к возникновению постзиготической репродуктивной изоляции между таксонами.

**Ключевые слова:** эволюция, сеть, молекулярные часы, аминокислотная последовательность, репродуктивная изоляция, иммобилизация, рыбы.

К лососевидным рыбам издавна приковано самое пристальное внимание исследователей различных специальностей, поскольку многие из них являются ключевыми компонентами морских и/или пресноводных экосистем [Willson, Halupka, 1995], а также издавна служат важнейшими объектами промысла, рыбоводства и любительского рыбо-

ловства [Казаков, 1988; Карпевич и др., 1991; Черешнев и др., 2002; Montgomery, 2003; Шунтов, Темных, 2008; Любительское рыболовство..., 2010; Сидоров, Решетников, 2014; Артамонова, Махров, 2015].

Благодаря своей высокой экологической и морфологической пластичности [Noakes et al., 1989; Павлов, Савваитова, 2008; Кузищин,

2010], лососевидные рыбы часто служат модельными объектами для эволюционистов [Викторовский, 1978; Мина, 1986; Алтухов и др., 1997; *Evolution illuminated...*, 2004]. Им посвящены тысячи публикаций, и в настоящей работе невозможно перечислить даже обзорные статьи и монографии, обобщающие этот массив данных.

Лососевидные рыбы представлены большим числом родов и видов, причем исследователи очень по-разному представляют себе происхождение крупных эволюционных линий, горячие дискуссии идут о систематическом статусе многих форм. В исследовании использована классификация, согласно которой подотряд лососевидные (*Salmonoidei*) включает семейства лососевых (*Salmonidae*), сиговых (*Coregonidae*) и хариусовых (*Thymallidae*) [Решетников, 2003]. Мы постараемся выявить взаимоотношения между этими семействами, а также родами, входящими в их состав (см. таблицу).

Филогении и систематике лососевидных посвящены морфологические исследования [Regan, 1914; Чернавин, 1923; Norden, 1961; Vladukov, 1963; Рассадников, 1980; Алексеев, 1993], публикации по эволюции онтогенеза [Коровина, 1978; Соин, 1980; Kendall, Behnke, 1984; Павлов, Осин, 2004], обобщения палеонтологических данных [Сычевская, 1988; Wilson, Guo-Qing, 1999], работы, где изложены данные по кариологии [Ojima et al., 1963; Rees, 1964; Черненко, 1969; Васильев, 1977; Allendorf, Thorgaard, 1984; Hartley, 1987; Фролов, 2000; Phillips, Rab, 2001; Зелинский, Махров, 2002; Sutherland et al., 2016], аллозимам [Osinov, Lebedev, 2000; Осин, Лебедев, 2004], последовательностям митохондриальной и ядерной ДНК [Ramsden et al., 2003; Crespi, Fulton, 2004; Phillips et al., 2004; Matveev, Okada, 2009; Yasuike et al., 2010; Wang et al., 2011; Шедько и др., 2012; Macqueen, Johnston, 2014; Животовский, 2015; Lappin et al., 2016; Horreo, 2017], работы, обобщающие и интегрирующие данные, полученные разными методами [Tchernavin, 1939; Берг, 1948; Behnke, 1970; Дорофеева и др., 1980; Sanford, 1990; Макоедов, 1999; Alexandrou et al., 2013; Makhrov, 2017; Robertson et al., 2017]. Огромное число публикаций посвящено эволюции отдельных групп лососевидных.

Опубликованы работы, где для решения проблем таксономии использованы данные, касающиеся последовательности митохондриального гена *COI*, кодирующего субъединицу I цитохромоксидазного комплекса (комплекс IV), но эти статьи посвящены решению прикладной задачи – идентификации нескольких практически важных видов лососевых [Rasmussen et al., 2009; Cline, 2012; Muñoz-Colmenero et al., 2017 и ссылки в этой работе]. Между тем в комплекс IV входят белки, кодируемые митохондриальными и ядерными генами, которые должны соответствовать друг другу по своей структуре для нормального функционирования системы в целом [Li et al., 2006]. При этом *COI* является единственным геном, участие которого в видообразовании доказано в специальном исследовании [Hebert et al., 2003].

Все это делает последовательность митохондриального гена *COI* исключительно ценным носителем информации при реконструкции событий, связанных с возникновением новых таксонов в эволюции, тем более что митохондриальная ДНК в норме не рекомбинирует, а значит, хранит в себе информацию, в том числе о последовательности событий, приведших к возникновению того или иного вида.

Совмещение последовательности данного гена с другими последовательностями митохондриальной ДНК при анализе, как это делают некоторые исследователи [Crête-Lafrenière et al., 2012; Шедько и др., 2013], по мнению авторов, неоправдано, поскольку интенсивность отбора для разных генов различна, и роль других митохондриальных генов в процессе видообразования не показана.

Реконструкцию эволюционных событий, связанных с изменением последовательности митохондриальной ДНК (замены, вставки и делеции нуклеотидов) выполняют при помощи построения сети гаплотипов, которые представляют собой варианты нуклеотидной последовательности какого-либо участка митохондриальной ДНК [Morrison, 2005]. Изначально данный метод использовался для изучения внутривидового разнообразия [Bandelt et al., 1999], но он успешно применяется и для изучения эволюционных взаимоотношений крупных систематических групп [Huson, Bryant, 2006]. Однако для изучения надви-

Характеристика изученных выборок рыб

1	2	3	4	5	6	7
Семейство	Род	Вид (подвид)	Место сбора выборки	Дата сбора	Галлотип, число его носителей, номер в базе данных Генбанк	Вариант аминокислотной последовательности (в скобках – число его носителей)
Лососевые (Salmonidae)	Ленки ( <i>Brachymystax</i> )	Ленок ( <i>Brachymystax lenok</i> ) (островылая форма)	р. Аяхта (бассейн Енисея)	14.06.2016	Brle (3) MG951554	BRLS
		Ленок ( <i>Brachymystax lenok</i> ) (тупорылая форма)	р. Комиссаровка (бассейн Амура) То же	24.05.2017 24.05.2017	Brle (3) MG951555 Brsa (4) MG951556	» »
	Таймени ( <i>Hucho</i> )	Обыкновенный таймень ( <i>Hucho taimen</i> )	р. Муравейка (бассейн Амура) р. Аяхта (бассейн Енисея)	19.05.2017 14.06.2016	Brsa (1) MG951557 Huch (2) MG951558	» HUCH
	Сахалинские таймени ( <i>Parahucho</i> )	Сахалинский таймень ( <i>Parahucho pengu</i> )	р. Лангери (о-в Сахалин)	Июль – июль 2015 г.	PaHu1 (2) MG951559 PaHu2 (1) MG951560	РАНУ SALV
	Арктические голецы ( <i>Salvelinus alpinus</i> )	Арктический голец ( <i>Salvelinus alpinus</i> )	оз. Северное (Новая Земля) оз. Святое (Новая Земля)	Июль 2017 г. Июль – август 2015 г.	Salv1 (2); MG951561 Salv2 (1) MG951562 Salv3 (1) MG951563	» »
			оз. Горное (Новая Земля)	Июль – август 2015 г.	Salv3 (2) MG951567	»
			оз. Янгото (о. Вайгач)	07–09.08.2010	Salv1 (2) MG951564	»
		Палия ( <i>Salvelinus lepechini</i> )	оз. Топозеро (бассейн Белого моря) оз. Ладожское	2000 г. 2000 г.	» Salv4 (4) MG951566	» »
		Палия американская ( <i>Salvelinus fontinalis</i> )	Национальный парк Йеллоустоун	21.07.2017	Safo (3) MG951571	»
		Мальма ( <i>Salvelinus malma</i> )	р. Озерная (Камчатка)	06.09.2012	Sama (3) MG951571	»
		<i>Salvelinus</i> sp.	оз. Собачье (Таймыр)	Сентябрь 2016 г.	Salv1 (2); MG951570 Salv5 (1) MG951569	SALV (2), SALL (1)
		<i>Salvelinus</i> sp.	То же	Сентябрь 2016 г.	Salv1 (3) MG951568	SALV
	Тихоокеанские блородные лососи ( <i>Parasalmo</i> )	Радужная форель ( <i>Parasalmo mykiss</i> )	Порода Рофор (ФГУП “ФСГЦР”)	Февраль 2009 г.	Onmy1 (3); MG951595 Onmy2 (1) MG951598	ONMY

1	2	3	4	5	6	7
			Порода Росталь (ФГУП "ФСЦПР")	Февраль 2009 г.	Опму1 (2) МС951596	ОНМУ
			Порода Дональдсон (ФГУП "Племенной форелеводческий завод Адлер")	Февраль 2008 г.	Опму1 (2); МС951597 Опму3 (1) МС951598	»
			р. Тао (бассейн Хуанхэ) – рыбы, ушедшие с рыбоводного хозяйства	09–10.10.2012	Опму1 (2) МС951594	»
			Породная группа Августин (ФГУП "Племенной форелеводческий завод Адлер")	Март 2008 г.	Опму4 (2) МС951601	»
			Порода Камлопс (Карачаево-Черкесская Республика)	18.06.2014	Опму4 (3) МС951600	»
			р. Дюрсо (бассейн Черного моря)	Август–сентябрь 2015 г.	СаТII (2) МС951578	САТR
			р. Мзымга (бассейн Черного моря)	Январь 2008 г.	СаТII (2); МС951579 СаТII (1) МС951580 СаТс (4) МС951581	»
			Азербайджан, Чухур-Кабалинский рыболовный завод	01.10.2012	СаТс (4) МС951581	»
			Реки Варзина и Дроздовка (Кольский полуостров)	–	СаТс (3) МС951583	»
			р. Кереть (бассейн Белого моря)	29.09.2016	СаSr (2) МС951584	САSA
			р. Сон-река (бассейн Белого моря)	06.07.2011	СаSr (1) МС951585	»
			р. Малая Хузи (о-в Сахалин), покатная молодь	15.06.2017	Ogev1 (1); МС951589 Ogev2 (1) МС951591	OGOR1
			р. Лангери (о-в Сахалин), покатная молодь	18.06.2017	Ogev1 (1); МС951608 Ogev2 (1) МС951593	»
			р. Кереть (бассейн Белого моря)	25.06.2016	Ogev1 (1) МС951590	»
Благородные лососи ( <i>Salmo</i> )	Черноморская кумжа ( <i>Salmo trutta labrax</i> )					
		Каспийская кумжа ( <i>Salmo trutta caspius</i> )				
		Обыкновенная кумжа ( <i>Salmo trutta trutta</i> )				
		Атлантический лосось ( <i>Salmo salar</i> )				
Тихоокеанские лососи ( <i>Oncorhynchus</i> )	Горбуша ( <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> ); четная линия					

Горбуша ( <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> ); нечетная линия	р. Кереть (бассейн Белого моря)	26.08.2013	Ogod1 (7); MG951586 Ogod2 (1); MG951587 Ogod3 (4) MG951588	OGOR1 (11) OGOR2 (1)
Кижуч ( <i>Oncorhynchus kisutch</i> )	р. Лангери (о-в Сахалин)	06–26.09.2016	Onki1 (1); MG951602 Onki2 (2); MG951603 Onki3 (1) MG951604	ONKI
Сима ( <i>Oncorhynchus masou</i> )	р. Партизанская (Приморский край)	28.05.2017	Onma1 (2); MG951605 Onma2 (1) MG951606 Onma3 (1) MG951607	ONMA
Сиговые (Сольважки ( <i>Prosopium</i> ))	Обыкновенный Валек ( <i>Prosopium cylindraceum</i> )	02.07.2017 2017 г.	Pros1 (1); MG951550 Pros2 (1) MG951551	» PROC
Сиги ( <i>Coregonus</i> )	Обыкновенный сиг ( <i>Coregonus lavaretus</i> )	14.06.2016	Corg (2) MG951551	COST
Нельмы ( <i>Stenodus</i> )	Нельма ( <i>Stenodus leucichthys</i> )	23.08.2016	Sten (2) MG951553	»
Хариусовые ( <i>Thymallus</i> )	Хариусы ( <i>Thymallus arcticus</i> )	14.06.2016	ThAr1 (3); MG951573	THAT
Европейский хариус ( <i>Thymallus thymallus</i> )	Европейский хариус ( <i>Thymallus thymallus</i> )	Август 2016 г.	ThTh (3) MG951574	»
Амурский хариус ( <i>Thymallus arcticus grubei</i> )	Амурский хариус ( <i>Thymallus arcticus grubei</i> )	19.05.2017	ThSp1 (2); MG951575 ThSp2 (1) MG951576	THSP
Щуковые ( <i>Esox</i> )	Щуки ( <i>Esox</i> )	23.05.2017 14.06.2016	ThSp1 (2) MG951577 EsLu (1) MG951592	» EXOS
Корюшковые ( <i>Osmeridae</i> )	Малоротые корюшки ( <i>Osmerus olidus</i> )	2016 г.	Hyo1 (5) MG951609	HYOL
Корюшки ( <i>Osmerus eperlanus</i> )	Европейская корюшка ( <i>Osmerus eperlanus</i> )	2017 г.	Osep1 (1); MG951610	OSEP

довой эволюции лососевидных рыб, насколько известно, этот метод не использовали.

В работе применен способ построения сети гаплотипов, подходящий для изучения эволюционных событий на уровне возникновения целых родов и семейств. Чтобы осуществить реконструкцию эволюционных событий такого масштаба, учтено, что только очень редкие замены в последовательности гена *COI*, продукт которого должен работать в комплексе с ядерными белками, могут приводить к изменению аминокислотной последовательности белка и при этом не являться летальными, и построена сеть гаплотипов для частичной аминокислотной последовательности цитохромоксидазы I. Этот подход давно известен [Vandelt et al., 1999], но используется редко.

В работе обсуждаются особенности систематики лососевидных, вытекающие из представленной реконструкции эволюционных событий, а также соответствие полученной картины имеющимся представлениям о происхождении крупных эволюционных линий этого подотряда.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

**Биологические образцы.** Биологический материал представлял собой фрагменты жировых плавников или белых мышц рыб, фиксированные 96%-м этанолом. Сведения о видовой принадлежности изученных рыб, а также местах сбора материала приведены в таблице.

**Выделение ДНК и амплификация частичной последовательности митохондриального гена *COI*.** Тотальную клеточную ДНК выделяли с использованием набора реактивов “ДНК-ЭКСТРАН-2” (производство “Синтол”, Москва) согласно рекомендациям производителя.

ПЦР-продукт, содержащий частичную последовательность митохондриального гена *COI*, получали на амплификаторе “Терцик” (“ДНК-технология”, Москва) с использованием универсальных праймеров, разработанных специально для рыб [Ward et al., 2005]. Для представителей родов *Salvelinus*, *Salmo*, *Parasalmo* и *Oncorhynchus* использовали праймеры FishF1 и FishR1, для всех остальных –

FishF2 и FishR2. Амплификацию проводили в 25 мкл буфера производства фирмы “Fermentas” (Литва, Вильнюс), содержащего 75 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 20 мМ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,1 % Tween 20 и 2 мМ  $\text{MgCl}_2$ . Смесь для амплификации содержала около 300 нг тотальной клеточной ДНК, по 200 нмоль каждого из четырех дезоксирибонуклеотидов, по 10 пмоль прямого и обратного праймеров и 0,5–0,7 ед. полимеразы (производство “Бионэм”, Москва). Для предотвращения испарения в ходе реакции сверху на смесь наслаивали около 12 мкл минерального масла. Программа амплификации включала этап первоначальной денатурации ДНК – +95 °С, 4 мин, 31 цикл амплификации фрагмента ДНК – +95 °С, 30 с, +50 °С, 30 с, +72 °С, 50 с, а также этап конечной элонгации цепи +72 °С, 5 мин.

**Секвенирование ПЦР-продукта.** Полученный ПЦР-продукт переосаждали в мягких условиях, добавляя к пробе, извлеченной из-под минерального масла, ацетат аммония до конечной концентрации 0,125 М и этанол до 70 %, смесь оставляли на 20 мин при комнатной температуре, а затем центрифугировали 20 мин при 13 000 об/мин (центрифуга Eppendorf 5415 R). Осадок промывали охлажденным 70%-м этанолом, высушивали и перерастворяли в бидистиллированной воде. В реакцию секвенирования брали 20 нг ПЦР-продукта и 3,2 пмоль соответствующего праймера. Каждый образец секвенировали дважды – с прямого и с обратного праймера. Реакцию секвенирования проводили с использованием реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе ABI PRISM 3730 Applied Biosystems Межинститутского центра коллективного пользования “Геном” ИМБ РАН.

**Анализ результатов секвенирования и построение сетей гаплотипов для последовательностей *COI* мтДНК и кодируемых ими аминокислотных последовательностей.** Результаты секвенирования анализировали с использованием специализированного редактора BioEdit v. 7.0.5. [Hall, 1999]. Для перевода нуклеотидных последовательностей в аминокислотные использовали опцию “Translate in selected frame (permanent)” с применением генетического кода митохондрий.

При построении сетей гаплотипов использовали программу Network 5.0.0.1 (<http://www.fluxus-engineering.com>). Для частичных последовательностей COI мтДНК применяли опцию “Median Joining”, а для последовательностей аминокислот – опцию “Reduced Median”.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В работе изучены нуклеотидные и аминокислотные последовательности 124 представителей различных видов рыб, относящихся к 14 родам. Для построения сетей использованы частичные последовательности митохондриального гена COI длиной 651 нуклеотид, кодирующие аминокислотные последовательности из 217 аминокислотных остатков, которые относились к 45 различным гаплотипам и 19 вариантам аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы. Последовательности, представляющие эти гаплотипы, помещены в Международную базу данных GenBank, их номера приведены в таблице.

Сети для вариантов частичной аминокислотной последовательности митохондриально-

го белка COI представлены на рис. 1 и 2. В них учтены последовательности представителей всех родов лососевидных за исключением *Salvethymus*, рода, единственным представителем которого является паляя Световидова (*Salvethymus svetovidovi*). Однако нуклеотидная последовательность митохондриального гена COI, представленная в Международной базе данных Genbank (JX960966.1) позволяет сделать вывод о том, что частичная аминокислотная последовательность субъединицы I цитохромоксидазы у этого единственного представителя рода *Salvethymus* не отличается от соответствующего фрагмента аминокислотной последовательности, характерной для подавляющего большинства представителей рода *Salvelinus*. Таким образом, при включении в анализ этого вида топология ветвей сети не меняется.

При построении сетей, изображенных на рис. 1 и 2, использованы последовательности для одних и тех же представителей лососевидных. Группы данных различались только тем, что в первом случае в качестве внешней группы по отношению к подотряду лосо-

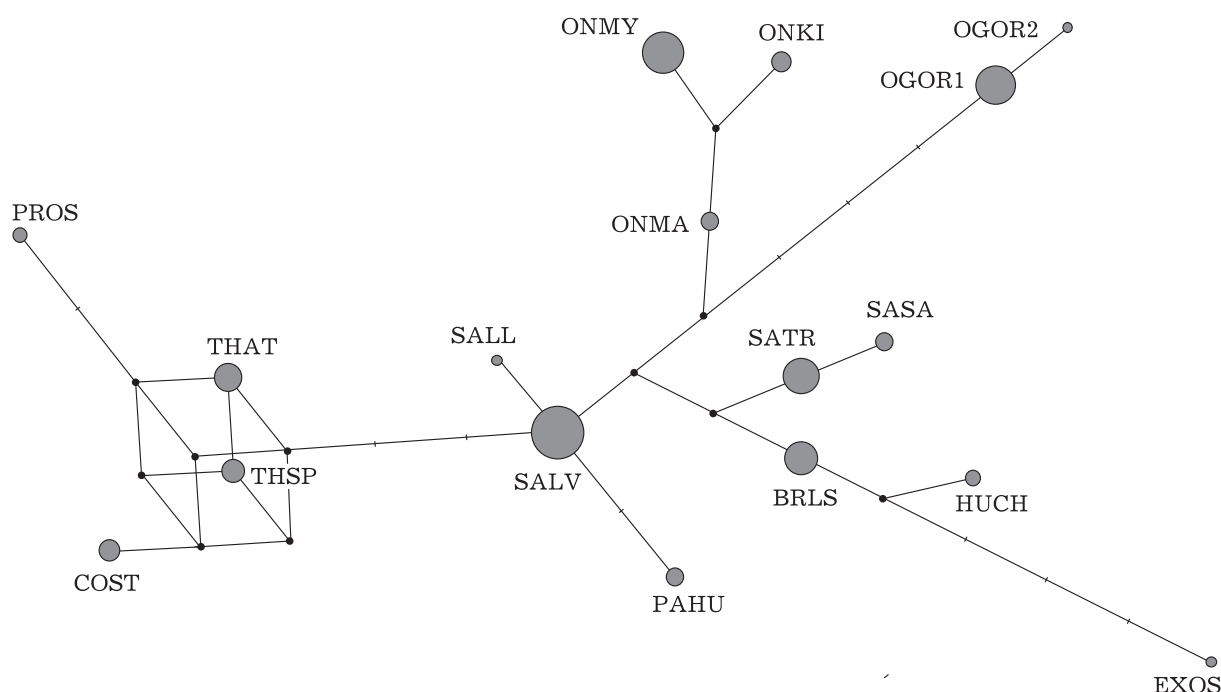


Рис. 1. Сеть для частичной аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы, где в качестве внешней группы по отношению к подотряду лососевидных (*Salmonoidei*) выбрана щука обыкновенная, представитель подотряда щуковидных (*Esocoidei*). Длины ветвей пропорциональны числу аминокислотных замен в последовательности белка. Обозначения вариантов последовательности см. в таблице

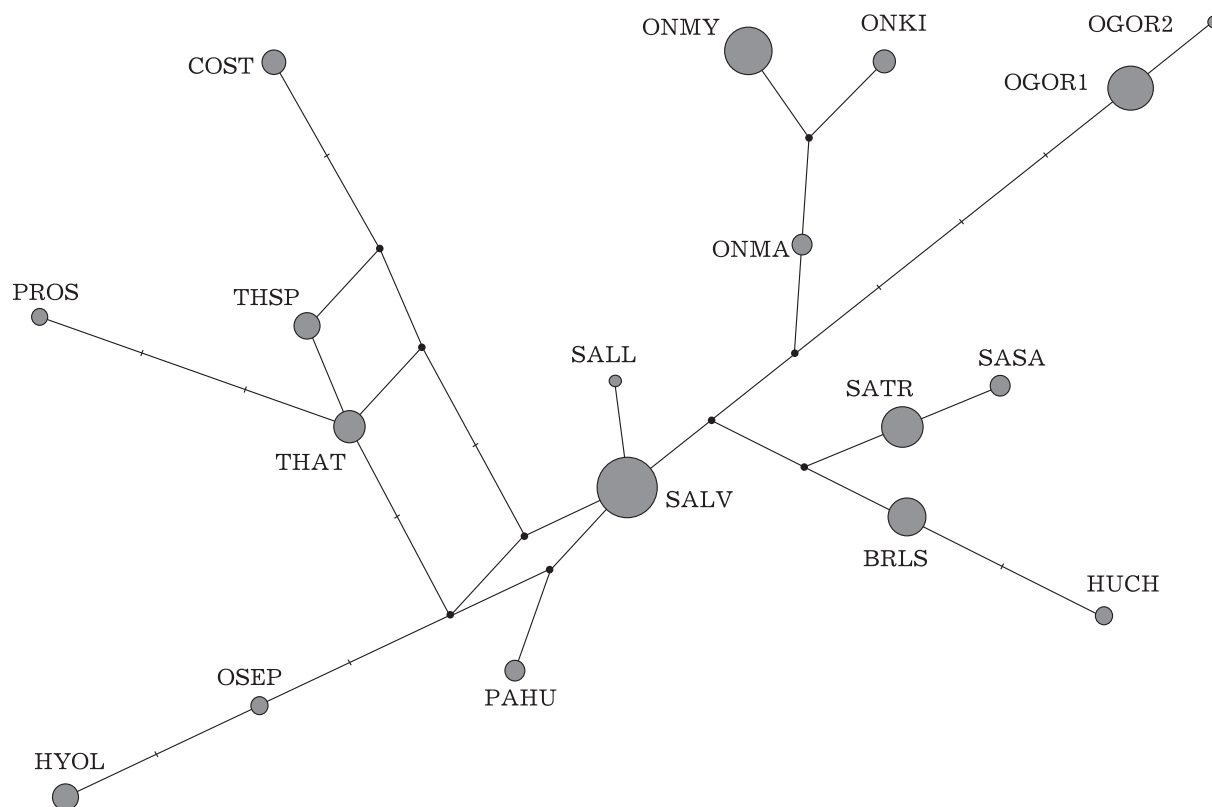


Рис. 2. Сеть для частичной аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы, где в качестве внешней группы по отношению к подотряду лососевидных (Salmonoidei) выбраны представители двух родов подотряда корюшководных (Osmeroidei). Длины ветвей пропорциональны числу аминокислотных замен в последовательности белка. Обозначения вариантов последовательности см. в таблице

севидных выбрана щука обыкновенная, относящаяся к подотряду щуководных (Esoscoidei), а во втором – представители двух родов подотряда корюшководных (Osmeroidei) – корюшка европейская и малоротая. Выбор представителей этих подотрядов обусловлен их близостью к лососевидным по морфологическим признакам. Корюшководные считаются непосредственными предками лососевидных: предполагают, что у одного из корюшкоподобных предков произошла тетраплоидизация генома, и этот предок дал начало новому подотряду рыб – лососевидным. В пользу этого предположения свидетельствуют кариологические данные [Фролов, 2000].

Что касается щуководных, то по результатам анализа ряда митохондриальных и некоторых ядерных генов они оказались более близки к лососевидным, чем корюшководные [Ramsden et al., 2003; Осин, Лебедев, 2004,

Li et al., 2010; Campbell et al., 2013]. Поэтому необходимо проверить, в том числе, гипотезу происхождения лососевидных от древних представителей подотряда щуководных (Esoscoidei).

Сравнение двух вариантов сети показывает, что ее общая топология в целом сохраняется независимо от выбора внешней группы. Более того, и в том, и в другом случае наблюдается не полная однозначность в расположении ветвей для группы рыб, в которую входят хариусовые и сиговые, хотя возможные варианты происхождения филогенетических линий выглядят в случае двух разных внешних групп несколько по-разному.

Для того, чтобы прояснить данный вопрос, на рис. 3 показана сеть гаплотипов для частичной нуклеотидной последовательности COI, в которую включены данные для сиговых и хариусовых, а также для их ближайших соседей – корюшек и сахалинского тай-



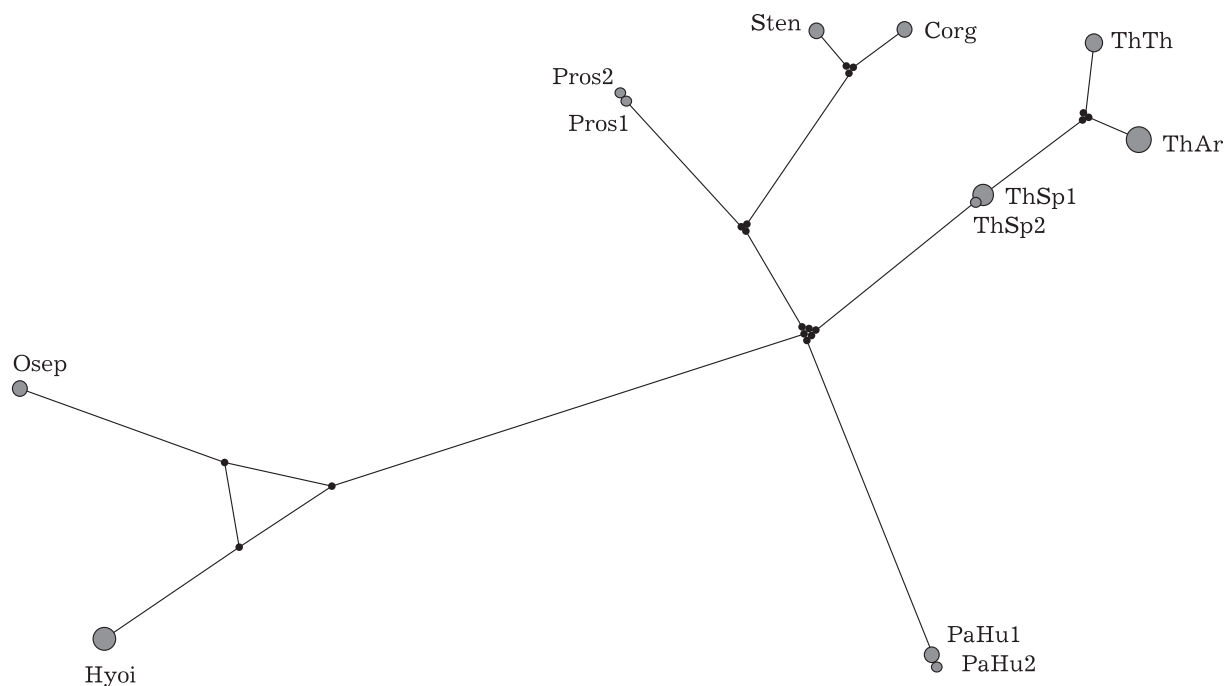


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов частичной последовательности митохондриального гена *COI* для представителей семейств сиговых (*Coregonidae*) и хариусовых (*Thymallidae*). В качестве внешних групп использованы последовательности двух родов (*Hypomesus* и *Osmerus*) корюшкообразных (*Osmeroidei*), предполагаемых диплоидных предков данных семейств. Дополнительно в сеть гаплотипов включены последовательности этого гена сахалинского тайменя, единственного представителя рода *Parahucho*, относящегося к семейству лососевых (*Salmonidae*), родственному сиговым и хариусовым. Длины ветвей между точками, разделяющими представителей разных родов, а также между точками ветвления сети (медианными векторами) и наиболее близкими к ним гаплотипами представителей родов пропорциональны числу нуклеотидных замен в последовательности гена. Обозначения гаплотипов см. в таблице

меня. На рис. 3 хорошо видно, что расположение ветвей для сиговых и хариусовых позволяет сделать вывод о независимом происхождении этих двух семейств от общего корюшкоподобного предка, от которого независимо происходит также и сахалинский таймень – представитель семейства лососевых.

Мы предполагаем, что расширение сети за счет включения в нее большего числа видов семейства сиговых позволило бы прояснить данный вопрос и на уровне аминокислотной последовательности белка *COI*, что было бы более предпочтительно. Это связано с тем, что большое число нуклеотидных вариаций в аналогичных последовательностях филогенетически удаленных видов обычно не позволяет проводить реконструкцию эволюционных событий на уровне нуклеотидной последовательности. Попытка это сделать оказалась удачной, скорее всего, благодаря правильному выбору внешней группы, а также тому, что скорость мутационного процес-

са в кодирующей последовательности гена *COI* относительно низка, поскольку из-за необходимости согласованной работы субъединицы I цитохромоксидазы с белками, кодируемыми последовательностями ядерного генома, этот ген находится под жестким давлением отбора.

Для того, чтобы оценить, как соотносится скорость нуклеотидных замен со скоростью аминокислотных, построили сеть гаплотипов частичной последовательности *COI* для рода *Salvelinus*, включив в нее в качестве внешней группы аналогичную последовательность для единственного представителя рода *Parahucho* – сахалинского тайменя. Эти данные представлены на рис. 4.

## ОБСУЖДЕНИЕ

**Аминокислотные замены, таксономия и репродуктивная изоляция.** В первую очередь, следует отметить, что независимо от

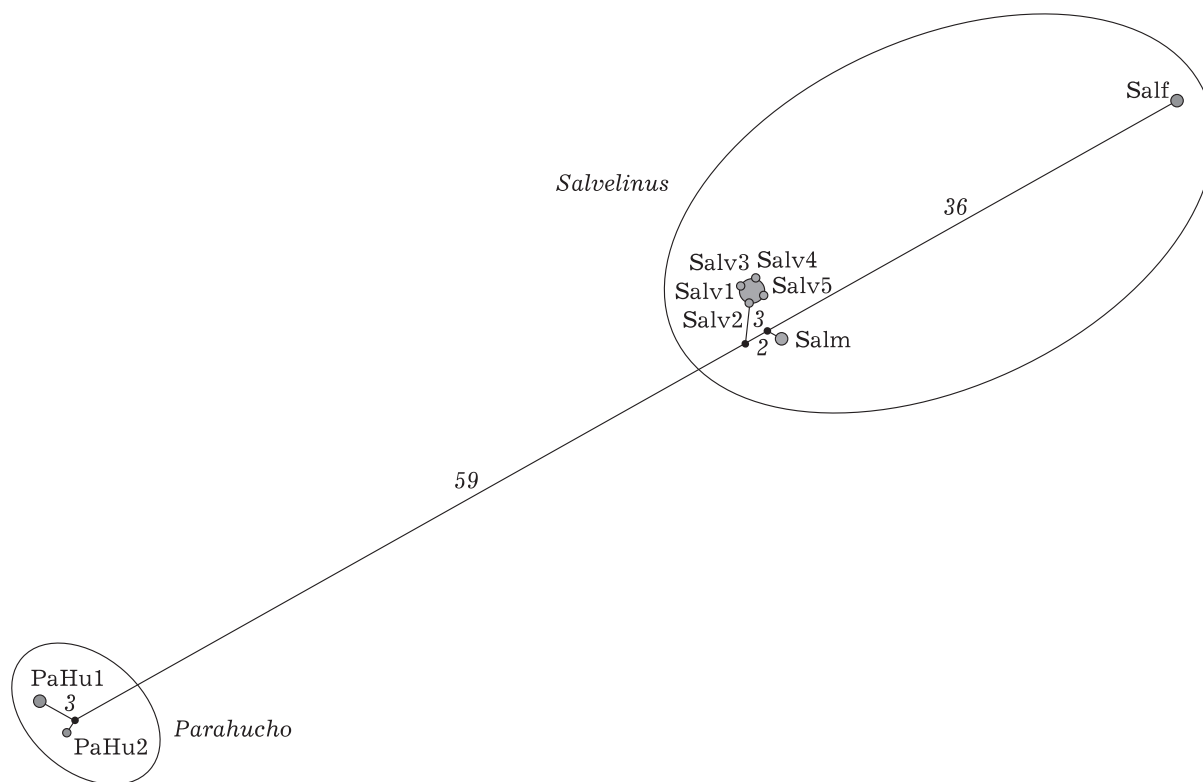


Рис. 4. Медианная сеть гаплотипов частичной последовательности митохондриального гена *COI* для изученных представителей филогенетически близких родов *Parahucho* и *Salvelinus*. Цифрами обозначено число нуклеотидных замен в последовательности гена между ближайшими друг к другу представителями родов или между гаплотипами и точками ветвления сети (медианными векторами). Обозначения гаплотипов см. в таблице

того, какой именно вариант сети гаплотипов для аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы будет рассматриваться (см. рис. 1 или 2), большинство родов подотряда лососевидных оказываются отделены друг от друга, как минимум, двумя заменами в рассматриваемой частичной аминокислотной последовательности. При этом однозначного соответствия между числом нуклеотидных и аминокислотных замен не наблюдается.

Так, на рис. 4 показана сеть гаплотипов частичной последовательности гена *COI* для рода *Salvelinus*, где в качестве внешней группы присутствует последовательность для сахалинского тайменя, единственного представителя рода *Parahucho*. При этом ближайшие гаплотипы для родов *Salvelinus* и *Parahucho* разделены 63 нуклеотидными и двумя аминокислотными заменами, а наиболее удаленные друг от друга гаплотипы представителей рода *Salvelinus*, которые имеют абсолют-

но тождественные аминокислотные последовательности субъединицы I цитохромоксидазы, – 43 нуклеотидными заменами (см. рис. 4). Более того, разделенные двумя аминокислотными заменами гаплотипы представителей родов *Brachymystax* и *Hucho* разделяет всего 38 нуклеотидных замен.

Эти данные позволяют высказать предположение, что цитохромоксидаза является одним из важнейших белков, который обеспечивает постзиготическую репродуктивную изоляцию: несоответствие друг другу белков, входящих в комплекс IV, кодируемых ядерным и митохондриальным геномами, приводит к гибели межродовых гибридов. В то же время, многие гибриды между видами, входящими в состав одного рода, жизнеспособны, а часто и плодовиты. Это особенно справедливо в тех случаях, когда аминокислотные последовательности субъединицы I цитохромоксидазы у двух видов совпадают: так, жизнеспособны и плодовиты гибриды между

арктическим гольцом и американской палией [Gross et al., 2004 и ссылки в этой работе]. Более того, сиг и нельма, которые формально относятся к разным родам (*Coregonus* и *Stenodus* соответственно), но имеют идентичные аминокислотные последовательности, также гибридизируют, причем даже в природных условиях [Reist et al., 1992].

**Проблема диплоидного предка лососевидных.** Не вызывает сомнений, что вся группа лососевидных имеет тетраплоидное происхождение [Allendorf, Thorgaard, 1984; Hartley, 1987; Фролов, 2000]. Обширные данные по сравнительной морфологии [Norden, 1961; Дорофеева и др., 1980] привели ихтиологов к заключению, что ближайшими диплоидными предками лососевидных являлись рыбы, сходные с современными корюшковыми (*Osmeridae*). Однако молекулярно-генетические данные, основанные на совместном анализе последовательностей митохондриальных и ядерных генов, итогом которого стало построение различных дендрограмм, привели некоторых исследователей к заключению, что сестринской группой отряда лососеобразных, *Salmoniformes* (включающего лососевых, сиговых и хариусовых), являются щукообразные, *Esociformes* [Ramsden et al., 2003; Осинев, Лебедев, 2004; Li et al., 2010].

Сравнение сетей гаплотипов для частичной аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы, представленных на рис. 1 и 2, показывает, что такое предположение неверно. Поскольку митохондриальная ДНК, в отличие от ядерной, не рекомбинирует, ее гены не способны дублироваться и менять свою функцию, она хранит в себе полную информацию о последовательности эволюционных событий. Если принять, что диплоидный предок лососевидных являлся щукоподобным, то семейства сиговых и хариусовых оказываются значительно более молодыми, чем семейство лососевых, от которого в этом случае и должны вести свое происхождение сиги и хариусы. А это противоречит не только морфологическим [Norden, 1961; Дорофеева и др., 1980], но также и кариологическим [Фролов, 2000; Phillips, Rab, 2001], и палеонтологическим [Wilson, Guo-Qing, 1999] данным. Бо-

лее того, даже если исходить из формальных оценок и считать предковым тот род, который отделен от лососевидных меньшим числом замен в аминокислотной последовательности, оказывается, что щука отделена от лососевидных пятью аминокислотными заменами (см. рис. 1), а корюшка только четырьмя (см. рис. 2).

Кроме того, ситуация, представленная на рис. 2 и 3, хорошо согласуется с современной систематикой – она демонстрирует независимое происхождение хариусовых, сиговых и лососевых от общего корюшкоподобного предка. При этом на уровне отдельных линий, представляющих эволюцию семейств, прослеживается тенденция к уменьшению числа хромосом по направлению к периферии (примерами могут служить атлантический лосось и горбуша).

Учитывая вышесказанное, при дальнейшем анализе полученных результатов авторы исходили из того, что предок лососевидных являлся корюшкоподобным и рассматривали только сеть гаплотипов, включающую корюшковых в качестве внешней группы (см. рис. 2).

**Замедление молекулярной эволюции хариусовых рыб.** Коренное преимущество сети гаплотипов (как для нуклеотидной, так и для аминокислотной последовательности) перед дендрограммой – возможность отличать более древние гаплотипы от менее древних. Рассмотрение полученной сети (см. рис. 2) показывает, что аминокислотные последовательности современных хариусовых значительно более сходны с последовательностями корюшек – предков лососевидных, чем последовательности представителей двух других семейств. Это означает, в свою очередь, что молекулярная эволюция хариусовых на уровне аминокислотной последовательности шла существенно медленнее, чем аналогичный процесс у сиговых и лососевых (хотя арктические гольцы, представители лососевых, также имеют гаплотипы, сходные с гаплотипами корюшковых). Особенно быстро происходила молекулярная эволюция горбуши.

Следует отметить, что хариусовые ближе других лососевидных к общему предку и по характеристикам кариотипа [Фролов, 2000], а потому можно предположить, что

экологически и морфологически эти рыбы также ближе к общему предку, чем лососевые и сиговые.

Факт различия скоростей эволюции разных групп лососевидных, как и многие другие факты [Артамонова, Махров, 2006; Рольский и др., 2017; Bolotov et al., 2017; Махров, Лайус, 2018], опровергают гипотезу “молекулярных часов”, получившую широкое распространение в последние десятилетия. Между тем по мере накопления фактов, которые ей противоречат, сторонники данной гипотезы только все более и более усложняют свои модели (некогда также поступали сторонники геоцентрической модели мира), но не пытаются подтвердить ее экспериментально.

**Арктические гольцы – современная группа, наиболее близкая к предку лососевых.** Принципиальное отличие филогении лососевых, следующее из представленной сети гаплотипов для частичной аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы, от представлений, характерных для большинства эволюционных генетиков [Животовский, 2015], – это близость предков данного семейства к современным арктическим гольцам. Однако сеть гаплотипов, несомненно, более адекватно описывает эволюционный процесс по сравнению с дендрограммами, на которые в настоящее время в основном опираются генетики.

Происхождение других родов лососевых от рыб, подобных арктическим гольцам, противоречит и наиболее распространенным представлениям об эволюции лососевых, имеющимся у морфологов [Norden, 1961; Глубоковский, 1995]. Однако среди схем эволюции этой группы, предложенных на основании морфологических данных, есть и такие, которые хорошо согласуются с полученными данными. Так, арктические гольцы близки к предку лососевых на рис. 2.14 (Б) в монографии М. К. Глубоковского [1995]. Этот рисунок – древовидный граф, построенный методом Ли с использованием данных о 45 морфологических признаках. Кроме того, представители рода *Salvelinus*, в отличие от других лососевых, сходны с представителями рода *Thymallus* по строению сейсмочувствительной системы [Рассадников, 1980].

В работе, где сделана попытка построить филогению лососевых по разным признакам на основе кладистического подхода, отмечена “неразрешенная трихотомия” ветви, идущей к *Salvelinus*, и ветвей, ведущих к *Brachymystax* + *Hucho* и к *Salmo* + *Oncorhynchus*. Причина этого – остеологический признак, общий для *Salvelinus*, *Brachymystax* и *Hucho*, а также и остеологический признак, общий для *Salvelinus*, *Salmo* и *Oncorhynchus* [Sanford, 1990]. Теперь понятна причина этой трихотомии: арктические гольцы являются предком других четырех родов.

В пользу того, что представители рода *Salvelinus* наиболее близки к предку лососевых, говорит и тот факт, что они отличаются очень высоким экологическим и морфологическим разнообразием [Савваитова, 1989; Adams, Maitland, 2007; Knudsen et al., 2016], что характерно как раз для древних групп [Мамкаев, 1968; Рожнов, 2006].

В то же время, следует отметить, что с точки зрения хорошо установленной закономерности, касающейся уменьшения числа хромосом в ходе эволюции лососевых [Викторовский, 1978], происхождение кариотипа ленков, *Brachymystax* с числом хромосом  $2n = 90-92$ , от современного кариотипа арктических гольцов, *Salvelinus* ( $2n = 76-84$ ) крайне маловероятно. Видимо, первые представители лососевых обладали митохондриальным гаплотипом, близким к наиболее распространенному гаплотипу современных *Salvelinus*, но при этом их кариотип существенно отличался от современного и был близок к кариотипу современных *Brachymystax*.

**Снижение числа хромосом сопровождается уменьшением эволюционной пластичности лососевых.** Построенная сеть для частичной аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы показывает, что виды лососевидных, отличающиеся низким числом хромосом (сахалинский таймень, атлантический лосось, горбуша), являются своеобразными эволюционными тупиками, – они не породили новых таксонов.

Ранее [Махров, 2017] показано, что упомянутые группы имеют, как правило, более узкий спектр морфологического и экологического разнообразия, по сравнению с бли-

жайшими предками. В цитируемой работе также высказано предположение, что перестройки генома, сопровождавшиеся слиянием сразу нескольких хромосом, привели, в том числе, к нарушению функционирования генетических систем, отвечавших за формирование некоторых экологических групп и морфотипов. В результате таксоны, претерпевшие подобные перестройки генома, имеют меньше экологических групп и морфотипов, чем их ближайшие предки.

Таким образом, группы лососевых с низким числом хромосом могут служить хорошим примером снижения эволюционной пластичности. Это явление, но не его закономерное появление в ходе эволюции в пределах одного семейства, известно давно, и разные авторы называли его по-разному – иммобилизацией [Шмальгаузен, 1945], рутинизацией [Любищев, 1982], “замороженной эволюцией” [Flegel, 2008].

**Филогенетическая близость родов *Brachymystax*, *Hucho* и *Salmo*.** Эволюционные взаимоотношения этих трех родов разные специалисты-генетики трактуют совершенно по-разному [Phillips, Oakley, 1997; Oakley, Phillips, 1999; Osinov, Lebedev, 2000; Crespi, Fulton, 2004; Phillips et al., 2004; Matveev et al., 2007; Crête-Lafrenière et al., 2012; Шедько и др., 2012, 2013; Панькова, Брыков, 2013]. По данным авторов, *Brachymystax*, *Hucho* и *Salmo* принадлежат к одной филогенетической кладе, как это выявлено ранее в филогенетическом исследовании с использованием большого набора генов, кодирующих белки [Osinov, Lebedev, 2000].

Проведенное исследование – еще одно свидетельство в пользу правильности этих представлений, а их в последние годы появляется все больше. Так, например, даурская жемчужница (*Margaritifera dahurica*), личинки которой паразитируют на ленках, *Brachymystax* (И. В. Вихрев, личн. сообщ.), по молекулярно-генетическим данным является сестринским видом для обыкновенной (европейской) жемчужницы (*Margaritifera margaritifera*), чьи личинки паразитируют в основном на лососях рода *Salmo* [Bolotov et al., 2016]. Этот факт в определенной степени подтверждает эволюционную близость родов *Salmo* и *Brachymystax*.

#### **Происхождение атлантического лосося.**

Гипотезу о происхождении атлантического лосося (*Salmo salar*) от предка, сходного с современной кумжей (*Salmo trutta*), ранее высказывали на основании морфологических и кариологических данных [Дорофеева, 1998]. Построенная сеть для частичной аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы полностью подтверждает это предположение.

Понимание эволюционной истории атлантического лосося позволяет объяснить ряд важных вопросов биологии этого вида. В частности, поскольку для кумжи очень характерно образование жилых форм, которые у атлантического лосося редки, вполне обоснованной кажется гипотеза о реликтовой природе жилых форм этого вида [Кудерский, 1977; Лысенко, 1994; Махров и др., 2013].

Кроме того, поскольку кумжа может неоднократно заражаться личинками обыкновенной (европейской) жемчужницы, а атлантический лосось после однократного заражения вырабатывает иммунитет, вызывает сомнение гипотеза о симбиозе атлантического лосося и обыкновенной жемчужницы [Махров, Болотов, 2010]. Скорее наоборот, можно говорить об усилении иммунной реакции на заражение личинками обыкновенной жемчужницы в ходе эволюции атлантического лосося.

**Эволюционные взаимоотношения родов *Oncorhynchus* и *Parasalmo*.** Дискуссия о систематическом статусе *Parasalmo* продолжается уже много лет. Большинство исследователей не выделяют данный род, включая виды этой группы в род *Oncorhynchus*. Однако другие специалисты (в том числе и некоторые из авторов настоящей статьи) отстаивали представление о том, что *Parasalmo* – это отдельный род [Зелинский, Махров, 2001; Павлов и др., 2001; Атлас..., 2003].

Следует признать, что полученные данные – веское свидетельство в пользу того, что *Parasalmo* – это не отдельный род, а часть рода *Oncorhynchus*. Согласно полученным данным, представитель этого рода, радужная форель, происходит от предка, сходного с симой (*Oncorhynchus masou*). В то же время *Parasalmo* и *Oncorhynchus* имеют зна-

чительные различия в морфологических признаках и в экологии (в частности, для *Oncorhynchus*, за редким исключением, характерна моноцикличность); это необходимо учитывать при решении вопроса о систематическом положении *Parasalmo*.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученная в настоящей работе сеть для частичной аминокислотной последовательности субъединицы I цитохромоксидазы позволяет сделать ряд выводов о филогении лососевидных рыб. Принципиально новым является представление о происхождении всех лососевых рыб от предка, близкого к современным арктическим гольцам (*Salvelinus*). Подтверждаются ранее высказанные в литературе, но до сих пор обсуждаемые, представления о происхождении лососевидных от корюшковидных, филогенетической близости родов *Brachymystax*, *Hucho* и *Salmo*, о происхождении атлантического лосося от кумжеподобного предка, а также о принадлежности группы *Parasalmo* к роду *Oncorhynchus*.

Некоторые результаты исследования имеют общебиологическое значение. В частности, полученные данные свидетельствуют, что эволюция лососевых рыб, начавшись с весьма полиморфных арктических гольцов, приводит в конечном итоге к таксонам с малым экологическим и морфологическим разнообразием, с низким эволюционным потенциалом (претерпевшим иммобилизацию). Этот процесс сопровождается слиянием целых групп хромосом.

Другое интересное явление – сохранение в почти неизменном виде ряда древних гаплотипов и замедление молекулярной эволюции некоторых групп лососевидных. В частности, показано, что гаплотипы хариусовых рыб весьма близки к гаплотипам предка всех лососевидных. Вопреки гипотезе “молекулярных часов”, эволюция хариусовых шла значительно медленнее, чем эволюция сиговых и лососевых рыб.

Высказывается предположение о том, что основным механизмом постзиготической репродуктивной изоляции является несоответствие аминокислотной последовательности

субъединицы I цитохромоксидазы, кодируемой митохондриальным геномом, аминокислотным последовательностям ядерных белков, которые вместе с этим белком входят в состав так называемого комплекса IV.

Авторы признательны коллегам, которые помогли в сборе проб – Е. Г. Берестовскому, И. Н. Болотову, Е. А. Боровиковой, И. В. Вихреву, Л. А. Глуценко, В. В. Игнатенко, Д. П. Карабанову, А. П. Новоселову, В. М. Спицыну, В. А. Широкову, И. Л. Щурову, работникам ФГУП “Племенной форелеводческий завод Адлер”, ФГУП “ФСГЦР”, Выгского и Кемского рыбноводных заводов, а также жителям поселков Барабаш-Левада, Лен-лу и Чупа. Авторы благодарны также С. С. Алексееву за определение острорылого и тупорылого ленков.

Выполнение работы поддержано грантом Российского научного фонда (№ 16-14-10001).

#### ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев С. С. Данные о закладке сошника у некоторых лососевидных рыб (Salmonoidei) в связи с вопросами их филогении // Зоол. журн. 1993. Т. 72, вып. 4. С. 97–105.
- Алтухов Ю. П., Салменкова Е. А., Омельченко В. Т. Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука, 1997. 288 с.
- Артамонова В. С., Махров А. А. Неконтролируемые генетические процессы в искусственно поддерживаемых популяциях: доказательство ведущей роли отбора в эволюции // Генетика. 2006. Т. 42, № 3. С. 310–324 [Artamonova V. S., Makhrov A. A. Unintentional genetic processes in artificially maintained populations: Proving the leading role of selection in evolution // Rus. Journ. Genet. 2006. Vol. 42, N 3. P. 234–246].
- Артамонова В. С., Махров А. А. Генетические методы в лососеводстве и форелеводстве: от традиционной селекции до нанобиотехнологий. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2015. 128 с.
- Атлас пресноводных рыб России / под ред. Ю. С. Решетникова. М.: Наука, 2003. Т. 1. 379 с.
- Берг Л. С. О происхождении форелей и других пресноводных лососевых // Памяти академика Сергея Алексеевича Зернова. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. С. 159–172.
- Васильев В. П. О полиплоидии у рыб и некоторые вопросы эволюции кариотипов лососевых (Salmonidae) // Журн. общ. биологии. 1977. Т. 38, № 3. С. 380–392.
- Викторовский Р. М. Механизмы видообразования у гольцов Кронцкого озера. М.: Наука, 1978. 106 с.
- Глубоковский М. К. Эволюционная биология лососевых рыб. М.: Наука, 1995. 343 с.

- Дорофеева Е. А. Систематика и история расселения европейских лососей рода *Salmo* // Вопр. ихтиологии. 1998. Т. 38, № 4. С. 437–447.
- Дорофеева Е. А., Зиновьев Е. А., Клюканов В. А., Решетников Ю. С., Савваитова К. А., Шапошникова Г. Х. Современное состояние исследований филогении и классификации лососевидных рыб // Там же. 1980. Т. 20, вып. 5. С. 771–791.
- Животовский Л. А. Эволюционная история тихоокеанских лососей и форелей // Тр. ВНИРО. 2015. Т. 157. С. 4–23.
- Зелинский Ю. П., Махров А. А. Хромосомная изменчивость, реорганизации генома в филогенезе и систематические отношения благородных лососей *Salmo* и *Parasalmo* (Salmonidae) // Вопр. ихтиологии. 2001. Т. 41, № 2. С. 184–191 [Zelinsky Yu. P., Makhrov A. A. Chromosomal variability, genome reorganization in phylogeny, and the systematics of *Salmo* and *Parasalmo* species (Salmonidae) // J. Ichthyol. 2001. Vol. 41, N 3. P. 209–216].
- Зелинский Ю. П., Махров А. А. Гомологические ряды по числу хромосом и перестройки генома в филогенезе лососевидных рыб (Salmonoidei) // Генетика. 2002. Т. 38, № 10. С. 1317–1323 [Zelinsky Yu. P., Makhrov A. A. Homological series by chromosome number and the genome rearrangements in the phylogeny of Salmonoidei // Rus. Journ. Genetics. 2002. Vol. 38, N 10. P. 1115–1120].
- Казаков Р. В. История освоения и экономическое значение атлантического лосося и кумжи // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1988. Вып. 286. С. 111–129.
- Карпевич А. Ф., Агапов В. С., Магомедов Г. М. Акклиматизация и культивирование лососевых рыб-интродуцентов. М.: ВНИРО, 1991. 209 с.
- Коровина В. М. О структуре семейства лососевых Salmonidae: материалы по строению икринок и некоторым особенностям морфогенеза // Морфология и систематика рыб. Л.: Изд-во ЗИН АН СССР, 1978. С. 40–52.
- Кудерский Л. А. О происхождении озерного лосося // Рыбохозяйственное изучение внутренних водоемов. Л., 1977. Сб. № 19. С. 34–39.
- Кузицин К. В. Формирование и адаптивное значение внутривидового экологического разнообразия лососевых рыб (семейство Salmonidae): дис. ... д-ра биол. наук. М.: Моск. гос. ун-т, 2010. 49 с.
- Лысенко Л. Ф. Атлантический лосось: биология и происхождение. Мурманск: ПИНРО, 1994. 44 с.
- Любительское рыболовство и сохранение лососевых в России. М.: Фонд “Русский лосось”, 2010. 172 с.
- Любищев А. А. Проблемы формы, систематики и эволюции организмов. М.: Наука, 1982. 278 с.
- Макоедов А. Н. Кариология, биохимическая генетика и популяционная феноетика лососевидных рыб Сибири и Дальнего Востока: сравнительный аспект. М.: УМК “Психология”, 1999. 291 с.
- Мамкаев Ю. В. Сравнение морфологических различий в низших и высших группах одного филогенетического ствола // Журн. общ. биологии. 1968. Т. 29, № 1. С. 48–56.
- Махров А. А., Болотов И. Н. Влияет ли европейская жемчужница (*Margaritifera margaritifera*) на жизненный цикл атлантического лосося (*Salmo salar*)? // Успехи геронтологии. 2010. Т. 23, № 3. С. 382–391 [Makhrov A. A., Bolotov I. N. Does freshwater Pearl Mussel (*Margaritifera margaritifera*) change the life-cycle of Atlantic salmon (*Salmo salar*)? // Advances in Gerontol. 2011. Vol. 1, N 2. P. 186–194].
- Махров А. А., Лайус Д. Л. Последлединовое вселение рыб и миноги из Тихого океана в моря севера Европы // Сиб. экол. журн. 2018. № 3. С. 265–279.
- Махров А. А., Пономарева М. В., Хаймина О. В., Гиллепп В. Е., Ефимова О. В., Нечаева Т. А., Василенкова Т. И. Нарушение развития гонад карликовых самок и пониженная выживаемость их потомства как причины редкости жилых популяций атлантического лосося (*Salmo salar* L.) // Онтогенез. 2013. Т. 44, № 6. С. 423–433 [Makhrov A. A., Ponomareva M. V., Khaimina O. V., Gilepp V. E., Efimova O. V., Nechaeva T. A., Vasilenkova T. I. Abnormal development of gonads of dwarf females and low survival of their offspring as the cause of rarity of resident populations of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) // Rus. Journ. Developmental Biol. 2013. Vol. 44, N 6. P. 326–335].
- Мина М. В. Микроэволюция рыб. Эволюционные аспекты феноетического разнообразия. М.: Наука, 1986. 207 с.
- Осинов А. Г., Лебедев В. С. Лососевые рыбы (Salmonidae, Salmoniformes): положение в надотряде Protacanthopterygii, основные этапы эволюционной истории, молекулярные датировки // Вопр. ихтиологии. 2004. Т. 44, № 6. С. 738–765 [Osinov A. G., Lebedev V. S. Salmonid fishes (Salmonidae, Salmoniformes): The systematic position in the superorder Protacanthopterygii, the main stages of evolution, and molecular dating // J. Ichthyol. 2004. Vol. 44, N 9. P. 690–715].
- Павлов Д. А., Осинов А. Г. Основные особенности раннего онтогенеза лососеобразных рыб (Salmoniformes) и других представителей надотряда Protacanthopterygii в связи с филогенией // Там же. 2004. Т. 44, № 3. С. 293–312 [Pavlov D. A., Osinov A. G. Main features of early ontogeny in salmonids (Salmoniformes) and other representatives of the Protacanthopterygii in relation to the phylogeny // Ibid. 2004. Vol. 44, N 4. P. 267–283].
- Павлов Д. С., Савваитова К. А. К проблеме соотношения анадромии и резидентности у лососевых рыб (Salmonidae) // Там же. 2008. Т. 48, № 6. С. 810–824. [Pavlov D. S., Savvaitova K. A. On the problem of ratio of anadromy and residence in Salmonids (Salmonidae) // Ibid. 2008. Vol. 48, N 9. P. 778–791].
- Павлов Д. С., Савваитова К. А., Кузицин К. В., Груздева М. А., Павлов С. Д., Медников Б. М., Максимов С. В. Тихоокеанские благородные лососи и форели Азии. М.: Научный мир, 2001. 200 с.
- Панькова М. В., Брыков Вл. А. Дивергенция интронов в паралогичных генах гормона роста у лососевых рыб выявляет эффект отбора // ДАН. 2013. Т. 451, № 3. С. 351–354 [Pankova M. V., Brykov Vl. A. Divergence of introns in the paralogous growth hormone genes of salmonid fish indicates the effect of selection // Dokl. Biol. Sci. 2013. Vol. 451. P. 231–234].
- Рассадинов О. А. Морфология сейсмодатированной системы некоторых лососевых // Популяционная био-

- логия и систематика лососевых. Владивосток, 1980. С. 104–112.
- Рожнов С. В. Закон гомологических рядов Н. И. Вавилова и архаическое многообразие по данным палеонтологии // Эволюция биосферы и биоразнообразия. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2006. С. 134–146.
- Рольский А. Ю., Махров А. А., Артамонова В. С. Процессы видообразования морских окуней рода *Sebastes* Атлантического и Северного Ледовитого океанов // Современные проблемы биологической эволюции: мат-лы III Междунар. конф., к 130-летию со дня рождения Н. И. Вавилова и 110-летию со дня основания Государственного Дарвиновского музея. 16–20 октября 2017 г., г. Москва. М., 2017. С. 101–104.
- Савваитова К. А. Арктические гольцы. М.: Агропромиздат, 1989. 223 с.
- Соин С. Г. О типах развития лососевидных рыб и их таксономическом значении // Вопр. ихтиологии. 1980. Т. 20, вып. 1. С. 65–72.
- Сычевская Е. К. Происхождение сиговых рыб в свете исторического развития лососевидных (Salmonoidea) // Биология сиговых рыб. М.: Наука, 1988. С. 17–28.
- Фролов С. В. Изменчивость и эволюция кариотипов лососевых рыб. Владивосток: Дальнаука, 2000. 229 с.
- Чернавин В. В. Опыт систематической группировки некоторых Salmonoidei, основанный на их остеологических признаках // Изв. гос. Ин-та опытной агрономии. 1923. Т. 1, № 3. С. 103–106.
- Черненко Е. В. Об эволюции и цитотаксономии лососевых рыб семейства Salmonidae // Вопр. ихтиологии. 1969. Т. 9, вып. 6. С. 971–980.
- Шедько С. В., Мирошниченко И. Л., Немкова Г. А. Филогения лососевых рыб (Salmoniformes: Salmonidae) и ее молекулярная датировка: анализ ядерного гена *RAG1* // Генетика. 2012. Т. 48, № 5. С. 676–680 [Shedko S. V., Miroshnichenko I. L., Nemkova G. A. Phylogeny of salmonids (Salmoniformes: Salmonidae) and its molecular dating: Analysis of nuclear *RAG1* Gene // Rus. Journ. Genetics. 2012. Vol. 48, N 5. P. 575–579].
- Шедько С. В., Мирошниченко И. Л., Немкова Г. А. Филогения лососевых рыб (Salmoniformes: Salmonidae) и ее молекулярная датировка: анализ мтДНК-данных // Там же. 2013. Т. 49, № 6. С. 718–734 [Shedko S. V., Miroshnichenko I. L., Nemkova G. A. Phylogeny of salmonids (Salmoniformes: Salmonidae) and its molecular dating: Analysis of mtDNA data // Ibid. 2013. Vol. 49. P. 623–637].
- Шмальгаузен И. И. Проблема устойчивости органических форм (онтогенезов) в их историческом развитии // Журн. общ. биологии. 1945. Т. 6, № 1. С. 3–25.
- Шунтов В. П., Темных О. С. Тихоокеанские лососи в морских и океанических экосистемах. Владивосток: Изд-во ТИНРО-центра, 2008. Т. 1. 481 с.
- Adams C. E., Maitland P. S. Arctic charr in Britain and Ireland – 15 species or one? // Ecol. Freshwater Fish. 2007. Vol. 16. P. 20–28.
- Alexandrou M. A., Swartz B. A., Matzke N. J., Oakley T. H. Genome duplication and multiple evolutionary origins of complex migratory behavior in Salmonidae // Molec. Phylogen. Evolut. 2013. Vol. 69. P. 514–523.
- Allendorf F. W., Thorgaard G. H. Tetraploidy and the evolution of Salmonid fishes // Evolutionary Genetics of Fishes. N.Y.: Plenum Press, 1984. P. 1–53.
- Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Molec. Biol. Evolution. 1999. Vol. 16, N 1. P. 37–48.
- Behnke R. J. The application of cytogenetic and biochemical systematics to phylogenetic problems in the family Salmonidae // Trans. Amer. Fish. Soc. 1970. Vol. 99, N 1. P. 237–248.
- Bolotov I. N., Aksenova O. V., Bespalaya Y. V., Gofarov M. Y., Kondakov A. V., Paltser I. S., Stefansson A., Travina O. V., Vinarski M. V. Origin of a divergent mtDNA lineage of a freshwater snail species, *Radix balthica*, in Iceland: Cryptic glacial refugia or a postglacial founder event? // Hydrobiologia. 2017. Vol. 787. P. 73–98.
- Bolotov I. N., Vikhrev I. V., Bespalaya Yu. V., Gofarov M. Y., Kondakov A. V., Konopleva E. S., Bolotov N. N., Lyubas A. A. Multi-locus fossil-calibrated phylogeny, biogeography and a subgeneric revision of the Margaritiferidae (Mollusca: Bivalvia: Unionoida) // Molec. Phylogen. Evolution. 2016. Vol. 103. P. 104–121.
- Cline E. Marketplace substitution of Atlantic salmon for Pacific salmon in Washington State detected by DNA barcoding // Food Res. Int. 2012. Vol. 45. P. 388–393.
- Crespi B. J., Fulton M. J. Molecular systematics of Salmonidae: Combined nuclear data yields a robust phylogeny // Molec. Phylogen. Evolution. 2004. Vol. 31. P. 658–679.
- Crête-Lafrenière A., Weir L. K., Bernatchez L. Framing the salmonidae family phylogenetic portrait: A more complete picture from increased taxon sampling // PLoS ONE. 2012. 7 (10): e46662.
- Evolution Illuminated. Salmon and their Relatives / eds. A. P. Hendry, S. C. Stearns. Oxford: Oxford University Press, 2004. 510 p.
- Flegel J. Frozen Evolution. Prague: Charles University in Prague; Faculty of Science, 2008. 224 p.
- Gross R., Gum B., Reiter R., Köhn R. Genetic introgression between Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in Bavarian hatchery stocks inferred from nuclear and mitochondrial DNA markers // Aquaculture Int. 2004. Vol. 12. P. 19–32.
- Hall T. A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT // Nucleic Acids Symposium Series. 1999. Vol. 41. P. 95–98.
- Hartley S. E. The chromosomes of salmonid fishes // Biol. Rev. 1987. Vol. 62, N 3. P. 197–214.
- Hebert P. D. H., Cywinska A., Ball S. L., deWaard J. R. Biological identification through DNA barcodes // Proc. R. Soc. Lond. B. 2003. Vol. 270. P. 313–321.
- Huson D. H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // Mol. Biol. Evol. 2006. Vol. 23. P. 254–267.



- Kendall A. W., Jr., Behnke R. J. Salmonidae: Development and Relationships // Ontogeny and systematics of fishes / ed. H. G. Moser et al. (Am. Soc. Ichthyol. and Herpetol. spec. Publ. N 1). Lawrence: Allen Press Inc., 1984. P. 142–149.
- Knudsen R., Klemetsen A., Alekseyev S., Adams C. E., Power M. The role of *Salvelinus* in contemporary studies of evolution, trophic ecology and anthropogenic change // Hydrobiologia. 2016. Vol. 783. P. 1–9.
- Li J., Xia R., McDowall R. M., Lypez J. A., Lei G., Fu C. Phylogenetic position of the enigmatic *Lepidogalaxias salamandroides* with comment on the orders of lower euteleostean fishes // Molec. Phylogen. Evolution. 2010. Vol. 57. P. 932–936.
- Li Y., Park J.-S., Deng J. H., Bai Y. Cytochrome c oxidase subunit IV is essential for assembly and respiratory function of the enzyme complex // J. Bioenerg. Biomembr. 2006. Vol. 38. P. 283–291.
- Macqueen D. J., Johnston I. A. A well-constrained estimate for the timing of the salmonid whole genome duplication reveals major decoupling from species diversification // Proc. R. Soc. B. 2014. Vol. 281: 20132881.
- Makhrov A. A. A narrowing of the phenotypic diversity range after large rearrangements of the karyotype in Salmonidae: The relationship between saltational genome rearrangements and gradual adaptive evolution // Genes. 2017. Vol. 8. P. 297.
- Matveev V., Nishihara H., Okada N. Novel SINE families from salmon validate *Parahucho* (Salmonidae) as a distinct genus and give evidence that SINEs can incorporate LINE-related 3'-tails of other SINEs // Mol. Biol. Evol. 2007. Vol. 24, N 8. P. 1656–1666.
- Matveev V., Okada N. Retroposons of salmonoid fishes (Actinopterygii: Salmonoidei) and their evolution // Gene. 2009. Vol. 434. P. 16–28.
- Montgomery D. R. King of Fish. The Thousand-Year Run of Salmon. New York: Westview Press, 2003. 290 p.
- Morrison D. A. Networks in phylogenetic analysis: New tools for population biology // Int. Journ. Parasitol. 2005. Vol. 35. P. 567–582.
- Noakes D. L. G., Skulason S., Snorrason S. S. Alternative life-history styles in salmonine fishes with emphasis on arctic charr, *Salvelinus alpinus* // Alternative life-history styles of animals. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1989. P. 329–346.
- Norden C. R. Comparative osteology of representative salmonid fishes, with particular reference to the grayling (*Thymallus arcticus*) and its phylogeny // J. Fish. Res. Board Canada. 1961. Vol. 18, N 5. P. 679–791.
- Oakley T. H., Phillips R. B. Phylogeny of salmonine fishes based on growth hormone introns: Atlantic (*Salmo*) and Pacific (*Oncorhynchus*) salmonids are not sister taxa // Mol. Phyl. Evol. 1999. Vol. 11, N 3. P. 381–393.
- Ojima Y., Maeki K., Takayama S., Nogusa S. A cytotoxic study on the *Salmonidae* // The Nucleus. 1963. Vol. 6, N 2. P. 91–98.
- Osinov A. G., Lebedev V. S. Genetic divergence and phylogeny of the *Salmoninae* based on allozyme data // J. Fish Biology. 2000. Vol. 57, N 2. P. 354–381.
- Phillips R. B., Matsuoka M. P., Konkol N. R., McKay S. Molecular systematics and evolution of the growth hormone introns in the Salmoninae // Environ. Biol. Fish. 2004. Vol. 69. P. 433–440.
- Phillips R. B., Oakley T. H. Phylogenetic relationships among the Salmoninae based on nuclear and mitochondrial DNA sequences // Molecular Systematics of Fishes / eds. T. D. Kocher, C. A. Stepien. San Diego; London etc.: Academic Press, 1997. P. 145–162.
- Phillips R., Rab P. Chromosome evolution in Salmonidae (Pisces): An update // Biol. Rev. 2001. Vol. 76. P. 1–25.
- Ramsden S. D., Brinkmann H., Hawryshyn C. W., Taylor J. S. Mitogenomics and the sister of Salmonidae // Trends in Ecol. and Evolution. 2003. Vol. 18. P. 607–610.
- Rasmussen R. S., Morrissey M. T., Hebert P. D. N. DNA barcoding of commercially important Salmon and trout species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) from North America // J. Agric. Food Chem. 2009. Vol. 57. P. 8379–8385.
- Rees H. The question of polyploidy in the Salmonidae // Chromosoma. 1964. Vol. 15, N 3. P. 275–279.
- Regan C. T. The systematic arrangement of the fishes of the family Salmonidae // Ann. Mag. Nat. Hist. Ser. 8. 1914. Vol. 13. P. 405–408.
- Reist J. D., Vuorinen J., Bodaly R. A. Genetic and morphological identification of coregonid hybrid fishes from arctic Canada // Pol. Arch. Hydrobiol. 1992. Vol. 39. P. 551–561.
- Robertson F. M., Gundappa M. K., Grammes F., Hvidsten T. R., Redmond A. K., Lien S., Martin S. A. M., Holland P. W. H., Sandve S. R., Macqueen D. J. Lineage-specific rediploidization is a mechanism to explain time-lags between genome duplication and evolutionary diversification // Genome Biol. 2017. Vol. 18. P. 111.
- Sanford C. P. J. The phylogenetic relationships of salmonoid fishes // Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.). 1990. Vol. 56, N 2. P. 145–153.
- Sutherland B. J. G., Gosselin T., Normandeau E., Lamotte M., Isabel N., Audet C., Bernatchez L. Salmonid chromosome evolution as revealed by a novel method for comparing RADseq LinkageMaps // Genome Biol. Evolution. 2016. Vol. 8. P. 3600–3617.
- Tchernavin V. The origin of salmon. Is its ancestry marine or freshwater? // Salmon and trout magazine. 1939. N 95. P. 120–140.
- Vladukov V. D. A review of salmonid genera and their broad geographical distribution // Trans. Roy. Soc. Canada, 4th ser. 1963. Sect. 3. Vol. 1. P. 459–504.
- Wang Y., Guo R., Li H., Zhang X., Du J., Song Z. The complete mitochondrial genome of the Sichuan taimen (*Hucho bleekeri*): Repetitive sequences in the control region and phylogenetic implications for Salmonidae // Marine Genomics. 2011. Vol. 4. P. 221–228.
- Ward R. D., Zemlak T. S., Innes B. H., Last P. R., Hebert P. D. N. DNA barcoding Australia's fish species // Phil. Trans. R. Soc. B. 2005. Vol. 360. P. 1847–1857.
- Willson M. F., Halupka K. C. Anadromous fish as keystone species in vertebrate communities // Conservation Biol. 1995. Vol. 9, N 3. P. 489–497.

Wilson M. V. H., Guo-Qing L. Osteology and systematic position of the Eocene salmonid *Eosalmo driftwoodensis* Wilson from western North America // Zool. Journ. of the Linnean Soc. 1999. Vol. 125. P. 279–311.

Yasuike M., Jantzen S., Cooper G. A., Leder E., Davidson W. S., Koop B. F. Grayling (Thymallinae) phylogeny within salmonids: Complete mitochondrial DNA sequences of *Thymallus arcticus* and *Thymallus thymallus* // J. Fish Biol. 2010. Vol. 76. P. 395–400.

## Phylogeny of Salmonoid Fishes (Salmonoidei) Based on mtDNA COI Gene Sequences (Barcoding)

V. S. ARTAMONOVA<sup>1,2</sup>, O. V. KOLMAKOVA<sup>2</sup>, E. A. KIRILLOVA<sup>1</sup>, A. A. MAKHROV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences  
119071, Moscow, Leninsky ave., 33  
E-mail: valar99@mail.ru*

<sup>2</sup> *Institute of Biophysics of Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of SB RAS”  
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/50*

We analyzed the partial sequences of the mitochondrial COI gene along with the amino acid sequences of the subunit I of cytochrome oxidase, encoded by this gene region, in representatives of 11 genera of salmonoid fish. For amino acid sequences, two alternative networks were constructed with outgroups represented by either Esocoidei or Osmeroidei as the supposed ancestral groups. In this way, Osmeroidei appear to be closer to the salmonoid fish than Esocoidei, and their presence in the network as an outgroup explains much better the available data on the morphology and karyology of salmonoids. A number of the results of this study are fundamentally new. In particular, slowing down of the molecular evolution of grayling (Thymallidae) is shown. We conclude that char (*Salvelinus*) is the closest to the ancestor modern genus of salmonoids. The hypothesis of the phylogenetic proximity of the genera *Brachymystax*, *Hucho* and *Salmo* has been confirmed. We also discuss the possibility of namely the changes in the amino acid sequence of the cytochrome oxidase subunit I may lead to postzygotic reproductive isolation between taxa.

**Key words:** evolution, network, molecular clock, amino acid sequence, reproductive isolation, immobilization, fishes.