Федеральное агентство научных организаций
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Национальный научный центр морской биологии»
Дальневосточного отделения Российской академии наук

На правах рукописи

МАЛЯР ВАСИЛИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЛОГЕОГРАФИЯ ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ РЫБ СЕМЕЙСТВ SALMONIDAE И CYPRINIDAE В ЯПОНСКОМ И ОХОТСКОМ МОРЯХ

03.02.07 – генетика

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Доктор биологических наук, профессор
Брыков Владимир Алексеевич

Владивосток – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ **4**

ВВЕДЕНИЕ **5**

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ **13**

1.1. Основные характеристики исследуемых видов 13

1.1.1. Кета *Oncorhynchus keta* Walbaum, 1792 13

1.1.2. Сахалинский таймень *Parahucho perryi* Brevoort, 1856 15

1.1.3. Род *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae) 17

1.2. Концепция филогеографии 18

1.2.1. Общая характеристика исследований 18

1.2.2. Основные методы и молекулярные маркеры 20

1.2.3. Особенности филогеографии пресноводных рыб 22

1.2.4. Особенности филогеографии морских рыб 24

1.3. Гипотеза молекулярных часов 25

1.3.1. Общие сведения 25

1.3.2. Способы калибровки молекулярных часов 26

1.3.3. Проблемы установления времени дивергенции на основе молекулярных часов 30

1.3.4. Скорость эволюции ДНК исследуемых групп рыб 32

1.4. Ретроспективное изучение демографической истории популяций 35

1.4.1. Коалесцентные методы анализа 35

1.4.2. Метод байесовских контурных диаграмм 37

1.4.3. Основные ограничения методов оценки демографической истории 38

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 42

2.1. Материалы исследования 42

2.2. Выделение ДНК 45

2.3. ПЦР 45

2.4. Определение нуклеотидных последовательностей ДНК 47

2.5. Редактирование и выравнивание последовательностей 48

2.6. Филогенетический анализ 49

2.7. Реконструкция демографической истории популяций 52

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ 56

3.1. Кета *Oncorhynchus keta* 56

3.2. Сахалинский таймень *Parahucho perryi* 62

3.3. Крупночешуйная красноперка *Tribolodon hakonensis* 68

3.4. Мелкочешуйная красноперка *Tribolodon brandtii* 74

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ 81

4.1. Закономерности пространственного распределения генетической изменчивости исследуемых видов 81

4.2. Датировка этапов дивергенции внутривидовых единиц 89

4.3. Роль палеоклиматических изменений в демографической истории видов 94

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 97

ВЫВОДЫ 99

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 100

ПРИЛОЖЕНИЯ I – XIII 134–157

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

мтДНК – митохондриальная ДНК

об/мин – оборотов в минуту

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

BI – Bayesian Inference – байесовский анализ

ML – Maximum Likelihood – метод максимального правдоподобия

NJ – Neighbor-Joining – метод ближайших соседей

PP – Posterior probability – апостериорная вероятность

BP – Bootstrap Percentage – бутстреп-индекс (% от кол-ва реплик)

млн. лет – миллион лет

тыс. лет – тысяч лет

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Определение исторических и экологических факторов в процессах формирования внутривидовых единиц и образования новых видов является одной из наиболее важных проблем в эволюционной биологии по многим причинам (Mayr, 1963). Во-первых, сравнительный анализ генетической изменчивости внутри близких видов в пределах географического региона позволяет определить время дивергенции основных генеалогических линий и выявить наиболее существенные факторы, которые влияли на популяционно-генетическую структуру видов в прошлом. Во-вторых, точные данные о характере влияния палеоклиматических изменений на генетическую структуру могут быть использованы для прогнозирования последствий современных климатических флуктуаций, включая характер и скорость колонизации новых доступных мест обитания (Avise, 2000). И, наконец, определение границ популяций имеет большое практическое значение, поскольку популяции являются единицами хозяйственной деятельности человека. Использование данных о внутривидовой изменчивости при искусственном разведении, интенсивном промысле видов или организации мер по их сохранению способствует устойчивости экологической и генетической структуры популяций и позволяет поддерживать их численность на высоком уровне (Иванков, Иванкова, 2015).

В северной Пацифике осцилляции климата на протяжении последних нескольких миллионов лет оказали существенное влияние на эволюцию видов и формирование внутривидовой структуры не только у наземных животных, но и у пресноводных и морских рыб (Avise, 2000). В периоды похолоданий формировались ледниковые щиты, существенно снижался уровень океана, большинство видов вытеснялось в южные регионы, где могли сохраняться в рефугиумах, из которых виды распространялись на север, когда ледники отступали и уровень океана вновь восстанавливался. Формирование двух и

более рефугиумов приводило к изоляции особей, снижению или полному прекращению генетического обмена между популяциями. В случае нескольких рефугиумов вероятность дивергенции изолированных форм и образования двух или более видов увеличивалась. Исторические факторы (фрагментация, экспансия, реколонизация), сопровождавшие изменения ареалов видов под влиянием циклических колебаний климата, также существенно влияли на распределение генетической изменчивости внутри видов (Templeton et al., 1995).

Постепенное снижение использования анализа аллозимной изменчивости и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и повсеместное внедрение современных методов получения нуклеотидных последовательностей ДНК определили более высокий уровень научных работ по внутривидовой изменчивости, географическому распространению и истории становления и эволюции ихтиофауны данного региона. Появление филогеографических подходов на основе молекулярно-генетического анализа митохондриальной ДНК и доступность технологий секвенирования позволяет с высокой точностью реконструировать события дивергентной эволюции внутри видов и групп видов и отнести их к тому или иному историческому периоду. Это обусловлено тем, что гипотеза «молекулярных часов» предполагает равномерное накопление нуклеотидных замен во времени и во многих случаях это положение подтверждается экспериментально (Avise, 2000).

Благодаря своим свойствам (материнское наследование, быстрая эволюция и отсутствие рекомбинаций) митохондриальная ДНК представляет собой очень удобный маркер для эволюционного и популяционного анализа (Brown et al., 1979). Прекращение генетического обмена между популяциями приводит к появлению различий в мтДНК особей из разных популяций в результате накопления мутаций и стохастических процессов. При длительном независимом существовании популяций во времени в них формируются различающиеся филогруппы мтДНК. Именно поэтому анализ изменчивости

мтДНК стал своеобразным стандартом при изучении путей и механизмов формирования видов и внутривидовых единиц (Templeton et al., 1995; Avise, 2000).

Степень разработанности темы. Исследованию внутривидовой дивергенции пресноводных и морских видов рыб северо-западной Пацифики посвящено много работ (Брыков и др., 2010; Олейник и др., 2007; Горбачев и др., 2014; Шедько и др., 2015; Yu et al., 2010; Shen et al., 2011; Liu et al., 2011).

Многолетние исследования внутривидовой изменчивости кеты в регионе осуществлены с использованием анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (Брыков и др., 2000; Churikov et al., 2001; Брыков и др., 2003; Полякова и др., 2006) и микросателлитных ДНК-маркеров (Beacham et al., 2008). Сравнительно небольшое количество работ данного направления основано на анализе нуклеотидных последовательностей мтДНК (Yoon et al., 2008; Савин и др., 2009; Бачевская, Переверзева, 2010).

Генетическая изменчивость дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* также изучены только с применением устаревших подходов на основе ПДРФ-анализа (Брыков и др., 2011; Брыков и др., 2013; Семина и др., 2006; Семина и др., 2007; Рязанова, Полякова, 2012) и изменчивости аллозимов (Sakai et al., 2002).

Работ по морфологическим и биологическим характеристикам, экологии и поведению сахалинского тайменя достаточно для того, чтобы в некоторой степени получить представление о данном виде и амплитуде внутривидовых колебаний указанных признаков. В тоже время, исследования, освещающие внутривидовую генетическую изменчивость вида, единичны и ограничиваются использованием анализа микросателлитных маркеров (Шитова и др., 2012; Zhivotovsky et al., 2015). Отчасти это объясняется краснокнижным статусом вида и, следовательно, ограниченностью доступности материала.

Виды были выбраны исходя из того, что все они являются проходными, имеющими как морской период в жизненном цикле, так и пресноводный,

связанный с размножением (все виды), а также зимовкой (красноперки). Три из четырех исследуемых видов, сахалинский таймень и красноперки рода *Tribolodon*, являются эндемиками этого региона. Кета распространена во всей северной Пацифике, однако некоторые данные дают основания полагать, что центром происхождения этого вида является Японское море (Yoon et al., 2008; Полякова и др., 2006). Сравнительные исследования с привлечением новых филогеографических методов и детальным описанием эволюционной истории региональных популяций указанных видов Японского побережья и о. Сахалин до настоящего времени не проводились.

Цель и задачи исследования. Цель данной работы – исследование распределения внутривидовой генетической изменчивости митохондриальной ДНК у четырех видов рыб семейств Salmonidae (сахалинского тайменя и кеты) и Cyprinidae (крупночешуйной и мелкочешуйной красноперок) в Японском и Охотском морях.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Получить нуклеотидные последовательности фрагментов генов *COI* и *cytb* мтДНК кеты *Oncorhynchus keta*, сахалинского тайменя *Parahucho perryi*, крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* и мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii*;
2. Проанализировать особенности пространственного распределения генеалогических групп исследуемых видов;
3. Реконструировать демографическую историю видов на основе данных о генетическом полиморфизме;
4. Определить время дивергенции основных внутривидовых единиц;
5. Проанализировать биологические особенности и влияние палеоклиматических факторов на демографическую историю каждого вида;

Научная новизна. В работе впервые исследована внутривидовая генетическая изменчивость эндемичных видов красноперок (*Tribolodon hakonensis*, *Tribolodon brandtii*) и сахалинского тайменя (*Parahucho perryi*) на

основе первичных нуклеотидных последовательностей генов мтДНК *COI* и *cytb*. Установлены последовательность и время формирования основных эволюционных линий сахалинского тайменя, кеты, крупночешуйной и мелкочешуйной красноперок Японского и Охотского морей. Результаты молекулярной датировки внутривидовой дифференциации сопоставлены с палеоклиматической летописью региона северо-западной Пацифики. Кроме того, впервые осуществлена реконструкция демографической истории популяций видов рыб семейства Salmonidae и Cyprinidae.

Теоретическое и практическое значение работы. С помощью современных методов анализа молекулярно-генетических данных настоящая работа внесет значительный вклад в исследования сравнительной филогеографии лососевых и карповых рыб, занимающих общий предковый ареал. Во время исследования определены и депонированы в международную базу данных GenBank (National Center for Biotechnology Information, USA) 258 новых нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* митохондриальной ДНК кеты, сахалинского тайменя, крупночешуйной и мелкочешуйной красноперки. Результаты проведенной работы послужат основой для дальнейших исследований эволюционной истории видов всей ихтиофауны северо-западной Пацифики, подчеркивая уникальность данного региона.

Методология и методы диссертационного исследования. В данной диссертационной работе применены современные молекулярно-генетические методы. Амплификацию выбранных фрагментов ДНК осуществляли с помощью ПЦР. Получение первичных нуклеотидных последовательностей проводили по методу Сэнгера. Анализ полученных данных реализован с помощью специализированного программного обеспечения. Филогенетические деревья реконструированы с использованием метода максимального правдоподобия (ML), метода ближайшего связывания (NJ) и байесовского подхода (BI) в программах MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011) и BEAST 1.8.0 (Drummond et al., 2012). Пространственные закономерности в

распределении гаплотипов мтДНК визуализированы с помощью метода медианных сетей (median joining) (Bandelt et al, 1999). Молекулярная датировка дивергенции внутривидовых эволюционных линий у исследованных таксонов проведена на основе байесовского подхода в пакете программ BEAST 1.8.0 (Drummond et al., 2012). Для реконструкции демографической истории популяций в работе задействованы методы коалесцентного анализа. Выбор основных параметров построения байесовских контурных диаграмм производили при попарном сравнении значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) (Suchard et al., 2001). Все вычисления с использованием байесовского подхода были произведены на базе высокопроизводительного интернет-ресурса CIPRES (Miller et al., 2010).

Личный вклад автора. Экспериментальная часть молекулярно-генетических исследований и обработка полученных данных были выполнены автором в полном объеме. Самостоятельно освоены различные программы для филогенетической обработки данных в рамках исследования. Автор принимал участие в представлении результатов исследования на конференциях и подготовки материалов для публикаций.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Популяции видов *Parahucho perryi*, *Oncorhynchus keta*, *Tribolodon hakonensis* и *Tribolodon brandtii* демонстрируют сходные закономерности образования материковых и островных филогрупп гаплотипов, в значительной степени синхронизированных по времени.

2. Обнаруженные генетические различия популяций видов с материкового побережья Японского моря и о. Сахалин связаны с их продолжительной изоляцией под воздействием колебаний среды в процессе смены ледниковых и межледниковых периодов эпохи плейстоцена.

3. Исследование демографической истории популяций видов северо-западной части Пацифики на основании полиморфизма генов мтДНК выявил

недавний период резкого увеличения численности, связанного с окончанием последнего ледникового максимума.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обеспечена современными молекулярно-генетическими и филогеографическими подходами, в том числе применением методов коалесценции и статистической обработки информации, которые соответствуют целям и задачам, поставленным в работе. Использование одних и тех же алгоритмов, и методов анализа данных с помощью разного программного обеспечения, а также повтор результатов при дополнительных экспериментах, позволили всесторонне проанализировать полученные данные и определили точность реконструкций демографических и дивергентных событий. Анализ результатов исследования, научных положений и выводов подкреплен данными, приведенными в таблицах и рисунках.

Апробация результатов работы. Результаты работы были представлены на ежегодной научной конференции Института биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток (2013); I межрегиональной молодежной школе-конференции «Актуальные проблемы биологических наук», г. Владивосток (2013); II международной научной конференции «Современные проблемы биологической эволюции», г. Москва (2014); 4-й Московской международной конференции «Молекулярная филогенетика MolPhy-4», г. Москва (2014).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 5 работ, в том числе 2 статьи в журналах из списка ВАК.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 157 страницах, содержит 16 таблиц и 19 рисунков. Материалы работы представлены в виде общего введения, глав «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», а также «Заключения», «Выводов», «Списка литературы» и 13 приложений. Список литературы содержит 302 источника, из них 236 на иностранном языке.

Благодарности. Выражаю глубокую признательность своему научному руководителю профессору, д.б.н. Брыкову Владимиру Алексеевичу за всестороннюю помощь, опытное руководство и поддержку на протяжении всех лет работы в лаборатории. Особую благодарность выражаю рецензенту д.б.н., ст. н. с. Олейник Алле Геннадьевне за ознакомление с текстом рукописи, рекомендации и справедливые замечания. Выражаю искреннюю благодарность коллективу лаборатории генетики за сотрудничество в написании совместных статей и всестороннюю поддержку, в частности к.х.н., ст.н.с. Кухлевского Андрея Даниловича за ценные наставления и советы при использовании молекулярно-генетических методов и к.б.н., н.с. Шарину Светлану Николаевну за предварительное ознакомление с текстом диссертационной работы и важные замечания. Глубокую признательность выражаю своим родным и близким за всестороннюю и неоценимую поддержку.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Основные характеристики исследуемых видов

1.1.1. Кета *Oncorhynchus keta* Walbaum, 1792

Кета (*Oncorhynchus keta*) – наиболее широко распространенный, массовый вид тихоокеанских лососей. Проходной вид, не имеющий пресноводных форм и подвидов, обитает по всей северной части Тихого океана от Берингова пролива до юга Корейского полуострова и Японии (о. Хонсю) на азиатской стороне и на американской от Аляски до р. Сакраменто. В Северном Ледовитом океане распространена на восток до бассейна р. Маккензи, на западе заходит в Колыму, Индигирку, Яну и Лену (Рисунок 1) (Берг, 1948; Goto, 1987; Аннотированный каталог, 1998). В водах Дальнего Востока кета наиболее многочисленна в Амуре, на охотском побережье, Курильских островах и у западной Камчатки. Южная граница ареала простирается до р. Туманная (Атлас пресноводных рыб России, 2002).

Рисунок 1 – Географическое распространение кеты *Oncorhynchus keta* (по Wild Salmon Center and Ecotrust, 2005). Серым цветом обозначен современный нерестовый ареала вида, включая районы с ограниченным нерестом.

Почти по всей области распространения различают летнюю и осеннюю форму кеты, отличающихся качественными параметрами и экологическими особенностями (Берг 1948, 1955). Осенняя кета имеет большие размеры, массу, плодовитость и обладает более высоким темпом роста, а различия в морфологии и расположении нерестилищ позволяют икре осенней кеты меньше зависеть от погодных условий и развиваться в более стабильных температурных и кислородных условиях (Бирман, 1985; Salo, 1991; Строганов, 2007). Наличие осенней формы кеты особенно характерно для юго-западных (р. Амур, о. Сахалин и о. Хоккайдо, зал. Петра Великого) и восточных (Британская Колумбия, Аляска) районов ареала (Фадеев, 1984). Для стад, нерестящихся в различных географических районах, характерны разные районы нагула, расположенные в основном севернее устьев родных рек. В морской период происходит смешение кеты разных стад, в том числе американских и азиатских (Фадеев, 1984; Бирман, 1985; Salo, 1991), однако к моменту нереста они вновь расходятся.

До недавнего времени в исследованиях популяционно-генетической структуры кеты в качестве основного подхода использовался анализ аллельных вариантов белков (аллозимов) (Phelps et al., 1994; Kondzela et al., 2002; Варнавская, 2002). Принимая во внимание исследования внутривидовой структуры кеты последних десятилетий, основанных на изменчивости митохондриальной и ядерной ДНК (Бачевская, Переверзева, 2010), поиск информативных генетических маркеров по-прежнему остается актуальным. Большая часть работ в данном направлении осуществлена с применением анализа рестрикционных фрагментов (Брыков и др., 2000; Churikov et al., 2001; Брыков и др., 2003; Полякова и др., 2006) и микросателлитных ДНК-маркеров (Beacham et al., 2008).

Кета имеет существенное промысловое и хозяйственное значение. Доля кеты в уловах всех тихоокеанских лососей в Северной Пацифике составляет около 33%, уступая по данному показателю только горбуше *Oncorhynchus gorbuscha* (Кляшторин, Смирнов, 1992). Уровень естественного

воспроизводства в последние годы заметно снизился из-за сильно развитого браконьерства и нарушений естественных местообитаний. Во многих районах Дальнего Востока высокие показатели промысла кеты, главным образом, зависят от искусственного воспроизводства и поддержания численности.

1.1.2. Сахалинский таймень *Parahucho perryi* Brevoort, 1856

Сахалинский таймень является редким полупроходным видом рыб семейства Salmonidae, занимающим узкий и неуклонно сокращающийся ареал. Существуя под непрерывно возрастающим антропогенным давлением сахалинский таймень распространен на западном побережье Японского моря от Татарского пролива до залива Петра Великого, включая так же о. Сахалин, Южные Курильские острова и о. Хоккайдо (Рисунок 2) (Берг, 1948; Шмидт, 1950; Линдберг, Легеза, 1965; Goto, 1987; Атлас пресноводных рыб России, 2002).

Рисунок 2 – Современный ареал сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (по Wild Salmon Center and Ecotrust, 2006). Серым цветом обозначены области достоверного присутствия популяций сахалинского тайменя в бассейнах рек.

Вид включен в Красные книги различных статусов на острове Сахалин и в Приморском крае, а также занесен в списки Международной Красной книги (IUCN Red List of Threatened Species) по всему ареалу (Rand, 2006). Ряд морфологических и экологических признаков позволил выделить сахалинского тайменя в самостоятельный подрод *Parahucho* (Vladykov, 1963), а затем повысить его таксономический ранг до рода (Глубоковский, 1990; Осинов, 1991). Дивергировав от основной эволюционной линии лососевых рыб в пределах от 23 (Шедько и др., 2013) до 30 млн лет назад (Alexandrou et al., 2013), сахалинский таймень является одним из самых эволюционно древних видов лососевых рыб. Это произошло значительно раньше, чем дивергенция тихоокеанских лососей, датируемой приблизительно 4–6 млн лет назад (Alexandrou et al., 2013; Crête-Lafrenière et al., 2012).

За длительный срок существования ареал вида не расширился за пределы границ Японского и южной части Охотского морей из-за множества особенностей его биологии. Как отмечалось ранее, высокая температура, показатели солености окружающей среды, рельеф бассейнов рек являются основными факторами, формировавших историческое распространение сахалинского тайменя (Золотухин, Семенченко 2008, Honda et al., 2010). По мнению многих авторов, глобальное потепление является серьезной проблемой для выживания сохранившихся на данный момент популяций тайменя, особенно вблизи южной границы ареала вида (Fukushima et al., 2011). Имея ярко выраженный хищный тип питания, таймень требует более разнообразные и продуктивные пресноводные местообитания, чем в случае других анадромных лососевых, например, тихоокеанских лососей, которые используют пресные водоемы только для нереста и развития молодых особей.

Основными причинами заметного уменьшения численности популяций сахалинского тайменя в отсутствии его промышленной добычи является браконьерство, чрезмерный любительский вылов и доступность мест обитания в результате деятельности человека (Золотухин, Семенченко, 2008). Таймень так же в больших количествах попадается при промысле

тихоокеанских лососей как в реках, так и в морском прибрежье. В связи с этим особое значение приобретают вопросы долгосрочного сохранения и изучения прежде всего наименее затронутых человеком и уникальных по биологическому разнообразию популяций сахалинского тайменя (Семенченко, Золотухин, 2011; Zhivotovsky et al., 2015).

1.1.3. Род *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae)

Дальневосточные красноперки рода *Tribolodon* являются уникальной группой карповых рыб, эндемичной для северо-западной части Тихого океана. Высокая вариабельность экологических признаков, ограниченность географического распространения и тесная связь происхождения таксонов с историей формирования акватории Японского моря (Sakai et al., 2002) позволили представителям рода приобрести статус модельных объектов для сравнительных генетических исследований в области филогеографии.

Таксономическая структура рода *Tribolodon* долгое время оставалась неясной из-за низкого уровня морфологической дифференциации видов и изменчивости их признаков в зависимости от мест обитания. Ранние генетические исследования с использованием изменчивости аллозимов определили четыре вида дальневосточных красноперок, существующих в перекрывающихся ареалах (Sakai, 1995; Картавцев и др., 2002).

Наиболее широко распространённый вид *T. hakonensis* Günther, 1877 (крупночешуйная красноперка) обладает амфидромностью и способен обитать в пресных водоемах и эстуарных зонах рек тихоокеанского побережья Дальнего Востока, о. Сахалин до юга о. Кюсю (Япония) (Гриценко, 1974). Сахалинская красноперка *T. sachalinensis* Nikolsky, 1889 (синоним *T. ezoe* Okada & Ikeda, 1937) имеет самое северное распространение среди других видов рода и представлена проходной и жилой формой (Гриценко, 2002). Вид обитает в водах о. Сахалин, Шантарских островах, Японии (Атлас пресноводных рыб России, 2002) и по некоторым данным встречается в реках северного района Приморья (Золотухин и др., 2000). Мелкочешуйная

красноперка *T. brandtii* Dybowsky, 1872 характеризуются анадромным образом жизни и мигрирует в пресные воды для размножения и зимовки (Гавренков, 1998). Ареал вида включает азиатское побережье Тихого океана, от Шантарских островов до Корейского полуострова, а также реки и озера Японии, о. Сахалин и южных Курильских островов (Гавренков, Иванков, 1979). Для центральной части о. Хонсю (Япония) описан пресноводный вид *T. nakamurai* Doi et Shinzawa, 2000.

Учитывая данные калибровки Зардои и Доадрио (1999) для европейских видов карповых рыб, время дивергенции между родом *Tribolodon* и ближайшей сестринской группой дальневосточных гольянов (*Phoxinus*) оценено приблизительно в 9 млн лет, при этом среднее значение времени дивергенции между видами внутри рода *Tribolodon* составляет около 4–6 млн лет (Sasaki et al., 2007). Полученные датировки соответствуют границе миоцена–плиоцена, когда Палео-Японское море было крупной солоноватоводной лагуной.

В настоящее время на основании рестрикционного анализа митохондриальной ДНК (Семина и др., 2006), а также сравнительно-морфологических (Гудков и др., 2010) и кариологических (Рязанова, Полякова, 2012) данных было показано, что вид *T. hakonensis* на ареале представлен двумя близкими видами. Первоначально описанный вид *T. hakonensis* обитает в реках и эстуарных зонах о. Сахалин, Японского архипелага и в северной материковой части Татарского пролива, а в южной части материкового побережья Японского моря присутствует недавно обнаруженный *T.* sp. (Брыков и др., 2013).

1.2. Концепция филогеографии

1.2.1. Общая характеристика исследований

Успехи в области молекулярной генетики в значительной мере способствовали развитию филогении и пониманию филогенетических отношений между и внутри таксономических единиц. Использование генных

деревьев, данных о внутривидовых единицах и географическом распределении соответствующих генотипов сформировало новое направление исследований – филогеографию (Avise et al., 1987).

Концепция филогеографии, предложенная Эвисом в 1987 году, заключается в изучении главных процессов, лежащих в основе географического распределения генеалогических линий как на внутривидовом уровне, так и на уровне близкородственных видов. Таким образом, данные о внутривидовой изменчивости, полученные с помощью молекулярно-генетических методов, анализируются с позиции систематики и традиционной биогеографии. Было показано что кластеры внутривидовых деревьев, реконструированных по сходству нуклеотидного состава митохондриальных генов, часто проявляют выраженную географическую приуроченность (Avise, 2000, 2009).

Понимание процессов, лежащих в основе пространственного и временного распределения генетической изменчивости видов является наиболее важным при изучении эволюционных и экологических вопросов адаптивной дивергенции и в сравнительном аспекте позволяет установить пути формирование целых экологических сообществ (Díaz-Ferguson et al., 2010; Холодова, 2009). Сходные филогеографические паттерны у разных видов свидетельствуют о том, что они сформировались под влиянием одних и тех же палеогеографических событий (Абрамсон, 2007). Таким образом множество филогеографических исследований позволило выделить локальные центры видообразования, предковые рефугиумы, а также обозначить виды, являющиеся приоритетными для поддержания численности и сохранения биоразнообразия региона (Bowen, Karl, 2007, Mattoccia et al., 2011, Rocha et al., 2007).

Интерпретация филогеографических паттернов, по мнению Эвиса, должна осуществляться с привлечением многих дисциплин, изучающих процессы микро- и макроэволюционного уровня. Последовательная интеграция филогеографии с множеством разделов наук, от экологии

сообществ, климатологии, палеонтологии, и молекулярной и эволюционной геномики, обеспечивает более полные и разносторонние данные о том, как геологические события, окружающая среда и географические факторы повлияли на различные аспекты экологии видов и их эволюции в целом (Bigg et al., 2008; Bonin et al., 2006; Carnaval et al., 2009; Kidd, Ritchie, 2006; McCormack et al., 2008; McRae, 2006; Rambaut et al., 2008).

В результате обширных исследований была определена главная роль эпохи плейстоцена, как ключевого этапа геологической истории Земли в течение последних 2,8 млн лет (Жамойда, 2013). Цикличные колебания климатических параметров с высокой амплитудой обеспечили целую последовательность крупных ледниковых и межледниковых периодов, сопровождающихся флуктуациями глобального уровня Мирового океана (Head et al., 2008). Многие авторы отмечают радикальное влияние плейстоцена на состояние океана и суши, и, как следствие, на распределение внутривидовой изменчивости и эволюцию живых организмов (Hewitt, 1999, 2004, 2011; Bernatchez, Wilson, 1998; Avise et al., 1998).

1.2.2. Основные методы и молекулярные маркеры

Стремительное развитие филогеографии способствовало преобразованию основных методов и появлению новых статистических инструментов анализа. Так, коалесцентная теория (Excoffier, Heckel, 2006), тесты оценки достоверности филогенетических гипотез и эволюционных сценариев (DIY ABC) (Cornuet et al., 2008), моделирование экологических ниш (ENM, ecological niche modelling) (Waltari et al., 2007; Carstens, Richards, 2007), изоляции и миграции для мультилокусных данных (Hey, Nielsen, 2004; Dolman, Moritz, 2006) становятся все более популярными ввиду их высокой разрешающей способности и исключительной гибкости при изучении сложных видовых историй, в частности, цихлид (Hey et al., 2004).

Наряду с описанием распределения генотипов в пространстве стали успешно применяться методы максимального правдоподобия и байесовский

анализ (Lemmon, Lemmon, 2008; Drummond et al., 2005). Подходы на основе данных методов эффективны при оценке достоверности филогеографических гипотез (Burbrink, 2002), а также при изучении влияния исторического расширения ареала (Excoffier et al., 2009), сопутствующих процессов миграции и эффекта «бутылочного горлышка» на уровень современного генетического разнообразия (Wakeley, 2004, 2009).

Область исследования современной филогеографии сместилась от изучения распределения внутривидовых паттернов, к непосредственному изучению демографической истории отдельных популяций, представляющих основной интерес, подчеркивая тесную связь между систематикой и популяционной генетикой, двух областей исследования, которые традиционно рассматривались независимо друг от друга. Развитие технологии секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing, NGS) имеет большой потенциал с точки зрения филогеографии, предоставляя быстрый и экономичный способ получения больших объемов генетических данных: как целых геномов, так и последовательностей с высоким уровнем покрытия (Puritz et al., 2012; Metzker, 2009).

По данным обзора Бехерегерей, посвященному первому двадцатилетию филогеографии, около 81% всех опубликованных научных работ в данный период основаны на молекулярных данных по митохондриальной и хлоропластной ДНК. В то время как доля исследований в филогеографии с применением анализа аллозимов и микросателлитов, главным образом в конце 80х–начале 90х годов, составила всего 4–8% соответственно (Beheregaray, 2008). В настоящее время в филогеографии используют последовательности митохондриальных генов, значительно реже генов ядерной ДНК (Fahey et al., 2014). Наиболее популярные в филогенетике последовательности генов цитохрома *b* (*cytb*) и первой субъединицы гена цитохромоксидазы *c* (*COI*) уже зарекомендовали себя как надежные маркеры для выявления филогеографической структуры и идентификации криптических видов (Terranova et al., 2007; Holland et al, 2004; Trontelj et al., 2005; Fritz et al., 2005;

Huang et al., 2008; Dusfour et al., 2007). В последние годы все чаще для этих целей используют последовательности полного митохондриального генома (Brockman, McFadden, 2012).

Характеризуясь высоким внутривидовым полиморфизмом, а также селективно нейтральной природой мутаций, мтДНК у особей популяций существует в виде множества гаплотипов (Абрамсон, 2007). Высокая скорость эволюции, материнское наследование и, как правило, полное отсутствие рекомбинаций позволили стать мтДНК основным инструментом исследования внутривидовых филогенетических отношений (Avise, 2000; Ballard, Rand, 2005). С течением времени количество публикаций, основанных на единичных маркерах, постепенно снижается в сторону использования более комплексных подходов (Beheregaray, 2008).

Знание особенностей изучаемых биологических систем имеет важное значение при выборе методологических подходов и молекулярных маркеров исследования. Принято считать, что каждый из генетических маркеров соответствует определенному временному масштабу дивергенции. Некодирующие регионы мтДНК датируют события в пределах от 1 до 10 тыс. лет, в то время как кодирующие области митохондриального генома и последовательности интронов определяют время дивергенции до нескольких миллионов лет (Zhang, Hewitt, 2003).

1.2.3. Особенности филогеографии пресноводных рыб

Рыбы являются самой широко распространённой группой беспозвоночных организмов и наиболее интенсивно исследуемым таксоном в филогеографии (Beheregaray, 2008). Изучение филогеографии рыб значительно расширило наше понимание роли экологических факторов в процессах видообразования, сопровождающегося адаптивной дивергенцией и репродуктивной изоляцией (Orr, Smith 1998; Beheregaray, Sunnucks, 2001; Schluter, 2001).

Биогеографический анализ пресноводных рыб позволяет установить связь между геологической и биотической эволюцией исследуемых регионов, так как в большинстве случаев распространение видов главным образом зависит от формирования и наличия прямых связей между бассейнами рек в прошлом (Bermingham, Martin, 1998; Rundle et al. 2000; Waters et al. 2007; Peng et al., 2006). Например, Янг с соавторами отмечали высокую дифференциацию ихтиофауны рек Тибетского нагорья, как результат тектонического поднятия и последующей длительной адаптации видов к геоморфологическим и экологическим изменениям. Биогеографическая зональность, установленная авторами, подтверждается анализом сценариев развития и уникальностью отдельных филогрупп таксонов с точки зрения времени дивергенции и их пространственного распределения (Yang et al., 2009). Сравнительный анализ мтДНК пресноводных и анадромных видов рыб умеренных и высоких широт Палеарктики и Неарктики также показал сходные эволюционные сценарии при формировании границ ареала видов (Bernatchez, Wilson, 1998).

В большинстве случаев возникновение филогеографической подразделенности пресноводных видов рыб по мтДНК согласуется с основными этапами их эволюции и датируется ранним плейстоценом или более поздними периодами.

Описывая различные уровни дивергенции и репродуктивной изоляции на примере 16 видов рыб восточной части пресноводных Великих Озер, Эйприл с соавторами предполагают, что аллопатрическое видообразование в значительной степени способствовало диверсификации юго-восточной пресноводной фауны Северной Америки, а ледниковые периоды плейстоцена на протяжении последних 500 тыс. лет рассматриваются как основной механизм формирования биоразнообразия (April et al., 2013).

Исследования европейских пресноводных видов вьюновых рыб рода *Sabanejewia*, обитающих в бассейне реки Дунай, так же показали влияние циклических плейстоценовых оледенений и межледниковых периодов, способствовавших быстрому расширению ареала и исчезновению

генетических различий между отдельными эволюционными линиями центрально-европейских вод (Perdices et al., 2003).

1.2.4. Особенности филогеографии морских рыб

В отличие от пресноводной ихтиофауны, морские рыбы, как правило, имеют слабо выраженную филогеографическую структуру из-за отсутствия физических барьеров при распространении и высоким уровнем пространственного взаимодействия (Bowen, Grant, 1997). В морской среде в качестве лимитирующих факторов для взрослых особей и молоди рыб могут выступать морфология нерестилищ (Martinez et al., 2006), географические расстояния (Domingues et al., 2007), структура водных масс (Shaw et al., 2004), океанические течения (White et al., 2010; Henriques et al., 2012) и экологические переходные зоны (Nielsen et al., 2004).

Аналогичным образом, исторические изменения климата в плейстоцене, интенсивности оледенений и подводных течений, колебания температуры окружающей среды и уровня океана повлияли на ключевые этапы процесса видообразования морских рыб (Grant, Bowen, 2006; Lecomte et al., 2004; Shen et al., 2011).

Изучение региона «кораллового треугольника» (Филиппины–Индонезия–Соломоновы острова), как глобального центра происхождения всей морской ихтиофауны Индо-Пацифики (Mora et al., 2003), обеспечивает общее понимание механизмов возникновения биоразнообразия и эндемизма. Работы по сравнительной филогеографии морских рыб и брюхоногих моллюсков показали наличие сложной модели диверсификации видов рыб, произошедшей после формирования современных бассейнов Индийского и Тихого океана в период миоцена (20–25 млн лет) (Barber, Bellwood, 2005; Klanten et al., 2004). Взаимодействие системы морских течений и геологических процессов способствовало формированию в регионе множество связанных и изолированных популяций. Благодаря неограниченной дисперсии в пределах определенных экологических

оптимумов большинство видов региона сохраняют поток генов между удаленными популяции в течение длительного времени.

Более поздние исследования филогеографической структуры комплексов видов позволили установить случаи викариантного видообразования. Неоднократные пассивные разделения популяции в пределах одного ареала происходили в плейстоцене и строго коррелировали с флуктуациями уровня океана (Carpenter et al., 2011).

1.3. Гипотеза молекулярных часов

1.3.1. Общие сведения

Гипотеза молекулярных часов, впервые выдвинутая в 60-х годах XIX века, остается одной самых значимых концепций в современной эволюционной биологии, предлагая классический подход для оценки скорости или времени дивергенции. Согласно гипотезе, число аминокислотных замен в сравниваемых белках организмов приблизительно пропорционально времени их дивергенции (Zuckerkandl, Pauling, 1965). Отсутствие строгой пропорциональности связано с тем, что ни один ген или белок не эволюционирует со строго постоянной скоростью на протяжении длительного времени, так как через некоторое время могут измениться их функции, а также скорость мутаций и репарации у различных групп организмов.

Гипотеза находит множество применений в биологии: данные о генетической изменчивости, накапливаемой согласно «молекулярным часам», позволяют определить временные интервалы важных эволюционных событий, даже в отсутствии описаний палеонтологических остатков (Arbogast et al., 2002).

С помощью молекулярных часов были скорректированы современные представления о временных границах многих ключевых биологических событий, связанных с происхождением и миграцией человека (Ke et al., 2001), дивергенцией неандертальцев и других гоминид (Scally, Durbin, 2012), происхождением вируса иммунодефицита (Leitner, Albert, 1999; Lemey et al.,

2003). Наряду с совершенствованием методических подходов в области молекулярной биологии и филогении данная гипотеза за последние два десятилетия коренным образом изменила отношение исследователей к вопросам датировки дивергенции и реконструкции исторического развития организмов в эволюционной биологии. В свою очередь, определение времени возникновения многообразия позволяет оценить абсолютную скорость адаптивной радиации и экологической диверсификации видов (Givnish et al., 2000). «Молекулярные часы» применяются как при изучение ранних этапов эволюции крупных таксонов – отрядов растительного (Zimmer et al., 2007) и животного царства (Peterson et al., 2004), так и в случаях установления времени видовой дивергенции, например, для группы певчих птиц Северной Америки (Klicka, Zink, 1997).

1.3.2. Способы калибровки молекулярных часов

Однако «молекулярные часы» в классическом понимании дают только относительную оценку времени дивергенции таксонов, тогда как для абсолютной датировки необходима их калибровка по определенным независимым данным. В качестве таких данных могут выступать палеонтологические находки (Аверьянов, 2013; Benton, Donoghue, 2007), геологические события (Kodandaramaiah, 2011) или молекулярно-генетический анализ древней ДНК (дДНК) (Korsten et al., 2009; Prost et al., 2010; Rosvold et al., 2012).

Геологические события

Наиболее распространённым методом является калибровка на основе определенных геологических событий. Широко используемый подход оценивает скорость эволюции видов, дивергировавших в период формирования географических изоляционных барьеров. Образование перешейков и проливов между частями суши или отдельных островов в результате палеоклиматических и геологических изменений нарушает поток генов между предковыми популяциями организмов, и неизбежно приводит к

их изоляции. Например, многие авторы используют дату окончательного закрытия Панамского перешейка (около 3,1–3,5 млн лет назад) (Knowlton, Weigt, 1998; Lessios, 2008) для датировки дивергенции не только морских видов рыб Тихого и Атлантического океана, но и наземных организмов Северной и Южной Америки (Woodburne, 2010).

К другим значимым примерам использования точек калибровки можно отнести разделение наземных видов Европы и Африки Гибралтарским проливом (Marino et al., 2011; Yu et al., 2013), появление Эгейского моря (Papadopoulou et al., 2010) и вулканических островов (Hope et al., 2010; Mello, Schrago, 2012).

Постепенный характер формирования таких барьеров вносит долю неопределенности в оценки времени дивергенции, и, следовательно, скорости эволюции. Так исследование морских сообществ Панамского перешейка указывают на то что дивергенция глубоководных видов рыб произошла намного раньше описанных геологических событий (Marko, 2002). Кроме того, методы оценки времени геологического события по седиментационным отложениям океана и изотопному распаду пород имеют значительную величину погрешности в зависимости от конкретного временного масштаба (Martinson et al., 1987; Taylor, 1997).

Палеонтологические данные

Скорость дивергентной эволюции может быть рассчитана корректно в том случае, если на основе палеонтологических данных в таксономической группе известно реальное время дивергенции таксонов. Молекулярные и палеонтологические данные датируют разные события дивергенции, в связи с чем возникает проблема их несоответствия (Archibald, Deutschman, 2001). Молекулярный метод дает оценку времени дивергенции генов, носители которых могут не различаться морфологически, а в геологической летописи о появлении новых групп можно судить только при наличии ископаемых остатков их уже морфологически сформированных представителей.

Кумар и соавторы провели сопоставление времен дивергенции, полученных по молекулярным и палеонтологическим данным, и установили, что коэффициент корреляции вычисленных оценок дивергенции и дивергенции по палеонтологическим данным равен 0,99 (Kumar, 1996). Значения времени дивергенции, вычисленные при использовании методов молекулярной эволюции, как правило, выше, чем таковые по данным палеонтологии. Исследователи, занимающиеся изучением вопросов молекулярной эволюции, объясняют это неполными палеонтологическими данными, а палеонтологи – неточностью данных молекулярной эволюции (Nei et al., 2001).

При отсутствие данных о геологических событиях или палеонтологических ископаемых используются несколько иные подходы для калибровки. Таким образом используют климатическую летопись (Galbreath et al., 2009; Schoville, Roderick, 2009), изменение уровня океана (Blair et al., 2014), возникновение постледниковых морских сред обитания (Crandall et al., 2012) и сопоставление современного размера популяций разных видов (Horreo et al., 2013).

Использование климатических сдвигов в качестве калибровочных данных предполагает тесную взаимосвязь между температурным режимом или других переменных среды и размеров популяции. Тем не менее, не все виды одинаковым образом подвержены влиянию одних и тех же факторов. Накопленные данные свидетельствуют о том, что степень влияния палеоклимата на генетические процессы в популяциях варьирует в зависимости от биологических характеристик видов и их ареалов. Это было показано на примере таксонов субтропического (Li et al., 2009), умеренного (Gratton et al., 2008), арктического поясов (Shapiro et al., 2004; Prost et al., 2010) и альпийского региона (Galbreath et al., 2009).

Древняя ДНК

Последовательности древней ДНК обеспечивают дополнительную точность калибровки молекулярных часов. Варьирование возрастных

датировок образцов в выборках древней ДНК оказывают значительное влияние на корректность оценок скорости эволюции и филогенетических построений. При этом достоверные результаты можно получить даже с помощью нескольких древних последовательностей (Molak et al., 2013).

Исследователям обычно удается получить короткие нуклеотидные фрагменты (в среднем около 300–400 пн) с высоким уровнем полиморфизма, часто содержащие ошибки из-за естественных процессов деградации ДНК, что в итоге может существенно переоценить значения скорости мутаций (Ho et al., 2007; Stiller et al., 2006). Сравнительно недавние исследования показали возможность секвенирования значительно более длинных фрагментов древней ДНК, выделенных из тканей с разными условиями хранения. Таким образом были получены 11 полных митохондриальных геномов палеонтологических образцов шерстистого мамонта, датированных радиоуглеродным анализом (Rogaev et al., 2006; Gilbert et al., 2007).

Для многих видов не доступен ни один из используемых вариантов калибровки, в связи с чем авторы часто прибегают к использованию «универсального» значения скорости мутаций. Для белок-кодирующих генов мтДНК позвоночных животных это значение составляет приблизительно 2% нуклеотидных замен за 1 млн лет (Brown et al., 1979). Для пойкилотермных животных принято считать, что скорость мутаций может быть меньше (Martin, Palumbi, 1993).

В некоторых исследованиях калибровка молекулярных часов производится вторично на основе данных о скорости эволюции, ранее полученных для филогенетически родственных и экологически сходных таксонов (Bilgin et al., 2009), или разных генов одного вида (Song et al., 2009; Qu et al., 2011).

1.3.3. Проблемы установления времени дивергенции на основе молекулярных часов

Несмотря на высокую степень влияния гипотезы в биологии, следует отметить, что «молекулярные часы» имеют ряд ограничений, связанных с их применением (Swofford et al., 1996; Pulquério, Nichols, 2007).

Отсутствие точных палеонтологических данных и недостаточное количество точек калибровки, относящихся к ранним этапам эволюционного процесса, являются одними из нерешенных проблем датировок времени дивергенции. Кроме того, сама природа нуклеотидных замещений в составе ДНК часто рассматривается как пуассоновский случайный процесс и затрудняет определение времени дивергенции с точностью, необходимой для решения многих вопросов эволюционной биологии. Например, Своффорд с соавторами установили, что даже при идеальных условиях 95% доверительный интервал, полученный для значений времени дивергенции с помощью молекулярных часов, оказался достаточно велик (Swofford et al., 1996). Для природных популяций размеры доверительных интервалов будут ожидаемо больше (Arbogast et al., 2002).

Наиболее фундаментальная проблема гипотезы «молекулярных часов» заключается в варьировании скорости эволюции разных генов, участков генома и генеалогических линий на уровне популяций. На протяжении 80-х годов XX века были широко приняты наиболее универсальные на тот момент молекулярные часы на основе анализа изменчивости митохондриальной ДНК. С использованием «молекулярных часов» получаемые величины дивергенции конвертировались в величины времени независимой дивергенции таксонов, то есть в скорости нуклеотидных замен за 1 млн лет (Brown et al., 1979; Брыков и др., 2010; Avise, 2000). Однако, сравнительные молекулярные данные, в том числе и по ядерным генам, накопленные за последние десятилетия, показали существенные вариации в скорости эволюции ДНК у разных таксономических групп (Vawter, Brown, 1986; Bromham, 2009), и, следовательно, несостоятельность универсального подхода.

Темпы нуклеотидных замещений изменчивы у разных видов из-за степени повреждений ДНК, вызванных действием мутагенов, и эффективности механизмов их устранения. Предположение о том, что виды с более высокой скоростью метаболизма генерируют сравнительно большее количество ошибок и тем самым обладают высокими показателями скорости повреждения ДНК в единицу времени (Martin, Palumbi, 1993), в настоящее время активно обсуждается (Galtier et al., 2009). Другой причиной возникновения мутаций является действие экологических факторов окружающей среды. Например, растения, произрастающие в районах с высоким ультрафиолетовым излучением, характеризуются высокими темпами молекулярной эволюции (Davies et al., 2004).

Скорость мутации так же может быть связана с ошибками в процессе репликации ДНК. Показатели скорости возникновения ошибок в репликонах и количество копий за единицу времени определяется исключительно биологией исследуемого вида. Так, многие позвоночные виды животных с коротким временем генерации имеют более высокие значения скорости молекулярной эволюции (Bromham et al., 1996). Эффект времени генерации также применим к растениям (Smith, Donoghue, 2008).

Ранее было показано что уровень плодовитости и эффективный размер популяции (N_e) может коррелировать с распределением скоростей эволюции. Это было показано на примере эусоциальных перепончатокрылых насекомых, имеющих более высокий уровень нуклеотидных замещений, чем виды с одиночным образом жизни (Bromham, Leys, 2005).

Правомерность применения молекулярных часов для популяционных исследований так же остается предметом многочисленных дискуссий (Ho et al., 2005; Emerson, 2007; Ho et al., 2011; Emerson, Hickerson, 2015).

В конечном итоге, идея универсальных молекулярных часов, не допускающая отклонений скоростей эволюции среди таксонов, постепенно сменилась понятием локальных часов (local clock), как одной из первых альтернативных моделей в условиях неравномерности эволюционных

процессов (Yoder, Yang, 2000). Локальные молекулярные часы допускают разную скорость эволюции между крупными кластерами филогенетических реконструкций, сохраняя при этом постоянные значения скоростей внутри данных кластеров. До недавнего времени эти модели были сложны в использовании, поскольку их практическая реализация не позволяла моделировать филогенетическую неопределенность при установлении топологии деревьев и регулировать положение вариабельности скоростей между филогенетическими кладами (Swofford et al., 1996; Drummond, Suchard, 2010)

1.3.4. Скорость эволюции ДНК исследуемых групп рыб

Имеющиеся оценки скорости нуклеотидных замен у рыб характеризуются большим разбросом. Варьирование значений обусловлено как сложностями точного определения таксономической принадлежности палеонтологических находок и их точной датировки, так и очевидным нелинейным накоплением нуклеотидных замен на длительных временных интервалах вследствие эффектов насыщения мутациями и гомоплазии (процессом накопления повторных и обратных мутаций) (Avise, 2000).

В работе по исследованию скорости накопления мутаций в мтДНК отряда Perciformes было показано, что темпы эволюции у рыб в 3–5 раз медленнее (Cantatore et al., 1994), чем у млекопитающих (Brown et al., 1979). При этом Смит оценил общую скорость нуклеотидных замен у рыб близкой к 1% за 1 млн лет (Smith, 1992). Данное значение является средним в диапазоне величин скоростей принятом Барриджем с соавторами для большинства групп рыб, со временем дивергенции в пределах 5–15 млн лет (Burridge et al., 2008).

Скорость замен в нуклеотидных последовательностях митохондриального гена цитохрома *b* для европейских и североамериканских карповых рыб составила около 0,76% за 1 млн лет (Zardoya, Doadrio, 1999). Авторы отмечают что полученные значения полностью коррелируют с возрастом палеонтологических находок на территории Евразии. Согласно

временным датировкам, карповые, вероятно, возникли в период эоцена около 39 млн лет назад.

Ильвес и Тейлор, принимая во внимание рассчитанную Штепиеном с соавторами скорость дивергенции мтДНК у морских окуней в 1,56% (Stepien et al., 2000) и основываясь на собственных расчетах, пришли к заключению, что скорость дивергенции у видов морских рыб может составлять 1,77% (Ilves, Taylor, 2009). В работе Осинова и Лебедева для видов рыб семейства Salmonidae скорость изменений мтДНК оценивается в 0,84–0,92% за 1 млн лет (Осинов, Лебедев, 2004).

Одно из последних исследований Крит-Лафреинере с соавторами направлено на изучение вопросов систематики и эволюции данного семейства. С помощью увеличения выборки таксонов, и комбинации молекулярных маркеров и филогенетических методов также было получено средние значение скорости эволюции мтДНК лососевых, равное 0,31% за 1 млн лет с доверительным интервалом 0,27–0,36% за 1 млн лет, что значительно ниже оценок, предложенных Смитом (Smith, 1992). На основе полученных данных авторы оценили возраст семейства Salmonidae на уровне 59 млн лет в интервале 63,2–58,1 млн лет назад, отмечая что возраст некоторых групп оказался значительно выше, чем считалось ранее. Несколько недавних исследований эволюции семейства Salmonidae на основе байесовского датирования и калибровки по ископаемым формам получили сходные топологии филогенетических деревьев, но существенно разные оценки времени дивергенции. Например, Шедько с соавторами (2013), используя 4 временных интервала калибровки, оценили разделение линий родового уровня лососевых рыб в интервале 42–20 млн лет (Шедько и др., 2013). В то же время последнее исследование Александроу с соавторами (2013) установили возраст семейства в интервале наивысшей апостериорной плотности от 78,3 до 60,8 млн лет и средним значением 69,6 млн лет (Alexandrou et al., 2013).

Учитывая, что расчеты Крит-Лафреинере с соавторами были основаны на более ранней дивергенции лососевых, относительно низкие значения

скорости вполне ожидаемы, так как темпы молекулярной эволюции экспоненциально уменьшаются с течением времени (Burridge et al., 2008).

Скорость дивергенции мтДНК между таксонами семейства Salmonidae сильно изменчива для разных генов и клад филогенетических деревьев, однако в целом находятся на одном общем уровне. Например, для тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* скорость нуклеотидных замен варьируется от 0,42% (0,39–0,45% за 1 млн лет) для фрагмента *COI* до 0,63% за 1 млн лет (0,58–0,67% за 1 млн лет) в случае *cytb* (Crête-Lafrenière et al., 2012). Темпы эволюции, полученные Маккейем с соавторами для фрагмента *ND3*, составили приблизительно 0,83% за 1 млн лет, что является самым большим значением для митохондриальных генов (McKay et al., 1996). Значение 0,71% за 1 млн лет в случае гена *ND4* сопоставимо с данными по *cytb* (Crête-Lafrenière et al., 2012; Wilson, Turner, 2009).

Применение современных методов, основанных на концепции «свободных» молекулярных часов (relaxed molecular clock), позволило сократить временной разрыв между молекулярными оценками дивергенции и палеонтологическими данными (Renner, 2005; Douzery et al., 2004; Lepage et al., 2007, Аверьянов, 2013). Модели «свободных» молекулярных часов способны учитывать колебания скорости нуклеотидных замен в зависимости от ветвей филогенетических деревьев (Sanderson, 1997; Rambaut, Bromham, 1998; Thorne et al., 1998), среди видов и отдельных генеалогических линий (Wu, Li, 1985; Britten, 1986; Gaut et al., 1992). Для каждой ветви дерева случайным образом выбирается скорость замен из заданного распределения, которая оптимизируется с помощью байесовского моделирования одновременно с оценкой длин ветвей дерева. Кроме того, было показано что использование данных моделей может, в некоторых случаях, повысить точность оценок дивергенции и топологий филогенетических построений (Drummond et al., 2006).

Таким образом, определение времени дивергенции с использованием молекулярных часов сопровождается некоторым количеством потенциальных

ошибок. Тем не менее, с появлением современных методов обработки сложных моделей нуклеотидного замещения и генетических процессов в популяции, молекулярные часы продолжают оставаться незаменимым инструментом в эволюционной биологии.

1.4. Ретроспективное изучение демографической истории популяций

1.4.1. Коалесцентные методы анализа

Реконструкция демографической истории популяций позволяет получить представление о различных эволюционных и популяционно-генетических процессах в прошлом, информация о которых отражается в наличии или отсутствии генетического полиморфизма современных популяций. К основным процессам, формирующих внутривидовую генетическую изменчивость, следует отнести колебания численности популяции в результате изменений емкости среды, миграции и временную или постоянную изоляцию популяций. Проверка гипотез о корреляции между данными процессами популяций и палеособытиями во многом стало возможным благодаря появлению широкого спектра коалесцентных методов, позволяющих преодолеть ограничения при изучении популяционной истории с использованием классической Ф-статистики Райта и ее аналогов (Marko, Hart, 2012).

Математическая основа теории коалесценции была разработана в начале 1980-х годов Джоном Кингманом и является последовательным развитием классической популяционной генетики (Kingman 1982, 2000). Принципиальные различия заключаются в постановке основных проблем и способах их решения.

Перспективная модель нейтральной эволюции Райта–Фишера позволяет, зная состояние популяции в современном или нулевом поколении, описать возможные варианты ее существования в будущем. Коалесценция в свою очередь относится к ретроспективным моделям исследования и пытается определить, в результате каких микроэволюционных процессов могли быть

получены наблюдаемые экспериментальные данные. В первоначальной формулировке теория коалесценции применялась только в отношении единой популяции с постоянным эффективным размером. Дальнейшее ее развитие позволило учитывать показатели роста численности популяции (Griffiths, Tavaré, 1993), генетической рекомбинации (Griffiths, Marjoram, 1996), естественного отбора (Krone, Neuhauser, 1997) и времени дивергенции от общего предка (Wakeley, 2008).

Стохастическая природа коалесценции позволяет проследить эволюцию внутривидовых генеалогических линий во времени (Crandal, Templeton, 1993). Моделирование демографической истории по молекулярно-генетическим данным идет от настоящего в прошлое: от момента получения нуклеотидных последовательностей современных особей до достижения их вероятного общего предка. Предковое состояние каждого локуса представляет собой особою форму стохастического процесса, условия которого определяются историей популяций, естественным отбором и другими факторами (Tajima, 1983, Donnelly, Tavaré, 1995).

Исследование демографической истории обычно включает определение значений эффективного размера популяции во временных интервалах на протяжении всего периода эволюции от одного общего предка. Эффективный размер популяции при этом отражает общее количество особей, которое способно передать генетический материал будущим поколениям, и почти всегда меньше чем реальное число особей.

Коалесцентная теория определила новое направление в популяционной генетике и создала статистическую основу методов байесовских контурных диаграмм, являющимся мощным инструментом ретроспективного изучения демографической истории видов с помощью генетических данных (Kuhner, 2009; Ho et al., 2011; Campos et al., 2010). В настоящее время доступно большое количество методов изучения отдельных характеристик моделей демографической истории, используя нуклеотидные последовательности ДНК (Emerson et al., 2001). Многие из них предполагают, что численность

популяций описывается простыми параметрическими моделями, такими как экспоненциальный или логистический рост. Например, значения параметра роста в экспоненциальной модели могут быть положительными, отрицательными или равны нулю, предполагая соответствующие состоянию увеличения, снижения или неизменного эффективного размера популяции (Griffiths, Tavaré, 1994).

В действительности, популяционная история часто оказывается более сложной, и требуют использования более гибких статистических моделей. Это послужило причиной развития непараметрических или полу-параметрических методов изучения демографической истории на основе полиморфизма ДНК или внутривидовых предковых линий. Основные методы контурных диаграмм, представленные Пибусом с соавторами, позволяют произвести оценку исторических закономерностей численности популяций без необходимости установки априорных ограничений в выборе демографической модели (Pybus et al., 2000). Ряд последовательных методологических улучшений способствовали более широкому применению методов контурных диаграмм в эволюционной биологии (Drummond et al., 2005).

1.4.2. Метод байесовских контурных диаграмм

Драммонд с соавторами (2005) представили метод байесовских контурных диаграмм (скайлайнов) (Bayesian skyline plots, BSP), описывающий в пределах одного анализа филогенетическую структуру популяций, их демографическую историю и параметры моделей нуклеотидных замещений. Получаемый в результате анализа график колебания исторического размера популяции, состоит из средних или медианных значений апостериорного эффективного размера популяций на протяжении установленного времени эволюции и 95% доверительного интервала ошибки как филогенетических расчетов, так и всего коалесцентного анализа. Метод байесовских контурных диаграмм использует математическую кусочно-постоянную модель, при которой размер популяции постоянен на протяжении каждого коалесцентного

временного отрезка, но сильно варьирует между ними. Набор последовательных коалесцентных интервалов коррелируют между собой и группируются специальным образом, тем самым снижая случайные статистические ошибки, например, когда размер интервалов слишком мал. Как и в случае многих других методов контурных диаграмм это позволяет сократить вероятность больших изменений популяционных параметров между интервалами и применить результаты расчетов к реальным биологическим сценариям.

В отличие от других подобных методов, байесовские контурные диаграммы требуют начального указания количества групп, определяющих степень выравнивания демографических функций. В отсутствии строгих правил настройки количество групп задается индивидуально для каждого анализа. Авторы полагают, что оценки демографической истории устойчивы к ошибкам при значительном варьировании данного параметра (Drummond et al., 2005). Тем не менее, избыточное количество групп может увеличить ошибку оценки, особенно при анализе неинформативных наборов данных (Heled, Drummond, 2008).

Детальный анализ научных статей, опубликованных с 2005 года, показал широкое применение байесовских контурных диаграмм (Drummond et al., 2005) в качестве основного метода реконструкции динамики численности природных популяций видов (Finlay et al., 2007; Atkinson et al., 2008; Stiller et al., 2010). Значительная часть исследований приводит оценки исторического размера популяций всех основных таксономических групп, используя информацию о генетической изменчивости митохондриальной или хлоропластной ДНК.

1.4.3. Основные ограничения методов оценки демографической истории

Теория коалесценции легла в основу всех скайлайн-методов и определила сопутствующие им основные ограничения, актуальность которых

крайне специфична и варьирует для различных групп организмов (Ho, Shapiro, 2011).

Получение первичных нуклеотидных последовательностей является важным аспектом исследования демографической истории популяций. Конечный набор данных должен обладать определенным уровнем информативности и учитывать изменчивость демографического сигнала у разных популяций и видов из-за множества биологических факторов, таких как скорость мутаций и время жизни одного поколения.

Формирование выборки образцов

Коалесцентный анализ подразумевает, что анализируемые выборки включают особей, выбранных случайным образом в панмиксной популяции с уникальной демографической историей. Однако, так как большинство природных популяций в разной степени являются подразделенными, предположение о панмиксии может привести к неверным результатам. В настоящее время существует три модели выборки, используемые для демографических исследований, каждая из которых обеспечивает разные оценки популяционной истории (Grant, 2015). Сбор образцов локальной популяции и объединение образцов одной популяции – две наиболее используемые модели выборок. Анализ локальной популяции может не обнаружить момент расширения ареала на уровне вида, особенно когда популяции подразделены и существуют с низким потоком генов. Моделирование показало, что анализ распределения частот нуклеотидных замен в локальных выборках позволяет определить демографические события на уровне вида только при высоких значениях потока генов и, следовательно, в условиях панмиксии (Städler et al., 2009; Grant, 2015). При определенных условиях объединение образцов позволяет преодолеть это ограничение.

Третья модель подразумевает случайный выбор нескольких особей из разных популяций по всему ареалу вида. Модель выборки иногда используется из практических соображений, когда особи редки и имеются в недостаточном количестве, или же имеются определённые сложности в их

сборе и исследовании (Mattoccia et al., 2011; Fernandes et al., 2012; Myers et al., 2013). Моделирование показало, что при определённом уровне потока генов и размере популяции данная модель выборки усиливает надежность выводов о популяционной истории. Влияние популяционной структуры на реконструкции демографической истории с помощью скайлайн-методов полностью не изучено (Ho, Shapiro, 2011), однако, по всей видимости, это приводит к неправильной оценке эффективного размера популяции, скорости эволюции и других популяционных параметров (Strimmer, Pybus, 2001; Drummond et al. 2005; Navascués, Emerson, 2009).

Некоторые скайлайн-методы способны работать с гетерохронными данными, учитывая в анализе их возраст, например, при исследовании последовательно отобранных образцов вирусов или древней ДНК (Navascués et al., 2010). Малые выборки, включающие менее 50 особей, не способны отразить существующие события расширения вида. Ровные участки контурных диаграмм, изначально интерпретируемые как периоды стабильного размера популяции, в действительности могут быть связаны с небольшим количеством использованных особей. Однако связь между результатами анализа и количеством использованных особей не всегда очевидна. Выборки, состоящие из 100 особей, не позволяют в полной мере описать демографическую историю, в то время как увеличение выборки до 400 особей является достаточным только в 57% случаев (Grant, 2015). Минимальный размер выборки при ретроспективном исследовании популяций обычно варьирует от 15–20 (Pfeiler et al., 2013; Hope et al., 2010) до 50 и более особей (Laakkonen et al., 2013).

Выбор генетических маркеров

Как правило, увеличение длины нуклеотидных последовательностей или использование относительно вариабельных областей генома повышает точность филогенетических методов при определении генеалогических линий (Heled, Drummond, 2008). Наличие широкого спектра генетических маркеров с высокими показателями скорости эволюции делает мтДНК лучшей

молекулой при исследовании истории популяций у большинства видов животных (Gompert et al., 2008; Naderi et al., 2008; Rajabi-Maham et al., 2008). Однако, увеличение количества исследуемых локусов представляет собой более эффективный способ повышения разрешающей способности и снижения погрешности оценки. Так, удвоение количества независимых локусов снижает негативное влияние ошибки и способно выявить эффект «бутылочного горлышка» в истории популяций.

Хелед и Драммонд обнаружили, что даже низкие значения ошибки в нуклеотидных последовательностях (около 0,01%) могут привести к удвоению погрешности вычислений (Heled, Drummond, 2008). Искусственное добавление ошибки при использовании последовательностей древней ДНК, на примере работы Аксельсона и соавторов, приводит к реконструкции ложных тенденций изменения структуры и численности популяций (Axelsson et al., 2009). Данный факт еще раз подчеркивает чувствительность скайлайн-методов не только к количеству используемых данных, но и к их качеству.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы исследования

Материалом для исследования послужили выборки четырех видов рыб из семейств Salmonidae (кета и сахалинский таймень) и Cyprinidae (крупночешуйная и мелкочешуйная красноперки) (Таблица 1). Отлов рыбы производили в реках бассейнов Японского и Охотского морей Дальнего Востока России (Рисунок 3). Определение видовой принадлежности рыб проводили согласно общепринятым методикам биологического анализа (Правдин, 1966). Мышечная ткань сердца или кусочки плавников каждой особи фиксировали в 96% этаноле.

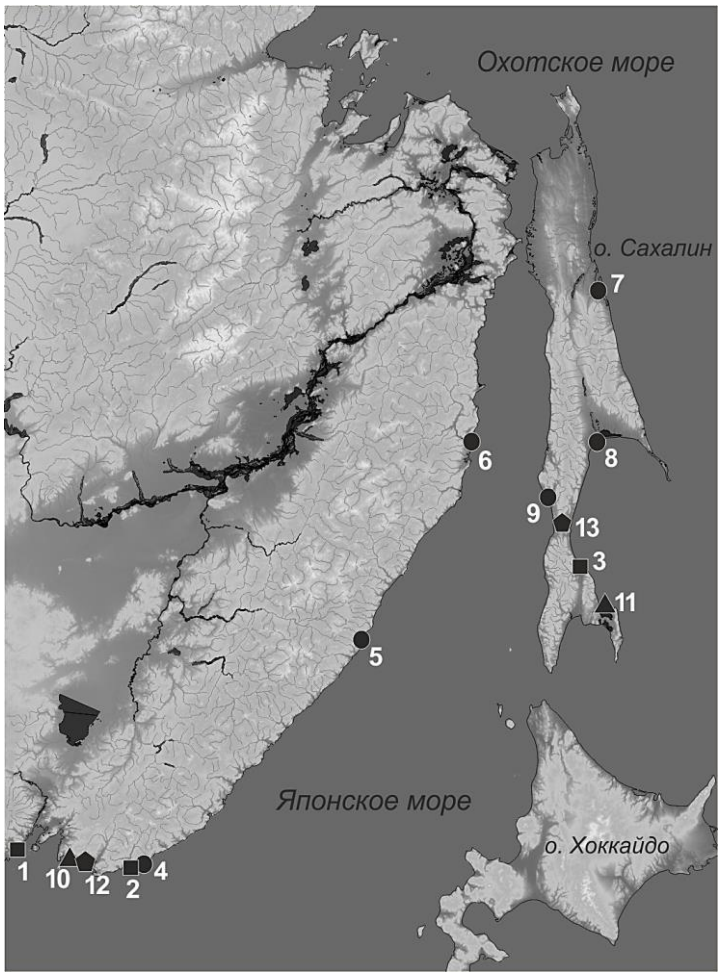

Рисунок 3 – Локализация исследованных выборок кеты *Oncorhynchus keta* (■), сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (●), крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* (⬟), мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii* (▲): 1 – р. Нарва, 2 – р. Киевка, 3 – р. Найба, 4 – р. Киевка, 5 – р. Максимовка, 6 – р. Тумнин, 7 – зал. Набильский, 8 – р. Леонидовка, 9 – оз. Айнское, 10, 12 – зал. Восток, 11 – оз. Тунайча, 13 – р. Ильинка.

Таблица 1 – Основные характеристики выборок исследуемых видов

№	Вид	Популяция, год сбора материала	Число особей	Географическое положение	Номер последовательности в GenBank	
					COI	*cytb*
1	*Oncorhynchus keta*	р. Нарва, 2009	10	Японское море, Приморье, юго-восточное побережье	KR778850 – KR778879	KR778820 – KR778849
2		р. Киевка, 2009	10	Японское море, Приморье, восточное побережье		
3		р. Найба, 2009	10	Охотское море, о. Сахалин, восточное побережье		
4	*Parahucho perryi*	р. Киевка, 1997	6	Японское море, Приморье, восточное побережье	KR607582 – KR607587	KR607522 – KR607527
5		р. Максимовка, 1997	3		KR607598 – KR607600	KR607577 – KR607575
6		р. Тумнин, 1998, 2005, 2007	26		JX232169 – JX232184, KR607588 – KR607597	KR607554 – KR607569, KR607528 – KR607537

Таблица 1 (*Продолжение*)

7		зал. Набильский, 2005, 2006, 2007	5	Охотское море, о. Сахалин, восточное побережье	HQ693253 – HQ693257	KR607570 – KR607574
8		р. Леонидовка, 2014	4	Охотское море, о. Сахалин, юго-восточное побережье	KR607578 – KR607581	KR607518 – KR607521
9		оз. Айнское, 2008	16	Японское море, о. Сахалин, западное побережье	HQ693237 – HQ693252	KR607538 – KR607553
10	*Tribolodon brandtii*	зал. Восток, 2003	12	Японское море, Приморье, юго-восточное побережье	KY615299 – KY615318	KY615319 – KY615338
11		оз. Тунайча, 2010	8	Охотское море, о. Сахалин, юго-восточное побережье		
12	*Tribolodon hakonensis*	зал. Восток, 2003	9	Японское море, Приморье, юго-восточное побережье	KY615261 – KY615279	KY615280 – KY615298
13		р. Ильинка, 2005	10	Татарский пролив, о. Сахалин, западное побережье		

Для анализа сахалинского тайменя *Parahucho perryi* были использованы все препараты, имеющиеся в лаборатории генетики Национального научного центра морской биологии ДВО РАН. Выборки кеты *Oncorhynchus keta* и двух видов красноперок (*Tribolodon brandtii* и *Tribolodon hakonensis*) были отобраны на основании предыдущих исследований в лаборатории (Полякова и др., 2006; Брыков и др., 2013).

2.2. Выделение ДНК

Геномную ДНК выделяли по стандартной методике (Маниатис и др., 1984; Sambrook et al., 1989) с небольшими модификациями, состоящими в удалении фенола из протокола и добавлении рибонуклеазы. Кусочки ткани гомогенизировали в 500 мкл лизирующего буфера, содержащего 100 мМ трис-HCl pH = 7.5, 100 мМ NaCl, 50 мМ ЭДТА pH = 8.0, 50 мкл 10% додецилсульфата натрия и 1,5 мкл протеиназы К (в концентрации 10 мг/мл) и инкубировали при 54°С 2–3 часа до полного просветления лизата. Затем добавляли 1,5 мкл рибонуклеазы А (в концентрации 10 мг/мл) и инкубировали при 37°С в течение 40 мин. Дважды депротеинизировали образцы равным объемом хлороформа 10–15 мин. Центрифугировали 8 мин при 10000 об/мин. Верхнюю фракцию отделяли, затем осаждали двумя–тремя объемами этилового спирта с добавлением 10 мкл 5М хлорида натрия. Осадок ДНК центрифугировали 8 мин при 10000 об/мин, сушили и растворяли в 1х ТЕ-буфере, содержащем 10 мМ трис-HCl, pH = 7.5 и 1 мМ ЭДТА, pH = 8.0. После полного растворения ДНК проверяли ее качество и оценивали количество полученного материала с помощью электрофореза в агарозном геле.

2.3. ПЦР

Фрагменты митохондриальных генов *COI* и *cytb*, были амплифицированы с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР). Праймеры, использованные в реакции, указаны в Таблице 2.

Реакционная смесь для ПЦР (12,5 мкл) включала: деионизованная вода – 6,7 мкл; 10х буфер (Evrogen) – 1,25 мкл; смесь dNTP (концентрация каждого трифосфата – 2,5 мкМ, Evrogen) – 1,25 мкл; прямой и обратный праймер (2,5 мкМ) – по 1,25 мкл; Taq-полимераза (5 единиц/мкл, Evrogen) – 0,1 мкл; ДНК – 0,7 мкл.

Для ПЦР были использованы следующие температурные и временные параметры: предварительная денатурация 95°С – 3 мин; далее для 34 циклов: 94°С денатурация – 30 сек, 60°С отжиг – 30 сек, 72°С синтез новых цепей – 1 мин; окончательная достройка цепей 72ºС – 5 мин.

Таблица 2 – Праймеры, использованные в анализе

Фрагмент гена	Праймер	Нуклеотидная последовательность	Автор
COI	COI-FishF1	TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	Ward et al., 2005
	COI-FishR1	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA	
cytb	Fishcytb-F	ACCACCGTTGTTATTCAACTACAAGAAC	Sevilla et al., 2007
	Truccytb-R	CCGACTTCCGGATTACAAGACCG	
	THR-Fish-R	ACCTCCGATCTTCGGATTACAAGACC	
	THR-Fish2-R	AACCTCCGACATCCGGCTTACAAGACCG	

Продукты амплификации были разделены электрофорезом в 1–1,5% агарозных гелях в 0,5х трис-боратном (TBE) буфере (44,5 мМ трис, 44,5 мМ борная кислота, 1,25 мМ ЭДТА). 2 мкл ПЦР-продукта смешивали с 3 мкл 10х буфера для нанесения образцов (0,025 г бромфенолового синего БФС, 4 мл глицерина, 5 мл 0,5М ЭДТА, pH = 8.0) и вносили в лунки геля.

Для определения длины фрагментов использовали стандартный ДНК маркеры, кратные 100 пар нуклеотидов (пн). Агарозные гели с продуктами ПЦР окрашивали флуоресцирующим и интеркалирующим в ДНК раствором этидия бромида (EtBr, 3,8-диамино-6-этил-5-фенилфенантридиумбромид) и просматривали в проходящем ультрафиолетовом свете (365 нм).

Полученные амплифицированные образцы осаждали 45 мкл 96% этанола и выдерживали около 12 часов при –20°С (или 1 час при –80°С), после чего проводили последовательную очистку:

1. Центрифугировали образцы в течение 15 минут при 12000 об/мин и 4°С;
2. Сливали и добавляли 75 мкл 70% спирта, и снова центрифугировали 15 минут при 12000 об/мин и 4°С;
3. Сливали всю жидкость из пробирок и подсушивали под вакуумом;
4. После полного высыхания осадок растворяли в 10 мкл ТЕ-буфера и встряхивали на Vortex, затем центрифугировали 5–10 сек для осаждения мелких капель жидкости.

Определение концентрации очищенных продуктов ПЦР производили по интенсивности свечения фрагментов и маркеров концентрации ДНК (с разведением 10, 20, 50 и 100 нг/мкл) после электрофореза в 1–1,5% агарозном геле. Добавлением небольших объемов 1х ТЕ доводили концентрацию ДНК в амплификатах до рекомендуемой для секвенальной реакции (~ 10 нг/мкл).

2.4. Определение нуклеотидных последовательностей ДНК

Получение первичных последовательностей фрагментов генов *COI* и *cytb* мтДНК проводили с использованием ген-специфических праймеров и набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Реакционная смесь, объемом 10 мкл, для прямого и обратного праймера состояла из:

1. 5,61 мкл деионизованной воды;
2. 1,25 мкл 5х Sequencing Buffer;
3. 0,64 мкл 2,5 мкМ праймера;
4. 1,5 мкл BigDye Terminator Ready Reaction Kit v3.1;
5. 1 мкл ДНК-матрицы.

Условия амплификации включали следующие параметры: предварительная денатурация при 96°С – 1 мин; далее для 25 циклов амплификации: денатурация при 96°С – 10 сек, отжиг праймеров на матрице при температуре 60°С – 10 сек и синтез новых цепей при 60°С – 4 мин.

Полученные продукты ПЦР очищали от не включенных флуоресцентных меток:

1. Добавляли 2,5 мкл 0,125 М ЭДТА и 45 мкл 96% этанол;
2. Образцы встряхивали на Vortex и оставляли на 20 мин при комнатной температуре, затем центрифугировали 12000 об/мин 35 мин при 4°С;
3. Аккуратно сливали и добавляли 75 мкл 70% этанол, аккуратно перемешали, центрифугировали 25 мин, снова сливали спирт и сушили под вакуумом.

В каждую пробирку вносили по 10 мкл формамида (CH_3NO), тщательно встряхивали на Vortex и центрифугировали 30 сек для осаждения мелких капель жидкости.

Капиллярный электрофорез проводили на автоматическом генетическом анализаторе ABI Prism 3130 и 3500 (Applied Biosystems, США) на базе Национального научного центра морской биологии ДВО РАН и ABI Prism 3130xl на базе Дальневосточного Федерального Университета.

2.5. Редактирование и выравнивание последовательностей

Хроматограммы прямых и обратных последовательностей для каждой особи визуально проверяли на наличие ошибок и объединяли в единые консенсусные последовательности при помощи программ SeqScape 2.5 (Applied Biosystems), BioEdit 7.2.5 (Hall, 1999), Unipro UGENE: 1.12 (Okonechnikov et al., 2012), Geneious Trial (Biomatters Limited, www.geneious.com). Последовательности праймеров при этом вырезали.

Множественное выравнивание и анализ нуклеотидных последовательностей исследуемых фрагментов генов осуществляли с

использованием программного обеспечения MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011) по алгоритму ClustalW (Thompson et al., 1994). Размер последовательностей после выравнивания и приведения к одной длине для гена *COI* оказался 655 пн. Длина фрагмента гена *cytb* кеты составил 988 пн, для сахалинского тайменя 910 пн, для крупночешуйной и мелкочешуйной красноперки 968 и 909 пн, соответственно. Последовательности фрагментов генов зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами, указанными в Таблице 1.

Оценки генетической дивергенции между комбинированными последовательностями видов проводили, основываясь на значениях нескорректированных *p*-дистанций (число нуклеотидных различий на сайт), с помощью пакета MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011). Подбор оптимальной модели нуклеотидного замещения для каждого фрагмента генов осуществляли в программе jModelTest 2.1.7 (Darriba et al., 2012), используя байесовский информационный критерий (BIC).

2.6. Филогенетический анализ

Выравненные последовательности генов для каждой исследуемой особи были объединены в комбинированные последовательности.

Значения гаплотипического (h) и нуклеотидного (π) разнообразия для каждой выборки, а также распределение различий между гаплотипами (*mismatch-distribution*) были рассчитаны с использованием программы DnaSP 5.10 (Librado, Rozas, 2009).

Выбор модели молекулярных часов для исследуемых наборов данных производили в программе Tracer 1.6.0 (Rambaut et al., 2013) при попарном сравнении значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) (Suchard et al., 2001). Достоверные (более 1) (Kass, Raftery, 1995), положительные значения были получены при использовании «свободных» часов с некоррелированным логарифмически нормальным распределением скоростей эволюции относительно ветвей деревьев (uncorrelated lognormal relaxed clock) (Drummond et al., 2006) (Таблица 3, 4, 5 и 6).

Таблица 3 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных сахалинского тайменя, рассчитанных при разных моделях молекулярных часов

Модель молекулярных часов	log Bayes factor	«свободные» часы	строгие часы	модель без часов
«свободные» часы	–2359,929	–	**1,462**	**0,985**
строгие часы	–2361,390	–1,462	–	–0,477
модель без часов	–2360,914	–0,985	0,477	–

Таблица 4 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных кеты, рассчитанных при разных моделях молекулярных часов

Модель молекулярных часов	log Bayes factor	«свободные» часы	строгие часы	модель без часов
«свободные» часы	–2454,701	–	**1,456**	**1,625**
строгие часы	–2456,156	–1,456	–	0,17
модель без часов	–2456,326	–1,625	–0,17	–

Таблица 5 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных крупночешуйной красноперки, рассчитанных при разных моделях молекулярных часов

Модель молекулярных часов	log Bayes factor	«свободные» часы	строгие часы	модель без часов
«свободные» часы	–2607,079	–	**0,619**	**0,417**
строгие часы	–2607,698	–0,619	–	–0,202
модель без часов	–2607,496	–0,417	0,202	–

Таблица 6 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных мелкочешуйной красноперки, рассчитанных при разных моделях молекулярных часов

Модель молекулярных часов	log Bayes factor	«свободные» часы	строгие часы	модель без часов
«свободные» часы	–2295,608	–	**0,853**	**0,16**
строгие часы	–2296,461	–0,853	–	–0,693
модель без часов	–2295,769	–0,16	0,693	–

Внутривидовые генеалогии и их время дивергенции были установлены с помощью байесовского подхода (BI, Bayesian Interference) в пакете программ BEAST 1.8.0 (Drummond et al., 2012) при следующих условиях: «свободные» молекулярные часы, модель нуклеотидного замещения для последовательностей *COI* кеты – Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) с пропорцией инвариабельных сайтов (+I), крупночешуйной и мелкочешуйной красноперки – HKY; *cytb* кеты – Tamura-Nei (TrN), крупночешуйной красноперки – TrN, мелкочешуйной красноперки – TrN+I; для фрагментов генов сахалинского тайменя – HKY+I. Длину цепи Маркова (MCMC, Markov Chain Monte Carlo) устанавливали равной 30 млн поколений с отбором каждого тысячного состояния и значением burn-in 10%. Значения показателя ESS (effective sample size) для каждого параметра при этом были более 200.

Байесовские филогенетические деревья суммировали в программе TreeAnnotator (пакет BEAST 1.8.0), используя алгоритм *maximum clade credibility* (MCC), и затем визуализировали с помощью программы FigTree (Rambaut, 2013). Топологию деревьев считали достоверной если значения апостериорных вероятностей (BPP, Bayesian Posterior Probability) в узлах были равны 0,95 и выше.

Дополнительные филогенетические реконструкции комбинированных последовательностей кеты проводили по методу ближайшего связывания (NJ) и максимального правдоподобия (ML) в программе MEGA 5.05. Для

сахалинского тайменя реконструированы NJ филограммы, эффективные при сравнении близкородственных популяций. Устойчивость кластеризации NJ и ML филограмм оценивалась в 10000 и 500 итераций бутстреп-анализа.

Для визуализации филогрупп мтДНК были построены сети гаплотипов в программе SplitsTree4 версии 4.12.3 (Huson, Bryant, 2006) с помощью метода медианных сетей (*median joining*) (Bandelt et al, 1999).

2.7. Реконструкция демографической истории популяций

На основе данных о внутривидовых генеалогиях с помощью программ пакета BEAST 1.8.0 и вышеуказанных условий, построены байесовские контурные диаграммы (Bayesian skyline plot) (Drummond et al., 2005) для популяций исследуемых видов.

В модуле BEAUti (пакет BEAST 1.8.0) был задан диапазон значений скоростей эволюции. Нижний предел скорости накопления мутаций для фрагмента *COI* кеты составил 0,42%, для *cytb* – 0,63% за 1 млн лет, соответственно. Для сахалинского тайменя данная граница была зафиксирована на уровне 0,31% за 1 млн лет, что соответствует среднему значению для всех описанных видов семейства Salmonidae (Crête-Lafrenière et al., 2012). Для дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* минимальная граница составила 0,76% за 1 млн лет (Zardoya, Doadrio, 1999). Максимальная граница скорости в анализе установлена на уровне 1,7% за 1 млн лет (Stepien et al., 2000).

При расчете цепей Маркова предварительные значения скоростей были заданы в параметре *ucld.mean*, используя программу Parameter Solver 3.0 (The University of Texas M. D. Anderson Cancer Center). Данные имели нормальное распределение, использующиеся для вторичных калибровочных данных (Но, 2007) (Таблица 7).

Оптимальное количество коалесцентных групп (2, 4, 6, 8 и 10), определяющее степень выравнивания демографических функций байесовских

контурных диаграмм так же было выбрано на основе значений максимального правдоподобия (log Bayes Factor) (Suchard et. al., 2001).

Таблица 7 – Предварительные значения скоростей эволюции исследуемых видов

Таксон	Фрагмент гена	Скорость эволюции, % на 1 млн лет	Значения параметра *ucld.mean*		
			Нормальное распределение		
			Начальное значение	Среднее, m	Стандартное отклонение, stdev
Parahucho perryi	*COI, cytb*	0,31–1,7	0,0031	0,01005	0,003545
Oncorhynchus keta	*COI*	0,42–1,7	0,0042	0,0106	0,003265
	cytb	0,63–1,7	0,0063	0,01165	0,002729
Tribolodon brandtii	*COI, cytb*	0,76–1,7	0,0076	0,0123	0,002396
Tribolodon hakonensis	*COI, cytb*				

Для выборок сахалинского тайменя использовали 6 коалесцентных групп (Таблица 8), для кеты – 10 (Таблица 9).

Таблица 8 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных сахалинского тайменя, рассчитанных с разным количеством коалесцентных групп

Количество групп	log Bayes factor	2	4	6	8	10
2	–2360,156	–	0,661	–3,439	–1,949	–0,627
4	–2360,816	–0,661	–	–4,099	–2,610	–1,288
6	–2356,717	**3,439**	**4,099**	–	**1,489**	**2,812**
8	–2358,206	1,949	2,610	–1,489	–	1,323
10	–2359,529	0,627	1,288	–2,812	–1,323	–

Таблица 9 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных кеты, рассчитанных с разным количеством коалесцентных групп

Количество групп	log Bayes factor	2	4	6	8	10
2	–2455,895	–	1,421	–0,232	–0,955	–1,043
4	–2457,316	–1,421	–	–1,653	–2,376	–2,464
6	–2455,663	0,232	1,653	–	–0,723	–0,811
8	–2454,940	0,955	2,376	0,723	–	–0,087
10	–2454,853	**1,043**	**2,464**	**0,811**	**0,087**	–

В случае крупночешуйной и мелкочешуйной красноперки оптимальное значение зафиксировано на уровне 8 групп (Таблица 10 и 11).

Таблица 10 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных крупночешуйной красноперки, рассчитанных с разным количеством коалесцентных групп

Количество групп	log Bayes factor	2	4	6	8	10
2	–2607,934	–	–0,233	–0,434	–0,515	–0,351
4	–2607,7	0,233	–	–0,201	–0,282	–0,118
6	–2607,5	0,434	0,201	–	–0,081	0,083
8	–2607,419	**0,515**	**0,282**	**0,081**	–	0,164
10	–2607,583	0,351	0,118	–0,083	–0,164	–

Таблица 11 – Попарное сравнение значений функции максимального правдоподобия (log Bayes factor) для генетических данных мелкочешуйной красноперки, рассчитанных с разным количеством коалесцентных групп

Количество групп	log Bayes factor	2	4	6	8	10
2	–2297,039	–	–0,269	0,952	–0,711	0,261
4	–2296,769	0,269	–	1,222	–0,441	0,53
6	–2297,991	–0,952	–1,222	–	–1,663	–0,691
8	–2296,328	**0,711**	**0,441**	**1,663**	–	0,972
10	–2297,3	–0,261	–0,53	0,691	–0,972	–

При построении была выбрана кусочно-линейная модель (*piecewise-linear model*), допускающая линейное изменение эффективной численности популяции на разных коалесцентных интервалах. Все вычисления с использованием байесовского подхода были произведены на базе высокопроизводительного кластера CIPRES (Miller et al., 2010).

Построения проводили дважды, результаты сравнивали между собой на конвергентность. Данные независимых симуляций были объединены с использованием программы LogCombiner (пакет BEAST 1.8.0) и визуализированы в программе Tracer 1.6.0 (Rambaut et al., 2013).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Кета *Oncorhynchus keta*

В работе получены нуклеотидные последовательности фрагментов *COI* и *cytb* мтДНК особей кеты из выборок материкового побережья (япономорские выборки – р. Нарва и р. Киевка) и о. Сахалин (охотоморская выборка – р. Найба). Общая длина комбинированных последовательностей мтДНК составила 1643 нуклеотидные пары. По всей длине последовательностей обнаружено 20 вариабельных сайтов (1,22%), 12 из них (60%) оказались филогенетически информативными. Данные о нуклеотидной изменчивости особей кеты представлены в Приложении I.

В результате анализа нуклеотидных последовательностей у исследованных особей кеты обнаружено 14 разных гаплотипов мтДНК (Таблица 12). Популяция кеты из р. Нарва характеризуется наибольшим количеством гаплотипов (10). В другой материковой выборке из р. Киевка насчитывается всего три гаплотипа, все с относительно высокой частотой.

Таблица 12 – Встречаемость гаплотипов мтДНК в исследуемых популяциях кеты. Относительное число особей каждого гаплотипа указано в скобках (в %)

Гаплотип	Популяции			Число особей
	р. Нарва	р. Киевка	р. Найба	
OK1	1 (16,7)	5 (83,3)	0	6
OK2	1 (33,3)	2 (66,7)	0	3
OK3	1 (14,3)	0	6 (85,7)	7
OK4	0	0	2 (100)	2
OK5	0	0	1 (100)	1
OK6	1 (100)	0	0	1
OK7	0	0	1 (100)	1
OK8	1 (100)	0	0	1
OK9	1 (100)	0	0	1
OK10	1 (100)	0	0	1
OK11	1 (100)	0	0	1
OK12	1 (100)	0	0	1
OK13	1 (16,7)	0	0	1
OK14	0	3 (100)	0	3

Два гаплотипа (ОК1 и ОК2) являются общими с гаплотипами выборки из р. Нарва. В сахалинской популяции кеты (р. Найба) выявлены 4 гаплотипа. Наиболее часто представлен гаплотип ОК3, остальные (ОК4, ОК5 и ОК7) характерны только для данной популяции (р. Найба, о. Сахалин). Гаплотипы, обнаруженные в популяциях материковых рек Нарва и Киевка практически не перекрываются с гаплотипами из р. Найба. Исключение составляет гаплотип ОК3, выявленный в выборке из р. Найба с высокой частотой и у единственной особи в р. Нарва. Три особи из р. Киевка характеризовались уникальным гаплотипом ОК14, отмеченным только для данной популяции.

Наиболее высокие значения гаплотипической (1,000±0,045) и нуклеотидной (0,00226) изменчивости выявлены в выборке из р. Нарва. Меньшие значения обнаруживаются в выборках из р. Киевка, 0,689±0,104 и 0,00078 и в сахалинской популяции (р. Найба) – 0,644±0,152 и 0,00083, соответственно (Приложение II).

Филогенетический анализ

При реконструкции филогенетических отношений на основании анализа сети гаплотипов обнаружено деление исследуемых особей кеты на две группы (А и В) (Рисунок 4). Каждая выявленная филогруппа содержит по одному центральному гаплотипу (ОК1 и ОК3). Остальные гаплотипы отличаются от них 1–4 нуклеотидными заменами. Все гаплотипы из филогруппы В характерны только для особей из популяций рек Нарва и Киевка. Филогруппа А пятью нуклеотидными заменами отделяется от ближайшего гаплотипа из материковой группы В и включает практически всех особей популяции кеты р. Найба (о. Сахалин). Центральные гаплотипы данных филогрупп различаются по 6 нуклеотидным заменам. Гаплотипы групп А и В формируют звездообразные структуры (Рисунок 4).

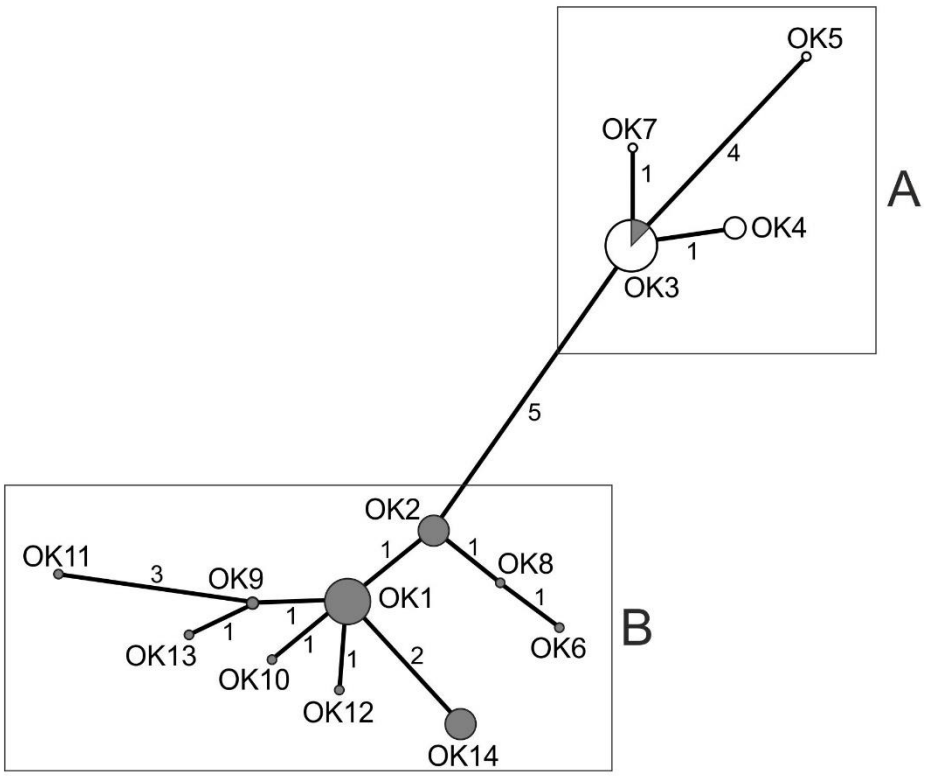

Рисунок 4 – Генеалогическая сеть гаплотипов, полученная на основании данных анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК *Oncorhynchus keta*. Размеры окружностей пропорциональны числу особей с указанным гаплотипом. Доля особей кеты с материкового побережья Японского моря отмечена серым цветом. На ветвях сети указано количество нуклеотидных замен между группами гаплотипов. Обозначения гаплотипов как в Таблице 12.

Топология филогенетических деревьев, реконструированных по комбинированным последовательностям мтДНК кеты, согласовывалась по всем использованным алгоритмам (BI, ML и NJ) **(**Рисунок 5**)**. Во всех случаях анализ подтверждает наличие двух четко выраженных кластеров особей кеты с достоверным распределением относительно географических регионов. В кластер А (красный цвет) вошли все особи кеты с материкового побережья Японского моря, в то время как кластер В (синий цвет) объединил особей с о. Сахалин. Величины апостериорных вероятностей в узлах кластеров байесовского дерева близки к достоверным (0,90 и 0,93), в то время как ML и NJ филограммы имеют высокие показатели бутстреп-поддержки. Внутри кластеров А и В так же образуются по две субклады, часть из них достоверны только в случае байесовского дерева.

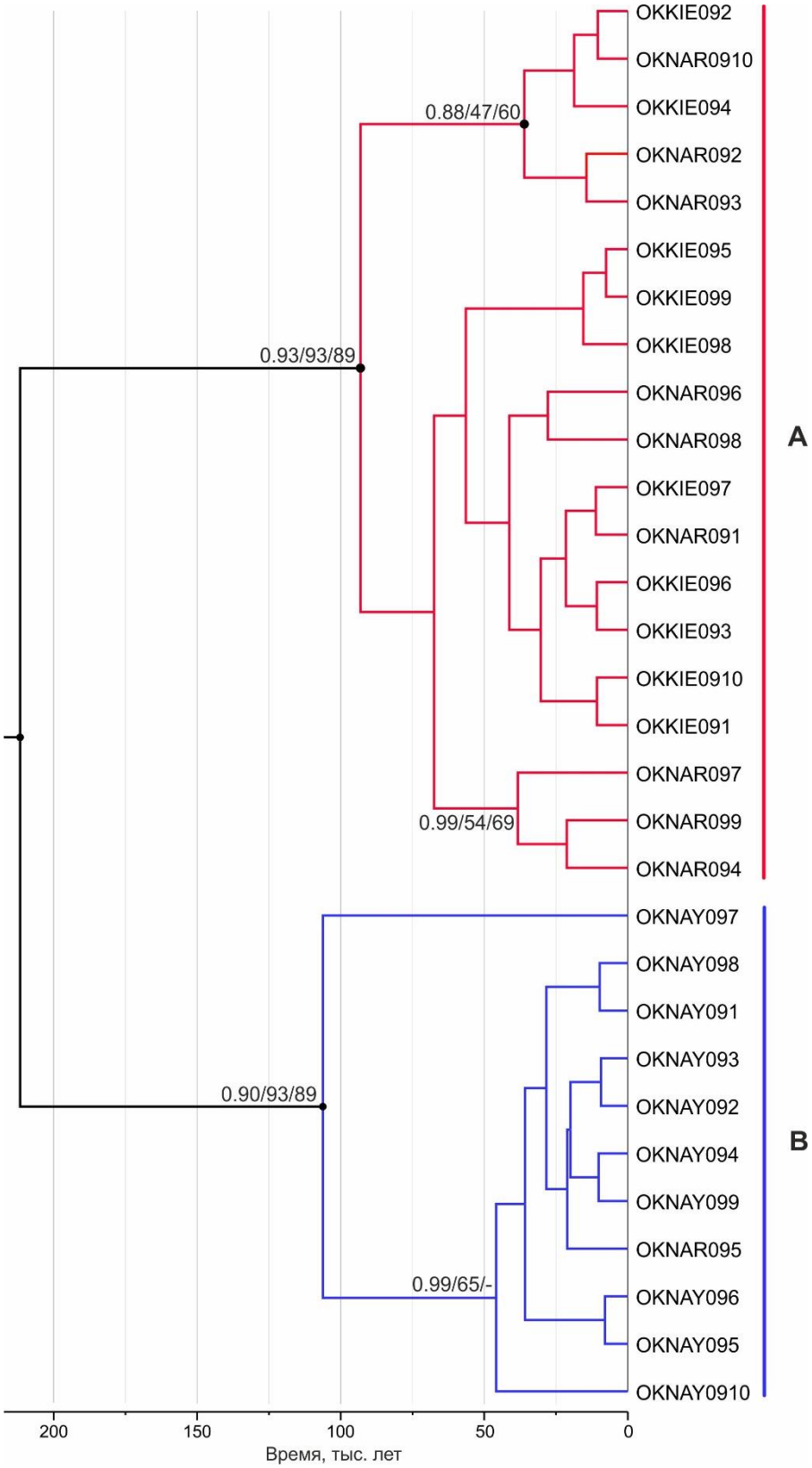

Рисунок 5 – Байесовское консенсусное филогенетическое дерево, отражающее генетическую изменчивость популяций и время дивергенции основных генеалогических линий кеты *Oncorhynchus keta* (в тыс. лет) по данным комбинированных последовательностей двух фрагментов мтДНК (*COI* и *cytb*). Достоверность ветвления основных узлов указана в виде величин апостериорных вероятностей (BI), бутстреп-индексов (% от 10000 реплик) объединения соседей (NJ) и максимального правдоподобия (ML) (PP/BP/BP).

Байесовская хронограмма с рассчитанными средними значения времени различий указывает, что дивергенция основных групп кеты (A и B) началась около 220 тыс. лет назад с 95% интервалом наивысшей апостериорной плотности от 70 до 395 тыс. лет. Время дивергенции внутри кластеров отличается и составило в среднем 90–110 тыс. лет.

Генетические дистанции

Максимальное значение нескорректированных *p*-расстояний 0,0067 (0,67%) было обнаружено между нуклеотидными последовательностями географически удаленных особей р. Найба и р. Нарва. Среднее генетическое расстояние между кладами A и B байесовской филограммы составило 0,004 (0,4%). В то же время, показатели генетической изменчивости внутри выбранных клад оказались минимальны. Матрицы генетических расстояний приведены в таблицах приложений III и IV.

Демографическая история популяций

При оценке генетической изменчивости особей кеты с помощью анализа распределения различий между всеми гаплотипами (*mismatch-distribution*) получена бимодальная кривая распределения (Рисунок 6).

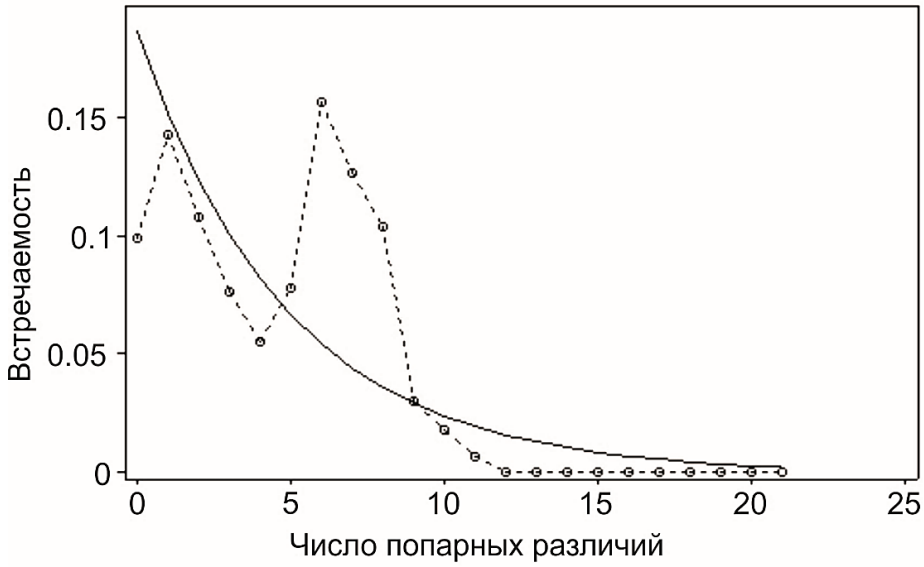

Рисунок 6 – График распределения различий между гаплотипами (*mismatch-distribution*) кеты. Сплошной линией отмечено ожидаемое распределение, пунктирной – наблюдаемое.

Ожидаемое распределение гаплотипов, рассчитанное для популяции с постоянной численностью, отличалось от наблюдаемого. На графике выделяются два пика распределения, связанные с существованием двух разных филогрупп кеты.

Анализ байесовских контурных диаграмм с средним и медианным значением N_eT демонстрирует наличие общего тренда развития (Рисунок 7 А, Б). На графиках присутствует период относительно постоянной численности популяций кеты на протяжении всей эволюционной истории: с момента дивергенции основных филогрупп (220 тыс. лет назад) до отметки 75 тыс. лет.

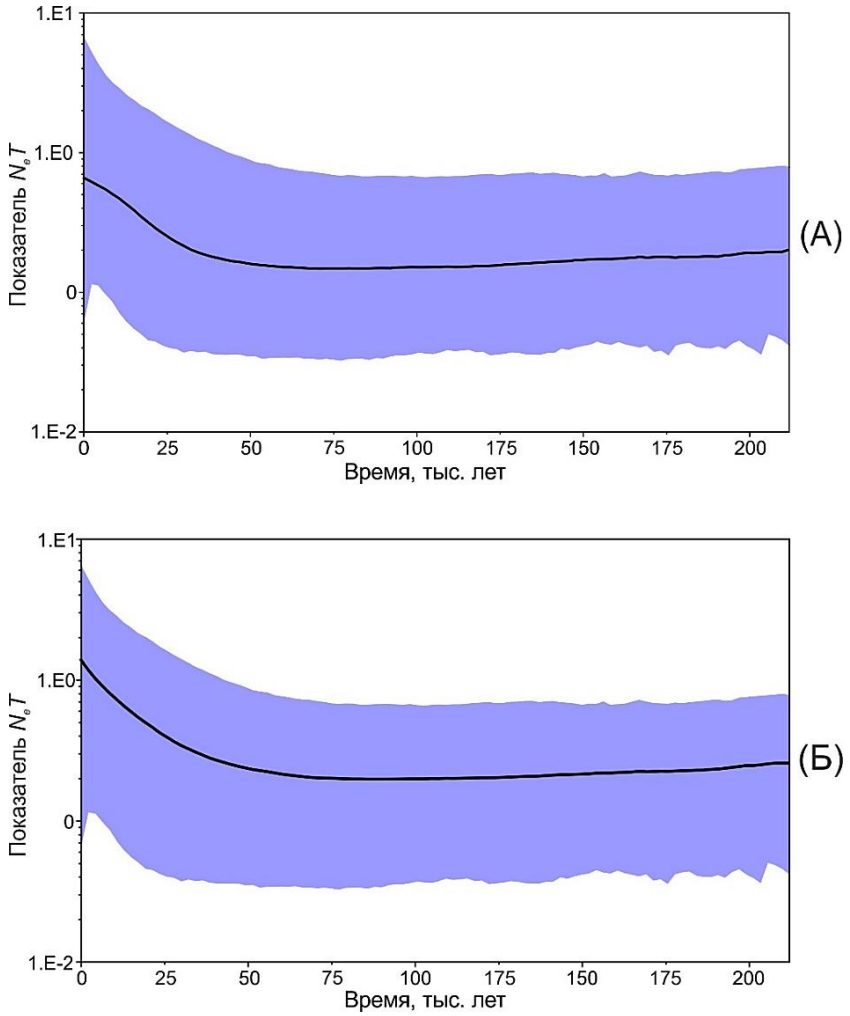

Рисунок 7 – Байесовские контурные диаграммы, построенные для комбинированных последовательностей мтДНК кеты *Oncorhynchus keta*. График показывает изменение показателя N_eT (произведение эффективной численности популяций и продолжительности одного поколения) с течением времени. Сплошная линия – медиана (А) и среднее (Б) показателя N_eT, затемненный участок – 95% интервал наивысшей апостериорной плотности распределения оценок.

Следующий период постепенного роста, продолжающийся в настоящее время, очевиден на графике медианных значений демографического показателя N_eT (Рисунок 7 А), в то время как при использовании средних показателей увеличение численности имеет более линейный характер (Рисунок 7 Б).

3.2. Сахалинский таймень *Parahucho perryi*

В результате исследования впервые были получены нуклеотидные последовательности генов *COI* и *cytb* мтДНК для выборок сахалинского тайменя. В полученных комбинированных последовательностях, имеющих длину 1565 пн, выделен 21 вариабельный сайт (1,34%), 17 сайтов (80%) определены как филогенетически информативные. Данные о нуклеотидной изменчивости особей тайменя представлены в Приложении V.

Анализ нуклеотидной изменчивости выявил у исследованных особей сахалинского тайменя из разных выборок 13 гаплотипов мтДНК (Таблица 13). Во всех выборках, за исключением выборки из Набильского залива, имеется общий гаплотип PP1. Еще один общий гаплотип, PP2, встречается в материковой популяции р. Тумнин и оз. Айнское (западное побережье острова Сахалин). Все остальные гаплотипы уникальны для той или иной выборки. Популяция оз. Айнское обладает наибольшим количеством гаплотипов (8), среди них шесть – уникальные. Значение гаплотипического (но не нуклеотидного) разнообразия этой популяции также самое высокое (0,758±0,110 и 0,00211, соответственно) (Приложение II). Выборка из Набильского залива содержит 3 уникальных гаплотипа (PP9, PP10 и PP11) и характеризуется высокими значениями гаплотипического (0,700±0,218) и наибольшим значением нуклеотидного (0,00447) разнообразия. В выборке из р. Тумнин 17 особей образуют общую (PP2) филогруппу с выборкой из оз. Айнское. Следует отметить, что в материковых выборках тайменя из рек Киевка и Максимовка выделяется по одному уникальному гаплотипу (гаплогруппы PP12 и PP13, соответственно).

Таблица 13 – Встречаемость гаплотипов мтДНК в исследуемых популяциях сахалинского тайменя. Относительное число особей каждого гаплотипа указано в скобках (в %)

Гаплотип	Популяции						Число особей
	р. Киевка	р. Тумнин	р. Максимовка	оз. Айнское	зал. Набильский	р. Леонидовка	
PP1	1 (6,25)	9 (56,25)	1 (6,25)	1 (6,25)	0	4 (25)	16
PP2	0	17 (94,4)	0	1 (5,6)	0	0	18
PP3	0	0	0	8 (100)	0	0	8
PP4	0	0	0	2 (100)	0	0	2
PP5	0	0	0	1 (100)	0	0	1
PP6	0	0	0	1 (100)	0	0	1
PP7	0	0	0	1 (100)	0	0	1
PP8	0	0	0	1 (100)	0	0	1
PP9	0	0	0	0	1 (100)	0	1
PP10	0	0	0	0	3 (100)	0	3
PP11	0	0	0	0	1 (100)	0	1
PP12	5 (100)	0	0	0	0	0	5
PP13	0	0	2 (100)	0	0	0	2

Филогенетический анализ

Согласно анализу сети гаплотипов мтДНК, реконструированных по алгоритму *median-joining*, особи сахалинского тайменя образуют 3 дивергировавшие филогруппы (Рисунок 8). В филогруппе А центральное положение занимает гаплотип PP1, в филогруппе В – гаплотип PP2, который отличается 5 нуклеотидными заменами. Оба с высокой частотой встречаются в материковых популяциях, но также отмечены и в островных. Филогруппа С представлена единственным гаплотипом PP10 из Набильского залива и отличается от ближайшего гаплотипа 8 нуклеотидными заменами.

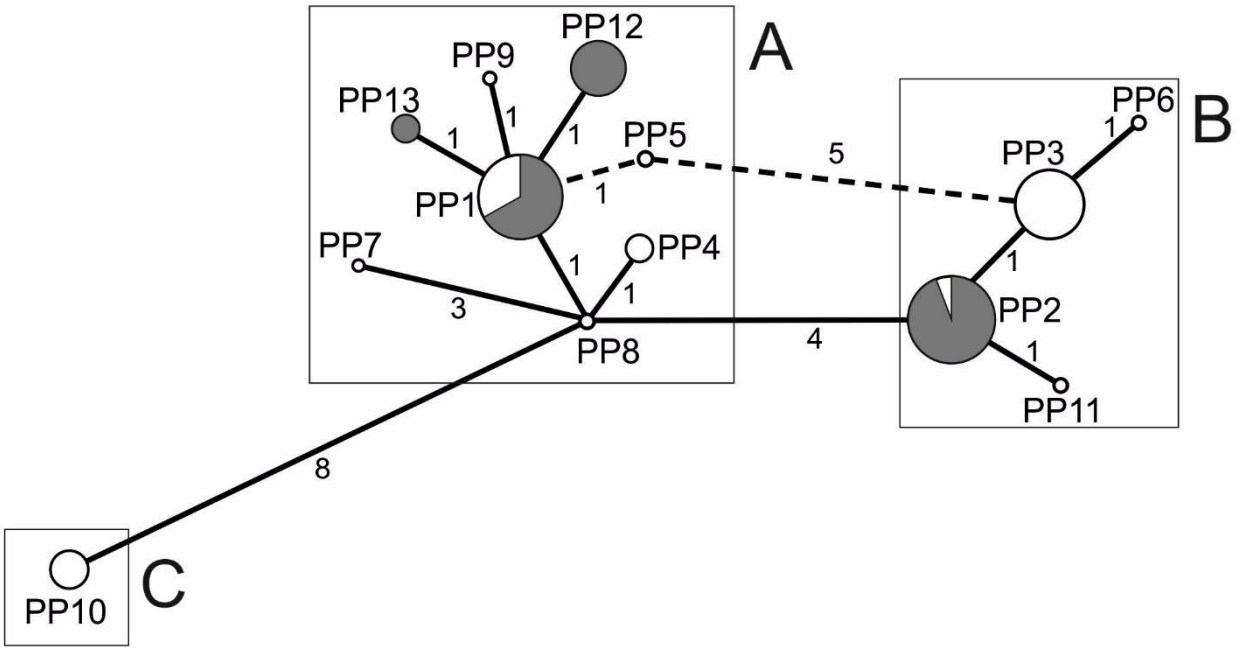

Рисунок 8 – Генеалогическая сеть гаплотипов, полученная на основании данных анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК *Parahucho perryi*. Размеры окружностей пропорциональны числу особей с указанным гаплотипом. Доля особей кеты с материкового побережья Японского моря отмечена серым цветом. На ветвях сети указано количество нуклеотидных замен между группами гаплотипов. Обозначения гаплотипов как в Таблице 13.

Согласно топологии филограмм, полученных с использованием алгоритмов BI и NJ, все особи сахалинского тайменя были разделены на четыре основные группы (Рисунок 9). Базальное положение по отношению ко всем группам занимают три особи сахалинского тайменя из Набильского залива, составляющих кладу D.

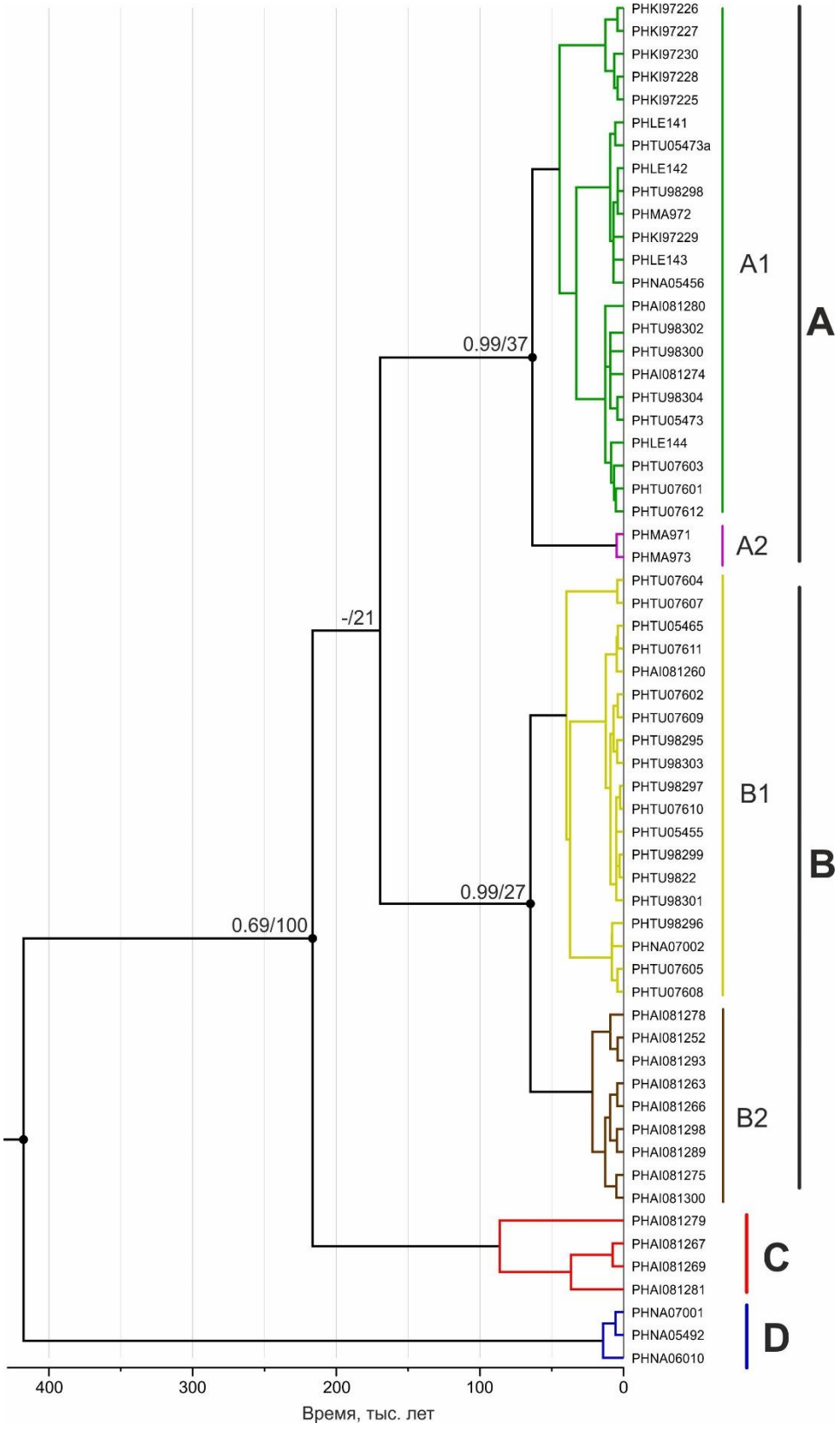

Рисунок 9 – Байесовское консенсусное филогенетическое дерево, отражающее генетическую изменчивость популяций и время дивергенции основных генеалогических линий сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (в тыс. лет) по данным комбинированных последовательностей двух фрагментов мтДНК (*COI* и *cytb*). Достоверность ветвления основных узлов указана в виде величин апостериорных вероятностей (BI), бутстреп-индексов (% от 10000 реплик) объединения соседей (NJ) (PP/BP).

Среднее значение оценки времени дивергенции этой филогруппы от остальных составило порядка 430 тыс. лет (95% интервал наивысшей апостериорной плотности 55 тыс. – 1 млн лет). Образование клад A и B было статистически слабо поддержано, в то время как субклады A1–A2 и B1–B2 на байесовской филограмме имели достоверные значения апостериорных вероятностей. Смешанная клада A1 содержит особи сахалинского тайменя, встречающихся в материковых и островных выборках. Клада A2 образована только двумя особями из р. Максимовка. Клада B1 включают преимущественно особей материковых популяций (р. Тумнин), в то время как группа B2, напротив, состоит только из особей островных выборок (оз. Айнское). Формирование описанных субклад происходило одновременно около 80 тыс. лет назад. Кластеризация четырех особей из оз. Айнское (клада C) полностью разрешена с высокими значениями поддержки только в случае NJ филограммы и датируется 220 тыс. лет.

Генетические дистанции

Генетическое разнообразие оценивалось с помощью нескорректированных *p*-расстояний между всеми исследованными нуклеотидными последовательностями, а также среди и между основных клад Байесовской филограммы (Рисунок 9). Наибольшее значение генетической дивергенции 0,0089 (0,89%) отмечено между особями выборок из о. Сахалин (оз. Айнское и Набильский залив). Основная клада D характеризуется высокими значениям *p*-расстояний при попарном сравнении с другими кладами байесовской филограммы, в некоторых случаях превышая значения в 1,5–2 раза. Минимальные значения генетических расстояний, полученные для субклад A1–A2 и B1–B2, не превышали 0,0008 (0,08%) и 0,0007 (0,07%), соответственно. Только внутри клады C обнаружена высокая генетическая изменчивость. Все оценки *p*-расстояний приведены в таблицах приложений VI-VII.

Демографическая история популяций

При оценке генетической изменчивости особей тайменя с помощью анализа распределения различий между всеми гаплотипами получена мультимодальная кривая распределения (Рисунок 10). На графике выделяются четыре вершины, соответствующие различиям на 1, 5–6, а также 9 и 12 нуклеотидных замен.

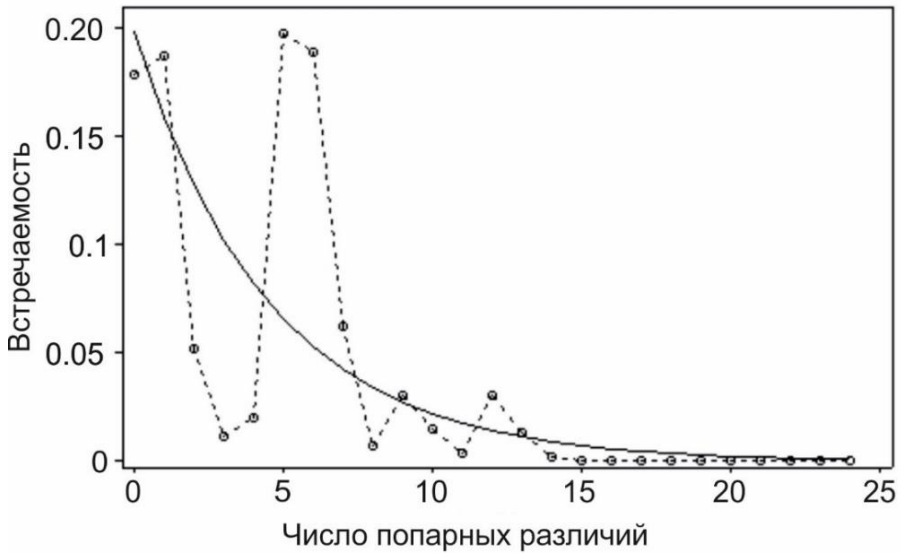

Рисунок 10 – График распределения различий между гаплотипами (*mismatch-distribution*) сахалинского тайменя. Сплошной линией отмечено ожидаемое распределение, пунктирной – наблюдаемое.

Байесовские контурные диаграммы с средним и медианным значением N_eT отражают устойчивое сокращение эффективной численности популяций сахалинского тайменя от момента дивергенции генеалогических линий (430 тыс. лет назад) до периода времени 12–15 тыс. лет назад (Рисунок 11 А, Б). График с использованием медианных значений характеризуется более резким сокращением численности популяций, заметно ускорившемся около 50 тыс. лет назад (Рисунок 11 А).

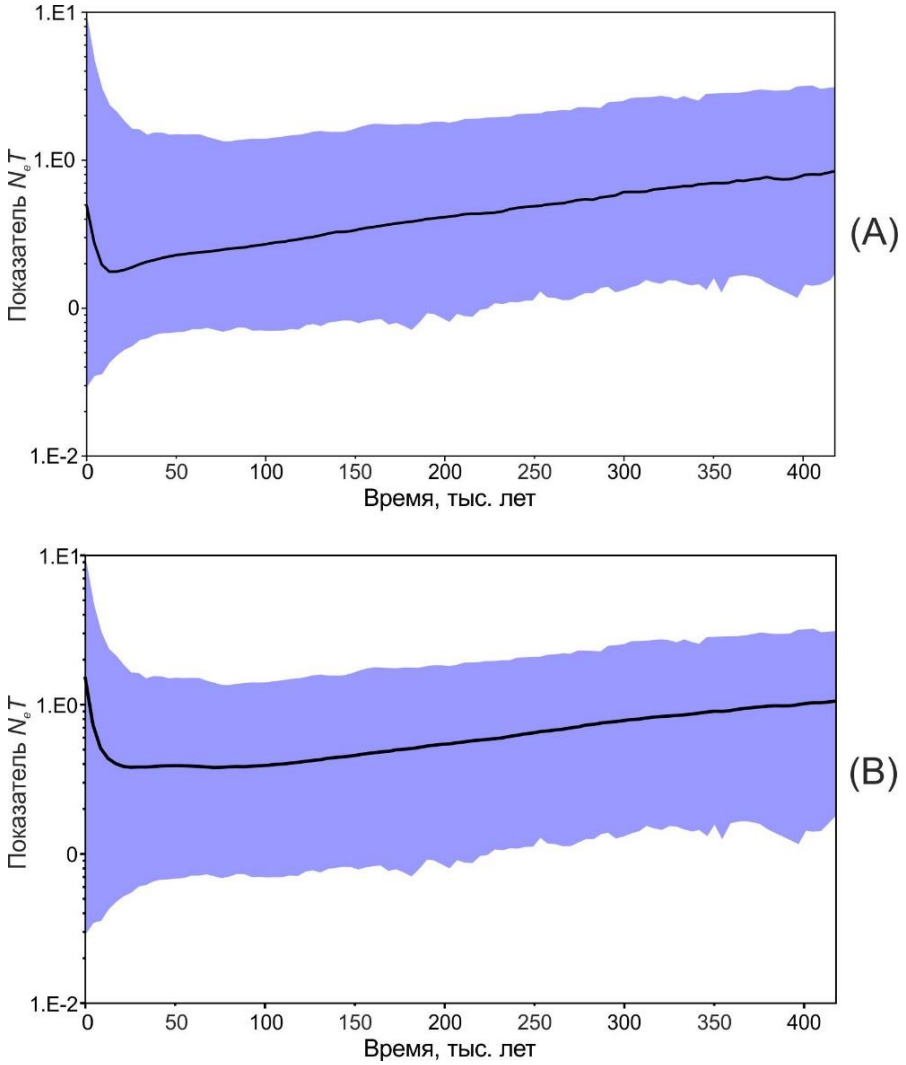

Рисунок 11 – Байесовские контурные диаграммы, построенные для комбинированных последовательностей мтДНК сахалинского тайменя *Parahucho perryi*. График показывает изменение показателя N_eT (произведение эффективной численности популяций и продолжительности одного поколения) с течением времени. Сплошная линия – медиана (А) и среднее (Б) показателя N_eT, затемненный участок – 95% интервал наивысшей апостериорной плотности распределения оценок

На графике средних значений снижение эффективного размера популяций происходит более плавно, с образованием периода стабильной численности 20–90 тыс. лет (Рисунок 11 Б). После этого периода численность начинает резко возрастать, но не достигает исходного уровня.

3.3. Крупночешуйная красноперка *Tribolodon hakonensis*

В работе исследованы нуклеотидные последовательности фрагментов генов *COI* и *cytb* мтДНК особей дальневосточной крупночешуйной

красноперки из выборок материкового побережья Японского моря (зал. Восток) и острова Сахалин (побережье Охотского моря). Длина полученных нуклеотидных последовательностей составила 1623 нуклеотидные пары. Выравненные последовательности содержали 57 вариабельных сайтов (3,5%), из которых 52 (91%) оказались филогенетически информативными (Приложение VIII).

Анализ нуклеотидных последовательностей у исследованных особей показал наличие 12 гаплотипов мтДНК (Таблица 14). Популяция крупночешуйной красноперки из р. Ильинка отличается наибольшим количеством гаплотипов (9). В материковой выборке (зал. Восток) насчитывается всего три гаплотипа.

Таблица 14 – Встречаемость гаплотипов мтДНК в исследуемых популяциях крупночешуйной красноперки. Относительное число особей каждого гаплотипа указано в скобках (в %)

Гаплотип	Популяции		Число особей
	зал. Восток	р. Ильинка	
TH1	0	2 (100)	2
TH2	0	1 (100)	1
TH3	0	1 (100)	1
TH4	0	1 (100)	1
TH5	0	1 (100)	1
TH6	7 (100)	0	7
TH7	0	1 (100)	1
TH8	0	1 (100)	1
TH9	0	1 (100)	1
TH10	0	1 (100)	1
TH11	1 (100)	0	1
TH12	1 (100)	0	1

Гаплотипы, обнаруженные в выборках р. Ильинка и зал. Восток не перекрываются друг с другом и встречаются только в пределах исследуемых популяций. В материковой популяции (зал. Восток) выделяется наиболее встречаемый гаплотип TH6, объединяющий 7 особей выборки. Гаплотипы

сахалинской популяции р. Ильинка (TH1–TH5, TH7–TH10) в равной степени встречаются среди исследуемых особей.

Распределение гаплотипов подтверждается значениями гаплотипического и нуклеотидного распределения. Наиболее высокие значения гаплотипической (0,978±0,054) и нуклеотидной (0,00704) изменчивости выявлены в выборке из р. Ильинка острова Сахалин. Меньшие значения характерны материковой выборке из залива Восток, 0,417±0,191 и 0,00027, соответственно (Приложение II).

Филогенетический анализ

При реконструкции филогенетических отношений на основании анализа сети гаплотипов выделены три группы особей *Tribolodon hakonensis* (A, B и C) (Рисунок 12).

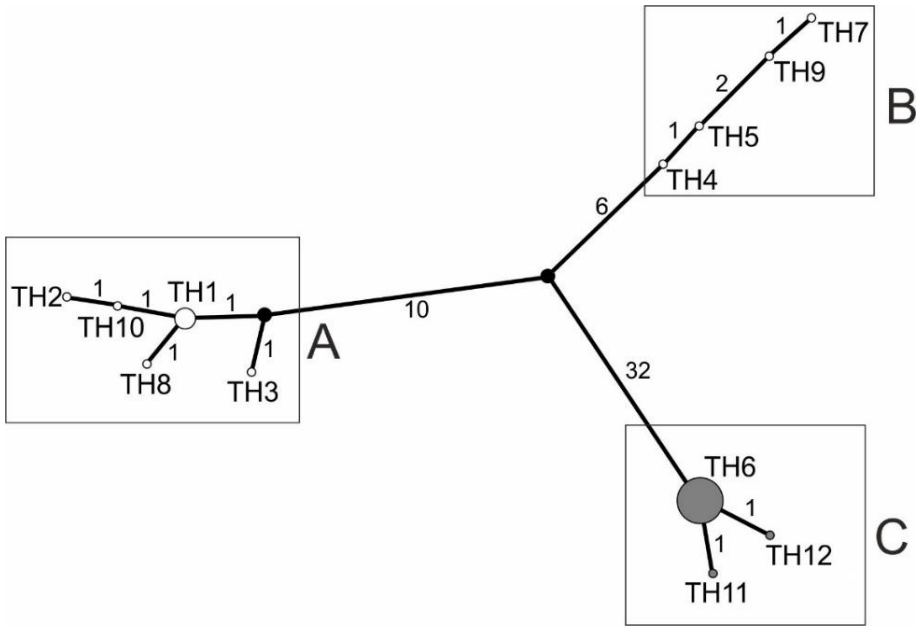

Рисунок 12 – Генеалогическая сеть гаплотипов, полученная на основании данных анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК крупночешуйной красноперки. Размеры окружностей пропорциональны числу особей с указанным гаплотипом. Доля особей красноперок с материкового побережья Японского моря отмечена серым цветом. Темные окружности соответствуют отсутствующим промежуточным гаплотипам. На ветвях сети указано количество нуклеотидных замен между группами гаплотипов. Обозначения гаплотипов как в Таблице 14.

Филогруппы A и C содержат по одному центральному гаплотипу (TH1 и TH6). Остальные гаплотипы отличаются от них 1–2 нуклеотидными

заменами. Филогруппа B объединяет гаплотипы TH4, TH5, TH9 и TH7, различающиеся по 1–2 нуклеотидным заменам. Все гаплотипы из филогруппы C характерны для особей крупночешуйной красноперки из зал. Восток (материковое побережье), в то время как филогруппы A и B встречаются у особей в популяции из р. Ильинка (о. Сахалин). Гаплотипы группы A отделяется 16 нуклеотидными заменами от ближайшего гаплотипа из филогруппы B. Материковая филогруппа C в значительной степени удалена от групп A и B на 42 и 38 нуклеотидные замены, соответственно.

В результате использования различных алгоритмов филогенетического анализа (BI, ML и NJ) получены деревья с единой топологией (Рисунок 13). Анализ показал наличие трех выраженных кластеров особей *Tribolodon hakonensis* с достоверными значениями бутстреп-поддержки и апостериорных вероятностей. В составной кластер A вошли все исследованные особи с острова Сахалин (р. Ильинка), в то время как кластер B (зеленый цвет) объединил особей материкового побережья (зал. Восток). Клада A включает субклады A1 и A2 с высокими показателями достоверности по всем использованным алгоритмам. Среднее время дивергенции двух групп крупночешуйной красноперки (A и B), представленное на байесовской хронограмме, составило около 1 млн лет назад с 95% интервалом наивысшей апостериорной плотности от 459 тыс. лет до 1,8 млн лет. Датировка различий субклад A1–A2 составила около 450 тыс. лет.

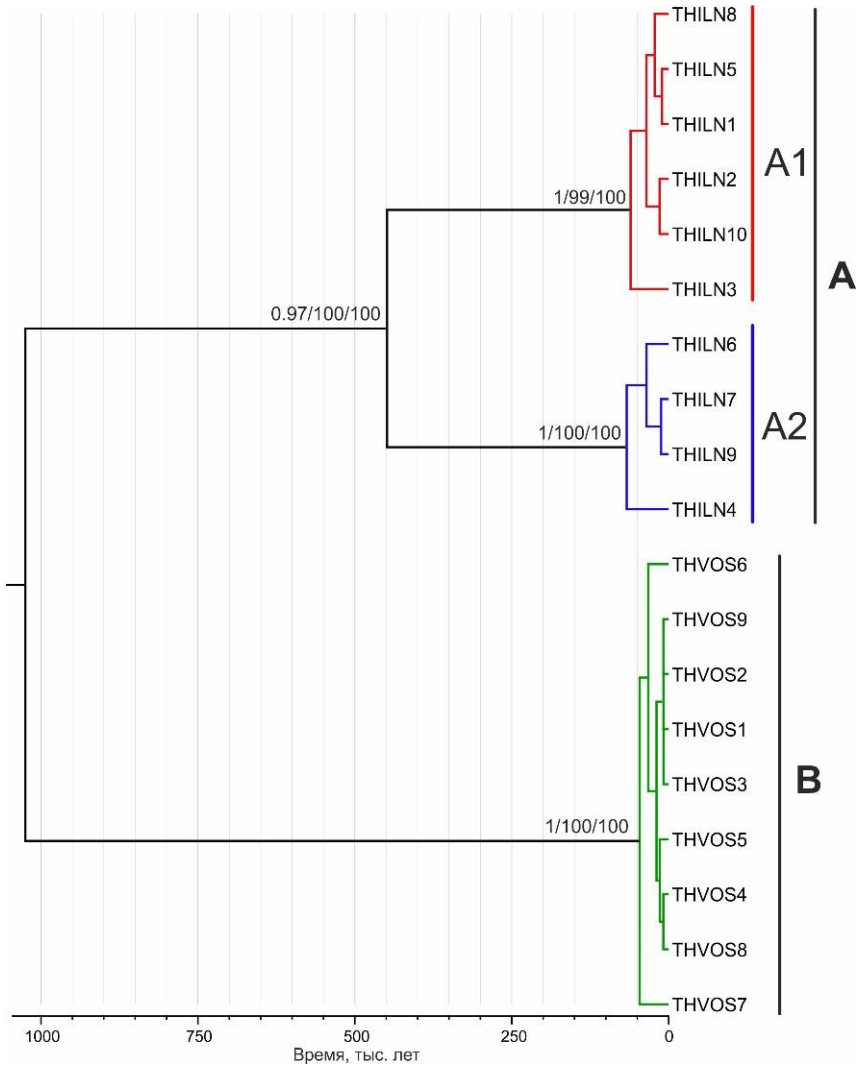

Рисунок 13 – Байесовское консенсусное филогенетическое дерево, отражающее генетическую изменчивость популяций и время дивергенции основных генеалогических линий крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* (в тыс. лет) по данным комбинированных последовательностей двух фрагментов мтДНК (*COI* и *cytb*). Достоверность ветвления основных узлов указана в виде величин апостериорных вероятностей (BI), бутстреп-индексов (% от 1000 реплик) объединения соседей (NJ) и максимального правдоподобия (ML) (PP/BP/BP).

Генетические дистанции

Наибольшее значение нескорректированных *p*-расстояний между нуклеотидными последовательностями географически удаленных особей зал. Восток и р. Ильинка составило 0,0271 (2,71%). Среднее генетическое расстояние между кладами A1 и A2 байесовской филограммы зафиксировано на уровне 0,0121 (1,21%). В тоже время показатели генетической изменчивости внутри выделенных клад оказались минимальны и варьировали

в пределах 0,0003–0,0012 (0,03–0,12%). Матрицы генетических расстояний приведены в таблицах приложений IX-X.

Демографическая история популяций

В результате оценки генетической изменчивости особей крупночешуйной красноперки с помощью анализа *mismatch-distribution* получена мультимодальная кривая распределения (Рисунок 14). На графике очевидны три пика, среди которых присутствуют две двойные вершины величиной в 18/21 и 39/42 нуклеотидные замены.

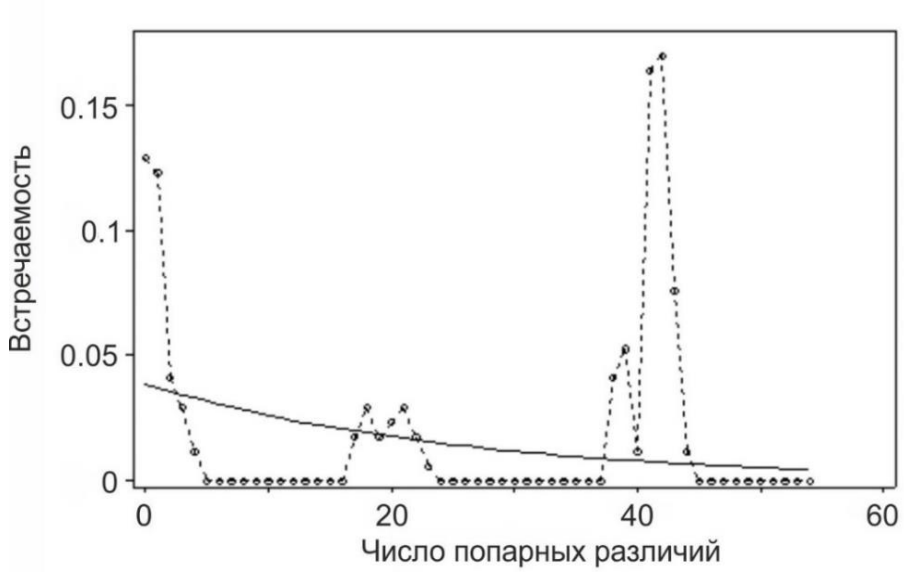

Рисунок 14 – График распределения различий между гаплотипами (*mismatch-distribution*) крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis*. Сплошной линией отмечено ожидаемое распределение, пунктирной – наблюдаемое.

Байесовские контурные диаграммы А и Б на рисунке 15 демонстрируют общий тренд сокращения численности популяций крупночешуйной красноперки с момента дивергенции популяций материкового побережья Японского моря и о. Сахалин предположительно около 1 млн лет. Интенсивность снижения значений N_eT заметно усиливается от отметки приблизительно 110–125 тыс. лет, достигая своих минимальных значений 20–45 тыс. лет.

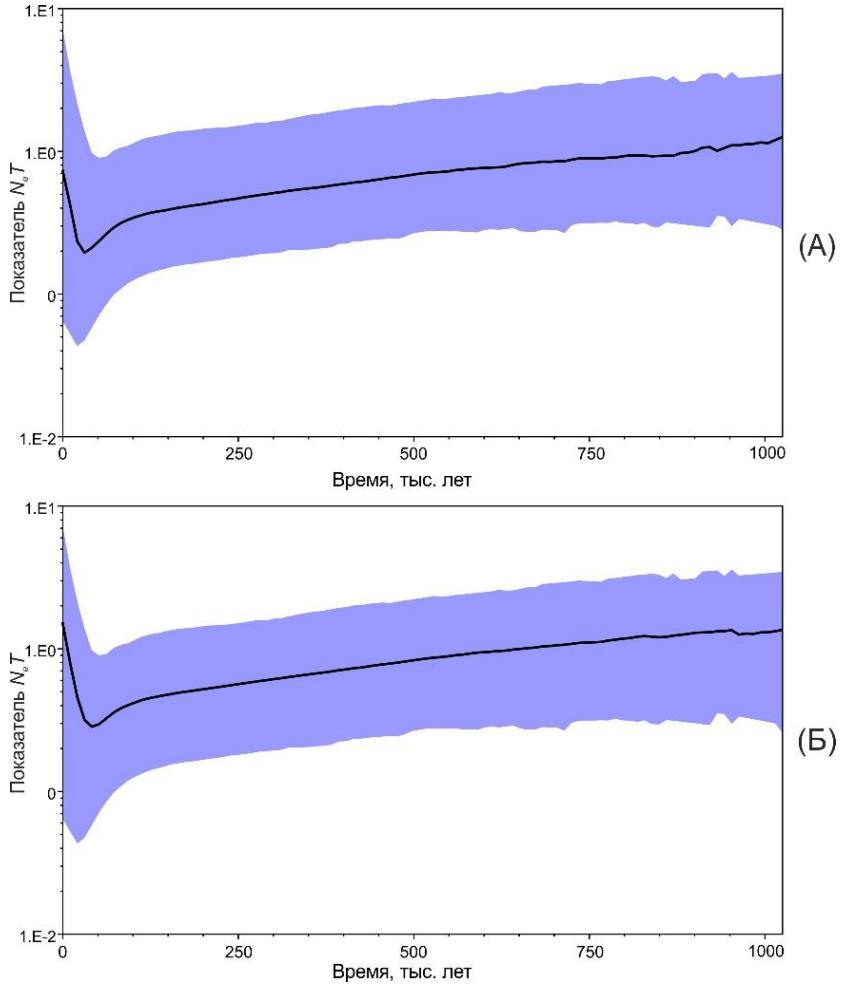

Рисунок 15 – Байесовские контурные диаграммы, построенные для комбинированных последовательностей мтДНК крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis*. График показывает изменение показателя N_eT (произведение эффективной численности популяций и продолжительности одного поколения) с течением времени. Сплошная линия – медиана (А) и среднее (Б) показателя N_eT, затемненный участок – 95% интервал наивысшей апостериорной плотности распределения оценок.

При этом реконструкция с выбором медианных значений характеризуется более резким сокращением эффективного размера популяций (Рисунок 15А). Два вида графиков реконструкций показывают быстрый рост значений N_eT за последние 20 тыс. лет.

3.4. Мелкочешуйная красноперка *Tribolodon brandtii*

В работе получены нуклеотидные последовательности фрагментов генов *COI* и *cytb* мтДНК особей дальневосточной мелкочешуйной красноперки из выборок материкового побережья Японского моря (зал.

Восток) и о. Сахалин (побережье Охотского моря). Полученные нуклеотидные последовательности длиной 1564 пн содержали 20 вариабельных сайтов (1,28%), 18 из них (90%) определены как филогенетически информативные. Данные о нуклеотидной изменчивости особей *Tribolodon brandtii* представлены в Приложении XI.

Анализ нуклеотидных последовательностей у исследованных особей мелкочешуйной красноперки показал наличие 6 гаплотипов (Таблица 15).

Таблица 15 – Встречаемость гаплотипов мтДНК в исследуемых популяциях мелкочешуйной красноперки. Относительное число особей каждого гаплотипа указано в скобках (в %)

Гаплотип	Популяции		Число особей
	зал. Восток	оз. Тунайча	
TB1	8 (100)	0	8
TB2	1 (100)	0	1
TB3	1 (100)	0	1
TB4	1 (100)	0	1
TB5	0	8 (100)	8
TB6	1(100)	0	1

Популяция мелкочешуйной красноперки материкового побережья из зал. Восток включает наибольшее количество гаплотипов (5), характерных только для данной популяции. При этом гаплотип TB1 является наиболее часто встречаемым, в то время как уникальные гаплотипы TB2, TB3 TB4 и TB6 представлены единичными особями. Все исследованные особи популяции оз. Тунайча образуют единый гаплотип TB5. Общих гаплотипов среди исследованных особей материкового побережья и о. Сахалин не обнаружено.

Высокие значения гаплотипической (0,576±0,163) и нуклеотидной (0,00227) изменчивости характерны для популяции из зал. Восток. В сахалинской выборке из оз. Тунайча генетическая изменчивость не обнаружена (Приложение II).

Филогенетический анализ

Полученные данные сети гаплотипов свидетельствуют о присутствии среди особей мелкочешуйной красноперки трех филогрупп (A, B и C) (Рисунок 16).

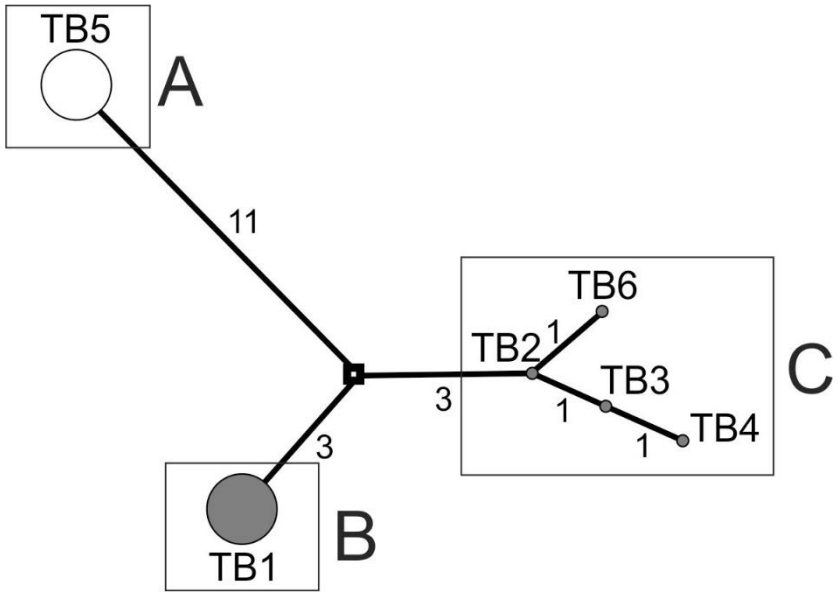

Рисунок 16 – Генеалогическая сеть гаплотипов, полученная на основании данных анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК мелкочешуйной красноперки. Размеры окружностей пропорциональны числу особей с указанным гаплотипом. Доля особей красноперок с материкового побережья Японского моря отмечена серым цветом. На ветвях сети указано количество нуклеотидных замен между группами гаплотипов. Обозначения гаплотипов как в Таблице 15.

Особи материкового побережья из зал. Восток формируют группы B и C с центральными гаплотипами TB1 и TB2, соответственно. Данные группы отличаются в среднем шестью нуклеотидными заменами. Гаплотипы в филогруппе C отличаются 1–2 нуклеотидными заменами. Группа A содержит всех представленных особей мелкочешуйной красноперки с о. Сахалин и отделяется от материковых групп 14 нуклеотидными заменами. Топология филогенетических деревьев, реконструированных по комбинированным последовательностям мтДНК мелкочешуйной красноперки была идентичной при использовании различных алгоритмов построения (BI, ML и NJ) (Рисунок 17).

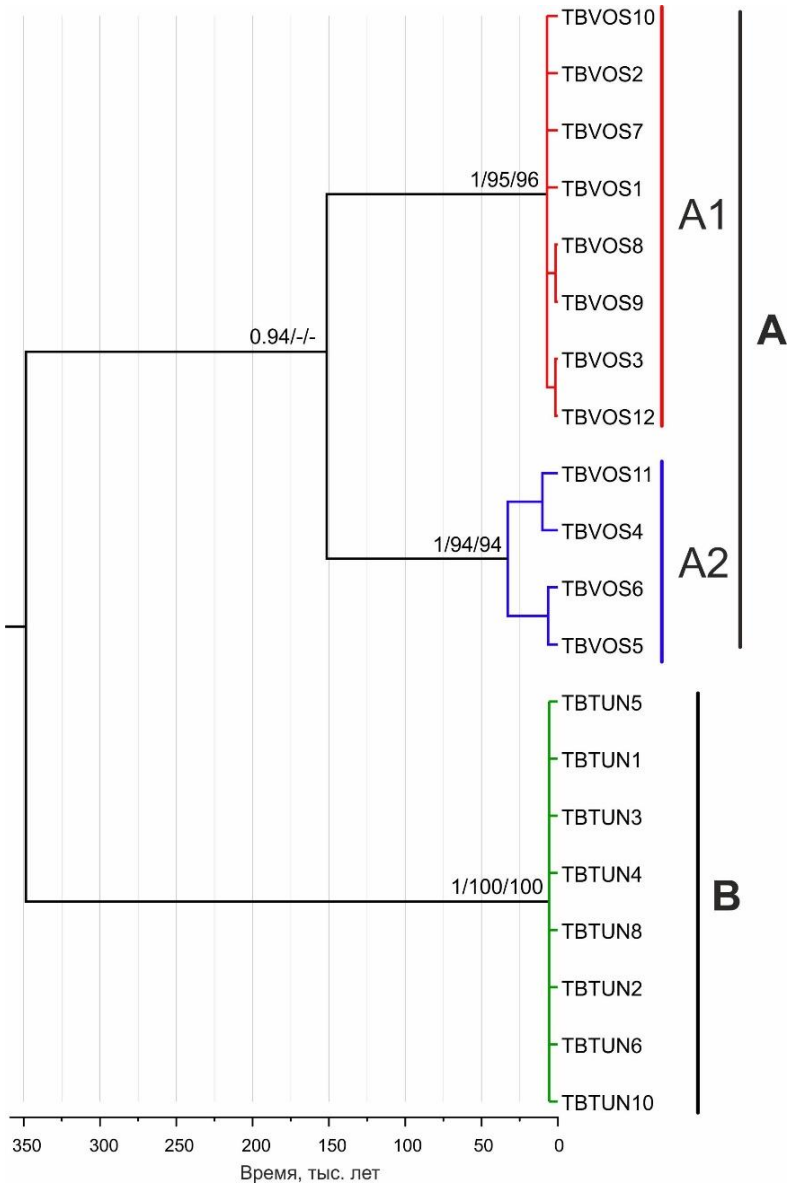

Рисунок 17 – Байесовское консенсусное филогенетическое дерево, отражающее генетическую изменчивость популяций и время дивергенции основных генеалогических линий мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii* (в тыс. лет) по данным комбинированных последовательностей двух фрагментов мтДНК (*COI* и *cytb*). Достоверность ветвления основных узлов указана в виде величин апостериорных вероятностей (BI), бутстреп-индексов (% от 1000 реплик) объединения соседей (NJ) и максимального правдоподобия (ML) (PP/BP/BP).

Анализ подтверждает наличие трех обособленных кластеров особей *Tribolodon brantii*. Клада B (зеленый цвет) включает особей красноперок из оз. Тунайча (о. Сахалин). Материковая клада A образует субклады A1 (красный цвет) и A2 (синий цвет), формирование которых поддержано относительно слабо. Только в случае байесовской филограммы значение апостериорных

вероятностей оказалось близким к достоверным (0,94). Байесовская хронограмма с установленными средними значениями времени различий показывает, что выделенные группы мелкочешуйной красноперки (А и В) дивергировали приблизительно около 350 тыс. лет назад с 95% интервалом наивысшей апостериорной плотности от 139 до 669 тыс. лет. Время дивергенции внутри кластера А составило около 150 тыс. лет.

Генетические дистанции

Наибольшее значение генетических расстояний между нуклеотидными последовательностями географически удаленных особей зал. Восток (клада А) и оз. Тунайча (клада В) составило 0,0102 (1,02%). Среднее значение нескорректированных *p*-расстояний между кладами А1–А2 байесовской филограммы зафиксировано на уровне 0,0045 (0,45%). Показатели генетической изменчивости внутри выделенных клад оказались минимальны и изменялись в пределах 0–0,00106 (0–0,106%). Матрицы генетических расстояний приведены в таблицах приложений XII-XIII.

Демографическая история популяций

В результате анализа *mismatch-distribution* получена мультимодальная кривая распределения генетической изменчивости особей мелкочешуйной красноперки **(Рисунок 18)**, обусловленная существованием нескольких

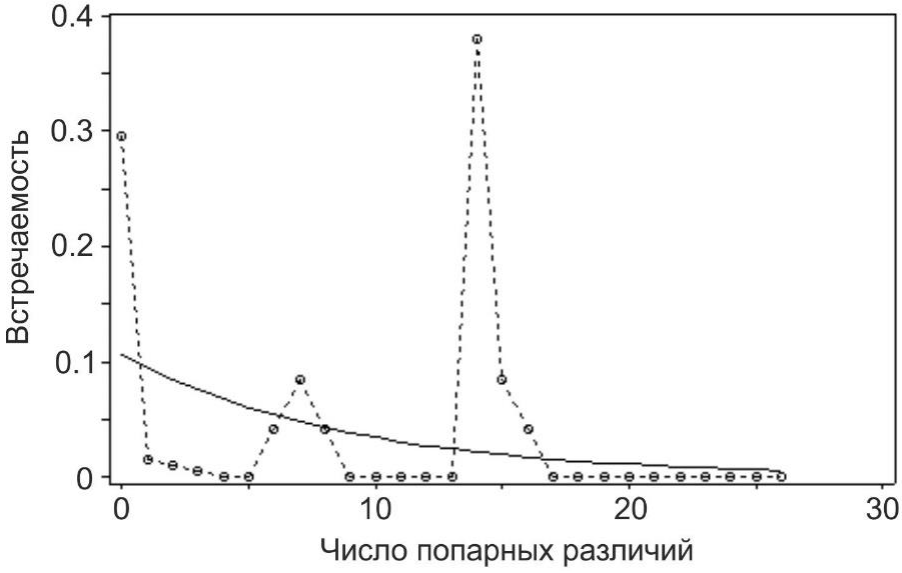

Рисунок 18 – График распределения различий между гаплотипами (*mismatch-distribution*) мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii*. Сплошной линией отмечено ожидаемое распределение, пунктирной – наблюдаемое.

филогрупп гаплотипов. График распределения демонстрирует наличие трех вершин, соответствующих 1, 7 и 14 нуклеотидным заменам.

Байесовские контурные диаграммы с средним и медианным значением N_eT (Рисунок 19 А, В) отражают постепенное сокращение эффективной численности популяций мелкочешуйной красноперки с момента дивергенции материковых и островных генеалогических линий около 350 тыс. лет до периода времени 10–12 тыс. лет.

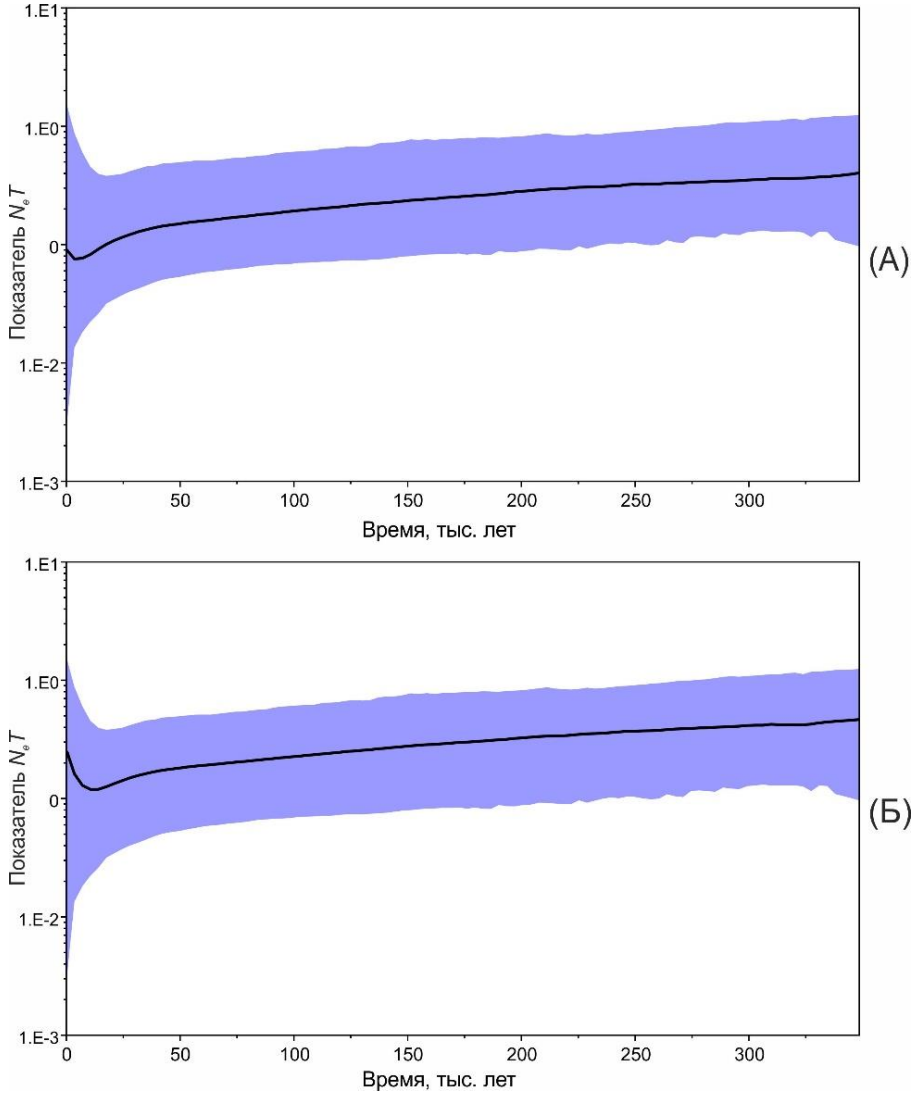

Рисунок 19 – Байесовские контурные диаграммы, построенные для комбинированных последовательностей мтДНК мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii*. График показывает изменение показателя N_eT (произведение эффективной численности популяций и продолжительности одного поколения) с течением времени. Сплошная линия – медиана (А) и среднее (Б) показателя N_eT, затемненный участок – 95% интервал наивысшей апостериорной плотности распределения оценок.

Скорость снижения параметра N_eT усиливается в период около 50 тыс. лет назад, что особо заметно на графике медианных значений (Рисунок 19А). После периода снижения наблюдается рост эффективной численности популяций в период последних 10 тыс. лет.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Закономерности пространственного распределения генетической изменчивости исследуемых видов

В настоящей работе исследована изменчивость мтДНК у четырех видов рыб северо-западной Пацифики, относящихся к семействам Salmonidae и Cyprinidae. Они имеют разные истории происхождения, биологические особенности, ареалы и численность. Выборки сахалинского тайменя и дальневосточных красноперок были взяты на значительной части географического ареала этих видов. Для кеты исследованный регион представляет лишь небольшую часть исходного ареала. Тем не менее, для всех видов выявлены сходные закономерности.

Уровень генетической изменчивости определяется несколькими параметрами: временем существования вида, ареалом и численностью (Avise, 2000). Несмотря на то, что исследованные нами виды отличаются по этим параметрам, общие значения гаплотипической изменчивости популяций видов находятся на достаточно высоком уровне. Относительно высокий уровень гаплотипической изменчивости у сахалинского тайменя (0,8215±0,03) может определяться более длительным временем существования вида. Кета как вид существует много меньше времени, но высокая численность и внутривидовая дифференциация, как следствие эффекта «хоминга», определяет ее высокий уровень генетической изменчивости (0,9011±0,034). Савин с соавторами (2009) выделяет данную особенность жизненного цикла лососевых рыб как одну из главных причин значительной изоляции и генетической неоднородности локальных групп популяций. Значения нуклеотидной изменчивости у сахалинского тайменя и кеты одинаковы (0,00259 и 0,00266, соответственно).

Виды дальневосточных красноперок характеризуются близкими показателями изменчивости мтДНК. Для крупночешуйной красноперки характерно более длительное существование как вида (Sasaki et al., 2007), с

чем связаны более высокие оценки гаплотипической и нуклеотидной изменчивости (0,871±0,00525 и 0,01528, соответственно), по сравнению с мелкочешуйной красноперкой (0,705±0,00488 и 0,00542). Исследование особенностей биологии данных видов на юге Приморского края, а также результаты мечения позволяют предположить, что дальневосточным красноперкам также свойственны определенные места нагула, то есть обладают, по-видимому, способностью различать водоемы и возвращаться после нагула в одни и те же реки, где осуществляют нерест и зимовку (Большаков, 2013).

Уровень нуклеотидного разнообразия сахалинских популяций *Parahucho perryi* на порядок превышает нуклеотидное разнообразие популяций материкового побережья (Приложение II). При этом в популяции Набильского залива не найдено ни одного гаплотипа общего с другими популяциями, в том числе и из оз. Айнское, которое характеризуется наивысшим гаплотипическим разнообразием на о. Сахалин (Таблица 13). Аналогичные результаты были получены при анализе микросателлитных локусов сахалинского тайменя. Показатели генетического разнообразия оказались более высокими в самой малочисленной выборке из популяции западного побережья о. Сахалин (р. Агнево) по сравнению с тремя другими популяциями, обитающими на восточном побережье (р. Даги, Набиль и Поронай) (Шитова и др., 2012). Кроме того, в работе Животовского с соавторами (2015) показано разделение популяций сахалинского тайменя на генетические отдаленные эко-географические единицы (EGUs) о. Сахалин и материкового побережья Японского моря.

Сходная закономерность выявлена также в исследованных популяциях крупночешуйной красноперки. Уровень гаплотипической изменчивости сахалинской выборки вида в два раза превышает значения для популяции материкового побережья (Приложение II, Таблица 14). ПДРФ-анализ множества выборок крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* так же показал значительные различия при сравнении географически удаленных

популяций, связанных с изоляцией расстоянием и, следовательно, ограничением потока генов. По результатам AMOVA теста 98% изменчивости приходилось на внутрипопуляционную компоненту (Брыков и др., 2013).

Другой характер распределения показателей разнообразия был обнаружен в популяциях кеты и мелкочешуйной красноперки. В отличие от двух других видов региона, высокий уровень гаплотипического и нуклеотидного разнообразия был зафиксирован в материковых популяциях (Приложение II), тем самым подтверждая предположение о древности и, во многих отношениях, уникальности популяций Японского моря. В работе Бачевской и Переверзевой (2010) на основе фрагмента гена *cytb* были получены сходные данные о распределении региональной внутривидовой изменчивости кеты. При исследовании некоторых популяций северной части Охотского моря и востока полуострова Камчатка было показано, что наименьшими значениями нуклеотидного и гаплотипического разнообразия характеризуется камчатская кета, которая статистически достоверно отличается от североохотоморской. Более высокий уровень генетического разнообразия, отмеченный у североохотоморских популяций авторы связывают с историей их формирования и расселения (Бачевская, Переверзева, 2010).

Распределение генетического разнообразия в выборках мелкочешуйной красноперки совпадает с полученными ранее данными анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов мтДНК. В работе Брыкова с соавторами (2013) значительная часть изменчивости приходилась на различия между сахалинской выборкой (зал. Анива) и материковыми популяциями.

Сравнительный анализ гаплотипических сетей и филограмм особей в популяциях всех исследованных видов показал наличие, по крайней мере, двух больших филогрупп гаплотипов. Моделирование показывает, что стохастическое образование двух филогрупп в панмиксной популяции, в принципе, возможно, но это – крайне маловероятное событие (Marjoram, Donnelly, 1994). Более вероятной причиной существования двух филогрупп

считается наличие в прошлой истории вида двух популяций с ограниченным генетическим обменом. Длительное независимое существование таких популяций приводит к накоплению в них преимущественно нейтральных мутаций и, как следствие, к дивергенции филогрупп.

Как следует из наших данных, у кеты филогруппы в значительной степени разделены в пространстве. Все гаплотипы (OK1–2, OK6, OK8, OK9–14) группы B обнаруживаются в материковых популяциях Японского моря, большая часть гаплотипов (OK4–5, OK7) группы A – в выборке Охотского моря (Рисунок 4). Этот факт подтверждает, что формирование филогрупп определялось существованием в прошлой истории вида изолированных популяций, а генетический обмен между ними отсутствует или незначителен на протяжении многих поколений. Более полное исследование изменчивости мтДНК кеты, включающее бóльшую часть ареала, выявило статистически значимо выраженные группы популяций: побережье Японского моря (1), побережье Охотского моря и западная зона Берингова моря (2), северо-запад Аляски (3) и зал. Аляска (4). По мнению авторов, генетическая дивергенция между последними тремя группами отражают недавнюю изоляцию популяций под воздействием дрейфа генов в период последнего ледникового максимума (около 18 тыс. лет назад) (Yoon et al., 2008). Описанный ранее статистически значимый уровень генетических различий между япономорскими и охотоморскими популяциями кеты ранее был определен с помощью ПДРФ-анализа четырех участков мтДНК (Полякова и др., 2006). Авторы высказали предположение что формирование материковых и островных популяций происходило под воздействием палеогеологических событий в северо-западной Пацифике.

Согласно теоретическим расчетам в работах Нея с соавторами (1975) и Ибрагима с соавторами (1996), и подтвержденными эмпирическими данными (Costello et al., 2003; Taylor et al., 2003; Stamford, Taylor, 2004), наибольшее генетическое разнообразие видов встречается в регионах, расположенных в местах предполагаемых предковых рефугиумов. При этом прослеживается

тенденция уменьшения разнообразия по мере удаления от рефугиума, что вероятно отражает действие дрейфа генов (эффект основателя и «бутылочного горлышка») в процессе расширения ареала.

Присутствие одного общего гаплотипа (PP1) в 5 из 6 выборок сахалинского тайменя позволяет предположить о существование единого источника при освоении видом данного региона (Таблица 13). Полученные топологии филогенетических деревьев (Рисунок 9) и структура генеалогий гаплотипов (Рисунок 8) указывают на то, что все популяции сахалинского тайменя произошли от одного общего предка, обитавшего, вероятнее всего, на западном побережье Сахалина. При этом более древняя форма сахалинского тайменя представлена, как минимум, двумя различными эволюционными линиями, относящимися к водоемам восточного и западного побережья о. Сахалин. Эти данные также согласуются с результатами ПДРФ-анализа участков генов *cytb*, контрольного региона (D-loop), 1-4 субъединиц надоксиддегидрогеназы (ND1/ND2, ND3/ND4L/ND4) (Скурихина и др., 2013). В соответствии с литературными данными, популяции *Parahucho perryi* различаются также и по морфобиологическим характеристикам (Ключарева, 1967; Золотухин, Семенченко, 2008). При этом Бушуевым были обнаружены достоверные различия между популяциями Южного Приморья (р. Киевка) и Западного Сахалина (р. Богатая) (Бушуев, 1983).

Для кеты направление распределения генетической изменчивости оказалось противоположным. Популяции материкового побережья являются наиболее изменчивыми (р. Нарва, Таблица 12) и, следовательно, сформировались ранее, чем островные. Принимая во внимание работу Юна с соавторами, можно предположить, что центр происхождения кеты располагается в акватории Японского моря и приурочен к материковому побережью. Выявленные авторами частоты гаплотипов контрольного региона мтДНК отражают направление распространения кеты по всему побережью северо-западной Пацифики: от вероятного места происхождения и прилегающих территорий до Северной Америки. Отмечая при этом, что

процессы распространения могли быть вызваны климатическими изменениями в плейстоцене (Yoon et al., 2008).

Высокая изменчивость особей материковой выборки и топология филогенетических реконструкций мелкочешуйной красноперки подтверждает существование предкового рефугиума на территории материкового побережья Японского моря (Рисунок 17). Наличие материковых филогрупп гаплотипов B и C (Рисунок 16) указывает на присутствие как минимум двух предковых линий мелкочешуйной красноперки. Ранее наличие сходной популяционно-генетической структуры вида было установлено с помощью методов ПДРФ-анализа мтДНК и изменчивости аллозимов (Брыков и др., 2013; Sakai et al., 2002).

Более интересная и сложная картина наблюдается у крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis*. Высокие значения генетических *p*-дистанций (клады B–A1, B–A2 в Приложении X), а также значительная удаленность материковой филогруппы C в сети гаплотипов (Рисунок 12) обусловлены присутствием «южной формы» крупночешуйной красноперки, выделяемой многими авторами в отдельный близкий вид *Tribolodon* sp. (Семина и др., 2006; Гудков и др., 2010; Рязанова, Полякова, 2012). Относительная молодость вида выражается низким уровнем гетерогенности мтДНК (зал. Восток, Таблица 14), что так же соответствует данным по расширенным выборкам в предыдущих работах (Семина и др., 2007; Брыков и др., 2013). При этом мтДНК у первоописанного вида *Tribolodon hakonensis*, или «северная форма», в популяциях о. Сахалин образует две, относительно сильно дивергировавшие, эволюционные линии (группы A и B, Рисунок 12).

В распределении нуклеотидных различий между всеми гаплотипами у исследуемых видов семейства Salmonidae выделяется по крайней мере две вершины, что свойственно для конспецифичных представителей пространственно изолированных популяций (Avise, 2000). Первая вершина (различия в 1 нуклеотид) соответствует звездообразному распределению гаплотипов в каждой филогруппе вокруг центрального гаплотипа, вторая (5–6

нуклеотидов) – отражает средние различия между гаплотипами в филогруппах (Рисунок 6 и 10). Присутствие дополнительных пиков в области 9 и 12 нуклеотидов у сахалинского тайменя обусловлено наличием значительно отличающихся гаплотипов, выявленных на севере о. Сахалин, которые с высокой поддержкой объединяются в отдельную кладу (Рисунок 9). Звездообразные структуры гаплотипов вокруг центральных, наиболее часто встречающихся гаплотипов каждой из филогрупп, свидетельствует о сравнительно недавнем резком увеличении численности популяций вида и их распространении из одной географической локации (Yoon et al., 2008). Наличие альтернативной связи (Рисунок 8) между гаплотипами сахалинского тайменя может быть результатом гомоплазии, а именно повторных и обратных мутаций в мтДНК (Churikov et al., 2001).

Для графиков распределения нуклеотидных замен между гаплотипами дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* характерно наличие трех вершин. Отличия заключается только в степени наблюдаемых различий. Для обоих видов пики величиной в 1–2 нуклеотида соответствуют средним различиям внутри выделенных филогрупп гаплотипов (Рисунок 14 и 18). Второй пик на графике у мелкочешуйной красноперки размером в 7 нуклеотидов указывает на присутствие двух филогрупп в популяции материкового побережья.

Значительные различия между сахалинскими филогруппами крупночешуйной красноперки выражены двойной вершиной на 18 и 21 нуклеотид, которые формируют отдельные филогенетические клады с высокой поддержкой (Рисунок 13). Еще один пик в 14 нуклеотидов очевиден для мелкочешуйной красноперки и приходится на различия между популяциями о. Сахалин и материкового побережья Японского моря (группы A–B, A–C, Рисунок 16). На графике крупночешуйной красноперки также выделяются двойные пики в 39 и 42 нуклеотидные замены, обусловленные особями «южной формы» (*T.* sp.). в выборках зал. Восток. Общность распределения между гаплотипами из выборок с материкового побережья и о.

Сахалин у исследованных видов свидетельствует о сходстве факторов, определявших формирование филогрупп. Обнаруженная закономерность образования двух и более различных групп гаплотипов показана на примере многих пресноводных и морских видов рыб северо-западной Пацифики, подчеркивая уникальность данного региона.

Так, например, исследование изменчивости контрольного региона мтДНК у эндемичного вида семейства Acipenseridae – амурского осетра (*Acipenser schrenckii*) показало наличие двух филогрупп, скорректированные генетические дистанции между которыми составили в среднем 3,41%. Разная эволюционная динамика и представленность филогрупп в бассейне р. Амур указывают на возможное существование в прошлой истории вида как минимум двух отдельных его популяций. Реконструированные байесовские контурные диаграммы демонстрируют пост-ледниковый рост (16–18 тыс. лет назад) эффективной численности популяций амурского осетра (Шедько и др., 2015).

При исследовании генетической структуры популяций симы (*Oncorhynchus masou*), Ю с соавторами (2010) на основе изменчивости митохондриального гена *ND5* и шести полиморфных микросателлитных локусов указали на существование трех больших групп гаплотипов, имеющих отчетливое географическое распределение: острова Японского архипелага, Корейский полуостров и Дальний Восток России. Показатели гаплотипического разнообразия оказались выше в корейских (0,752) и японских (0,535) популяциях симы, чем с дальневосточного побережья (0,212) (Yu et al., 2010).

Горбачев с соавторами (2014) на основании изменчивости последовательностей генов *ND2* и *cytb* мтДНК выделили две основные группы филогенетических кластеров минтая (*Theragra chalcogramma*), включающих азиатские и североамериканские предковые рефугиумы. Было установлено, что средний возраст ближайшего общего предка составляет 44,1±2 и 52,6±1,3 тыс. лет для обоих маркеров, соответственно (Горбачев и др., 2014).

4.2. Датировка этапов дивергенции внутривидовых единиц

При анализе байесовских хронограмм особей популяций у сахалинского тайменя выявляется четыре этапа дивергентной эволюции (Рисунок 9), у кеты – три (Рисунок 5). Первый период дивергенции у тайменя приходится на время 430 тыс. лет назад, второй – 220 тыс. лет, третий – 70 тыс. лет назад. Период в 170 тыс. лет, отмеченный на филограмме, имеет низкое значение апостериорной вероятности и бутстреп-поддержки и не рассматривается как отдельный этап дивергентной эволюции. У кеты первый этап соответствует 220 тыс. лет назад, второй – в районе 100 тыс. лет. Основная доля выявляемых гаплотипов у обоих видов формировалась 50–10 тыс. лет назад (четвертый и третий этапы дивергенции, соответственно) (Таблица 16).

Таблица 16 – Датировка этапов дивергенции внутривидовых единиц

<table>
<tr><td rowspan="3">Название вида</td><td colspan="4">Плейстоцен</td><td rowspan="3">Голоцен</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Эоплейстоцен</td><td colspan="3">Неоплейстоцен</td></tr>
<tr><td>Миндель (478–424 тыс. лет)</td><td>Рисс (347–130 тыс. лет)</td><td colspan="2">Вюрм (110–12 тыс. лет)</td></tr>
<tr><td>Parahucho perryi</td><td>–</td><td>1 этап (430 тыс. лет)</td><td>2 этап (220 тыс. лет)</td><td>3 этап (70 тыс. лет)</td><td>4 этап (50–10 тыс. лет)</td></tr>
<tr><td>Tribolodon hakonensis</td><td>1 этап (1 млн лет)</td><td>2 этап (450 тыс. лет)</td><td>–</td><td>–</td><td>3 этап (70–10 тыс. лет)</td></tr>
<tr><td>Oncorhynchus keta</td><td>–</td><td>–</td><td>1 этап (220 тыс. лет)</td><td>2 этап (100 тыс. лет)</td><td>3 этап (50–10 тыс. лет)</td></tr>
<tr><td>Tribolodon brandtii</td><td>–</td><td colspan="2">1 этап (350 тыс. лет), 2 этап (150 тыс. лет)</td><td>–</td><td>3 этап (35–10 тыс. лет)</td></tr>
</table>

По данным Поляковой с соавторами вероятное время расхождения филогрупп кеты Японского и Охотского морей составило около 350–450 тыс. лет (Полякова и др., 2006), что оказалось значительно выше показателей, полученных нами (220 тыс. лет). Причина различий главным образом

заключается в использовании авторами сильно завышенных показателей скорости эволюции равной 2% за 1 млн лет.

Байесовские хронограммы исследованных видов рода *Tribolodon* позволяют выделить 3 этапа дивергенции (Рисунок 13 и 17). Начальный этап формирования эволюционных линий крупночешуйной красноперки связан с дивергенцией «северной» (о. Сахалин) и «южной» формы (материковое побережье, Приморье) около 1 млн лет назад. Второй этап датирован 450 тыс. лет назад, третий – около 70–10 тыс. лет. У мелкочешуйной красноперки первый этап соответствует 350 тыс. лет, второй – 150 тыс. лет назад и третий – около 35–10 тыс. лет.

Исследования, включающие датировку внутривидовой изменчивости дальневосточных красноперок, единичны. По данным ПДРФ-анализа мтДНК временные границы возникновения внутривидовой изменчивости у дальневосточных красноперок варьировали в пределах 1,3–1,8 млн лет назад, в соответствии со скоростью эволюции на уровне 1,6% за 1 млн лет (Брыков и др., 2013). Данные значения частично соответствуют верхнему пределу оценок дивергенции «южной» и «северной» формы крупночешуйной красноперки, в то время как образование филогрупп внутри регионов по результатам настоящей работы происходило относительно недавно.

Полученные оценки времени дивергенции внутривидовых единиц у исследуемых таксонов соответствуют плейстоценовой эпохе. Осцилляции палеоклимата в плейстоцене происходили приблизительно каждые 100 тыс. лет и имели первостепенное значение в истории северной Пацифики (Miller et al., 2011). Похолодание и наступление ледников, снижение уровня океана и частичная или полная изоляция от океана с опреснением внутренних морей, Японского и Охотского, могли быть основными факторами, определяющими дивергенцию пресноводных и морских рыб (Брыков, Подлесных, 2001; Gharrett et al., 2001; Баланов и др., 2004; Скурихина и др., 2013).

В настоящее время существует значительные разногласия исследователей относительно количества и периодизации межледниковых и

холодных эпох плейстоцена. Европейская (альпийская) схема получила широкое признание и в равной степени считалась приемлемой для всех материков. Стратиграфическая шкала подверглась критическому пересмотру, значительно детализирована и исправлена, но попытки распространить ее на районы, далеко расположенных от Альп, на сегодняшний день признаны ошибочными (Gibbard, Kolfschoten, 2004). Однако альпийской схемой продолжают пользоваться как общеизвестной шкалой отрезков времени, располагающихся в определенной последовательности (Борисковский, 1979). По мнению Молодькова и Болиховской наиболее перспективными объектами для решения таких вопросов стали опорные разрезы Восточно-Европейской равнины. Для анализа времени расхождения узлов байесовских хронограмм видов нами была выбрана как европейская шкала плейстоцена, так и периодизация на основе Восточно-Европейской равнины (Молодьков, Болиховская, 2011).

Наиболее поздние оценки времени дивергенции среди исследуемых нами видов соответствуют первому этапу дивергенции крупночешуйной красноперки, датированным нижним плейстоценом (верхним эоплейстоценом). Холодный климат данного периода, связанный с глобальным дунайским оледенением, способствовал резкому снижению уровня моря. По данным Василевского (2008), с ссылкой на данные японских исследователей, Сахалин в это время входил в состав палеосуши, простиравшейся от Юго-Восточной Азии до Камчатки.

Первый этап формирования отдельных филогрупп у сахалинского тайменя и второй этап у крупночешуйной красноперки приходится на миндельский (окский) ледниковый период (478–424 тыс. лет назад). Горно-долинные оледенения средней и южной части острова, характерные для данного периода (Василевский, 2008) с большой долей вероятности послужили причиной изоляции популяции сахалинского тайменя восточного (Набильский залив) и западного (оз. Айнское) побережья. Уровень Японского моря у берегов о. Сахалин в результате регрессии минделя понизился до

отметок около 100 м ниже современного, а трансгрессия межледниковой эпохи миндель–рисса подняла его почти до современных отметок (Korotky et al., 1997). Первый этап дивергенции сахалинских и материковых популяций мелкочешуйной красноперки приурочен к окончанию межледниковой эпохи на границе миндель–рисса.

Еще один период дивергенции мтДНК у сахалинского тайменя, кеты и мелкочешуйной красноперки приходится на рисский (днепровский) ледниковый период (347–130 тыс. лет назад). В результате мощных регрессий, сформировавших берег Японского моря на отметке около 140–150 м ниже современного, возникала сухопутная связь Сахалина с Северным Приморьем, с о. Хоккайдо и Южными Курильскими островами (Кулаков, 1973; Свиточ, 2003). Василевский отмечает что на протяжении плейстоцена острова Сахалин и Хоккайдо были практически постоянно связаны с материком, исключая периоды максимального потепления климата и соответствующих по величине трансгрессий. По Короткому, нарушение связи Сахалина с материком происходили 400–360 тыс. лет назад и несколько раз в интервалах 130–80 тыс. лет назад (Korotky et al., 1997). Таким образом, заселение о. Сахалин популяциями кеты и миграция сахалинского тайменя в водоемы материка могли происходить через р. Амур, образовавшую единую и целостную речную систему с палеополуостровом. В отдельные периоды русла палео-Амура проходили по территории Северного Сахалина, смыкаясь с бассейном р. Тымь. Вполне вероятно, что полуостров входил в маршруты ежегодных миграций и постоянные ареалы среднеплейстоценовой фауны континента (Василевский, 2008). Дальнейшее разделение и продолжительная изоляция островных и материковых популяций видов вероятно произошли в период потепления на границе рисс–вюрма, восстановившего уровень океана до современных показателей.

На протяжении следующего периода, датируемым вюрмским (валдайским) оледенением (110–12 тыс. лет назад), изоляция популяций кеты и сахалинского тайменя неоднократно усиливалась под воздействием

регрессий. Наиболее существенные из них произошли около 50 и 25 тыс. лет назад (Korotky et al., 1997). Также стоит отметить синхронность влияния климатических процессов на фауну и флору территории островов и материка, о чем говорит совпадение видового состава ископаемых форм среднего и позднего плейстоцена с островов Хоккайдо, Сахалина и Приморья (Василевский, 2008).

Последний этап образования гаплотипов (70–10 тыс. лет назад), очевидно, связан с отступлением ледников и расширением ареалов у исследуемых видов в голоцене. Одним из важнейших событий рубежа плейстоцена и голоцена стало формирование пролива Лаперуза около 13–12 тыс. лет назад, а также резкое расширение проливов Цусима и Цугару. Эти процессы имели довольно большие последствия для окружающей среды, поскольку определили новый температурный режим, степень солености воды в Японском море и новые возможности миграций ихтиофауны (Василевский, 2008). Характерные морские отложения северо-восточного побережья о. Сахалин показывают, что уровень моря в голоцене приблизился к современному сравнительно рано (около 11 тыс. лет назад) (Василевский, 2008), в результате чего была окончательно прервана сухопутная связь о. Сахалин с материком. Многие авторы связывают столь раннее превышение уровня моря с усилением в тот период приливов и последующей тектонической деформацией впадин Сахалинского залива, Амурского лимана, пролива Невельского и Татарского пролива (Каплин, Селиванов, 1999; Кулаков, 1973).

На побережье Приморья в результате трансгрессий голоценового межледниковья морские воды вторгались в переуглубленные в плейстоцене речные долины и образовывали ряд изолированных бухт с исчерченной береговой линией. Таким образом, образовавшиеся бухты в среднем–позднем голоцене изолировались от Японского моря пересыпями и заполнялись специфическими группами осадков (Каплин, Селиванов, 1999). Возникающие изоляции по всей видимости поддерживали накопление генетической

изменчивости между популяциями исследуемых видов. Детальные геологические исследования возраста и высоты трансгрессивных фаз на побережье Приморья и острова Сахалин так же позволили предположить, что в голоцене происходили по меньшей мере три–четыре флуктуации уровня моря. Уровень моря превысил современный на несколько метров около 7, 5 и 3 тыс. лет назад (Микишин, Гвоздева, 1996, Селиванов, Степанов, 1981, 1982). По всей видимости слабые колебания уровня океана голоцена не оказывали критического влияния и во время трансгрессий сохранившиеся популяции расселялись на освобождавшиеся после отступления ледника территории.

4.3. Роль палеоклиматических изменений в демографической истории видов

Анализ демографической истории популяций с помощью реконструкции байесовских контурных диаграмм показал, что время начального этапа роста эффективной численности видов красноперок и сахалинского тайменя варьирует в пределах 10–20 тыс. лет (Рисунок 11, 15, 19) и совпадает по времени с окончанием последнего ледникового максимума (19–26,5 тыс. лет назад) (Clark et al., 2009) в составе вюрмского оледенения. Постепенное восстановление климатических оптимумов способствовало расселению и увеличению численности видов в пределах современных границ ареала.

Устойчивое сокращение эффективной численности популяций тайменя до отметки 12–15 тыс. лет назад может быть обусловлено множеством факторов. По всей видимости, высокая зависимость от конфигурации бассейнов рек, узкий диапазон устойчивости к температуре (Fukushima et al., 2011), наиболее сильно выраженный хоминг и минимальный стреинг (Семенченко, Золотухин, 2011) сформировали исторический ареал вида. Сахалинский таймень сохранил проходной образ жизни в бассейнах Японского и Охотского морей, однако его степень привязанности к эстуарию или авандельты рек в настоящее время обсуждается (Arai et al., 2004; Edo et al.,

2005; Suzuki et al., 2011). Позднее наступление половой зрелости, не ежегодный нерест, характерные для сахалинского тайменя, ограничивают темп естественного воспроизводства и способствуют снижению выживаемости популяций в условиях изменяющихся условий среды.

Виды рода *Tribolodon* единственная группа карповых рыб имеющая исключительно пресноводные виды, и проходные экотипы, приспособленные к нагулу в условиях океанической солености. Комплексное влияние окружающей среды (изменений солености и температуры) могло быть главным фактором внутривидовой дивергенции таксонов. Так как большинство рек о. Сахалин имеют малую протяженность и глубину, повторяющиеся летние периоды с небольшим количеством осадков приводят к резкому снижению численности вида. Более того, в большинстве этих рек нерестятся и погибают горбуша и кета, что также приводит к ухудшению условий для существования вида (Брыков и др., 2013).

Исключение составляет период роста эффективной численности кеты, начавшийся несколько раньше, 30–35 тыс. лет назад, но ускорившийся в последние 10–15 тыс. лет (Рисунок 7). Как видно на графике, палеоклиматические изменения среды во время последнего оледенения в меньшей степени оказали влияние на демографическую историю популяций кеты, тем самым ускорив пост-ледниковую экспансию (Маляр, Брыков, 2016). По всей видимости это связано с высокой эвритермностью и широким ареалом вида. В своей работе Шунтов и Темных отмечают высокую экологическую пластичность видов тихоокеанских лососей. Лососи более эвритермны, чем это считалось ранее, особенно к низким значениям температуры воды. Поверхностная температура воды в пределах «лососевого» диапазона не является жестко лимитирующим фактором, определяющим их распространение, сроки и пути миграций (Шунтов, Темных, 2005).

Реконструкция палеоклимата основывается на предположении, что пределы выносливости видов остаются постоянными во времени, то есть эволюционно нейтральными. На практике, определенное количество

изменений остается неучтенными при реконструкции в большом географическом масштабе (Prentice et al., 1991) и, как следствие, с широкими доверительными интервалами колебания температуры окружающей среды. Таким образом, для ареалов множества видов характерно варьирование экологических факторов среды, в том числе температуры, влияющее как на их генетическое разнообразие, так и на локальные процессы эволюции внутри популяций.

В результате климатических изменений плейстоцена на поверхности Земли происходило перераспределение водных масс между океаном и ледниками, обводнение или иссушение бассейнов рек, крупные перестройки речной сети, формирование бухт и заливов (Каплин, Селиванов, 1999). Существование в таких условиях главным образом зависело от физиологических способностей видов переносить климатические колебания на протяжении холодных (ледниковых) и теплых (межледниковых) периодов. Изменение температуры очевидно влияет на интенсивность ферментативных процессов в организме рыб, изменяет активность потребления пищи, характер обмена веществ и развития половой системы, оказывая также влияние на состояния кормовой базы. На примере ряда исследований рыбопродуктивности северной Пацифики была определена роль климата как главного фактора, определяющего 50–70-летние флуктуации численности множества промысловых видов (Шунтов, 1986, 1991). Многолетняя динамика уловов наиболее крупных промысловых популяций рыб Тихого и Атлантического океанов: анчоусов, сардин, сельди, трески и тихоокеанских лососей в значительной степени коррелирует с данными о глобальных и региональных циклических колебаниях климата и атмосферной циркуляции. Современные представления о циклическом характере флуктуаций климата и биоты также позволяют усовершенствовать режим эксплуатации промысловых запасов, показывая на каком этапе долгопериодного цикла (спад или подъем численности) находится промысловая популяция (Кляшторин, Любушин, 2005).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования определены и депонированы в международную базу данных GenBank 258 новых нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* митохондриальной ДНК кеты (*O. keta)*, сахалинского тайменя (*P. perryi*), крупночешуйной (*T. hakonensis*) и мелкочешуйной красноперки (*T. brandtii*). Сравнительный филогенетический анализ на основании полученных фрагментов позволил выявить генетическую изменчивость видов, а также особенности ее пространственного распределения. Для каждого исследуемого вида обнаружены достоверные генетические различия островных (о. Сахалин) и материковых популяций (побережье Японского моря), связанные с их продолжительной изоляцией в прошлом.

Установлены последовательность и время формирования основных эволюционных линий исследуемых таксонов. Согласно байесовской датировке полученные оценки времени дивергенции внутривидовых единиц соответствуют плейстоценовой эпохе. Мы предположили, что сходные закономерности образования филогрупп гаплотипов у данных видов возникли под воздействием колебаний среды в процессе смены ледниковых и межледниковых периодов эпохи плейстоцена, и в значительной степени синхронизированы по времени. Палеоклиматические изменения температурного режима и степени солености вод послужили основными причинами изоляции, повлиявших на внутривидовую дивергенцию у исследуемых видов рыб Японского и Охотского морей.

При исследовании демографической истории популяций видов с использованием коалесцентных подходов нами выявлен недавний период резкого увеличения численности около 10–20 тыс. лет назад, связанного с окончанием последнего ледникового максимума. Постепенное восстановление климатических оптимумов в голоцене способствовало экспансии и росту численности видов в пределах современных границ ареала.

Также мы установили более ранний период роста эффективной численности у кеты (30–35 тыс. лет назад), предполагая, что степень влияния палеоклимата для каждого вида в отдельности определялась их экологическими и физиологическими особенностями.

ВЫВОДЫ

1. При анализе изменчивости мтДНК в выборках двух видов красноперок (*T. hakonensis*, *T. brandtii*), кеты (*O. keta*) и сахалинского тайменя (*P. perryi*) выявлены особенности распределения генетической изменчивости у каждого вида на исследованном ареале, а также общие закономерности внутривидовой дивергенции.

2. Показано, что исследованные популяции *P. perryi* и *T. hakonensis* произошли из предковых рефугиумов, существовавших на о. Сахалин. При этом островная форма сахалинского тайменя представлена двумя различными эволюционными линиями, относящимися к водоемам восточного (Набильский залив) и западного (оз. Айнское) побережья. Локализация предковых рефугиумов у кеты и мелкочешуйной красноперки, наоборот, приурочена к материковому побережью Японского моря.

3. По данным молекулярной датировки внутривидовой дифференциации выявлены общие этапы дивергентной эволюции у четырех видов из семейств Salmonidae и Cyprinidae. Обособление основных генеалогических линий сахалинского тайменя и кеты началось в среднем плейстоцене около 430 и 220 тыс. лет назад, у крупночешуйной и мелкочешуйной красноперок 450 и 350 тыс. лет, соответственно.

4. Наблюдаемые генетические различия популяций видов с материкового побережья Японского моря и о. Сахалин сформировались под воздействием палеоклиматических колебаний среды в процессе смены ледниковых и межледниковых периодов в эпоху плейстоцена.

5. Исследование демографической истории популяций видов северо-западной Пацифики на основании полиморфизма генов мтДНК свидетельствует о недавнем периоде резкого увеличения численности, связанного с окончанием последнего ледникового максимума (19–26,5 тыс. лет назад).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамсон Н.И. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы // Вестник ВОГиС. 2007. Т. 11, №2. С. 307–331.

2. Аверьянов А.О. Значение ископаемых для реконструкции филогении // Труды Зоологического института РАН. 2013. Приложение № 2. С. 75–82.

3. Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России / Под ред. Ю.С. Решетникова. М.: Наука. 1998. – 218 с.

4. Атлас пресноводных рыб России: в 2 т. Т.1. / Под ред. Ю.С. Решетникова. М.: Наука. 2002. – 379 с.

5. Баланов А.А., Кухлевский А.Д., Брыков Вл.А. *Sebastes flammeus* (Jordan et Starks, 1904) – младший синоним *S. iracundus* (Jordan et Starks, 1904) с описанием рыб из южной части Охотского моря // Вопросы ихтиологии. 2004. Т. 44, №1. С. 5–14.

6. Бачевская Л.Т., Переверзева В.В. Внутривидовой полиморфизм фрагмента гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК кеты (*Oncorhynchus keta* Walbaum) из рек восточной Камчатки и северного побережья Охотского моря // Вестник ВОГиС. 2010. Т. 14, №3. С. 537–545.

7. Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. 4-е изд., перераб. и доп. М.–Л.: Издательство Академии Наук СССР. 1948. Т. 1. – 468 с.

8. Берг Л.С. Природа СССР. 3-е изд. М.: Государственное издательство географической литературы. 1955. – 494 с.

9. Бирман И.Б. Морской период жизни и вопросы динамики стад тихоокеанских лососей. М.: Агропромиздат. 1985. – 208 с.

10. Борисковский П.И. Древнейшее прошлое человечества. 2-е изд., перераб. и доп. Л.: Наука. Ленинградское отделение. 1979. – 240 с.

11. Большаков С.Г. Некоторые особенности биологии, рост и возраст мелкочешуйной *Tribolodon brandtii* и крупночешуйной *T. hakonensis*

дальневосточных красноперок на юге Приморья // Известия ТИНРО. 2013. С. 127–144.

12. Брыков Вл.А., Кирилова О.Н., Кухлевский А.Д. Анализ изменчивости митохондриальной ДНК у кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) в популяциях рек Приморья и Сахалина // Генетика. 2000. Т. 36, № 10. С. 1388–1393.

13. Брыков Вл.А., Подлесных А.В. Сравнение митохондриальной ДНК у двух видов терпугов и их гибридов (сем. Hexagrammidae; Pisces) из залива Петра Великого (Японское море) // Генетика. 2001. Т. 37, № 12. С. 1663–1666.

14. Брыков Вл.А., Полякова Н.Е., Прохорова А.В. Филогеографический анализ кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) в азиатской части ареала, основанный на изменчивости митохондриальной ДНК // Генетика. 2003. Т. 39, № 1. С. 75–82.

15. Брыков Вл.А., Олейник А.Г., Полякова Н.Е., Скурихина Л.А., Семина А.В., Подлесных А.В., Кухлевский А.Д. Неравномерность дивергентной эволюции у рыб Северной Пацифики // Генетика. 2010. Т. 46, № 7. С. 967–973.

16. Брыков Вл.А., Полякова Н.Е., Семина А.В. Филогеографический анализ выявляет два периода дивергенции у крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* (Pisces, Cyprinidae) // Генетика. 2011. Т. 47, № 11. С. 1497–1500.

17. Брыков Вл.А., Полякова Н.Е., Семина А.В. Сравнительный анализ изменчивости митохондриальной ДНК у четырех видов дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae) // Генетика. 2013. Т. 49, № 3. С. 355–365.

18. Бушуев В.П. Биология тайменя *Hucho perryi* (Brevoort) из реки Киевка (Южное Приморье) // Экология и систематика пресноводных организмов Дальнего Востока. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 1983. – С. 61–72.

19. Варнавская Н.В. Генетическое разнообразие популяций в связи с задачами рациональной промысловой эксплуатации лососевых рыб // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2002. № 6. С. 158–181.

20. Василевский А.А. Каменный век острова Сахалин. Южно-Сахалинск: Сахалинское книжное издательство. 2008. – 412 с.

21. Гавренков Ю.И. Биология, морфология и состояние запасов дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* южного Приморья // Известия ТИНРО. 1998. Т. 123. С. 74–81.

22. Гавренков Ю.И., Иванков В.Н. Таксономический статус и биология дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* Южного Приморья // Вопросы ихтиологии. 1979. Т. 19, № 6. С. 1014–1024.

23. Гриценко О.Ф. Систематика дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* Sauvage, 1883 – *Leuciscus brandti* (Dybowski) (Cyprinidae) // Вопросы ихтиологии. 1974. Т. 14, № 5. С. 782–795.

24. Гриценко О.Ф. Проходные рыбы острова Сахалин: систематика, экология, промысел. М.: Издательство ВНИРО. 2002. – 248 с.

25. Гудков П.К., Полякова Н.Е., Семина А.В., Назаркин М.В. Сравнительный морфологический анализ крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* Günther, 1877 (Cyprinidae, Cypriniformes) // Вопросы ихтиологии. 2010. Т. 50, № 6. С. 772–776.

26. Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевых рыб: автореф. дис. … докт. биол. наук. Владивосток. 1990. – 48 с.

27. Горбачев В.В., Лапинский А.Г., Прикоки О.В., Соловенчук Л.Л. Моделирование динамики эффективной численности минтая Охотского моря в голоцене на основании изменчивости локусов *Nd2* и *cytb* мтДНК // Генетика. 2014. Т. 50, № 7. С. 868–873.

28. Жамойда А.И. Общая стратиграфическая шкала, принятая в СССР–России. Её значение, назначение и совершенствование. СПб.: Издательство ВСЕГЕИ. 2013. – 24 с.

29. Золотухин С.Ф., Семенченко А.Ю. Рост и распространение сахалинского тайменя *Hucho perryi* (Brevoort) в речных бассейнах // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. 2008. № 4. С. 317–338.

30. Золотухин С.Ф., Семенченко А.Ю., Беляев В.А. Таймени и ленки Дальнего Востока России. Хабаровск: Приамурское географическое общество. 2000. – 128 с.

31. Иванков В.Н., Иванкова Е.В. Антропогенное воздействие на внутривидовую эколого-темпоральную дифференциацию и структуру популяций тихоокеанских лососей // Известия ТИНРО. 2015. Т. 181. С. 23–34

32. Каплин П.А., Селиванов А.О. Изменения уровня морей России и развитие берегов: прошлое, настоящее, будущее. М.: ГЕОС. 1999. – 299 с.

33. Картавцев Ю.Ф., Свиридов В.В., Ханзава Н., Сазаки Т. Генетическая дивергенция видов дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae) и близких таксонов // Генетика. 2002. Т. 38, № 11. С. 1518–1531.

34. Кулаков А.П. Четвертичные береговые линии Охотского и Японского морей // Новосибирск: Наука. 1973. – 188с.

35. Ключарева О.А. Ихтиофауна лагунных озер острова Кунашир (Курильские острова) // Зоологический журнал. 1967. Т. 46, № 3. С. 384–392.

36. Кляшторин Л.Б., Смирнов Б.П. Тихоокеанские лососи: состояние запасов и воспроизводство // Обзорная информация. Серия Аквакультура. М.: ВНИИЭРХ. 1992. № 2. С. 1–36.

37. Кляшторин Л.Б., Любушин А.А. Циклические изменения климата и рыбопродуктивности. М.: Издательство ВНИРО. 2005. – 235 с.

38. Линдберг Г.У., Легеза М.И. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Ч. 2. М.; Л.: Наука, 1965. – 391 с.

39. Маляр В.В., Брыков В.А. Генетическая изменчивость у анадромных рыб кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) и сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (Brevoort, 1856) из северо-западной Пацифики как

отражение осцилляций палеоклимата // Биология моря. 2016. Т. 42, № 4. С. 289–299.

40. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование: пер. с англ. М.: Мир. 1984. – 480 с.

41. Микишин Ю.А., Гвоздева И.Г. Развитие природы юго-восточной части острова Сахалин в голоцене. Владивосток: Издательство Дальневосточного университета. 1996. – 131 с.

42. Молодьков А.Н., Болиховская Н.С. Климато-хроностратиграфическая схема неоплейстоцена Северной Евразии (по данным палинологического, ЭПР и ИК-ОСЛ анализов отложений) // Проблемы палеогеографии и стратиграфии плейстоцена. Вып. 3: Сборник научных статей / Под ред. Н.С. Болиховской, С.С. Фаустова. М.: Географический факультет МГУ. 2011. – С. 44–78.

43. Полякова Н.Е., Семина А.В., Брыков Вл.А. Изменчивость митохондриальной ДНК кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) и ее связь с палеогеологическими событиями в северо-западной части Пацифики // Генетика. 2006. Т. 42, № 10. С. 1388–1397.

44. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая промышленность. 1966. – 376 с.

45. Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Чукова Е.И. Влияние изоляции на генетические характеристики популяций гольцов рода *Salvelinus* // Генетика. 2007. Т. 43, № 9. С. 1209–1217.

46. Осинов А.Г. Генетическая дивергенция и филогенетические взаимоотношения ленков рода *Brachymystax* и тайменей родов *Hucho* и *Parahucho* // Генетика. 1991. Т. 27, № 12. С. 2127–2136.

47. Осинов А.Г., Лебедев В.С. Лососевые рыбы (Salmonidae, Salmoniformes): положение в надотряде Protacanthopterygii, основные этапы эволюционной истории, молекулярные датировки // Вопросы ихтиологии. 2004. Т. 44, № 6. С. 738–765.

48. Рязанова И.Н., Полякова Н.Е. Дифференциация крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* (Pisces: Cyprinidae) на российской части ареала по данным кариологического анализа и ПЦР-ПДРФ-анализа митохондриальной ДНК // Генетика. 2012. Т. 48, № 2. С. 225–234.

49. Савин В.А., Шпигальская Н.Ю., Варнавская Н.В. Межрегиональная и межпопуляционная изменчивость частот гаплотипов митохондриальной ДНК кеты (*Oncorhynchus keta*) Азии // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2009. № 12. С. 15–32.

50. Селиванов А.О., Степанов В.П. Изменения уровня Японского моря и влажности климата Приморья в голоцене: Археологический подход // Океанология. 1981. Т. 21, № 4. С. 673–677.

51. Селиванов А.О., Степанов В.П. Опыт геоархеологических исследований на морском побережье (на примере Советского Приморья) // Изменения уровня моря. М.: МГУ. 1982. – С. 115–133.

52. Семенченко А.Ю., Золотухин С.Ф. Эффективность воспроизводства сахалинского тайменя *Parahucho perryi* в реках острова Сахалин и стратегия его охраны // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. 2011. № 5. С. 472–482.

53. Семина А.В., Полякова Н.Е., Брыков Вл.А. Генетический анализ выявляет криптический вид у дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* // Доклады Академии наук. 2006. Т. 407, № 4. С. 571–573.

54. Семина А.В., Полякова Н.Е., Брыков Вл.А. Анализ митохондриальной ДНК: таксономические и филогенетические отношения в двух таксонах рыб (Pisces: Mugilidae, Cyprinidae) // Биохимия. 2007. Т. 72, № 12. С. 1651–1658.

55. Свиточ А.А. Морской плейстоцен побережий России. М.: ГЕОС. – 2003. – 352 с.

56. Скурихина Л.А., Олейник А.Г., Кухлевский А.Д., Маляр В.В. Внутривидовой полиморфизм мтДНК сахалинского тайменя *Parahucho perryi* // Генетика. 2013. Т. 49. № 9. С. 1065–1078.

57. Строганов А.Н. Влияние температуры на особенности роста и развития кеты (*Oncorhynchus keta*) в раннем онтогенезе [Электронный ресурс] // Проблемы аквакультуры: Материалы Международных научно-практических конференций по аквариологии. Вып. 2. 2007. Режим доступа: http://www.aqualogo.ru/book2007-10 (дата обращения: 11.01.2017).

58. Фадеев Н.С. Промысловые рыбы северной части Тихого океана. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 1984. – 272 с.

59. Холодова М.В. Сравнительная филогеография: молекулярные методы, экологическое осмысление // Молекулярная биология. 2009. Т. 43, № 5. С. 910–917.

60. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А. Филогения лососевых рыб (Salmoniformes: Salmonidae) и ее молекулярная датировка: анализ мтДНК-данных // Генетика. 2013. Т. 49, № 6. С. 718–734.

61. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А. Изменчивость митохондриальной ДНК, историческая демография и популяционная структура амурского осетра, *Acipenser schrenckii* Brandt, 1869 // Генетика. 2015. Т. 51, № 2. С. 200–216.

62. Шитова М.В., Юрченко А.А., Шайхаев Е.Г., Животовский Л.А. Панель микросателлитных локусов для популяционных исследований сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (Brevoort) // Генетика. 2012. Т. 48, № 8. С. 976–982.

63. Шмидт П.Ю. Рыбы Охотского моря. М.; Л.: Издательство АН СССР. 1950. – 370 с.

64. Шунтов В.П., Темных О.С. Новые представления об экологии тихоокеанских лососей в морской период жизни // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. 2005. № 3. С. 594–609.

65. Шунтов В.П. Состояние изученности многолетних циклических изменений численности рыб дальневосточных морей // Биология моря. 1986. № 3. С. 3–14.

66. Шунтов В.П. Губительно ли глобальное потепление для биологических ресурсов Берингова моря // Рыбное хозяйство. 1991. № 9. С. 27–30.

67. Alexandrou M.A., Swartz B.A., Matzke N.J., Oakley T.H. Genome duplication and multiple evolutionary origins of complex migratory behavior in Salmonidae // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2013. Vol. 69, № 3. P. 514–523.

68. April J., Hanner R.H., Dion-Côté A.M., Bernatchez L. Glacial cycles as an allopatric speciation pump in north-eastern American freshwater fishes // Molecular Ecology. 2013. Vol. 22, № 2. P. 409–422.

69. Arai T., Kotake A., Morit K. Evidence of downstream migration of Sakhalin taimen, *Hucho perryi*, as revealed by Sr:Ca ratios of otolith // Ichthyological Research. 2004. Vol. 51. P. 377–380.

70. Arbogast B.S., Edwards S.V., Wakeley J., Beerli P., Slowinski J.B. Estimating divergence times from molecular data on phylogenetic and population genetic timescales // Annual Review of Ecology and Systematics. 2002. Vol. 33. P. 707–740.

71. Archibald J.D., Deutschman D.H. Quantitative analysis of the timing of the origin and diversification of extant placental orders // Journal of Mammalian Evolution. 2001. Vol. 8, № 2. P. 107–124.

72. Atkinson Q.D., Gray R.D., Drummond A.J. mtDNA variation predicts population size in humans and reveals a major Southern Asian chapter in human prehistory // Molecular Biology and Evolution. 2008. Vol. 25, № 2. P. 468–474.

73. Avise J.C., Arnold J., Ball R.M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J.E., Reeb C.A., Saunders N.C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics // Annual Review of Ecology and Systematics. 1987. Vol. 18. P. 489–522.

74. Avise J.C. Phylogeography. The History and Formation of Species. Cambridge: Harvard University Press. 2000. 447 p.

75. Avise J.C. Phylogeography: retrospect and prospect // Journal of Biogeography. 2009. Vol. 36, № 1. P. 3–15.

76. Avise J.C., Walker D.E., Johns G.C. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 1998. Vol. 265, № 1407. P. 1707–1712.

77. Axelsson E., Willerslev E., Gilbert M.T.P., Nielsen R. The effect of ancient DNA damage on inferences of demographic histories // Molecular Biology and Evolution. 2009. Vol. 25, № 10. P. 2181–2187.

78. Ballard J.W.O., Rand D.M. The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications // Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. 2005. Vol. 36, № 1. P. 621–642.

79. Bandelt H-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Molecular Biology and Evolution. 1999. Vol. 16, № 1. P. 37–48.

80. Barber P.H., Bellwood D.R. Biodiversity hotspots: evolutionary origins of biodiversity in wrasses (*Halichoeres*: Labridae) in the Indo-Pacific and new world tropics // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2005. Vol. 35, № 1. P. 235–253.

81. Beheregaray L.B., Sunnucks P. Fine-scale genetic structure, estuarine colonization and incipient speciation in the marine silverside fish *Odontesthes argentinensis* // Molecular Ecology. 2001. Vol. 10, № 12. P. 2849–2866.

82. Beheregaray L.B. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere // Molecular Ecology. 2008. Vol. 17, № 17. P. 3754–3774.

83. Benton M.J., Donoghue P.C.J. Paleontological evidence to date the tree of life // Molecular Biology and Evolution. 2007. Vol. 24, № 1. P. 26–53.

84. Bermingham E., Martin A.P. Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary

landscape of lower Central America // Molecular Ecology. 1998. Vol. 7, № 4. P. 499–517.

85. Beacham T., Sato S., Urawa S., Le K., Wetklo M. Population structure and stock identification of chum salmon *Oncorhynchus keta* from Japan determined by microsatellite DNA variation // Fisheries Science. 2008. Vol. 74, № 5. P. 983–994.

86. Bernatchez L., Wilson C.C. Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes // Molecular Ecology. 1998. Vol. 7, № 4. P. 431–452.

87. Bigg G.R., Cunningham C.W., Ottersen G., Pogson G.H., Wadley, M. R., Williamson P. Ice-age survival of Atlantic cod: agreement between palaeoecology models and genetics // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2008. Vol. 275, № 1631. P. 163–173.

88. Bilgin R., Çoraman E., Karatas A., Morales J.C. Phylogeography of the greaterhorseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum* (Chiroptera: Rhinolophidae), in southeastern Europe and Anatolia, with a specific focus on whether the Sea of Marmara is a barrier to gene flow // Acta Chiropterologica. 2009. Vol. 11, № 1. P. 53–60.

89. Blair D., McMahon A., McDonald B., Tikel D., Waycott M., Harsh H. Pleistocene sea level fluctuations and the phylogeography of the dugong in Australian waters // Marine Mammal Science. 2014. Vol. 30, № 1. P. 104–121.

90. Bonin A., Taberlet P., Miaud C., Pompanon F. Explorative genome scan to detect candidate loci for adaptation along a gradient of altitude in the common frog (*Rana temporaria*) // Molecular Biology and Evolution. 2006. Vol. 23, № 4. P. 773–783.

91. Bowen B.W., Karl S.A. Population genetics and phylogeography of sea turtles // Molecular Ecology. 2007. Vol. 16, № 23. P. 4886–4907.

92. Bowen B.W., Grant W.S. Phylogeography of the sardines (*Sardinops* spp.): assessing biogeographic models and population histories in temperate upwelling zones // Evolution. 1997. Vol. 51, № 5. P. 1601–1610.

93. Britten R.J. Rates of DNA sequence evolution differ between taxonomic groups // Science. 1986. Vol. 231, № 4744. P. 1393–1399.

94. Bromham L., Rambaut A., Harvey P.H. Determinants of rate variation in mammalian DNA sequence evolution // Journal of Molecular Evolution. 1996. Vol. 43, № 6. P. 610–621.

95. Bromham L., Leys R. Sociality and the rate of molecular evolution // Molecular Biology and Evolution. 2005. Vol. 22, № 6. P. 1393–1402.

96. Bromham L. Why do species vary in their rate of molecular evolution? // Biology Letters. 2009. Vol. 5, № 3. P. 401–404.

97. Brockman S.A., McFadden C.S. The mitochondrial genome of *Paraminabea aldersladei* (Cnidaria: Anthozoa: Octocorallia) supports intramolecular recombination as the primary mechanism of gene rearrangement in octocoral mitochondrial genomes // Genome Biology and Evolution. 2012. Vol. 4, № 9. P. 994–1006.

98. Brown W.M., George M., Wilson A.C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1979. Vol. 76, № 4. P. 1967–1971.

99. Burbrink F.T. Phylogeographic analysis of the cornsnake (*Elaphe guttata*) complex as inferred from maximum likelihood and Bayesian analyses // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2002. Vol. 25, № 3. P. 465–476.

100. Burridge C.P., Craw D., Fletcher D., Waters J.M. Geological dates and molecular rates: fish DNA sheds light on time dependency // Molecular Biology and Evolution. 2008. Vol. 25, № 4. P. 624–633.

101. Campos P.F., Willerslev E., Sher A., Orlando L., Axelsson E., Tikhonov A., Aaris-Sørensen K., Greenwood A.D., Kahlke R.D., Kosintsev P., Krakhmalnaya T., Kuznetsova T., Lemey P., MacPhee R., Norris C.A., Shepherd K., Suchard M.A., Zazula G.D., Shapiro B., Gilbert M.T. Ancient DNA analyses exclude humans as the driving force behind late Pleistocene musk ox (*Ovibos moschatus*) population dynamics // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010. Vol. 107, № 12. P. 5675–5680.

102. Cantatore P., Roberti M., Pesole G., Ludovico A., Milella F., Gadaletal M.N., Saccone C. Evolutionary analysis of cytochrome b sequences in some Perciformes: evidence for a slower rate of evolution than in mammals // Journal of Molecular Evolution. 1994. Vol. 39, № 6. P. 589–597.

103. Carnaval A.C., Hickerson M.J., Haddad C.F.B., Rodrigues M.T., Moritz C. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot // Science. Vol. 323, № 5915. P. 785–789.

104. Carpenter K.E., Barber P.H., Crandall E.D., Ablan-Lagman M.C.A., Mahardika G.N., Manjaji-Matsumoto B.M., Juinio-Meñez M.A., Santos M.D., Starger C.J., Toha A.H.A. Comparative phylogeography of the Coral Triangle and implications for marine management // Journal of Marine Biology. 2011. Vol. 2011. 14 p.

105. Carstens B.C., Richards C.L. Integrating coalescent and ecological niche modeling in comparative phylogeography // Evolution. 2007. Vol. 61, № 6. P. 1439–1454.

106. Churikov D., Matsuoka M., Luan X., Gray A.K., Brykov V.L., Gharrett A.J. Assessment of concordance among genealogical reconstructions from various mtDNA segments in three species of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) // Molecular Ecology. 2001. Vol. 10, № 9. P. 2329–2339.

107. Clark P.U., Dyke A.S., Shakun J.D., Carlson A.E., Clark J., Wohlfarth B., Mitrovica J.X., Hostetler S.W., McCabe A.M. The last glacial maximum // Science. 2009. Vol. 325, № 5941. P. 710–714.

108. Cornuet J-M., Santos F., Beaumont M.A., Robert C.P., Marin J-M., Balding D.J., Guillemaud T., Estoup A. Inferring population history with DIY ABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation // Bioinformatics. 2008. Vol. 24, № 23. P. 2713–2719.

109. Costello A.B., Down T.E., Pollard S.M., Pacas C.J., Taylor E.B. The influence of history and contemporary stream hydrology on the evolution of genetic diversity within species: an examination of microsatellite DNA variation in bull

trout, *Salvelinus confluentus* (Pisces: Salmonidae) // Evolution. 2003. Vol. 57, № 2. P. 328–344.

110. 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. Vol. 7, № 10. P. e46662.

111. Crandall K.A., Templeton A.R. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction // Genetics. 1993. Vol. 134, № 3. P. 959–969.

112. Crandall E.D., Sbrocco E.J., Deboer T.S., Barber P.H., Carpenter K.E. Expansion dating: calibrating molecular clocks in marine species from expansions onto the Sunda Shelf following the Last Glacial Maximum // Molecular Biology and Evolution. 2012. Vol. 29, № 2. P. 707–719.

113. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing // Nature Methods. 2012. Vol. 9, № 8. P. e772.

114. Davies T.J., Savolainen V., Chase M.W., Moat J., Barraclough T.G. Environmental energy and evolutionary rates in flowering plants // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2004. Vol. 271, № 1553. P. 2195–2200.

115. Díaz-Ferguson E., Robinson J.D., Silliman B., Wares J.P. Comparative phylogeography of North American Atlantic salt marsh communities // Estuaries and Coasts. 2010. Vol. 33, № 4. P. 828–839.

116. Domingues V.S., Santos R.S., Brito A., Alexandrou M., Almada V.C. Mitochondrial and nuclear markers reveal isolation by distance and effects of Pleistocene glaciations in the northeastern Atlantic and Mediterranean populations of the white seabream (*Diplodus sargus*, L.) // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2007. Vol. 346, № 1–2. P. 102–113.

117. Donnelly P., Tavaré S. Coalescents and genealogical structure under neutrality // Annual Review of Genetics. 1995. Vol. 29, № 1. P. 401–421.

118. Dolman G., Moritz C.A Multilocus perspective on refugial isolation and divergence in rainforest skinks (*Carlia*) // Evolution. 2006. Vol. 60, № 3. P. 573–582.

119. Douzery E.J., Snell E.A., Bapteste E., Delsuc F., Philippe H. The timing of eukaryotic evolution: does a relaxed molecular clock reconcile proteins and fossils? // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2004. Vol. 101, № 43. P. 15386–15391.

120. Drummond A.J., Rambaut A., Shapiro B., Pybus O.G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences // Molecular Biology and Evolution. 2005. Vol. 22, № 5. P. 1185–1192.

121. Drummond A.J., Ho S.Y.W., Phillips M.J., Rambaut A. Relaxed Phylogenetics and dating with confidence // PLOS Biology. 2006. Vol. 4, № 5. e88.

122. Drummond A.J., Suchard M.A. Bayesian random local clocks, or one rate to rule them all // BMC Biology. 2010. Vol. 8, № 114. P. 1–12.

123. Drummond A.J., Suchard M.A., Xie D., Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 // Molecular Biology and Evolution. 2012. Vol. 29, № 8. P. 1969–1973.

124. Dusfour I., Michaux J.R., Harbach R.E., Manguin S. Speciation and phylogeography of the Southeast Asian *Anopheles sundaicus* complex // Infection, Genetics and Evolution. 2007. Vol. 7, № 4. P. 484–493.

125. Edo K., Kawaguchi Y., Nunokawa M., Kawamula H., Higashi S. Morphology, stomach contents and growth of the endangered salmonid, Sakhalin taimen *Hucho perryi*, captured in the Sea of Okhotsk, northern Japan: evidence of an anadromous form // Environmental Biology of Fishes. 2005. Vol. 74, № 1. P. 1–7.

126. Emerson B.C., Paradis E., Thébaud C. Revealing the demographic histories of species using DNA sequences // Trends in ecology and evolution. 2001. Vol. 16, № 12. P. 707–716.

127. Emerson B.C. Alarm bells for the molecular clock? No support for Ho et al.'s model of time-dependent molecular rate estimates // Systematic Biology. 2007. Vol. 56, № 2. P. 337–345.

128. Emerson B.C., Hickerson M.J. Lack of support for the time-dependent molecular evolution hypothesis // Molecular ecology. 2015. Vol. 24, № 4. P. 702–709.

129. Excoffier L., Foll M., Petit R.J. Genetic consequences of range expansions // Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics. 2009. Vol. 40. P. 481–501.

130. Excoffier L., Heckel G. Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide // Nature Reviews Genetics. 2006. Vol. 7, № 10. P. 745–758.

131. Fahey A.L., Ricklefs R.E., Dewoody J.A. DNA-based approaches for evaluating historical demography in terrestrial vertebrates // Biological Journal of the Linnean Society. 2014. Vol. 112, № 3. P. 367–386.

132. Fernandes A.M., Wink M., Aleixo A. Phylogeography of the chestnut-tailed antbird (*Myrmeciza hemimelaena*) clarifies the role of rivers in Amazonian biogeography // Journal of Biogeography. 2012. Vol. 39, № 8. P. 1524–1535.

133. Finlay E.K., Gaillard C., Vahidi S.M.F., Mirhoseini S.Z., Jianlin H., Qi X.B., El-Barody M.A.A, Baird J.F., Healy B.C., Bradley D.G. Bayesian inference of population expansions in domestic bovines // Biology Letters. 2007. Vol. 3, № 4. P. 449–452.

134. Fritz U., Fattizzo T., Guicking D., Tripepi S., Pennisi M. G., Lenk P., Joger U., Wink M. A new cryptic species of pond turtle from southern Italy, the hottest spot in the range of the genus *Emys* (Reptilia, Testudines, Emydidae) // Zoologica Scripta. 2005. Vol. 34, № 4. P. 351–371.

135. Goto A. Freshwater Fishes in Japan. Tokyo: Tokai University Press. 1987. 187 p.

136. Fukushima M., Shimazaki H., Rand P.S., Kaeriyama M. Reconstructing Sakhalin taimen *Parahucho perryi* historical distribution and identifying causes for

local extinctions // Transactions of the American Fisheries Society. 2011. Vol. 140, № 1. P. 1–13.

137. Galbreath K.E., Hafner D.J., Zamudio K.R. When cold is better: climate-driven elevation shifts yield complex patterns of diversification and demography in an Alpine specialist (American pike, *Ochotona princeps*) // Evolution. 2009. Vol. 63, № 11. P. 2848–2863.

138. Gaut B.S., Muse S.V., Clark W.D., Clegg M.T. Relative rates of nucleotide substitution at the *rbc*L locus of monocotyledonous plants // Journal of Molecular Evolution. 1992. Vol. 35, № 4. P. 292–303.

139. Galtier N., Jobson R.W., Nabholz B., Glémin S., Blier P.U. Mitochondrial whims: metabolic rate, longevity and the rate of molecular evolution // Biology Letters. 2009. Vol. 5, № 3. P. 413–416.

140. Gharrett A.J., Gray A.K., Brykov Vl.A. Phylogeoraphic analysis of mitochondrial DNA variation in Alaskan coho salmon, *Oncorhynchus kisuch* // Fishery Bulletin. 2001. Vol. 99, № 4. P. 528–544.

141. Gibbard P., Kolfschoten T.V. The Pleistocene and Holocene Epochs. In: Gradstein F.M., Ogg J.G., Smith A.G. (eds.) A Geologic Time Scale 2004. Cambridge: Cambridge University Press. 2004. P. 441–452.

142. Gilbert M.T., Tomsho L.P., Rendulic S., Packard M., Drautz D.I., Sher A., Tikhonov A., Dalén L., Kuznetsova T., Kosintsev P., Campos P.F., Higham T., Collins M.J., Wilson A.S., Shidlovskiy F., Buigues B., Ericson P.G., Germonpré M., Götherström A., Iacumin P., Nikolaev V., Nowak-Kemp M., Willerslev E., Knight J.R., Irzyk G.P., Perbost C.S., Fredrikson K.M., Harkins T.T., Sheridan S., Miller W., Schuster S.C. Whole-Genome Shotgun Sequencing of Mitochondria from Ancient Hair Shafts // Science. 2007. Vol. 317, № 5846. P. 1927–1930.

143. Givnish T.J., Evans T.M., Zjhra M.L., Patterson T.B., Berry P.E., Sytsma K.J. Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndh*F sequences and morphology // Evolution. 2000. Vol. 54, № 6. P. 1915–1937.

144. Gompert Z., Fordyce J.A., Forister M.L., Nice C.C. Recent colonization and radiation of North American *Lycaeides* (*Plebejus*) inferred from mtDNA // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2008. Vol. 48, № 2. P. 481–490.

145. Gratton P., Konopinski M.K., Sbordoni V. Pleistocene evolutionary history of the Clouded Apollo (*Parnassius mnemosyne*): genetic signatures of climate cycles and a 'time-dependent' mitochondrial substitution rate. Molecular Ecolology. 2008. Vol. 17, № 19. P. 4248–4262.

146. Grant W.S., Bowen B.W. Living in a tilted world: climate change and geography limit speciation in Old World anchovies (*Engraulis*; Engraulidae) // Biological Journal of the Linnean Society. 2006. Vol. 88, № 4. P. 673–689.

147. Grant W.S. Problems and cautions with sequence mismatch analysis and Bayesian skyline plots to infer historical demography // Journal of Heredity. 2015. Vol. 106, № 4. P. 333–346.

148. Griffiths R.C., Tavaré S. Sampling theory for neutral alleles in a varying environment // Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 1994. Vol. 344, № 1310. P. 403–410.

149. Griffiths R.C., Marjoram P. Ancestral inference from samples of DNA sequences with recombination // Journal of Computational Biology. 1996. Vol. 3, № 4. P. 479–502.

150. 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.

151. Head M.J., Pillans B., Farquhar S.A. The Early-Middle Pleistocene transition: characterization and proposed guide for the defining boundary // Episodes. 2008. Vol. 31, № 2. P. 255–259.

152. Henriques R., Potts W.M., Sauer W.H.H., Shaw P.W. Evidence of deep genetic divergence between populations of an important recreational fishery species, *Lichia amia* L. 1758, around southern Africa // African Journal of Marine Science. 2012. Vol. 34, № 4. P. 585–591.

153. Heled J., Drummond A.J. Bayesian inference of population size history from multiple loci // BMC Evolutionary Biology. 2008. Vol. 8, № 289. P. 1–15.

154. Hewitt G.M. Post-glacial re-colonization of European biota // Biological Journal of the Linnean Society. 1999. Vol. 68, № 1–2. P. 87–112.

155. Hewitt G.M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2004. Vol. 359, № 1442. P.183–110.

156. Hewitt G.M. Quaternary phylogeography: the roots of hybrid zones // Genetica. 2011. Vol. 139, № 5. P. 617–638.

157. Hey J., Nielsen R. Multilocus methods for estimating population sizes, migration rates and divergence time, with applications to the divergence of *Drosophila pseudoobscura* and *D. persimilis* // Genetics. 2004. Vol. 167, № 2. P. 747–760.

158. Hey J., Won Y-J., Sivasundar A., Nielsen R., Markert J.A. Using nuclear haplotypes with microsatellites to study gene flow between recently separated cichlid species // Molecular Ecology. 2004. Vol. 13, № 4. P. 909–919.

159. Ho S.Y.W., Phillips M.J., Cooper A., Drummond A.J. Time dependency of molecular rate estimates and systematic overestimation of recent divergence times // Molecular Biology and Evolution. 2005. Vol. 22, № 7. P. 1561–1568.

160. Ho S.Y.W. Calibrating molecular estimates of substitution rates and divergence times in birds // Journal of Avian Biology. 2007. Vol. 38, № 4. P. 409–414.

161. Ho S.Y.W., Kolokotronis S.O., Allaby R.G. Elevated substitution rates estimated from ancient DNA sequences // Biology Letters. 2007. Vol. 3, № 6. P. 702–705.

162. Ho S.Y.W., Shapiro B. Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences // Molecular Ecology Resources. 2011. Vol. 11, № 3. P. 423–434.

163. Ho S.Y.W., Lanfear R., Bromham L., Phillips M.J., Soubrier J., Rodrigo A.G., Cooper A. Time-dependent rates of molecular evolution // Molecular ecology. 2011. Vol. 20, № 15. P. 3087–3101.

164. Honda K., Arai T., Takahashi N., Miyashita K. Life history and migration of Sakhalin taimen, *Hucho perryi*, caught from Lake Akkeshi in eastern Hokkaido, Japan, as revealed by Sr:Ca ratios of otoliths // Ichthyological Research. 2010. Vol. 57, № 4. P. 416–421.

165. Holland B.S., Dawson M.N., Crow G.L., Hofmann D.K. (2004). Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands // Marine Biology. Vol. 145, № 6. P. 1119–1128.

166. Hope A.G., Waltari E., Dokuchaev E., Abramov S., Dupal T., Tsvetkova A., Henttonen H., MacDonald S.O., Kook J.A. High-latitude diversification within Eurasian least shrews and Alaska tiny shrews (Soricidae) // Journal of Mammalogy. 2010. Vol. 91, № 5. P. 1041–1057.

167. Horreo J.L., Palacín C., Alonso J.C., Milá B. A link between historical population decline in the threatened great bustard and human expansion in Iberia: evidence from genetic and demographic data // Biological Journal of the Linnean Society. 2013. Vol. 110, № 3. P. 518–527.

168. Huang D., Meier R., Todd P.A., Chou L.M. Slow mitochondrial COI sequence evolution at the base of the metazoan tree and its implications for DNA barcoding // Journal of Molecular Evolution. 2008. Vol. 66, № 2. P. 167–174.

169. Huson D.H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // Molecular Biology and Evolution. 2006. Vol. 23, № 2. P. 254–267.

170. Ibrahim K.M., Nichols R.A., Hewitt G.M. Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion // Heredity. 1996. Vol. 77. P. 282–291.

171. Ilves K.L., Taylor E.B. Molecular resolution of the systematic of a problematic group of fishes (Teleostei: Osmeridae) and evidence for morphological

homoplasy // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. Vol. 50, № 1. P. 163–178.

172. Kass R.E., Raftery A.E. Bayes factors // Journal of the American statistical association. 1995. Vol. 90, № 430. P. 773–795.

173. Ke Y., Su B., Song X., Lu D., Chen L., Li H., Qi C., Marzuki S., Deka R., Underhill P., Xiao C., Shriver M., Lell J., Wallace D., Wells R.S., Seielstad M., Oefner P., Zhu D., Jin J., Huang W., Chakraborty R., Chen Z., Jin L. African origin of modern humans in East Asia: a tale of 12,000 Y-chromosomes // Science. 2001. Vol. 292, № 5519. P. 1151–1153.

174. Kidd D.M., Ritchie M.G. Phylogeographic information systems: putting the geography into phylogeography // Journal of Biogeography. 2006. Vol. 33, № 11. P. 1851–1865.

175. Kingman J.F.C. The coalescent // Stochastic Processes and their Applications. 1982. Vol. 13, № 3. P. 235–248.

176. Kingman J.F.C. Origins of the coalescent: 1974-1982 // Genetics. 2000. Vol. 156, № 4. P. 1461–1463.

177. Klanten S.O., van Herwerden L., Choat J.H., Blair D. Patterns of lineage diversification in the genus *Naso* (Acanthuridae) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2004. Vol. 32, № 1. P. 221–235.

178. Klicka J., Zink R.M. The importance of recent ice ages in speciation: a failed paradigm // Science. 1997. Vol. 277, № 5332. P. 1666–1669.

179. Knowlton N., Weigt L.A. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 1998. Vol. 265, № 1412. P. 2257–2263.

180. Kodandaramaiah U. Tectonic calibrations in molecular dating // Current Zoology. 2011. Vol. 57, № 1. P. 116–124.

181. Korotky A., Grebennikova T., Razjigaeva N., Volkov V., Mokhova L., Ganzey L., Bazarova V. Marine terraces of western Sakhalin Island // Catena. 1997. Vol. 30, № 1. P. 61–81.

182. Korsten M., Ho S.Y.W., Davison J., Pähn B., Vulla E., Roht M., Tumanov I.L., Kojola I., Andersone-Lilley Z., Ozolins J., Pilot M., Mertzanis Y., Giannakopoulos A., Vorobiev A.A., Markov N.I., Saveljev A.P., Lyapunova E.A., Abramov A.V., Männil P., Valdmann H., Pazetnov S.V., Pazetnov V.S., Rõkov A.M., Saarma U. Sudden expansion of a single brown bear maternal lineage across northern continental Eurasia after the last ice age: a general demographic model for mammals? // Molecular Ecology. 2009. Vol. 18, № 9. P. 1963–1979.

183. Kondzela C., Crane P., Urawa S., Burger J., Varnavskaya N., Efremov V., Luan X., Templin W., Hayashizaki K., Wilmot R., Seeb L. Development of comprehensive allozyme baseline for Pacific Rim chum salmon (*Oncorhynchus keta*, Walbaum) // NPAFC Doc. 2002. № 629. P. 1–23.

184. Krone S.M., Neuhauser C. Ancestral processes with selection // Theoretical Population Biology. 1997. Vol. 51, № 3. P. 210–237.

185. Kumar S.A. A stepwise algorithm for finding minimum evolution trees // Molecular Biology and Evolution. 1996. Vol. 13, № 4. P. 584–593.

186. Kuhner M.K. Coalescent genealogy samplers: windows into population history // Trends in Ecology & Evolution. 2009. Vol. 24, № 2. P. 86–93.

187. Laakkonen H.M., Lajus D.L., Strelkov P., Väinölä R. Phylogeography of amphi-boreal fish: tracing the history of the Pacific herring *Clupea pallasii* in North-East European seas // BMC Evolutionary Biology. 2013. Vol. 13, № 67. P. 1–16.

188. Lecomte F., Grant W.S., Dodson J.J., Rodriguez-Sanchez R., Bowen B.W. Living with uncertainty: genetic imprints of climate shifts in East Pacific anchovy (*Engraulis mordax*) and sardine (*Sardinops sagax*) // Molecular Ecology. 2004. Vol. 13, № 8. P. 2169–2182.

189. Leitner T., Albert J. The molecular clock of HIV-1 unveiled through analysis of a known transmission history // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1999. Vol. 96, № 19. P. 10752–10757.

190. Lemmon A.R., Lemmon E.M. A likelihood framework for estimating phylogeographic history on a continuous landscape // Systematic Biology. 2008. Vol. 57, № 4. P. 544–561.

191. Lemey P., Pybus O.G., Wang B., Saksena N.K., Salemi M., Vandamme A.M. Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003. Vol. 100, № 11. P. 6588–6592.

192. Lepage T., Bryant D., Philippe H., Lartillot N. A general comparison of relaxed molecular clock models // Molecular Biology and Evolution. 2007. Vol. 24, № 12. P. 2669–2680.

193. Lessios H.A. The great American schism: divergence of marine organisms after the rise of the Central American Isthmus // Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics. 2008. Vol. 39. P. 63–91.

194. Li S.H., Yeung C.K., Feinstein J., Han L., Le M.H., Wang C.X., Ding P. Sailing through the Late Pleistocene: unusual historical demography of an East Asian endemic, the Chinese Hwamei (*Leucodioptron canorum canorum*), during the last glacial period // Molecular Ecology. 2009. Vol. 18, № 4. P. 622–633.

195. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. Vol. 25, № 11. P. 1451–1452.

196. Liu J.X., Tatarenkov A., Beacham T.D., Gorbachev V., Wildes S., Avise J.C. Effects of Pleistocene climatic fluctuations on the phylogeographic and demographic histories of Pacific herring (*Clupea pallasii*) // Molecular Ecology. 2011. Vol. 20, № 18. P. 3879–3893.

197. Marjoram P., Donnelly P. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implications for early human evolution // Genetics. 1994. Vol. 136, № 2. P. 673–683.

198. Marko P.B., Hart M.W. Retrospective coalescent methods and the reconstruction of metapopulation histories in the sea // Evolutionary Ecology. 2012. Vol. 26, № 2. P. 291–315.

199. Martin A.P., Palumbi S.R. Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1993. Vol. 90, № 9. P. 4087–4091.

200. Martinson D.G., Pisias N.G., Hays J.D., Imbrie J.D., Moore T.C., Shackleton N.J. Age dating and isotopic analyses of sediment core RC11-120 // Quaternary Research. 1987. Vol. 27. P. 1–29.

201. Martinez P., Gonzalez E.G., Castilho R., Zardoya R. Genetic diversity and historical demography of Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2006. Vol. 39, № 2. P. 404–416.

202. Marino I.A., Pujolar J.M., Zane L. Reconciling deep calibration and demographic history: Bayesian inference of post glacial colonization patterns in *Carcinus aestuarii* (Nardo, 1847) and *C. maenas* (Linnaeus, 1758) // PLOS ONE. 2011. Vol. 6, № 12. P. e28567.

203. Marko P.B. Fossil calibration of molecular clocks and the divergence times of geminate species pairs separated by the Isthmus of Panama // Molecular Biology and Evolution. 2002. Vol. 19, № 11. P. 2005–2021.

204. Mattoccia M., Marta S., Romano A., Sbordoni V. Phylogeography of an Italian endemic salamander (genus *Salamandrina*): glacial refugia, postglacial expansions, and secondary contact // Biological Journal of the Linnean Society. 2011. Vol. 104, № 4. P. 903–992.

205. Mayr E. Animal Species and Evolution. Cambridge: Harvard University Press. 1963. 797 p.

206. McCormack J.E., Bowen B.S., Smith T.B. Integrating paleoecology and genetics of bird populations in two sky island archipelagos // BMC Biology. 2008. Vol. 6, № 28. P. 1–12.

207. McKay S.J., Devlin R.H., Smith M.J. Phylogeny of Pacific salmon and trout based on growth hormone type-2 and mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 DNA sequences // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1996. Vol. 53, № 5. P. 1165–1176.

208. McRae B.H. Isolation by resistance // Evolution. 2006. Vol. 60, № 8. P. 1551–1561.

209. Mello B., Schrago C.G. Incorrect handling of calibration information in divergence time inference: an example from volcanic islands // Ecology and Evolution. 2012. Vol. 2, № 3. P. 493–500.

210. Metzker M.L. Sequencing technologies-the next generation // Nature Reviews Genetics. 2010. Vol. 11, № 1. P. 31–46.

211. Miller K., Mountain G., Wright J., Browning J. A 180-Million-Year Record of Sea Level and Ice Volume Variations from Continental Margin and Deep-Sea Isotopic Records // Oceanography. 2011. Vol. 24, № 2. P. 40–53.

212. Miller M.A., Pfeiffer W., Schwartz T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans. 2010. P. 1–8.

213. Molak M., Lorenzen E.D., Shapiro B., Ho S.Y.W. Phylogenetic estimation of timescales using ancient DNA: the effects of temporal sampling scheme and uncertainty in sample ages // Molecular Biology and Evolution. 2013. Vol. 30, № 2. P. 253–262.

214. Mora C., Chittaro P.M., Sale P.F., Kritzer J.P., Ludsin S.A. Patterns and processes in reef fish diversity // Nature. 2003. Vol. 421, № 6926. P. 933–936.

215. Myers E.A., Weaver R.E., Alamillo H. Population stability of the northern desert nightsnake (*Hypsiglena chlorophaea deserticola*) during the Pleistocene // Journal of Herpetology. 2013. Vol. 47, № 3. P. 432–439.

216. Naderi S., Rezaei, H.R., Pompanon F., Blum M.G., Negrini R., Naghash H.R., Balkiz O., Mashkour M., Gaggiotti O.E., Ajmone-Marsan P., Kence A., Vigne J.D., Taberlet P. The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008. Vol. 105, № 46. P. 17659–17664.

217. Navascués M., Emerson B.C. Elevated substitution rate estimates from ancient DNA: model violation and bias of Bayesian methods // Molecular Ecology. 2009. Vol. 18, № 21. P. 4390–4397.

218. Navascués M., Depaulis F., Emerson B.C. Combining contemporary and ancient DNA in population genetic and phylogeographical studies // Molecular Ecology Resources. 2010. Vol. 10, № 5. P. 760–772.

219. Nei M., Maruyama T., Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variation in populations // Evolution. 1975. Vol. 29, № 1. P. 1–10.

220. Nei M., Xu P., Glazko G. Estimation of divergence times from multiprotein sequences for a few mammalian species and several distantly related organisms // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001. Vol. 98, № 5. P. 2497–2502.

221. Nielsen E.E., Nielsen P.H., Meldrup D., Hansen M.M. Genetic population structure of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) supports the presence of multiple hybrid zones for marine fishes in the transition zone between the Baltic Sea and the North Sea // Molecular Ecology. 2004. Vol. 13, № 3. P. 585–595.

222. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // Bioinformatics. 2012. Vol. 28, № 8. P. 1166–1167.

223. Orr M.R., Smith T.B. Ecology and speciation // Trends in Ecology & Evolution. 1998. Vol. 13, № 12. P. 502–506.

224. Papadopoulou A., Anastasiou I., Vogler A.P. Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration // Molecular Biology and Evolution. 2010. Vol. 27, № 7. P. 1659–1672.

225. Perdices A., Doadrio I., Economidis P.S., Bohlen J., Bănărescu P. Pleistocene effects on the European freshwater fish fauna: double origin of the cobitid genus *Sabanejewia* in the Danube basin (Osteichthyes: Cobitidae) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2003. Vol. 26, № 2. P. 289–299.

226. Peng Z., Ho S.Y.W., Zhang Y., He S. Uplift of the Tibetan plateau: Evidence from divergence times of glyptosternoid catfishes // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2006. Vol. 39, № 2. P. 568–572.

227. Peterson K.J., Lyons J.B., Nowak K.S., Takacs C.M., Wargo M.J., McPeek M.A. Estimating metazoan divergence times with a molecular clock //

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2004. Vol. 101, № 17. P. 6536–6541.

228. Pfeiler E., Johnson S., Richmond M.P., Markow T.A. Population genetics and phylogenetic relationships of beetles (Coleoptera: Histeridae and Staphylinidae) from the Sonoran Desert associated with rotting columnar cacti // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2013. Vol. 69, № 3. P. 491–501.

229. Phelps S.R., LeClair L.L., Young S., Blankenship H.L. Genetic diversity patterns of chum salmon in the Pacific Northwest // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1994. Vol. 51, № S1. P. 65–83.

230. Prentice I.C., Sykes M.T., Cramer W. The possible dynamic response of northern forests to global warming // Global Ecology and Biogeography Letters. 1991. Vol. 1, № 5. P. 129–135.

231. Prost S., Smirnov N., Fedorov V.B., Sommer R.S., Stiller M., Nagel D., Knapp M., Hofreiter M. Influence of climate warming on arctic mammals? New insights from ancient DNA studies of the collared lemming *Dicrostonyx torquatus* // PLOS ONE. 2010. Vol. 5, № 5. P. e10447.

232. Pulquério M.J., Nichols R.A. Dates from the molecular clock: how wrong can we be? // Trends in Ecology & Evolution. 2007. Vol. 22, № 4. P. 180–184.

233. Puritz J.B., Addison J.A., Toonen R.J. Next-generation phylogeography: a targeted approach for multilocus sequencing of non-model organisms // PLOS ONE. 2012. Vol. 7, № 3. P. e34241.

234. Pybus O.G., Rambaut A., Harvey P.H. An integrated framework for the inference of viral population history from reconstructed genealogies // Genetics. 2000. Vol. 155, № 3. P. 1429–1437.

235. Qu Y., Luo X., Zhang R., Song G., Zou F., Lei F. Lineage diversification and historical demography of a montane bird *Garrulax elliotii* – implications for the Pleistocene evolutionary history of the eastern Himalayas // BMC Evolutionary Biology. 2011. Vol. 11, № 174. P. 1–17.

236. Rand P.S. [Электронный ресурс]. *Hucho perryi*: The IUCN Red List of Threatened Species. 2006. Режим доступа: http://www.iucnredlist.org/details/61333/0 (дата обращения: 05.06.2017).

237. Rajabi-Maham H., Orth A., Bonhomme F. Phylogeography and postglacial expansion of *Mus musculus domesticus* inferred from mitochondrial DNA coalescent, from Iran to Europe // Molecular Ecology. 2008. Vol. 17, № 2. P. 627–641.

238. Rambaut A., Bromham L. Estimating divergence dates from molecular sequences // Molecular Biology and Evolution. 1998. Vol. 15, № 4. P. 442–448.

239. Rambaut A., Pybus O.G., Nelson M.I., Viboud C., Taubenberger J.K., Holmes E.C. The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus // Nature. 2008. Vol. 453, № 7195. P. 615–619.

240. Rambaut A., Suchard M.A., Xie D., Drummond A.J. Tracer v1.6. 2013. http://beast.bio.ed.ac.uk/software/tracer/.

241. Rambaut A. FigTree, a graphical viewer of phylogenetic trees. 2014. http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/.

242. Renner S.S. Relaxed molecular clocks for dating historical plant dispersal events // Trends in Plant Science. 2005. Vol. 10, № 11. P. 550–558.

243. Rocha L.A., Craig M.T., Bowen B.W. Phylogeography and the conservation of coral reef fishes // Coral Reefs. 2007. Vol. 26, № 3. P. 501–512.

244. Rogaev E.I., Moliaka Y.K., Malyarchuk B.A., Kondrashov F.A., Derenko M.V., Chumakov I., Grigorenko A.P. Complete mitochondrial genome and phylogeny of Pleistocene mammoth *Mammuthus primigenius* // PLOS Biology. 2006. Vol. 4, № 3. P. e73.

245. Rosvold J., Røed K.H., Hufthammer A.K., Andersen R., Stenøien H.K. Reconstructing the history of a fragmented and heavily exploited red deer population using ancient and contemporary DNA // BMC Evolutionary Biology. 2012. Vol. 12, № 191. P. 1–12.

246. Rundle H.D., Nagel L., Boughman J.W., Schluter D. Natural selection and parallel speciation in sympatric sticklebacks // Science. 2000. Vol. 287, № 5451. P. 306–308.

247. Sakai H. Life-histories and genetic divergence in three species of *Tribolodon* (Cyprinidae) // Memoirs of the Faculty of Fisheries Hokkaido University. 1995. Vol. 42, № 1–2. P. 1–98.

248. Sakai H., Goto A., Jeon S.R. Speciation and dispersal of *Tribolodon* species (Pisces, Cyprinidae) around the Sea of Japan // Zoological Science. 2002. Vol. 19, № 11. P. 1291–1303.

249. Salo E.O. Life History of Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*). In: Groot C., Margolis L. (eds.) Pacific Salmon Life Histories. Vancouver: UBC Press. 1991. P. 231–311.

250. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989. 1626 p.

251. Sanderson M.J. A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy // Molecular Biology and Evolution. 1997. Vol. 14, № 12. P. 1218–1231.

252. Sasaki T., Kartavtsev Y.P., Chiba S.N., Uematsu T., Sviridov V.V., Hanzawa N. Genetic divergence and phylogenetic independence of Far Eastern species in subfamily Leuciscinae (Pisces: Cyprinidae) inferred from mitochondrial DNA analyses // Genes and Genetic Systems. 2007. Vol. 82, № 4. P. 329–340.

253. Scally A., Durbin R. Revising the human mutation rate: implications for understanding human evolution // Nature Reviews Genetics. 2012. Vol. 13, № 10. P. 745–753.

254. Schoville S.D., Roderick G.K. Alpine biogeography of Parnassian butterflies during Quaternary climate cycles in North America // Molecular Ecology. 2009. Vol. 18, № 16. P. 3471–3485.

255. Schluter D. Ecology and the origin of species // Trends in Ecology and Evolution. 2001. Vol. 16, № 7. P. 372–380.

256. Sevilla R.G., Diez A., Norén M., Mouchel O., Jérôme M., Verrez-Bagnis V., van Pelt H., Favre-Krey L., Krey G., The Fishtrace Consortium, Bautista J.M. Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial cytochrome b and nuclear rhodopsin genes // Molecular Ecology Notes. 2007. Vol. 7, № 5. P. 730–734.

257. Shapiro B., Drummond A.J., Rambaut A., Wilson M.C., Matheus P.E., Sher A.V., Pybus O.G., Gilbert M.T., Barnes I., Binladen J., Willerslev E., Hansen A.J., Baryshnikov G.F., Burns J.A., Davydov S., Driver J.C., Froese D.G., Harington C.R., Keddie G., Kosintsev P., Kunz M.L., Martin L.D., Stephenson R.O., Storer J., Tedford R., Zimov S., Cooper A. Rise and fall of the Beringian steppe bison // Science. 2004. Vol. 306, № 5701. P. 1561–1565.

258. Shaw P.W., Arkhipkin A.I., Al-Khairulla H. Genetic structuring of Patagonian toothfish populations in the Southwest Atlantic Ocean: the effect of the Antarctic Polar Front and deep-water troughs as barriers to genetic exchange // Molecular Ecology. 2004. Vol. 13, № 11. P. 3293–3303.

259. Shen K-N., Jamandre B.W., Hsu C-C., Tzeng W-N., Durand J-D. Plio-Pleistocene sea level and temperature fluctuations in the northwestern Pacific promoted speciation in the globally-distributed flathead mullet *Mugil cephalus* // BMC Evolutionary Biology. 2011. Vol. 11, № 83. P.1–17.

260. Smith G.R. Introgression in fishes: significance for paleontology, cladistics, and evolutionary rates // Systematic Biology. 1992. Vol. 41, № 1. P. 41–57.

261. Smith S.A., Donoghue M.J. Rates of molecular evolution are linked to life history in flowering plants // Science. 2008. Vol. 322, № 5898. P. 86–89.

262. Song G., Qu Y., Yin Z., Li S., Liu N., Lei F. Phylogeography of the *Alcippe morrisonia* (Aves: Timaliidae): long population history beyond late Pleistocene glaciations // BMC Evolutionary Biology. 2009. Vol. 9, № 143. P. 1–11.

263. Städler T., Haubold B., Merino C., Stephan W., Pfaffelhuber P. The impact of sampling schemes on the site frequency spectrum in nonequilibrium subdivided populations // Genetics. 2009. Vol. 182, № 1. P. 205–216.

264. Stamford M.D., Taylor E.B. Phylogeographical lineages of Arctic grayling (*Thymallus arcticus*) in North America: divergence, origins, and affinities with Eurasian *Thymallus* // Molecular Ecology. 2004. Vol. 13, № 6. P. 1533–1549.

265. Stepien C.A., Dillon A.K., Patterson A.K. Population genetics, phylogeography, and systematics of the thornyhead rockfish (*Sebastolobus*) along the deep continental slopes of the North Pacific Ocean // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2000. Vol. 57, № 8. P. 1701–1717.

266. Stiller M., Green R.E., Ronan M., Simons J.F., Du L., He W., Egholm M., Rothberg J.M., Keates S.G., Ovodov N.D., Antipina E.E., Baryshnikov G.F., Kuzmin Y.V., Vasilevski A.A., Wuenschell G.E., Termini J., Hofreiter M., Jaenicke-Després V., Pääbo S. Patterns of nucleotide misincorporations during enzymatic amplification and direct large-scale sequencing of ancient DNA // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006. Vol. 103, № 37. P. 13578–13584.

267. Stiller M., Baryshnikov G., Bocherens H., d'Anglade A.G., Hilpert B., Münzel S.C., Pinhasi R., Rabeder G., Rosendahl W., Trinkaus E., Hofreiter M., Knapp M. Withering away – 25,000 years of genetic decline preceded cave bear extinction // Molecular Biology and Evolution. 2010. Vol. 27, № 5. P. 975–978.

268. Strimmer K., Pybus O.G. Exploring the demographic history of DNA sequences using the generalized skyline plot // Molecular Biology and Evolution. 2001. Vol. 18, № 12. P. 2298–2305.

269. Suchard M.A., Weiss R.E., Sinsheimer J.S. Bayesian selection of continuous-time Markov chain evolutionary models // Molecular Biology and Evolution. 2001. Vol. 18, № 6. P. 1001–1013.

270. Suzuki K., Yoshitomi T., Kawaguchi Y., Ichimura M., Edo K., Otake T. Migration history of Sakhalin taimen *Hucho perryi* captured in the sea of

Okhotsk, Northern Japan, using otolith Sr:Ca ratios // Fisheries Science. 2011. Vol. 77, № 3. P. 313–320.

271. Swofford D.L., Olsen G.J., Waddell P.J. Phylogenetic inference. In: Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. (eds.) Molecular Systematics, 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates. 1996. P. 407–514.

272. Tajima F. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations // Genetics. 1983. Vol. 105, № 2. P. 437–460.

273. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods // Molecular Biology and Evolution. 2011. Vol. 28, № 10. P. 2731–2739.

274. Taylor E.B., Stamford M.D., Baxter J.S. Population subdivision in westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*) at the northern periphery of its range: evolutionary inferences and conservation implications // Molecular Ecology. 2003. Vol. 12. P. 2609–2622.

275. Taylor R.E. Radiocarbon dating. In: Taylor R.E., Aitken M.J. (eds.) Chronometric Dating in Archaeology. Springer. 1997. P. 65–96.

276. Templeton A.R, Routman E., Phillips C.A. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum* // Genetics. 1995. Vol. 140, № 2. P. 767–782.

277. Terranova M., Lo Brutto S., Arculeo M., Mitton J.B. A mitochondrial phylogeography of *Brachidontes variabilis* (Bivalvia: Mytilidae) reveals three cryptic species // Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research. 2007. Vol. 45, № 4. P. 289–298.

278. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Research. 1994. Vol. 22, № 22. P. 4673–4680.

279. Thorne J.L., Kishino H., Painter I.S. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution // Molecular Biology and Evolution. 1998. Vol. 15, № 12. P. 1647–1657.

280. Trontelj P., Machino Y., Sket B. Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2005. Vol. 34, № 1. P. 212–226.

281. Vawter L., Brown W.M. Nuclear and mitochondrial DNA comparisons reveal extreme rate variation in the molecular clock // Science. 1986. Vol. 234, № 4773. P. 194–196.

282. Vladykov V.D. A review of salmonid genera and their broad geographical distribution // Transactions of the Royal Society of Canada, 1963. Vol. 1. Ser. IV. Sec. III. P. 459–504.

283. Ward R.D., Zemlak T.S., Innes B.H., Last P.R., Hebert P.D. DNA barcoding Australia's fish species // Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 2005. Vol. 360, № 1462. P. 1847–1857.

284. White C., Selkoe K.A., Watson J., Siegel D.A., Zacherl D.C., Toonen R.J. Ocean currents help explain population genetic structure // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2010. Vol. 277, № 1688. P. 1685–1694.

285. Wakeley J. Inferences about the structure and history of populations: coalescents and intraspecific phylogeography. In: Singh R., Uyenoyama M. (eds.) The Evolution of Population Biology. Cambridge: Cambridge University Press. 2004. P. 193–213.

286. Wakeley J. Coalescent Theory: An Introduction. Greenwood Village: Roberts & Company Publishers. 2009. 220 p.

287. Wakeley J. Complex speciation of humans and chimpanzees // Nature. 2008. Vol. 452, № 7184. P. e3–e4.

288. Waltari E., Hijmans R.J., Peterson A.T., Nyári Á.S., Perkins S.L., Guralnick R.P. Locating Pleistocene refugia: comparing phylogeographic and ecological niche model predictions // PLOS ONE. 2007. Vol. 2, № 7. P. e563.

289. Waters J.M., Rowe D.L., Apte S., King T.M., Wallis G.P., Anderson L., Norris R.J., Craw D., Burridge C.P. Geological dates and molecular rates: rapid divergence of rivers and their biotas // Systematic Biology. 2007. Vol. 56, № 2. P. 271–282.

290. Wilson W.D., Turner T.F. Phylogenetic analysis of the Pacific cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki* ssp.: Salmonidae) based on partial mtDNA ND4 sequences: a closer look at the highly fragmented inland species // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. Vol. 52, № 2. P. 406–415.

291. Woodburne M.O. The Great American Biotic Interchange: dispersals, tectonics, climate, sea level and holding pens // Journal of Mammalian Evolution. 2010. Vol. 17, № 4. P. 245–264.

292. Wu C.I., Li W.H. Evidence for higher rates of nucleotide substitutions in rodents than in man // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1985. Vol. 82, № 6. P. 1741–1745.

293. Yang S., Dong H., Lei F. Phylogeography of regional fauna on the Tibetan Plateau: a review // Progress in Natural Science. 2009. Vol. 19, № 7. P. 789–799.

294. Yoder A.D., Yang Z. Estimation of primate speciation dates using local molecular clocks // Molecular Biology and Evolution. 2000. Vol. 17, № 7. P. 1081–1090.

295. Yoon M., Sato S., Seeb J.E., Brykov V., Seeb L.W., Varnavskaya N.V., Wilmot R.L., Jin D.H., Urawa S., Urano A., Abe S. Mitochondrial DNA variation and genetic population structure of chum salmon *Oncorhynchus keta* around the Pacific Rim // Journal of Fish Biology. 2008. Vol. 73, № 5. P.1256–1266.

296. Yu J-N., Azuma N., Yoon M., Brykov V., Urawa S., Nagata M., Jin D-H., Abe S. Population genetic structure and phylogeography of masu salmon (*Oncorhynchus masou masou*) inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses // Zoological Science. 2010. Vol. 27, № 5. P. 375–385.

297. Yu G., Zhang M., Rao D., Yang J. Effect of pleistocene climatic oscillations on the phylogeography and demography of red knobby newt

(*Tylototriton shanjing*) from Southwestern China // PLOS ONE. 2013. Vol. 8, № 2. P. e56066.

298. Zardoya R., Doadrio I. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids // Journal of Molecular Evolution. 1999. Vol. 49, № 2. P. 227–237.

299. Zhang D.X., Hewitt G.M. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects // Molecular Ecology. 2003. Vol. 12, № 3. P. 563–584.

300. Zhivotovsky L., Yurchenko A., Nikitin V., Safronov S., Shitova M., Zolotukhin S., Makeev S., Weiss S., Rand P., Semenchenko A. Eco-geographic units, population hierarchy, and a two-level conservation strategy with reference to a critically endangered salmonid, Sakhalin taimen *Parahucho perryi* // Conservation Genetics. 2015. Vol. 16, № 2. P. 431–441.

301. Zimmer A., Lang D., Richardt S., Frank W., Reski R., Rensing S.A. Dating the early evolution of plants: detection and molecular clock analyses of orthologs // Molecular Genetics and Genomics. 2007. Vol. 278, № 4. P. 393–402.

302. Zuckerkandl E., Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. In: Bryson V., Vogel H.J. (eds.) Evolving Genes and Proteins. New York: Academic Press. 1965. P. 97–166.

ПРИЛОЖЕНИЕ I

Таблица

Вариабельные сайты последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК, выявленные в выборках *Oncorhynchus keta*

Особи	Фрагменты генов и сайты нуклеотидных замен											
	COI				*cytb*							
	115	**337**	**370**	**622**	**891**	921	951	**969**	1062	1152	1326	**1353**
OKNAY091	C	C	A	C	G	A	C	G	A	T	G	G
OKNAY092	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY093	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY094	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY095	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY096	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY097	.	.	G	.	A	G	.	.	.	.	.	.
OKNAY098	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY099	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY0910	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.
OKNAR091	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKNAR092	T	T	.	T	A	.	.	.	.	.	.	C
OKNAR093	T	T	.	T	A	.	.	.	.	.	.	C
OKNAR094	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKNAR095	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAR096	T	T	G	T	A	.	.	.	G	.	.	.
OKNAR097	T	T	G	T	A	.	T	.	.	C	.	.
OKNAR098	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKNAR099	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKNAR0910	T	T	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKKIE091	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKKIE092	T	T	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKKIE093	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKKIE094	T	T	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKKIE095	T	T	G	T	A	.	.	A	.	.	.	.
OKKIE096	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKKIE097	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.
OKKIE098	T	T	G	T	A	.	.	A	.	.	.	.
OKKIE099	T	T	G	T	A	.	.	A	.	.	.	.
OKKIE0910	T	T	G	T	A	.	.	.	.	.	.	.

Таблица *(Продолжение)*

Особи	Фрагменты генов и сайты нуклеотидных замен							
	cytb							
	1354	**1392**	1431	1437	1563	**1584**	**1587**	**1612**
OKNAY091	G	A	T	G	G	G	C	A
OKNAY092	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY093	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY094	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY095	A	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY096	A	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY097	.	.	.	.	A	.	.	.
OKNAY098	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY099	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAY0910	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAR091	.	.	.	.	.	A	.	.
OKNAR092	.	.	.	.	.	A	.	T
OKNAR093	.	.	.	.	.	A	.	.
OKNAR094	.	.	.	.	.	A	T	.
OKNAR095	.	.	.	.	.	.	.	.
OKNAR096	.	.	.	.	.	A	.	.
OKNAR097	.	.	.	.	.	A	T	T
OKNAR098	.	.	C	.	.	A	.	.
OKNAR099	.	.	.	A	.	A	T	.
OKNAR0910	.	.	.	.	.	A	.	.
OKKIE091	.	.	.	.	.	A	.	.
OKKIE092	.	.	.	.	.	A	.	.
OKKIE093	.	.	.	.	.	A	.	.
OKKIE094	.	.	.	.	.	A	.	.
OKKIE095	.	G	.	.	.	A	.	.
OKKIE096	.	.	.	.	.	A	.	.
OKKIE097	.	.	.	.	.	A	.	.
OKKIE098	.	G	.	.	.	A	.	.
OKKIE099	.	G	.	.	.	A	.	.
OKKIE0910	.	.	.	.	.	A	.	.

Примечание: полужирным шрифтом выделены филогенетически информативные сайты нуклеотидных замен. Точками обозначены одинаковые позиции.

ПРИЛОЖЕНИЕ II

Таблица

Значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия выборок исследуемых видов по данным комбинированных нуклеотидных последовательностях мтДНК

Вид	Популяция, год сбора	Гаплотипическое разнообразие (h±*S.d.*)	Нуклеотидное разнообразие (π)
Oncorhynchus keta	р. Нарва, 2009	1,000±0,045	0,00226
	р. Киевка, 2009	0,689±0,104	0,00078
	р. Найба, 2009	0,644±0,152	0,00083
Parahucho perryi	р. Киевка, 1997	0,333±0,215	0,00028
	р. Максимовка	0,667±0,314	0,00043
	р. Тумнин, 1998, 2005, 2007	0,471±0,063	0,00150
	зал. Набильский, 2005, 2006, 2007	0,700±0,218	0,00447
	р. Леонидовка, 2014	0,000±0,000	0,00000
	оз. Айнское	0,758±0,110	0,00211
Tribolodon hakonensis	зал. Восток, 2003	0,417±0,191	0,00027
	р. Ильинка, 2005	0,978±0,054	0,00704
Tribolodon brandtii	зал. Восток, 2003	0,576±0,163	0,00227
	оз. Тунайча, 2010	0,000±0,000	0,00000

Примечание: *S.d.* – стандартное отклонение.

ПРИЛОЖЕНИЕ III

Таблица

Матрица генетических расстояний (*p*) и стандартное отклонение (*S.d.*) между исследуемыми особями кеты по объединенным фрагментам генов *COI* и *cytb*

№	Название особи	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	OKNAY091		0,0000	0,0000	0,0000	0,0006	0,0006	0,0013	0,0000	0,0000	0,0006	0,0014	0,0015	0,0014	0,0016
2	OKNAY092	0,0000		0,0000	0,0000	0,0006	0,0006	0,0013	0,0000	0,0000	0,0006	0,0014	0,0015	0,0014	0,0016
3	OKNAY093	0,0000	0,0000		0,0000	0,0006	0,0006	0,0013	0,0000	0,0000	0,0006	0,0014	0,0015	0,0014	0,0016
4	OKNAY094	0,0000	0,0000	0,0000		0,0006	0,0006	0,0013	0,0000	0,0000	0,0006	0,0014	0,0015	0,0014	0,0016
5	OKNAY095	0,0006	0,0006	0,0006	0,0006		0,0000	0,0014	0,0006	0,0006	0,0009	0,0016	0,0017	0,0016	0,0018
6	OKNAY096	0,0006	0,0006	0,0006	0,0006	0,0000		0,0014	0,0006	0,0006	0,0009	0,0016	0,0017	0,0016	0,0018
7	OKNAY097	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0030	0,0030		0,0013	0,0013	0,0014	0,0015	0,0018	0,0017	0,0017
8	OKNAY098	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0006	0,0006	0,0024		0,0000	0,0006	0,0014	0,0015	0,0014	0,0016
9	OKNAY099	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0006	0,0006	0,0024	0,0000		0,0006	0,0014	0,0015	0,0014	0,0016
10	OKNAY0910	0,0006	0,0006	0,0006	0,0006	0,0012	0,0012	0,0030	0,0006	0,0006		0,0016	0,0017	0,0015	0,0017
11	OKNAR091	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0043	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043		0,0011	0,0009	0,0006
12	OKNAR092	0,0043	0,0043	0,0043	0,0043	0,0049	0,0049	0,0055	0,0043	0,0043	0,0049	0,0018		0,0006	0,0012
13	OKNAR093	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0043	0,0049	0,0037	0,0037	0,0043	0,0012	0,0006		0,0011
14	OKNAR094	0,0043	0,0043	0,0043	0,0043	0,0049	0,0049	0,0043	0,0043	0,0043	0,0049	0,0006	0,0024	0,0018	
15	OKNAR095	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0006	0,0006	0,0024	0,0000	0,0000	0,0006	0,0037	0,0043	0,0037	0,0043
16	OKNAR096	0,0043	0,0043	0,0043	0,0043	0,0049	0,0049	0,0043	0,0043	0,0043	0,0049	0,0006	0,0024	0,0018	0,0012
17	OKNAR097	**0,0061**	**0,0061**	**0,0061**	**0,0061**	**0,0067**	**0,0067**	**0,0061**	**0,0061**	**0,0061**	**0,0067**	0,0024	0,0030	0,0037	0,0018
18	OKNAR098	0,0043	0,0043	0,0043	0,0043	0,0049	0,0049	0,0043	0,0043	0,0043	0,0049	0,0006	0,0024	0,0018	0,0012
19	OKNAR099	0,0049	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0055	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0012	0,0030	0,0024	0,0006
20	OKNAR0910	0,0030	0,0030	0,0030	0,0030	0,0037	0,0037	0,0043	0,0030	0,0030	0,0037	0,0006	0,0012	0,0006	0,0012
21	OKKIE091	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0043	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0000	0,0018	0,0012	0,0006
22	OKKIE092	0,0030	0,0030	0,0030	0,0030	0,0037	0,0037	0,0043	0,0030	0,0030	0,0037	0,0006	0,0012	0,0006	0,0012
23	OKKIE093	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0043	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0000	0,0018	0,0012	0,0006
24	OKKIE094	0,0030	0,0030	0,0030	0,0030	0,0037	0,0037	0,0043	0,0030	0,0030	0,0037	0,0006	0,0012	0,0006	0,0012
25	OKKIE095	0,0049	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0055	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0012	0,0030	0,0024	0,0018
26	OKKIE096	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0043	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0000	0,0018	0,0012	0,0006
27	OKKIE097	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0043	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0000	0,0018	0,0012	0,0006
28	OKKIE098	0,0049	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0055	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0012	0,0030	0,0024	0,0018
29	OKKIE099	0,0049	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0055	0,0049	0,0049	0,0049	0,0055	0,0012	0,0030	0,0024	0,0018
30	OKKIE0910	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0043	0,0037	0,0037	0,0037	0,0043	0,0000	0,0018	0,0012	0,0006

Таблица *(Продолжение)*

№	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	0,0000	0,0016	0,0018	0,0015	0,0017	0,0013	0,0014	0,0013	0,0014	0,0013	0,0017	0,0014	0,0014	0,0017	0,0017	0,0014
2	0,0000	0,0016	0,0018	0,0015	0,0017	0,0013	0,0014	0,0013	0,0014	0,0013	0,0017	0,0014	0,0014	0,0017	0,0017	0,0014
3	0,0000	0,0016	0,0018	0,0015	0,0017	0,0013	0,0014	0,0013	0,0014	0,0013	0,0017	0,0014	0,0014	0,0017	0,0017	0,0014
4	0,0000	0,0016	0,0018	0,0015	0,0017	0,0013	0,0014	0,0013	0,0014	0,0013	0,0017	0,0014	0,0014	0,0017	0,0017	0,0014
5	0,0006	0,0017	0,0020	0,0017	0,0019	0,0015	0,0016	0,0015	0,0016	0,0015	0,0018	0,0016	0,0016	0,0018	0,0018	0,0016
6	0,0006	0,0017	0,0020	0,0017	0,0019	0,0015	0,0016	0,0015	0,0016	0,0015	0,0018	0,0016	0,0016	0,0018	0,0018	0,0016
7	0,0013	0,0017	0,0019	0,0016	0,0018	0,0017	0,0015	0,0017	0,0015	0,0017	0,0018	0,0015	0,0015	0,0018	0,0018	0,0015
8	0,0000	0,0016	0,0018	0,0015	0,0017	0,0013	0,0014	0,0013	0,0014	0,0013	0,0017	0,0014	0,0014	0,0017	0,0017	0,0014
9	0,0000	0,0016	0,0018	0,0015	0,0017	0,0013	0,0014	0,0013	0,0014	0,0013	0,0017	0,0014	0,0014	0,0017	0,0017	0,0014
10	0,0006	0,0017	0,0019	0,0017	0,0018	0,0015	0,0016	0,0015	0,0016	0,0015	0,0018	0,0016	0,0016	0,0018	0,0018	0,0016
11	0,0014	0,0006	0,0012	0,0006	0,0008	0,0006	0,0000	0,0006	0,0000	0,0006	0,0009	0,0000	0,0000	0,0009	0,0009	0,0000
12	0,0015	0,0013	0,0014	0,0012	0,0015	0,0010	0,0011	0,0010	0,0011	0,0010	0,0014	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0011
13	0,0014	0,0011	0,0015	0,0011	0,0013	0,0007	0,0009	0,0007	0,0009	0,0007	0,0013	0,0009	0,0009	0,0013	0,0013	0,0009
14	0,0016	0,0009	0,0010	0,0008	0,0006	0,0009	0,0006	0,0009	0,0006	0,0009	0,0010	0,0006	0,0006	0,0010	0,0010	0,0006
15		0,0016	0,0018	0,0015	0,0017	0,0013	0,0014	0,0013	0,0014	0,0013	0,0017	0,0014	0,0014	0,0017	0,0017	0,0014
16	0,0043		0,0013	0,0009	0,0010	0,0009	0,0006	0,0009	0,0006	0,0009	0,0010	0,0006	0,0006	0,0010	0,0010	0,0006
17	**0,0061**	0,0030		0,0013	0,0012	0,0013	0,0012	0,0013	0,0012	0,0013	0,0015	0,0012	0,0012	0,0015	0,0015	0,0012
18	0,0043	0,0012	0,0030		0,0010	0,0009	0,0006	0,0009	0,0006	0,0009	0,0011	0,0006	0,0006	0,0011	0,0011	0,0006
19	0,0049	0,0018	0,0024	0,0018		0,0011	0,0008	0,0011	0,0008	0,0011	0,0012	0,0008	0,0008	0,0012	0,0012	0,0008
20	0,0030	0,0012	0,0030	0,0012	0,0018		0,0006	0,0000	0,0006	0,0000	0,0011	0,0006	0,0006	0,0011	0,0011	0,0006
21	0,0037	0,0006	0,0024	0,0006	0,0012	0,0006		0,0006	0,0000	0,0006	0,0009	0,0000	0,0000	0,0009	0,0009	0,0000
22	0,0030	0,0012	0,0030	0,0012	0,0018	0,0000	0,0006		0,0006	0,0000	0,0011	0,0006	0,0006	0,0011	0,0011	0,0006
23	0,0037	0,0006	0,0024	0,0006	0,0012	0,0006	0,0000	0,0006		0,0006	0,0009	0,0000	0,0000	0,0009	0,0009	0,0000
24	0,0030	0,0012	0,0030	0,0012	0,0018	0,0000	0,0006	0,0000	0,0006		0,0011	0,0006	0,0006	0,0011	0,0011	0,0006
25	0,0049	0,0018	0,0037	0,0018	0,0024	0,0018	0,0012	0,0018	0,0012	0,0018		0,0009	0,0009	0,0000	0,0000	0,0009
26	0,0037	0,0006	0,0024	0,0006	0,0012	0,0006	0,0000	0,0006	0,0000	0,0006	0,0012		0,0000	0,0009	0,0009	0,0000
27	0,0037	0,0006	0,0024	0,0006	0,0012	0,0006	0,0000	0,0006	0,0000	0,0006	0,0012	0,0000		0,0009	0,0009	0,0000
28	0,0049	0,0018	0,0037	0,0018	0,0024	0,0018	0,0012	0,0018	0,0012	0,0018	0,0000	0,0012	0,0012		0,0000	0,0009
29	0,0049	0,0018	0,0037	0,0018	0,0024	0,0018	0,0012	0,0018	0,0012	0,0018	0,0000	0,0012	0,0012	0,0000		0,0009
30	0,0037	0,0006	0,0024	0,0006	0,0012	0,0006	0,0000	0,0006	0,0000	0,0006	0,0012	0,0000	0,0000	0,0012	0,0012	

Примечание: *p* – ниже диагонали, *S.d.* – выше диагонали.

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

Таблица

Среднее генетическое расстояние (*p*) и стандартная ошибка (S.E.) внутри и между кладами кеты *Oncorhynchus keta* по данным комбинированных последовательностей мтДНК

Показатели *p*-расстояний	Обозначение клады	
	A (материковое побережье Японского моря)	B (о. Сахалин)
между кладами	0,004	
внутри клады	0,001	0,001
стандартная ошибка (S.E.)	0,000	0,000

Примечание: буквенное обозначение клад как на рисунке 5.

ПРИЛОЖЕНИЕ V

Таблица

Вариабельные сайты последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК, выявленные в выборках *Parahucho perryi*

Особи	Фрагменты генов и сайты нуклеотидных замен																				
	COI											*cytb*									
	49	**70**	**160**	**175**	287	352	**427**	**475**	505	**532**	**575**	**683**	**692**	**896**	**938**	**944**	**1199**	**1314**	**1457**	**1488**	1520
PHLE141	A	A	C	C	C	A	G	C	T	A	T	G	C	C	G	A	T	T	T	T	G
PHLE142	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHLE143	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHLE144	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU05455	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU05465	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU05473	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU05473a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07601	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07602	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07603	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07604	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07605	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07606	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07607	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07608	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07609	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07610	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07611	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU07612	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHAI081252	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081260	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHAI081263	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081266	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081267	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHAI081269	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHAI081274	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.

Таблица (*Продолжение*)

PHAI081275	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081278	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	A
PHAI081279	.	.	.	.	.	G	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081280	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHAI081281	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHAI081289	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081293	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081298	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHAI081300	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.
PHNA05456	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHNA05492	G	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	.	.	A	G	C	.	C	C	.
PHNA06010	G	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	.	.	A	G	C	.	C	C	.
PHNA07001	G	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	.	.	A	G	C	.	C	C	.
PHNA07002	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	C	.	.	.	.
PHKI97225	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.
PHKI97226	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.
PHKI97227	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.
PHKI97228	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.
PHKI97229	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHKI97230	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98295	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98296	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98297	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98298	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98299	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98300	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98301	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98302	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98303	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	C	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
PHTU98304	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHMA971	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHMA972	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
PHMA973	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Примечание: полужирным шрифтом выделены филогенетически информативные сайты нуклеотидных замен. Точками обозначены одинаковые позиции.

ПРИЛОЖЕНИЕ VI

Таблица

Матрица генетических расстояний (*p*) и стандартное отклонение (*S.d.*) между исследуемыми особями *Parahucho perryi* по объединенным фрагментам генов *COI* и *cytb*

№	Название особи	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	PHLE141		0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
2	PHLE142	0,0000		0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
3	PHLE143	0,0000	0,0000		0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
4	PHLE144	0,0000	0,0000	0,0000		0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
5	PHKI97225	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011		0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0015
6	PHKI97226	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000		0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0015
7	PHKI97227	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000		0,0000	0,0011	0,0000	0,0015
8	PHKI97228	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000		0,0011	0,0000	0,0015
9	PHKI97229	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011		0,0011	0,0011
10	PHKI97230	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011		0,0015
11	PHTU98295	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	
12	PHTU98296	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
13	PHTU98297	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
14	PHTU98298	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
15	PHTU98299	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
16	PHTU98300	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
17	PHTU98301	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
18	PHTU98302	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
19	PHTU98303	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
20	PHTU98304	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
21	PHAI081252	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
22	PHAI081260	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
23	PHAI081263	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
24	PHAI081266	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
25	PHAI081267	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022
26	PHAI081269	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022
27	PHAI081274	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022
28	PHAI081275	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
29	PHAI081278	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0044	0,0044	0,0044	0,0044	0,0033	0,0044	0,0022
30	PHAI081279	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022
31	PHAI081280	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
32	PHAI081281	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
33	PHAI081289	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
34	PHAI081293	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
35	PHAI081298	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
36	PHAI081300	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
37	PHTU05455	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
38	PHTU05465	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
39	PHTU05473a	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
40	PHTU05473	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
41	PHTU07601	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
42	PHTU07602	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
43	PHTU07603	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
44	PHTU07604	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
45	PHTU07605	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
46	PHTU07606	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
47	PHTU07607	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
48	PHTU07608	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
49	PHTU07609	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
50	PHTU07610	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
51	PHTU07611	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000
52	PHTU07612	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
53	PHNA05456	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
54	PHNA05492	0,0055	0,0055	0,0055	0,0055	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0055	0,0066	0,0066
55	PHNA07001	0,0055	0,0055	0,0055	0,0055	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0055	0,0066	0,0066
56	PHNA07002	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011
57	PHNA06010	0,0055	0,0055	0,0055	0,0055	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0055	0,0066	0,0066
58	PHMA973	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
59	PHMA972	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011
60	PHMA971	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011

Таблица (*Продолжение*)

№	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
2	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
3	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
4	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
5	0,0015	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0018	0,0015	0,0018
6	0,0015	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0018	0,0015	0,0018
7	0,0015	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0018	0,0015	0,0018
8	0,0015	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0018	0,0015	0,0018
9	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
10	0,0015	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0011	0,0018	0,0015	0,0018
11	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
12		0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
13	0,0000		0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
14	0,0011	0,0011		0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
15	0,0000	0,0000	0,0011		0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
16	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011		0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
17	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011		0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
18	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011		0,0011	0,0000	0,0014	0,0011	0,0014
19	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011		0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
20	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011		0,0014	0,0011	0,0014
21	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022		0,0011	0,0000
22	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011		0,0011
23	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000	0,0011	
24	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000	0,0011	0,0000
25	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0033	0,0022	0,0033
26	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0033	0,0022	0,0033
27	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011
28	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000	0,0011	0,0000
29	0,0022	0,0022	0,0033	0,0022	0,0033	0,0022	0,0033	0,0022	0,0033	0,0011	0,0022	0,0011
30	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011
31	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
32	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
33	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000	0,0011	0,0000
34	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000	0,0011	0,0000
35	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000	0,0011	0,0000
36	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0000	0,0011	0,0000
37	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
38	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
39	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
40	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
41	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
42	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
43	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
44	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
45	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
46	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
47	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
48	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
49	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
50	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
51	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011
52	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
53	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
54	0,0066	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0077	0,0066	0,0077
55	0,0066	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0077	0,0066	0,0077
56	0,0011	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022
57	0,0066	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0055	0,0077	0,0066	0,0077
58	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
59	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022
60	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0022	0,0011	0,0022

Таблица *(Продолжение)*

№	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
1	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
2	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
3	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
4	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
5	0,0018	0,0016	0,0016	0,0015	0,0018	0,0021	0,0015	0,0011	0,0011	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018
6	0,0018	0,0016	0,0016	0,0015	0,0018	0,0021	0,0015	0,0011	0,0011	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018
7	0,0018	0,0016	0,0016	0,0015	0,0018	0,0021	0,0015	0,0011	0,0011	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018
8	0,0018	0,0016	0,0016	0,0015	0,0018	0,0021	0,0015	0,0011	0,0011	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018
9	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
10	0,0018	0,0016	0,0016	0,0015	0,0018	0,0021	0,0015	0,0011	0,0011	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018
11	0,0011	0,0015	0,0015	0,0014	0,0011	0,0015	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
12	0,0011	0,0015	0,0015	0,0014	0,0011	0,0015	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
13	0,0011	0,0015	0,0015	0,0014	0,0011	0,0015	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
14	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
15	0,0011	0,0015	0,0015	0,0014	0,0011	0,0015	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
16	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
17	0,0011	0,0015	0,0015	0,0014	0,0011	0,0015	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
18	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
19	0,0011	0,0015	0,0015	0,0014	0,0011	0,0015	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
20	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0018	0,0011	0,0000	0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
21	0,0000	0,0018	0,0018	0,0011	0,0000	0,0010	0,0011	0,0014	0,0014	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
22	0,0011	0,0015	0,0015	0,0014	0,0011	0,0015	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
23	0,0000	0,0018	0,0018	0,0011	0,0000	0,0010	0,0011	0,0014	0,0014	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
24		0,0018	0,0018	0,0011	0,0000	0,0010	0,0011	0,0014	0,0014	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
25	0,0033		0,0000	0,0016	0,0018	0,0021	0,0016	0,0011	0,0011	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018
26	0,0033	0,0000		0,0016	0,0018	0,0021	0,0016	0,0011	0,0011	0,0018	0,0018	0,0018	0,0018
27	0,0011	0,0022	0,0022		0,0011	0,0015	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
28	0,0000	0,0033	0,0033	0,0011		0,0010	0,0011	0,0014	0,0014	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
29	0,0011	0,0044	0,0044	0,0022	0,0011		0,0015	0,0018	0,0018	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010
30	0,0011	0,0022	0,0022	0,0000	0,0011	0,0022		0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
31	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011		0,0000	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
32	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000		0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
33	0,0000	0,0033	0,0033	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022		0,0000	0,0000	0,0000
34	0,0000	0,0033	0,0033	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0000		0,0000	0,0000
35	0,0000	0,0033	0,0033	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0000	0,0000		0,0000
36	0,0000	0,0033	0,0033	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0000	0,0000	0,0000	
37	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
38	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
39	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
40	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
41	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
42	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
43	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
44	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
45	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
46	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
47	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
48	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
49	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
50	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
51	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
52	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
53	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
54	**0,0077**	0,0066	0,0066	0,0066	0,0077	**0,0089**	0,0066	0,0055	0,0055	**0,0077**	**0,0077**	**0,0077**	**0,0077**
55	**0,0077**	0,0066	0,0066	0,0066	0,0077	**0,0089**	0,0066	0,0055	0,0055	**0,0077**	**0,0077**	**0,0077**	**0,0077**
56	0,0022	0,0033	0,0033	0,0033	0,0022	0,0033	0,0033	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
57	**0,0077**	0,0066	0,0066	0,0066	0,0077	**0,0089**	0,0066	0,0055	0,0055	**0,0077**	**0,0077**	**0,0077**	**0,0077**
58	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
59	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
60	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0022	0,0033	0,0011	0,0000	0,0000	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022

Таблица *(Продолжение)*

№	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
1	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
2	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
3	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
4	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
5	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
6	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
7	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
8	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
9	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
10	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
11	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
12	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
13	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
14	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
15	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
16	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
17	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
18	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
19	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
20	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
21	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
22	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
23	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
24	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
25	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
26	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0011	0,0015	0,0011	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
27	0,0014	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
28	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
29	0,0015	0,0015	0,0018	0,0018	0,0018	0,0015	0,0018	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015
30	0,0014	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0014	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014
31	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
32	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
33	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
34	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
35	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
36	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0014	0,0011	0,0014	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
37		0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
38	0,0000		0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
39	0,0011	0,0011		0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
40	0,0011	0,0011	0,0000		0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
41	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000		0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
42	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011		0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
43	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011		0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
44	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
45	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
46	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
47	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000
48	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
49	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
50	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
51	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
52	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
53	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
54	0,0066	0,0066	0,0055	0,0055	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066
55	0,0066	0,0066	0,0055	0,0055	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066
56	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0022	0,0011	0,0022	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
57	0,0066	0,0066	0,0055	0,0055	0,0055	0,0066	0,0055	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066
58	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
59	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011
60	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0011	0,0000	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011

Таблица *(Продолжение)*

№	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
1	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
2	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
3	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
4	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
5	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0028	0,0028	0,0018	0,0028	0,0011	0,0011	0,0011
6	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0028	0,0028	0,0018	0,0028	0,0011	0,0011	0,0011
7	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0028	0,0028	0,0018	0,0028	0,0011	0,0011	0,0011
8	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0028	0,0028	0,0018	0,0028	0,0011	0,0011	0,0011
9	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
10	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0028	0,0028	0,0018	0,0028	0,0011	0,0011	0,0011
11	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
12	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
13	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
14	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
15	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
16	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
17	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
18	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
19	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
20	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
21	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
22	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
23	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
24	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
25	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0018	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
26	0,0015	0,0015	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0018	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
27	0,0014	0,0014	0,0011	0,0011	0,0026	0,0026	0,0018	0,0026	0,0011	0,0011	0,0011
28	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
29	0,0015	0,0015	0,0018	0,0018	0,0030	0,0030	0,0019	0,0030	0,0018	0,0018	0,0018
30	0,0014	0,0014	0,0011	0,0011	0,0026	0,0026	0,0018	0,0026	0,0011	0,0011	0,0011
31	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
32	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
33	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
34	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
35	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
36	0,0011	0,0011	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014
37	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
38	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
39	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
40	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
41	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
42	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
43	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
44	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
45	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
46	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
47	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
48	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
49	0,0000	0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
50		0,0000	0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
51	0,0000		0,0011	0,0011	0,0027	0,0027	0,0011	0,0027	0,0011	0,0011	0,0011
52	0,0011	0,0011		0,0000	0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
53	0,0011	0,0011	0,0000		0,0024	0,0024	0,0015	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000
54	0,0066	0,0066	0,0055	0,0055		0,0000	0,0025	0,0000	0,0024	0,0024	0,0024
55	0,0066	0,0066	0,0055	0,0055	0,0000		0,0025	0,0000	0,0024	0,0024	0,0024
56	0,0011	0,0011	0,0022	0,0022	0,0055	0,0055		0,0025	0,0015	0,0015	0,0015
57	0,0066	0,0066	0,0055	0,0055	0,0000	0,0000	0,0055		0,0024	0,0024	0,0024
58	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0055	0,0055	0,0022	0,0055		0,0000	0,0000
59	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0055	0,0055	0,0022	0,0055	0,0000		0,0000
60	0,0011	0,0011	0,0000	0,0000	0,0055	0,0055	0,0022	0,0055	0,0000	0,0000	

Примечание: *p* – ниже диагонали, *S.d.* – выше диагонали.

ПРИЛОЖЕНИЕ VII

Таблица

Среднее генетическое расстояние (*p*) и стандартная ошибка (*S.E.*) внутри и между кладами сахалинского тайменя *Parahucho perryi* по данным комбинированных последовательностей мтДНК

№	Обозначение клады	1	2	3	4	5	6
1	A1	*0,00034*	0,0007	0,0013	0,0014	0,0008	0,0018
2	A2	0,0008	*0*	0,0014	0,0016	0,0011	0,0019
3	B1	0,0034	0,0039	*0,0001*	0,0006	0,0013	0,0020
4	B2	0,0040	0,0045	0,0007	*0,00014*	0,0014	0,0021
5	C	0,0016	0,0021	0,0034	0,0037	*0,00138*	0,0018
6	D	**0,0059**	**0,0064**	**0,0076**	**0,0084**	**0,0059**	*0*

Примечание: *p* – ниже диагонали, *S.E.* – выше диагонали. Генетические расстояния внутри клад указаны курсивом. Значение стандартной ошибки соответствует расстояниям между кладами. Буквенное обозначение клад как на рисунке 9.

ПРИЛОЖЕНИЕ VIII

Таблица

Вариабельные сайты последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК, выявленные в выборках *Tribolodon hakonensis*

Особи	Фрагменты генов и сайты нуклеотидных замен																						
	COI																			*cytb*			
	40	46	142	271	274	283	286	307	397	403	415	427	448	460	508	517	583	601	655	746	765	776	803
THILN1	G	T	A	G	G	A	G	G	G	A	T	G	G	C	T	A	T	G	C	T	A	A	A
THILN2	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
THILN3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN4	.	C	G	A	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
THILN5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN6	.	C	G	A	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
THILN7	A	C	G	A	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.
THILN8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN9	A	C	G	A	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
THILN10	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THVOS1	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS2	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS3	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS4	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS5	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS6	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS7	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS8	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G
THVOS9	.	.	.	A	A	.	A	A	A	T	.	A	A	T	.	G	C	A	T	C	C	.	G

Таблица (*Продолжение*)

Особи	Фрагменты генов и сайты нуклеотидных замен																			
	cytb																			
	830	878	902	1034	1085	1130	1136	1157	1175	1181	1190	1223	1226	1241	1256	1277	1313	1319	1358	1394
THILN1	T	G	G	A	A	A	G	C	A	G	G	T	A	T	A	T	A	G	T	G
THILN2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN3	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN4	C	.	.	G	G	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	A	C	.
THILN5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN6	C	.	.	G	G	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	A	C	.
THILN7	C	.	.	G	G	.	A	.	G	.	.	C	.	.	.	.	.	A	C	.
THILN8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
THILN9	C	.	.	G	G	.	A	.	G	.	.	C	.	.	.	.	.	A	C	.
THILN10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THVOS1	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	.	A	C	A
THVOS2	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	.	A	C	A
THVOS3	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	.	A	C	A
THVOS4	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	.	A	C	A
THVOS5	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	.	A	C	A
THVOS6	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	G	A	C	A
THVOS7	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	G	C	.	A	C	A
THVOS8	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	.	A	C	A
THVOS9	.	A	A	.	.	G	A	T	.	A	A	.	.	C	.	C	.	A	C	A

Таблица (*Продолжение*)

Особи	Фрагменты генов и сайты нуклеотидных замен										
	cytb										
	1428	1439	1440	1445	1469	1475	1508	1543	1562	1580	1619
THILN1	T	C	T	G	C	G	T	G	G	C	T
THILN2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN4	.	T	.	A	.	.	.	A	.	.	.
THILN5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN6	.	T	.	A	.	.	.	A	.	T	.
THILN7	.	T	.	A	.	.	.	A	.	T	.
THILN8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THILN9	.	T	.	A	.	.	.	A	.	T	.
THILN10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
THVOS1	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS2	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS3	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS4	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS5	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS6	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS7	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS8	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C
THVOS9	C	T	C	A	T	A	C	A	A	.	C

Примечание: полужирным шрифтом выделены филогенетически информативные сайты нуклеотидных замен. Точками обозначены одинаковые позиции.

ПРИЛОЖЕНИЕ IX

Таблица

Матрица генетических расстояний (*p*) и стандартное отклонение (*S.d.*) между исследуемыми особями *Tribolodon hakonensis* по объединенным фрагментам генов *COI* и *cytb*

№	Название особи	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	THILN1		0,0008	0,0008	0,0025	0,0000	0,0027	0,0029	0,0006	0,0028	0,0006	0,0038	0,0038	0,0038	0,0038
2	THILN2	0,0012		0,0012	0,0027	0,0008	0,0028	0,0030	0,0010	0,0029	0,0006	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037
3	THILN3	0,0012	0,0025		0,0025	0,0008	0,0026	0,0028	0,0010	0,0027	0,0010	0,0038	0,0038	0,0038	0,0038
4	THILN4	0,0105	0,0117	0,0105		0,0025	0,0007	0,0014	0,0027	0,0012	0,0026	0,0037	0,0037	0,0037	0,0037
5	THILN5	0,0000	0,0012	0,0012	0,0105		0,0027	0,0029	0,0006	0,0028	0,0006	0,0038	0,0038	0,0038	0,0038
6	THILN6	0,0111	0,0123	0,0111	0,0006	0,0111		0,0011	0,0028	0,0009	0,0027	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039
7	THILN7	0,0129	0,0142	0,0129	0,0025	0,0129	0,0018		0,0030	0,0006	0,0029	0,0041	0,0041	0,0041	0,0041
8	THILN8	0,0006	0,0018	0,0018	0,0111	0,0006	0,0117	0,0136		0,0030	0,0009	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039
9	THILN9	0,0123	0,0136	0,0123	0,0018	0,0123	0,0012	0,0006	0,0129		0,0029	0,0040	0,0040	0,0040	0,0040
10	THILN10	0,0006	0,0006	0,0018	0,0111	0,0006	0,0117	0,0136	0,0012	0,0129		0,0038	0,0038	0,0038	0,0038
11	THVOS1	0,0253	0,0253	0,0265	0,0234	0,0253	0,0240	0,0259	0,0259	0,0253	0,0259		0,0000	0,0000	0,0000
12	THVOS2	0,0253	0,0253	0,0265	0,0234	0,0253	0,0240	0,0259	0,0259	0,0253	0,0259	0,0000		0,0000	0,0000
13	THVOS3	0,0253	0,0253	0,0265	0,0234	0,0253	0,0240	0,0259	0,0259	0,0253	0,0259	0,0000	0,0000		0,0000
14	THVOS4	0,0253	0,0253	0,0265	0,0234	0,0253	0,0240	0,0259	0,0259	0,0253	0,0259	0,0000	0,0000	0,0000	
15	THVOS5	0,0253	0,0253	0,0265	0,0234	0,0253	0,0240	0,0259	0,0259	0,0253	0,0259	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
16	THVOS6	**0,0259**	**0,0259**	**0,0271**	**0,0240**	**0,0259**	**0,0246**	**0,0265**	**0,0265**	**0,0259**	**0,0265**	0,0006	0,0006	0,0006	0,0006
17	THVOS7	**0,0259**	**0,0259**	**0,0271**	**0,0240**	**0,0259**	**0,0246**	**0,0265**	**0,0265**	**0,0259**	**0,0265**	0,0006	0,0006	0,0006	0,0006
18	THVOS8	0,0253	0,0253	0,0265	0,0234	0,0253	0,0240	0,0259	0,0259	0,0253	0,0259	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
19	THVOS9	0,0253	0,0253	0,0265	0,0234	0,0253	0,0240	0,0259	0,0259	0,0253	0,0259	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Таблица *(Продолжение)*

	15	16	17	18	19
1	0,0038	0,0039	0,0038	0,0038	0,0038
2	0,0037	0,0038	0,0038	0,0037	0,0037
3	0,0038	0,0039	0,0039	0,0038	0,0038
4	0,0037	0,0038	0,0038	0,0037	0,0037
5	0,0038	0,0039	0,0038	0,0038	0,0038
6	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039	0,0039
7	0,0041	0,0042	0,0041	0,0041	0,0041
8	0,0039	0,0040	0,0039	0,0039	0,0039
9	0,0040	0,0041	0,0040	0,0040	0,0040
10	0,0038	0,0039	0,0039	0,0038	0,0038
11	0,0000	0,0006	0,0006	0,0000	0,0000
12	0,0000	0,0006	0,0006	0,0000	0,0000
13	0,0000	0,0006	0,0006	0,0000	0,0000
14	0,0000	0,0006	0,0006	0,0000	0,0000
15		0,0006	0,0006	0,0000	0,0000
16	0,0006		0,0009	0,0006	0,0006
17	0,0006	0,0012		0,0006	0,0006
18	0,0000	0,0006	0,0006		0,0000
19	0,0000	0,0006	0,0006	0,0000	

Примечание: *p* – ниже диагонали, *S.d.* – выше диагонали.

ПРИЛОЖЕНИЕ Х

Таблица

Среднее генетическое расстояние (*p*) и стандартная ошибка (S.E.) внутри и между кладами крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* по данным комбинированных последовательностей мтДНК

№	Обозначение клады	1	2	3
1	A1	*0,0012*	0,0026	0,0038
2	A2	0,0121	*0,0014*	0,0040
3	B	0,0258	0,0248	*0,0003*

Примечание: *p* – ниже диагонали, *S.E.* – выше диагонали. Генетические расстояния внутри клад указаны курсивом. Значение стандартной ошибки соответствует расстояниям между кладами. Буквенное обозначение клад как на рисунке 13.

ПРИЛОЖЕНИЕ XI

Таблица

Вариабельные сайты последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК, выявленные в выборках *Tribolodon brandtii*

Особи	Фрагменты генов и сайты нуклеотидных замен																			
	COI		*cytb*																	
	268	**589**	**693**	**743**	**746**	**806**	**866**	**900**	**1001**	**1019**	**1058**	**1110**	**1172**	1178	**1232**	1349	**1391**	**1406**	**1448**	**1493**
TBVOS1	A	T	T	A	A	A	A	G	C	G	A	G	G	A	T	C	T	T	G	A
TBVOS2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS4	G	.	C	G	.	.	.	A	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS5	G	.	C	G	.	.	.	A	A	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS6	G	.	C	G	.	.	.	A	A	A	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.
TBVOS7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBVOS11	G	.	C	G	.	.	.	A	A	A	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
TBVOS12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
TBTUN1	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T
TBTUN2	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T
TBTUN3	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T
TBTUN4	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T
TBTUN5	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T
TBTUN6	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T
TBTUN7	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T
TBTUN8	.	C	C	G	G	G	T	.	A	.	G	.	A	.	C	.	C	C	A	T

Примечание: полужирным шрифтом выделены филогенетически информативные сайты нуклеотидных замен. Точками обозначены одинаковые позиции.

ПРИЛОЖЕНИЕ XII

Таблица

Матрица генетических расстояний (*p*) и стандартное отклонение (*S.d.*) между исследуемыми особями *Tribolodon brandtii* по объединенным фрагментам генов *COI* и *cytb*

№	Название особи	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	TBVOS1		0,0000	0,0000	0,0017	0,0019	0,0019	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0019	0,0000	0,0024	0,0024
2	TBVOS2	0,0000		0,0000	0,0017	0,0019	0,0019	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0019	0,0000	0,0024	0,0024
3	TBVOS3	0,0000	0,0000		0,0017	0,0019	0,0019	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0019	0,0000	0,0024	0,0024
4	TBVOS4	0,0038	0,0038	0,0038		0,0007	0,0009	0,0017	0,0017	0,0017	0,0017	0,0006	0,0017	0,0025	0,0025
5	TBVOS5	0,0045	0,0045	0,0045	0,0006		0,0006	0,0019	0,0019	0,0019	0,0019	0,0009	0,0019	0,0025	0,0025
6	TBVOS6	0,0051	0,0051	0,0051	0,0013	0,0006		0,0019	0,0019	0,0019	0,0019	0,0011	0,0019	0,0026	0,0026
7	TBVOS7	0,0000	0,0000	0,0000	0,0038	0,0045	0,0051		0,0000	0,0000	0,0000	0,0019	0,0000	0,0024	0,0024
8	TBVOS8	0,0000	0,0000	0,0000	0,0038	0,0045	0,0051	0,0000		0,0000	0,0000	0,0019	0,0000	0,0024	0,0024
9	TBVOS9	0,0000	0,0000	0,0000	0,0038	0,0045	0,0051	0,0000	0,0000		0,0000	0,0019	0,0000	0,0024	0,0024
10	TBVOS10	0,0000	0,0000	0,0000	0,0038	0,0045	0,0051	0,0000	0,0000	0,0000		0,0019	0,0000	0,0024	0,0024
11	TBVOS11	0,0045	0,0045	0,0045	0,0006	0,0013	0,0019	0,0045	0,0045	0,0045	0,0045		0,0019	0,0026	0,0026
12	TBVOS12	0,0000	0,0000	0,0000	0,0038	0,0045	0,0051	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0045		0,0024	0,0024
13	TBTUN1	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090		0,0000
14	TBTUN2	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090	0,0000	
15	TBTUN3	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090	0,0000	0,0000
16	TBTUN4	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090	0,0000	0,0000
17	TBTUN5	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090	0,0000	0,0000
18	TBTUN6	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090	0,0000	0,0000
19	TBTUN7	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090	0,0000	0,0000
20	TBTUN8	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	**0,0102**	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	0,0096	0,0090	0,0000	0,0000

Таблица *(Продолжение)*

	15	16	17	18	19	20
1	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
2	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
3	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
4	0,0025	0,0025	0,0025	0,0025	0,0025	0,0025
5	0,0025	0,0025	0,0025	0,0025	0,0025	0,0025
6	0,0026	0,0026	0,0026	0,0026	0,0026	0,0026
7	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
8	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
9	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
10	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
11	0,0026	0,0026	0,0026	0,0026	0,0026	0,0026
12	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024	0,0024
13	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
14	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
15		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
16	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
17	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
18	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000
19	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
20	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Примечание: *p* – ниже диагонали, *S.d.* – выше диагонали.

ПРИЛОЖЕНИЕ XIII

Таблица

Среднее генетическое расстояние (*p*) и стандартная ошибка (S.E.) внутри и между кладами мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii* по данным комбинированных последовательностей мтДНК

№	Обозначение клады	1	2	3
1	A1	*0*	0,0017	0,0023
2	A2	0,0045	*0,00106*	0,0025
3	B	0,0090	0,0096	*0*

Примечание: *p* – ниже диагонали, *S.E.* – выше диагонали. Генетические расстояния внутри клад указаны курсивом. Значение стандартной ошибки соответствует расстояниям между кладами. Буквенное обозначение клад как на рисунке 17.