ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» (ДВФУ)

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР МОРСКОЙ БИОЛОГИИ ИМ. А.В. ЖИРМУНСКОГО» ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Золотова Анна Олеговна

Морфологическая и молекулярная изменчивость дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Osteichthyes: Cyprinidae) с анализом последовательностей ДНК в систематике подсемейства Leuciscinae

03.02.06 – ихтиология 03.02.07 – генетика

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научные руководители: д.б.н., профессор В.Н. Иванков д.б.н., профессор Ю.Ф. Картавцев

Владивосток - 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1. Морфологические отличия	18
1.1.1. Форма плавательного пузыря	20
1.1.2. Исследование чешуи	21
1.1.3. Исследование брачной окраски	22
1.1.4. Сейсмосенсорная система головы	24
1.1.5. Обонятельная реакция	27
1.1.6. Экология и нерест	27
1.1.7. Икра	29
1.2. Молекулярно-генетические исследования	30
1.3. Межвидовые различия в эмбриональном развитии, гибридизация	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	43
2.1. Морфологический анализ	45
2.1.1. Анализ счетных признаков	46
2.1.1.1. Число лучей	46
2.1.1.2. Анализ рентгенограмм позвоночника	48
2.1.1.3. Анализ числа чешуй	52
2.1.1.4. Анализ сейсмосенсорной системы	53
2.1.2. Анализ пластических признаков	54
2.2. Молекулярно-генетический анализ	57
2.2.1. Выделение ДНК	58
2.2.1.1. ДНК-амплификация и секвенирование	58
2.2.2. Анализ последовательностей	62
2.2.3. Диагностика видов	64
2.2.4. Анализ, выполненый в программе DnaSP	64
2.2.4.1. Оценка генетической дифференциации и потока генов	64
2.2.4.2. Оценка ДНК-полиморфизма	65

2.2.5. Диагностика рекомбинантных последовательностей (RDP-анализ) 66
2.2.5.1. <i>Р</i> -значение
2.2.5.2. Пермутационный тест
2.2.5.3. Параметры обработки данных при пермутационном тесте
2.2.5.3.1. Общие настройки опций RDP 68
2.2.5.3.2. «Первичное сканирование»
2.2.5.3.3. Метод обнаружения сигнала рекомбинации с применением
графического воспроизведения результатов75
2.2.5.3.3.1. Метод RDP
2.2.5.3.3.2. Установки для метода RDP
2.2.5.3.3. Метод GENECONV
2.2.5.3.3.4. Установки для метода GENECONV
2.2.5.3.3.5. Метод МАХСНІ
2.2.5.3.3.6. Установки для метода MAXCHI 79
2.2.5.3.3.7. Метод CHIMAERA
2.2.5.3.3.8. Установки для метода CHIMAERA
2.2.6. Построение филогенетических деревьев
2.2.7. Анализ объединенных последовательностей мтДНК (митогенома) 83
2.2.7.1. Анализ изменчивости и реконструкция филогенетических гипотез 83
ГЛАВА З. РЕЗУЛЬТАТЫ
3.1. Морфологический анализ
3.1.1. Счетные признаки
3.1.1.1. Число лучей в плавниках
3.1.1.2. Описание рентгенограмм позвоночника
3.1.1.3. Число чешуй
3.1.1.4. Сейсмосенсорная система
3.1.2. Пластические признаки
3.2. Результаты молекулярно-генетического исследования 104
3.2.1. Анализ последовательностей маркеров мтДНК и яДНК 104
3.2.2. Анализ изменчивости и дивергенции 105

3.2.2.1. Маркер Со-1 105
3.2.2.2. Маркер <i>Суt-b</i> 106
2.2.3. Маркер <i>ITS-1,2</i> 106
2.2.4. Маркер <i>Rho</i> 107
3.2.3. Результаты автоматического поиска разрывов ДНК-штрихкода (ABGD)
3.2.4. Результаты анализа на основе программы DnaSP 110
3.2.4.1. Генетическая дифференциация и поток генов
3.2.4.2. Полиморфизм ДНК 111
3.2.5. Рекомбинантный анализ. Результаты, полученные на основе
программы RDP113
3.2.6. Результаты анализа генных деревьев 118
3.2.7. Реконструкции филогенетических деревьев для Leuciscinae 126
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ 128
4.1. Морфологический анализ 128
4.1.1. Счетные признаки
4.1.1.1. Число лучей в плавниках
4.1.1.2. Число позвонков
4.1.1.3. Число чешуй
4.1.1.4. Сейсмосенсорная система
4.1.2. Пластические признаки
4.2. Молекулярно-генетический анализ138
4.2.1. Анализ дивергенции нуклеотидных последовательностей 138
4.2.2. Сравнение морфометрии и молекулярных данных гибридных особей
4.2.3. Филогенетическое положение рода Tribolodon в подсемействе
Leuciscinae
ЗАКЛЮЧЕНИЕ
ВЫВОДЫ152
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

ІРИЛОЖЕНИЕ 177

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

б. – бухта;

зал. – залив;

ДНК – дезоксиробонуклеиновая кислота;

мтДНК – митохондриальная ДНК; Макс. – максимальный;

мин – минуты;

мин. – минимальный;

о. – остров;

об./мин. – обороты в минуту;

р. – река;

рРНК – рибосомальная рибонуклеиновая кислота;

ПДРФ-анализ – анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов;

п.н. – пар нуклеотидов;

п-ов. – полуостров;

подсем. – подсемейство;

ПЦР – полимеразно-цепная реакция;

сем. – семейство;

сек. – секунды;

экз. – экземпляр(ы);

яДНК – ядерная ДНК;

ABGD – метод автоматического поиска баркодинг-гэпа, Automatic Barcoding

Gap Discovery;

АІС – информационный критерий Акаике;

ВА – программа MrBayes 3.2, байесовское выведение методом цепей

Маркова;

SD – стандартное отклонение;

SE – стандартная ошибка;

СІО – подглазничным канал;

CSO – надглазничный канал;

СРМ – предкрышечно-челюстной канал;

- F1 первое поколение;
- F2 второе поколение;
- lnL maximum likelihood value;

io1-infraorbitale;

- ЈС модель Джукса-Кантора;
- h значение гаплотипического разнообразия;
- Hd доля полиморфных сайтов;
- Hs средние значения оценок разнообразия гаплотипов в субпопуляции;
- Hst коэфициент генетической дифференциации;
- k число использованных последовательностей;
- К среднее значение нуклеотидной дивергенции;
- К80 модель Кимуры-1980;
- К2Р двухпараметрическая модель Кимуры;
- MAXCHI Maximum Chi Square method (максимального Хи-квадрата)
- ML метод максимального правдоподобия;
- МР метод максимальной парсимонии;
- NJ метод ближайшего присоединения;

 θ – дисперсия;

RDP- Recombination Detection Program (программа обнаружения

рекомбинаций);

Рі – нуклеотидное разнообразие на сайт;

РМ тест – премутационный тест;

S – число полиморфных сайтов;

Si – число сигрегированных полиморфных сайтов на сайт

s.l. – sensu lato;

s.s. – sensu stristo:

SISCAN - Sister Scanning method;

Ts – транзиции;

Тv – трансверсии;

χ2 – хи-квадрат;

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Дальневосточные красноперки рода *Tribolodon* Sauvage, 1883 принадлежат к самому многочисленному семейству рыб – Cyprinidae Rafinesque, 1815 (Nelson, 1994, 2006). Дальневосточные красноперки широко распространены в бассейнах окраинных морей Северо-Восточной Азии, где имеют хозяйственное значение как объекты рыболовства, а также важное экологическое как массовые значение представители речных и эстуарных экосистем.

Виды рода *Tribolodon* отличаются достаточно широкой экологической пластичностью. Наряду с типичными проходными формами, у которых нерест происходит в пресной воде (реки), а нагул в эстуариях и прибрежных морских районах, у дальневосточных красноперок могут также присутствовать жилые пресноводные формы (Дружинин, 1970; Гриценко 1972, 1974; Гавренков, Иванков, 1979; Иванков и др., 1984; Иванков и др., 1987; Богуцкая, 1990; Картавцев и др., 2002; Свиридов, 2002; Свиридов, Иванков, 2002; Свиридов и др., 2002; Sakai et al., 2002 и др.).

Для видов рода Tribolodon также характерна значительная внутри- и межвидовая изменчивость как морфологических (пластических И меристических), так и молекулярно-генетических признаков (Гриценко 1972, 1974; Гавренков, Иванков, 1979; Иванков и др., 1984; Sakai, Hamada, 1985; Hanzawa et al., 1987; Свиридов, 2002; Свиридов, Иванков, 2002; Sakai et al., 2002; Картавцев и др., 2002 и др.). Эко-морфологические адаптации популяций разных видов дальневосточных красноперок к специфическим могут условиям конкретных водоемов приводить перекрыванию фенотипической изменчивости близкородственных видов и, как следствие, к проблемам при видовой идентификации (Иванков и др., 2016а; Иванков и др., 2016в; Ivankov et al., 2017; Иванков и др., 2017).

Систематика дальневосточных красноперок, а также идентификация их видов основаны на морфологических признаках (Гриценко 1972, 1974; Гавренков, Иванков, 1979). Сложности в определении видовой

принадлежности Дальневосточных красноперок существуют как для ранних стадий жизненного цикла (мальки, молодь), так и для взрослых рыб (Иванков и др., 1984; Свиридов, 2002; Свиридов, Иванков, 2002). Кроме того, Дальневосточные красноперки способны образовывать гибриды с представителями своего рода (Sakai, Hamada, 1985; Sakai et al., 1995; Sakai et al., 2002).

Учитывая широкий спектр экологических адаптаций И фенотипическую пластичность дальневосточных красноперок, при анализе внутривидовой изменчивости, популяционной структуры, видовой принадлежности и таксономии представителей рода Tribolodon, наряду с традиционными морфологическими, представляется целесообразным использовать молекулярно-генетические методы.

разработанности Степень темы исследования. Существуют различные взгляды на положение рода Tribolodon в системе отряда карпообразных Cypriniformes. Традиционно данный род относят К подсемейству ельцовых Leuciscinae семейства карповых Cyprinidae (Богуцкая, 1990). Некоторые авторы считают ельцовых самостоятельным семейством (Chen, Mayden, 2009; Bufalino, Mayden, 2010a, 2010b), куда, в частности, входит подсемейство Foxininae, включающее род Tribolodon (Kartavtsev et al., 2017).

Исторически в роде *Tribolodon* выделяли различное число видов. Берг (1916) приводил восемь видов дальневосточных красноперок и их синонимов: *Telestes brandtii* Dybowski, *Leuciscus brandtii* (Berg), *L. hakuensis* Gunther, *L. taczanowskii* Steindachner, *L. sachalinensis* Nikolskii, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Warpachowski, *L. warpachowskii* Schmidt. Некоторые авторы признавали существование двух форм *Leuciscus brandtii*: северную и южную (Берг, 1912, Линдберг, Легеза, 1965). Шмидт (1904) выделял 6 видов красноперок: *L. warpachowskii* Schmidt, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Warpachowskii Schmidt, *L. ledae* Warpachowskii Schmidt, *L. ledae* Красноперок: *L. warpachowskii* Schmidt, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Красноперок: *L. warpachowskii* Schmidt, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Красноперок: *L. warpachowskii* Schmidt, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Красноперок: *L. warpachowskii* Schmidt, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Красноперок: *L. warpachowskii* Schmidt, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Красноперок: *L. warpachowskii* Schmidt, *L. adele* Warpachowski, *L. ledae* Карасномзки (Берг). На о. Сахалин Шмидт (1905) отмечает наличие трех

видов красноперок, которые имели промысловое значение: *L. taczanowskii* Steindachner, *L. sachalinensis* Nikolskii, *L. adalae* Warpahowski. *Tribolodon ezoe* выделили в отдельный вид (Okada, Ikeda, 1937), который позднее был обозначен синонимом *Tribolodon sachalinensis* (Шедько, 2005). В работе Гриценко (1974) упоминается об описании 18 номинальных видов рода в период с 1873 по 1937 гг. В базе данных Fishbase для рода *Tribolodon* приведена синонимия, включающая до 11 видовых наименований (http://www.fishbase.org/Nomenclature/ScientificNameSearchLisT. hp).

В настоящее время в роде *Tribolodon* выделяют четыре номинальных Т. brandtii (Dybowski, 1872). T. hakonensis (Günther, 1876). вида: T. sachalinensis (Nikolskii, 1889) и T. nakamurai Doi, Shinzawa, 2000. Tribolodon brandtii включает два номинотипический подвида: T. brandtii brandtii и недавно описанный T. b. maruta Sakai, Amano, 2014. Три вида: T. hakonensis, T. sachalinensis и T. brandtii, – обитают на Дальнем Востоке России. Четвертый вид Tribolodon nakamurai – эндемик острова Хонсю, и на Дальнем Востоке России не обнаружен.

В ранних работах для идентификации и дифференциации видов рода Tribolodon традиционно используют морфологические признаки (Uchida, 1939; Okada, 1955; Дружинин, 1970; Гриценко, 1972, 1974; Гавренков, Иванков, 1979; Kahata, 1981; Чуриков, Сабитов, 1982; Иванков и др., 1984; Иванков и др., 1987; Sakai, 1995; Свиридов, 2002; Свиридов, Иванков, 2002; Свиридов и др., 2002 и др.). Однако ряд ограничений морфологического подхода, таких как высокая изменчивость и перекрывание значений пластических И меристических признаков нередко затрудняет идентификацию видов рода *Tribolodon*. Наличие гибридов между видами рода Tribolodon создает дополнительные сложности при разделении видов (Sakai, Hamada, 1985; Sakai, 1987; Sakai et al., 1995; Sakai et al., 2002).

Помимо традиционных морфологических, для исследования дальневосточных красноперок используются молекулярно-генетические методы. Для анализа внутри- и межвидовой генетической изменчивости представителей рода *Tribolodon* разные авторы использовали генетикобиохимические маркеры (Hanzawa et al., 1988; Картавцев и др., 2002; Sakai et al., 2002), а также последовательности нуклеотидов митохондриальной ДНК (мтДНК) (Hanzawa et al., 1987; Семина и др., 2006, 2007; Sasaki et al., 2007; Kartavtsev, Hanzawa, 2007; Батищева и др., 2011; Брыков и др., 2011; Imoto et al., 2013; Kartavtsev et al., 2017 и др.) и ядерной ДНК (яДНК) (Polyakova et al., 2015; Zolotova, 2018; Zolotova, Kartavtsev, 2018).

В ходе изучения популяционной биологии и систематики рода *Tribolodon* сравнительно-морфологические и молекулярно-генетические исследования проводили отдельно, на выборках особей, собранных в разные периоды и/или в разных районах видовых ареалов. В настоящей работе впервые выполнено комплексное исследование одних и тех же особей дальневосточных красноперок с применением сравнительно-морфологического и молекулярно-генетического подходов.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является выявление особенностей внутри- и межвидовой изменчивости и уровня дифференциации дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* на основании молекулярно-генетического и сравнительно-морфологического подходов.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1) Исследовать внутри- и межвидовую генетическую изменчивость, а также дивергенцию трех видов рода *Tribolodon: T. hakonensis, T. brandtii* и *T. sachalinensis,* – с применением маркеров мтДНК (*Cyt-b* и *Co-1*) и яДНК (*ITS-1–5.8S–ITS-2* рРНК (далее *ITS-1,2*) и *Rho*).

2) Провести сравнительно-морфологический анализ трех видов рода *Tribolodon: T. hakonensis, T. brandtii* и *T. sachalinensis.*

3) На основании сравнительно-морфологического и молекулярногенетического анализов ваучерных экземпляров трех видов рода *Tribolodon*: *T. hakonensis, T. brandtii* и *T. sachalinensis,* – выявить диагностические признаки видов и характерные признаки гибридных особей.

4) Реконструировать молекулярно-филогенетические отношения видов рода *Tribolodon* на основании анализа нуклеотидных последовательностей маркеров мтДНК и яДНК.

5) Провести сравнительный анализ последовательностей маркеров *Cyt-b* и объединенных последовательностей генов мтДНК для уточнения положения видов рода *Tribolodon* и других таксонов в системе Leuciscinae.

Научная новизна работы. Проведено комплексное исследование видов рода Tribolodon и их гибридов с использованием сравнительноморфологических молекулярно-генетических Уточнены И методов. особенности строения сейсмосенсорных каналов головы у гибридных экземпляров T. hakonensis × T. brandtii юга Приморского края. Для трех видов *T. brandtii* и *T. sachalinensis*) Tribolodon (T. hakonensis, рода изучена нуклеотидная последовательность внутригенного спейсера pPHK ITS-1,2 и показано, что эти виды дальневосточных красноперок хорошо различаются по данному маркеру яДНК. Для дальневосточных красноперок (на примере T. hakonensis и T. brandtii) рассчитаны значения внутри- и межвидового потока генов Nm в соответствии с выявленными уровнями генетической дифференциации. На основании сравнительного анализа маркеров генов *Cytb* и объединенных последовательностей генов мтДНК показано положение видов рода *Tribolodon* и их ближайших родственников в системе Leuciscinae sensu lato.

Составлена коллекция ваучерных экземпляров рода *Tribolodon* согласно принятым правилам международной программы iBOL (<u>www.ibol.org</u>) и базы данных BOLD (www.boldsystems.org; Ratnasingham, Hebert, 2007; Steinke, Hanner, 2011).

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты анализа изменчивости и дифференциации дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* с одновременным использованием методов сравнительной морфологии и молекулярной генетики показывают, что именно комплексный подход позволяет делать обоснованные и хорошо аргументированные выводы о внутривидовой подразделенности и межвидовой дивергенции таксонов. На примере рода *Tribolodon* показано, что при значительной вариабельности морфологических признаков разработанные видоспецифичные маркеры мтДНК и яДНК позволяют с высокой точностью идентифицировать не только виды, но и гибриды между ними.

Определены и депонированы в международные базы данных BOLD и GenBank (NCBI) в общей сложности 220 новых нуклеотидных последовательностей участков мтДНК (*Cyt-b* и *Co-1*) и яДНК (*ITS-1,2* и *Rho*) представителей рода *Tribolodon* депонированы в GenBank (www.ncbi.gov). Также в базу данных BOLD депонирована коллекция из 160 ваучерных экземпляров дальневосточных красноперок рода *Tribolodon*.

Полученные в работе данные об уровне генетической дифференциации и расчетных значениях потоков генов между географическими популяциями уточняют имеющиеся представления 0 внутривидовой структуре T. hakonensis и T. brandtii. Новые знания о популяционно-генетической изменчивости могут быть В разработке использованы стратегий промыслового освоения исследованных видов дальневосточных красноперок.

Методология и методы исследования. Методология исследования базировалась на комплексном использовании современных стандартных общепринятых методик, апробированных на многочисленных зоологических видах, включая различные виды рыб. В диссертационной работе применяли методы сравнительной морфологии и современного молекулярногенетического анализа.

В работе использованы следующие сравнительной методы морфологии: классический сравнительный анализ пластических И меристических признаков (число пор в каналах, число чешуй, индексы линейных промеров различных участков тела), а также анализ рентгенограмм костных структур (число подкожных лучей в непарных плавниках, число позвонков).

В работе проводили комплексный анализ нуклеотидных последовательностей четырех молекулярных маркеров с использованием программных средств анализа по молекулярной и популяционной генетике: MEGA (для реконструкции ML-, MP-, NJ-деревьев), MrBayes (для построения BA-деревьев), DnaSP (для оценки потока генов), ABGD (в качестве метода ординации генетических расстояний) и RDP (для выявления рекомбинаций).

Положения, выносимые на защиту:

1. Выявленный поток генов между близко расположенными популяциями одного и того же вида рода *Tribolodon* статистически значим, а для географически удаленных популяций одного и того же вида статистически незначим.

2. Морфологические признаки и молекулярно-генетические маркеры позволяют идентифицировать исследованные виды рода *Tribolodon* и гибриды между *T. hakonensis* и *T. brandtii*.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обеспечена: большим объемом материала, собранного из разных районов обитания исследованных видов рыб; использованием современных молекулярно-генетических методов, адекватных поставленным В исследовании задачам; комплексным использованием сравнительноморфологического молекулярно-генетического подходов. Работа И выполнена на сертифицированном оборудовании: прибор для получения рентгенограмм Faxitron X-rays MX-20 (Faxitron X-ray Corporation, USA), амплификатор GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Foster City, USA), восьмиканальный капиллярный генетический анализатор модели ABI-3500 и ABI-3130xL (ABI, Foster City, CA, USA). Надежность результатов исследования обеспечена современным анализом на основе программных открытом средств, находящихся RStudio, В доступе: MEGA-6, jModelTest 0.1.1, MrBayes 3.2, ABGD, RDP, DnaSP и лицензионных пакетов

программ (ПП) Statistica-6. Результаты анализа подкреплены достоверными статистическими данными, проиллюстрированными таблицами и рисунками.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведены все этапы научного исследования: 1) сбор, идентификация, фиксация и первичная обработка материала в ходе экспедиций в южных районах Приморского края и на острове Сахалин; 2) сравнительно-морфологический и молекулярногенетический анализ собранного материала, обработка данных; 3) интерпретация полученных результатов.

Апробация работы и публикации. Результаты исследования были представлены российских И международных конференциях: на конференция «The Ninth International Conference Международная on **Bioinformatics** Genome Regulation and Structure/Systems of **Biology**» (Новосибирск, 2014); IV международная школа молодых ученых «Systems Biology and Bioinformatics 2014» (Новосибирск, 2014); Международный симпозиум «Modern Achievements in Population, Evolutionary and Ecological Genetics» (Владивосток, 2015, 2017); Всероссийская научно-практическая конференция международным участием «Морские биологические С исследования: достижения и перспективы», приуроченная к 145-летию Севастопольской биологической станции (Севастополь, 2016); Региональная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых по естественным наукам (Владивосток, 2017); Всероссийская конференция V форума «Водные Балтийского морского биоресурсы, аквакультура и экология водоемов» (Калининград, 2017); Международная конференция «Scientific and Technological Developments of Research and Monitoring of Marine Biological **Resources**» (Владивосток, 2017); Международная конференция «Molecular Phylogenetics and Biodiversity Biobanking MolPhy-5» (Москва, 2018); Ежегодные научные конференции ННЦМБ ДВО РАН (Владивосток, 2015, 2017, 2018).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них три статьи в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК, тезисы докладов и материалы восьми конференций.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 238 страницах, проиллюстрирована 42 рисунками и содержит 30 таблиц. Список литературы содержит 214 источников, из них 141 на иностранных языках.

Благодарности. Выражаю огромную благодарность своим научным руководителям Юрию Федоровичу Картавцеву и Вячеславу Николаевичу Иванкову за поддержку и общее научное и методическое руководство. Отдельную благодарность выражаю Н.Г. Богуцкой за обучение основам морфологического анализа. Благодарю А.Ю. Чичвархина за помощь, ценные советы и предварительное ознакомление с текстом диссертации. Искреннюю благодарность выражаю С.В. Туранову, О.В. Чичвархиной, В.Д. Никитину, Г.Н. Дзену, Е.Е. Хапочкину. Выражаю сердечную благодарность О.Н. Катугину за всестороннюю поддержку, ценные замечания и полезные наставления.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Изначально виды дальневосточных красноперок относили к роду *Leuciscus* Cuvier,1816. Иногда их выделяли в отдельный подрод *Telestes* Bonaparte, 1837 (Gritsenko, 1974). Причастность к подроду *Telestes* авторы обосновывали наличием в боковой линии более 60 прободенных чешуй и ассимметричной формулой глоточных зубов (в основном 2,5–4,2) (Берг, 1912; Дулькейт, 1927; Солдатов, Линдберг, 1930; Okada, 1935; Моисеев, 1936; Таранец, 1937). По мнению В.В. Свиридова, многие авторы руководствовались исключительно анатомическими и морфологическими признаками и указывали, но не учитывали проходной образ жизни дальневосточных красноперок, который отличает эту группу рыб от других представителей выделяемого подрода (Свиридов, 2002).

Впервые род *Tribolodon* описан Sauvage (Sauvage, 1883). Однако именно О.Ф. Гриценко (Гриценко, 1974) привел убедительные доводы в пользу взглядов японских авторов (Okado, 1960; Nakamura, 1963), причисляющих дальневосточную красноперок к отдельному роду *Tribolodon*. О.Ф. Гриценко (Гриценко, 1974) основывался на положении о том, что для рода существенна схожесть экологических ниш, занимаемых его представителями (Mayr et al., 1953). О.Ф. Гриценко признавал выделение группы видов дальневосточных красноперок В самостоятельный род на основании комплекса морфологических занимаемой признаков И экологической ниши, включающей анадромный образ жизни, который отличает красноперок от группы Leuciscus – исключительно пресноводных видов. Так же, выделение рода *Tribolodon* обосновывалось наличием ряда общих признаков (например, появлением красноперок своеобразной нерестовой окраски), v обособляющих их от видов рода *Leuciscus* (Гриценко, 1974).

В базе данных Fishbase (http://www.fishbase.org/Nomenclature/ScientificNameSearchLisT. hp) в роде *Tribolodon* приведена частичная синонимия, включающая до 11 наименований видового ранга. В зависимости от личных взглядов в период с

1873 по 1937 гг. разные авторы выделяли от одного (Световидова, 1973) до 18 видов таксона (Гриценко, 1974).

Большинство описаний красноперок базировались на следующих признаках: форме плавательного пузыря (Kahata, 1981; Чуриков, Сабитов, 1982), форме икры (Гриценко, 2002), брачной окраске (Гриценко, 1972, 1974; Гавренков, Иванков, 1979; Свиридов и др., 2002, 2003), пластических и меристических признаках (в основном число чешуй в боковой линии), поведение во время нереста (Гавренков, 1982; Гриценко 1982, 1990, 2002), реакции на особей своего вида (Sakai, Yoshii, 1990).

1.1. Морфологические отличия

Морфологические различия играли важную роль на протяжении всего периода исследования рода *Tribolodon* и изучались многими российскими авторами (Гавренков, 1989, 1998; Барабанщиков, Магомедов, 2002; Свиридов, 2002; Свиридов, Иванков, 2002; Свиридов, Иванков, 2003; Шедько, 2005; Большаков, 2013, 2014).

Для изучения дальневосточных красноперок часто использовали следующие промеры: АВ (от начала верхней челюсти до конца лучей хвостового плавниках), АС (длину от начала верхней челюсти до выемки на хвостовом плавнике) и AD (длину от начала верхней челюсти до конца чешуйного покрова). Так, в своей работе Ю.И. Гавренков и В.Н. Иванков выделили в р. Киевка (юг Приморского край) два вида красноперок: *T. brandtii* и *T. hakonensis* базируясь на сведениях о плодовитости, размерновесовом и возрастном составе, строении чешуи, скорости роста и морфометрических признаках. Авторами была разработана схема промеров головы, проанализировано количество позвонков, число жаберных тычинок и число чешуй в боковой линии. В качестве основного промера, с которым проводили сравнение, авторами был выбран признак AD (Гавренков, Иванков, 1979).

Работы по измерению молоди разных видов красноперок проводили В.Н. Иванков с соавторами (Иванков и др., 1984). В качестве модельных объектов ими были выбраны неполовозрелые особи *T. hakonensis* и *T. brandtii*. Для сравнения особей разных видов авторы выделили такие признаки, как пропорции головы. Особое внимание обращали на размеры челюстных костей и диаметр чешуи, которая у *T. hakonensis* крупнее, чем у *T. brandtii*. Несмотря на обнаруженные между видами различия, они оказались относительно невелики: у молоди *T. hakonensis* и *T. brandtii* максимальные различия составили 7% для нижней челюсти (Иванков и др., 1984).

В другой работе В.Н. Иванков с соавторами произвели сопоставления промеров гибридов, полученных в результате скрещивания *T. hakonensis* и *T. brandtii*. Результаты продемонстрировали сходство линейных промеров гибридов и родительских видов. Значения выбранных признаков мальков гибридов занимали промежуточное положение относительно значений таковых признаков мальков *T. hakonensis* и *T. brandtii* (Иванков и др., 1987).

Для диссертационной работы использовали часть признаков, выбранных для разделения двух подвидов T. brandtii brandtii И T. brandtii maruta (Sakai, Amano, 2014). Подвид T. brandtii maruta отличается по следующим признакам: CIO подглазничный канал (соответствует постоперкулярному каналу РОС в работе H. Sakai и S. Amano) соединяется с CPM предкрышечно-челюстным (соответствует оперкулярномандибулярному каналу РОМ в работе Н. Sakai и S. Amano), при этом предкрышечно-челюстной канал центральной боковой линии расширен дорзально; дорсальный профиль рыла слегка закруглен, боковая линия состоит из 73-87 чешуй, число чешуй над боковой линией 12-17, число чешуй под боковой линией 9–14, число чешуй до дорзального плавника 34– 41, общее число позвонков 45-48. Подвид T. brandtii maruta pacпространен на тихоокеанском побережье острова Хонсю от Токийского залива до залива Офунато, префектуры Иватэ, Япония (Sakai, Amano, 2014).

Несмотря на обнаруженные авторами различия, значения числа чешуй над и под боковой линией, а так же число предорзальных чешуй *T. brandtii maruta* перекрываются с соответствующими значениями *T. brandtii brandtii*, у которого боковая линия состоит из 78–98 чешуй, 15–20 чешуй над боковой линией, 11–18 чешуй под боковой линией, 40–49 чешуй до дорзального плавника, общее число позвонков: 46–50. Описание нового подвида *Tribolodon brandtii maruta* было сделано по 30 экземплярам (Sakai, Amano, 2014).

1.1.1. Форма плавательного пузыря

А.А. Чуриковым и Э.Х. Сабитовым был проведен сравнительный анализ форм плавательного пузыря у дальневосточных красноперок, выловленных в нескольких водоемах о. Сахалин. В результате авторами был выделен дополнительный диагностический признак для T. sachalinensis. У взрослых особей этого вида задняя часть плавательного пузыря имела закругленную форму сравнению С *T. brandtii* И T. hakonensis. по Исследование проводилось на выборках половозрелых особей с ярковыраженной брачной окраской в период нереста в озере Русское и р.Тымь. У молоди T. sachalinensis на задней части пузыря имелся небольшой соскообразный вырост. Анализ молоди был проведен в Ныйском заливе (Чуриков, Сабитов, 1982).

Ранее, форма плавательного использовалась как диагностический признак *T. sachalinensis, T. brandtii* и *T. hakonensis* из нескольких мест о. Хаккайдо. Отличительной особенностью обладал конец задней камеры плавательного пузыря. У *T. sachalinensis* он имел округлую форму или «зернистый» кончик, у *T. brandtii* и *T. hakonensis* пузырь имел сужающийся или острый кончик. Длина задней камеры плавательного пузыря также отличалась у этих трех видов: самая длинная у *T. hakonensis*, самая короткая у *T. sachalinensis*, промежуточное положение по значению данного признака занимал *T. brandtii* (Kahata,1981)

1.1.2. Исследование чешуи

Признак «число чешуй в боковой линии» всегда использовался в качестве маркера для разделения видов рода Tribolodon (Линдберг, Легеза, 1965; Nakabo, 2002). Именно благодаря характерному числу чешуй в боковой линии были даны русские название видам *T. brandtii* – «мелкочешуйная красноперка» с большим числом чешуй в боковой линии, и T. hakonensis – «крупночешуйная красноперка» с меньшим числом чешуй в боковой линии (Гавренков, Иванков, 1979). Русская терминология для названия рода *Tribolodon* описывалась Г.У. Линдбергом и М.Н. Легезой (Линдберг, Легезой, 1965), которые ссылались на Л.С. Берга (Берг, 1916, 1932), разделяющего T. brandtii и T. hakonensis по числу чешуй. Л.С. Берг указывал, что правильное русское название рыб рода *Tribolodon* – «угай», происходящее от японского термина. Русские названия: «красноперка», применяемое во Владивостоке, «чебак» – на Сахалине и корейское «хаэ» – в южноуссурийском крае, – не верны (Берг, 1916, 1932, 1949). Однако, в дальнейших работах по исследованию рода Tribolodon авторы применяли именно название «дальневосточная красноперка», которое постепенно стало общеупотребляемым в научной литературе (Дружинин, 1970; Гриценко 1972, 1974; Световидова, 1973; Гавренков, Иванков, 1979; Бушуев и др., 1980; Иванков и др., 1984; Иванков и др., 1987; Картавцев и др., 2002; Свиридов, 2002; Свиридов, Иванков, 2002; Свиридов и др., 2002; Семина и др., 2006; Семина и др., 2007; Батищева и др., 2011; Брыков и др., 2011). Термин «угай» настоящее время считается синонимом названия «дальневосточная В красноперка» (Новиков и др., 2002).

Число чешуй – не единственный признак, применявшийся для разделения видов рода *Tribolodon*. Например, при изучении размерновозрастного состава многими авторами использовались признаки «форма чешуи» и «число склереитов на чешуе». Было показано, что форма чешуи у *T. hakonensis* более округлая в то время, как форма чешуй у *T. brandtii* – овальная (Гавренков, Иванков, 1979).

В 2016 году был проведен сравнительный анализ чешуй *T. brandtii*, *T. hakonensisu T. sachalinensis*. Видовую принадлежность *T. brandtii* и *T. hakonensis* с юга Приморья диагностировали при помощи большого и малого радиуса чешуи, а также, по числу ребер на чешуйной пластинке. *T. hakonensis* отличался более округлой формой чешуи и меньшим числом ребер на чешуе по сравнению с *T. brandtii*, у которого чешуя имела более овальную форму и большее число ребер (Иванков и др., 2016б; Иванков и др., 2016в). Подобный анализ был сделан для сравнения трех видов *T. brandtii*, *T. hakonensisu T. sachalinensis* (Иванков и др., 2016б; Иванков и др., 2017в; Ivankov et al., 2017; Иванков и др., 2017).

1.1.3. Исследование брачной окраски

Помимо традиционных пластических и меристических признаков виды рода *Tribolodon* различают по приобретенной окраске туловища и плавников во время нерестового хода (Sakai, 1995). Г.В. Никольский отмечал изменение окраски красноперок по мере их подъема на нерест от обычной (серебристое брюшко и темно-зеленая спинка) до яркой и весьма примечательной (Никольский, 1956). К. Uchida (Uchida, 1939) указывал на появление по бокам красной полосы, a Y. Okada (Okada, 1955) – на покраснение анального и брюшных плавников и появление жемчужной сыпи. И.В. Никитинская при исследовании Leuciscus brandti описывала брачный наряд с тремя полосами: с самой яркой нижней полосой сбоку по брюху, со средней розовой, шириной в одну чешую полосу, проходящей по боковой линии, и с верхней красной полосой, более широкой и яркой (Никитинская, 1962). Вероятно, автор исследовала крупночешуйной дальневосточной красноперки T. hakonensis, для которой характерен именно такой тип окраски (Гриценко, 1972, 1974, 2002; Гавренков, Иванков, 1979; Свиридов и др., 2002, 2003). Однако, судя по повествованию, автор не разделяла дальневосточных объединения красноперок на виды И придерживалась теории

крупночешуйной и мелкочешуйной красноперки в один вид *Leuciscus brandti* (Никитинская, 1962).

Важность брачной окраски отмечалась для видовой идентификации *T. hakonensis* и *T. brandtii* на материале из б. Киевка (Приморский край) (Гавренков, Иванков, 1979). В своей работе авторы указывают на красный цвет одной полосы *T. brandtii* и оранжевый для трёх полос *T. hakonensis*. Исследование с применением морфометрического анализа проводилось авторами только на самках. Авторы связывали такой выбор с большей степенью выраженности брачного наряда и с ярким половым диморфизмом (изменением в строении челюстного аппарата у самцов) (Гавренков, Иванков, 1979).

В ряде исследований выявляли разные типы брачной окраски видов рода *Tribolodon*. О.Ф. Гриценко в своих работах (Гриценко, 1972, 1974, 1990, 2002) исследовал фенотипические признаки дальневосточных красноперок, в частности, их брачную окраску, как «фактора, ограничивающего спаривание особей близкородственных симпатрических видов» (Гриценко, 2002). Автор выделил 3 типа брачной окраска и соотносил каждый тип с одним из трех видов рода. «Тип I. – *T. hakonensis*: три красных полосы на боках тела. Тип II. – *T. brandtii*: одна красная полоса ниже боковой линии и красное пятно в начале, частично заходящее на жаберную крышку. Тип III. – *T. sachalinensis*: одна красная полоса ниже боковой линии, но в начале тела имеется черное пятно, частично заходящее на жаберную крышку» (Гриценко, 2002).

Анализ фенотипов брачной окраски для трех видов рода *Tribolodon* исследовали В.В. Свиридов с соавторами. В результате анализа особей *T. hakonensis* из б. Киевка (Приморский край) выделено три типа фенотипической окраски. Тип I: вторая полоса прерывается на уровне брюшного или анального плавника, не доходит до хвостового плавника. Тип II: вторая полоса не прерывается, доходит до хвостового плавника, имеется перемычка между второй и третьей полосами. Тип III: вторая полоса не прерывается и третьей полосами.

второй и третьей полосами, между первой и второй полосами, между второй и третьей полосами имеются дополнительные перемычки (это модификация типа II) (Свиридов и др., 2003). В другой работе у *T. brandtii* из б. Киевка (Приморский край) выделено пять типов фенотипической окраски: «Тип I: над передней частью основания анального плавника имеется ромбовидноокруглое расширение красной полосы; тип II: над передней частью основания анального плавника имеется треугольное утолщение углом направленное к основанию данного плавника; тип III: красная полоса тянется вдоль всего тела, практически без утолщений и ответвлений к основаниям брюшного и анального плавников; тип IV: между брюшным и анальным плавником полоса делает седловину, при этом к основанию анальным и анальным имеются углообразные выпячивания; тип V: между брюшным и анальным плавником имеется развилка» (Свиридов и др., 2002).

1.1.4. Сейсмосенсорная система головы

Впервые сейсмосенсорную систему, как признак, разделяющий виды дальневосточных красноперок, использовал М. Nakamura (Nakamura, 1963). На основании этого признака он предлагает выделить 4 вида: 1) T. brandtii (=T. taczanowskii, Nakamura, 1963) y которого соединены каналы подглазничный CIO (в оригинале - РОС постоперкулярный) с предкрышечночелюстным СРМ (в оригинале - РОМ оперкулярно-мандибулярный), вид характеризуется большим числом пор в подглазничном канале (в оригинале POC постоперкулярном); 2) T. sachalinensis (=T. ezoe, Nakamura, 1963) подглазничный CIO (в оригинале – РОС постоперкулярный) предкрышечночелюстной СРМ (или РОМ – перкулярно-мандибулярный) каналы не соединены, вид занимает промежуточное положение по числу пор, в надвисочном канале CST (в оригинале – супратермальном ST) имеется семь T. hakonensis подглазничный СІО 3) (в оригинале пор; y POC постоперкулярный) и предкрышечно-челюстной СРМ (в оригинале РОМ – оперкулярно-мандибулярный) каналы не соединены, вид характеризуется наименьшим числом пор в исследованных каналах, в надвесочном канале CST (в оригинале – супратермальном ST) – пять пор; 4) у *T. nakamurai* (=*T.* sp., Nakamura, 1963) нет соединения между подглазничным CIO (в оригинале POC – постоперкулярный) и предкрышечно-челюстным CPM (в оригинале POM – оперкулярно-мандибулярный) каналами, число пор соответствует *T. brandtii*. По наблюдениям М. Nakamura (1963) у *T. brandtii* (=*T. taczanowskii*, Nakamura, 1963), *T. sachalinensis* (=*T. ezoe*, Nakamura, 1963) число пор варьировало в зависимости от места сбора. Экземпляры их северных районов исследованного ареала характеризовались большим числом пор по сравнению с экземплярами из южных. Для *T. hakonensis* подобной географической неоднородности не отмечается.

Ha эффективность сейсмосенсорной системы головы, как диагностического признака для разделения видов рода Tribolodon также указывал К. Kurawaka (Kurawaka, 1977). В своей работе он делил род на три группы: 1) особи с меньшим числом пор, связь между подглазничным CIO (в оригинале – РОС) и предкрышечно-челюстным СРМ (в оригинале – РОМ) каналами отсутствует; 2) особи с большим числом пор, связь между подглазничным CIO (в оригинале – POC) и предкрышечно-челюстным СРМ (в оригинале – РОМ) каналами отсутствует; 3) особи с большим числом пор, связь между подглазничным CIO (в оригинале – РОС) и предкрышечночелюстным СРМ (в оригинале – РОМ) каналами присутствует. Однако, T. hakonensis и T. sachalinensis (=T. ezoe) по его данным характеризуются *T. brandtii* (=*T*. меньшим, сравнению с taczanowskii) И *T.* sp. по (*=T. nakamurai*) числом пор в СІО (в оригинале – РОС) и СРМ (в оригинале – РОМ). Основываясь на строении каналов, по числу пор в каждом из них и по характеру распространения, и местообитанию в водах Японских островов (высокий и низкий уровни солености) автор выделял четыре вида красноперок,: T. hakonensis, T. sachalinensis (=T. ezoe (Kurawaka, 1977)), T. brandtii (=T. taczanowskii (Kurawaka, 1977)) и T. nakamurai (=T. sp. (Kurawaka, 1977)). Большее число пор отмечалось в северной части ареала у *T. sachalinensis* (=*T. ezoe*) и *T. brandtii* (=*T. taczanowskii*), а меньшее – в южной (Kurawaka, 1977).

Сейсмосенсорная система использовалась и в качестве признака, общего для двух подвидов. В своей работе H. Sakai и S. Amano (Sakai, Amano, 2014) отмечают, что два подвида T. brandtii (T. b. brandtii и *T. b. maruta*) отличались ОТ трех выделенных видов (T. hakonensis, T. sachalinensis, T. nakamurai) наличием перемычки между (соответствует подглазничному CIO постоперкулярным каналу, Гриценко, 2002) и преоперкулярно-мандибулярным каналами (соответствует предкрышечно-челюстному СРМ).

Н.Г. Богуцкая проводила сравнение *T. brandtii* и *T. hakonensis* не только по расположению каналов относительно костей, но и по число пор в каждом из каналов и в, выделенных на каналах, отдельных участках. У *T. brandtii* надглазничный канал (CSO) доходил до кости parietale и соединялся с подглазничным каналом (CIO) через расположенную в коже костную трубочку, (suprapraeoperculum 1). Число пор было: 1) в надглазничном канале (CSO) 13–18, на носовой кости nasale – 4–6, на frontale – 9–11; 2) в подглазничном канале (CIO) – 22–28, на suborbitale – 6; 3) в предкрышечночелюстном каналах (CPM) – 20–22, в dentale – 6–7; 4) в надвисочном канале (CST) – 5–9 (Богуцкая, 1988).

У *Т. hakonensis* надглазничный канал (CSO) либо заканчивался на границе кости parietale, либо проходил немного вперед, но не в самой кости, а в коже. Соединения между подглазничным (CIO) и предкрышечно-челюстным (CPM) каналами не было. Число пор: 1) в надглазничном канале (CSO) – 9–13, на носовой кости nasale – 4, на frontale – 6–7; 2) в подглазничном канале (CIO) – 15–19, на suborbitale – 6–7; 3) в предкрышечно-челюстном каналах (CPM) – 12–15, в dentale – 6; 4) в надвисочном канале CST – 3–7 (Богуцкая, 1988).

1.1.5. Обонятельная реакция

Н. Sakai и К. Yoshii в своей работе (Sakai, Yoshii, 1990) писали, что частую гибридизацию *T. brandtii* c *T. hakonensis* и несмотря на С T. sachalinensis, большая часть вылавливаемых мальков не являлась гибридными формами (Sakai, Hamada, 1985; Sakai, 1987). Авторами было сделано предположение о распознавании особей своего вида при помощи обоняния, для этого исследователями были проведены эксперименты по перекрестной адаптации особей *T. sachalinensis*, выловленных из реки Мукава. Двух особей *T. sachalinensis* стимулировали вначале отдельно при помощи мочевины и, затем отдельно, раствором, который экстрагировали из неоплодотверенной икры отдельно каждого из трёх анализируемых видов. В особей T. brandtii, качестве стимула авторы применяли продукты T. hakonensis и трех экземпляров T. sachalinensis. При стумулирования у обоих образцов T. sachalinensis наблюдалась значительно большая степень отторжения особей других видов по сравению с представителями своего вида В результате, уровнь отторжения при обработке «икряным настоем» был наибольший для T. brandtii. При обработке мочевиной, наибольшую степень отторжения вызывал T. hakonensis, на втором месте был T. sachalinensis. Авторы пришли к выводу о том, что вероятно, химикаты растворенные в «икряном настое» или в мочевине зрелой рыбы – это сигналы (феромоны), которые стимулировали репродуктивное поведение рыб. Н. Sakai и К. Yoshii считали, что половозрелые рыбы использовали подобные сигналы для определения особей своего вида, чтобы избежать гибридизации (Sakai, Yoshii, 1990).

1.1.6. Экология и нерест

Информация по наличию хоминга у красноперок в литературе весьма противоречивая. Так С.Г. Большаков сделал вывод о наличии ярко выраженного хоминга у дальневосточных красноперок из р. Раздольная (Большаков, 2013). Автор использовал данные мечения рыбы только в р. Раздольная и сравнивал свои результаты с результатами Н.И. Колпакова и П.Г. Милованкина (Колпаков, Милованкин, 2009). Последние, описывая возврат красноперок, отмечали случаи проникновения мелкочешуйной красноперки *T. brandtii* из Амурского залива в Уссурийский. Авторами проводилось мечение красноперок в нескольких реках, возврат фиксировали только в р. Раздольная, в которую возвращались только рыбы, выловленные в ней. Уровень возврата составил: для *T. hakonensis* – 13,2%, для *T. brandtii* – 12,7%. В работе был сделан вывод о «привязанности» красноперок к определенным местам нагула (Колпаков, Милованкин, 2009).

В период нагула в море, дальневосточные красноперки, обитающие на о. Сахалин далеких миграций не совершают, и в течение лета возвращаются на несколько дней в распресненную и пресную воду. В период нереста встречаются дальневосточные красноперки во всех реках о. Сахалин, в заливах, низовьях рек и озерах, соединяющихся с морем. В реках Тымь, Поронай, Ударница встречаются все 3 вида красноперок одновременно (Гриценко, 2002).

На примере реки Тымь была рассмотрена последовательность захода трех видов на нерест: первым заходил *T. hakonensis*, далее наблюдался ход *T. brandtii*, последним заходил *T. sachalinensis*. Сроки нереста шли в той же последовательности. По сравнению с другими видами дальневосточными красноперок о. Сахалин *T. hakonensis* предпочитал более высокий уровень воды, быстрое течение и низкую температуру (Гриценко, 1982). В литературе прослеживается отличие в выборе скоростей течения южными популяциями *T. hakonensis*. Так, Ю.И. Гавренков отмечал, что в б. Киевка *T. hakonensis* предпочитал «относительно спокойное течение реки» для икрометания по сравнению с *T. brandtii*, нерестящимся на быстрине (Гавренков, 1982).

Отдельно О.Ф. Гриценко было отмечено существование озерных популяций *T. hakonensis* и *T. sachalinensis* (в изолированных озерах Русское и Хвалисекое) (Гриценко, 2002). Нерест этих двух видов осуществлялся последовательно в протоке, существовавшей между этими озерами до 1977 г.

Основные нерестилища располагались на глубинах до 2,5 м недалеко от береговой линии, аэрацию икры обеспечивали ветровые течения (Гриценко, 2002). Последнее увтерждение оспорено В.Н. Иванковым и Е.В. Иванковой, пологающими что аэрация обеспечивалась подземными водами, на не ветровыми течениями (Иванков, Иванкова, 2017).

1.1.7. Икра

В работе М.Л. Крыхтина отмечалось, что икра красноперок из реки Айнской (о. Сахалин) обладает высокой клейкостью и, после вымета на быстрине, тонет (поскольку плотность выше, чем у воды), через 2-8 секунд заносится под камни и прочно приклеивается к ним. В своей работе автор тщательно описал эмбриональное развитие и поведение личинок в первые дни жизни (Крыхтин, 1960).

Исследуя р. Мы (лиман Амура) И.В. Никитинская также указывала, что опущенная в воду икра дальневосточной красноперки через несколько минут становилась клейкой (Никитинская, 1962). К сожалению, ни М.Л. Крыхтин (1960), ни И.В. Никитинская (1962) не выделяли виды дальневосточных красноперок и описывали этих рыб как один вид – *Leuciscus brandti*, поэтому невозможно сказать точно, развитие каких видов каждый из них описывал.

Позднее О.Ф. Гриценко, приводлил данные о том, что икра всех трех видов красноперок острова Сахалин имела клейкий хорион и была «окрашена в разные оттенки желто-оранжевого цвета». Цвет икры и ее клейкость в качестве признака для разделения красноперок Сахалина О.Ф. Гриценко не выделял. В качестве признака разделения видов он предлагал использовать диаметр обводненной икры (Табл. 1.1.7.1). По его наблюдениям, во время нереста каждого вида, производители закапывали икру в «коллективном гнезде» – нерестилище (Гриценко, 2002).

Напротив, О.Ф. Гавренков при исследование нереста у крупночешуйной и мелкочешуйной красноперок в б. Киевка (Приморский край) отмечал различия в цвете и клейкости икры у разных видов. У

Т. hakonensis икра была оранжевого цвета и не клейкая, откладывалась в выкопанные ямки. После оплодотворения производители закапывали икру грудными плавниками, а нерест проходил в участках со спокойным течением. Икра *T. brandtii* желтого цвета, клейкая, производители не закапывают ее в грунт. А сам нерест этого вида происходил на быстрине реки (Гавренков, 1982).

Таблица 1.1.7.1 – Размеры яиц дальневосточных красноперок рода *Tribolodon*, мм (По: Гриценко, 2002)

Признак	T. sachalinensis		T. hakonensis		T. brandtii	
	M±m	σ	M±m	σ	M±m	σ
Диаметр икры	2,26±0,02	0,11	2,97±0,06	0,30	2,76±0,02	0,10
Диаметр желтка	1,68±0,02	0,11	2,03±0,05	0,25	2,10±0,01	0,06
Толщина	0,29±0,01	0,05	0,47±0,01	0,05	0,33±0,01	0,04
перивителлинового						
пространства						

Получены также данные по клейкости икры одного вида дальневосточной красноперки, оплодотворенной спермой другого вида дальневосточной красноперки (Иванков и др., 1987). К субстрату «гибридная икра» прикреплялась слабо, но в большей степени, чем икра *T. hakonensis*, у которой авторы отмечали отсутствие клейкости. Все зафиксированные гибриды в группе №2 имели аномальное строение хвостового плавника, одна часть группы №1 – аномальные плавники, а вторая часть группы №1 – была взята для проведения морфометрического анализа.

1.2. Молекулярно-генетические исследования

Работа В.D. DeMarais с соавторами по гибридизации карповых рыб была одной из первых, в которой сочетались морфологические и генетические методы (DeMarais et al., 1992). Для принятия гипотезы о возможном гибридном происхождении вида *Gila seminuda* семейства

карповых из реки Вирджин (штат Аризона, штат Невада, штат Юта, США) в работе были использованы морфологические и генетико-биохимические признаки. Предполагаемые родители Gila robusta robusta и Gila elegans четко отличались друг от друга по морфологическим признакам, результатам аллозимного анализа и по данным гаплотипов, полученных при помощи мтДНК. ПДРФ-анализа *Gila seminuda* обладал промежуточными морфологическими характеристиками являлся полиморфным И ПО аллозимным локусам, присущим предполагаемым родительским особям. ПДРФ-анализ мтДНК показал, что Gila seminuda почти идентичен Gila *elegans*. По мнению авторов, подобные результаты поддерживали гибридное происхождение обоеполого нестерильного таксона *Gila seminuda* путем интрогрессивной гибридизации. В работе говорилось 0 возможном гибридном происхождении популяции рода *Gila* реки Моапа (штат Невада, США) и отдельной популяцией *Gila seminuda*. Авторы утверждали, что межвидовая гибридизация является одной из потенциальных форм эволюции западных североамериканских рыб. Кроме того, по мнению авторов, валидные виды гибридного происхождения могли существовать и в других группах (DeMarais et al, 1992). Впоследствии, были сделаны попытки видообразованием провести параллель между красноперок И представителями других карповых рыб.

В первых молекулярно-генетических работах по идентификации видов красноперок эксперименты проводились с применением белковых маркеров (Бушуев и др., 1980; Гавренков и др., 1984; Sakai, Hamada, 1985; Омельченко и др., 1986; Sakai, 1987; Sakai et al., 1995; Sakai et al., 2002 и др.). Так, с применением пяти аллозимных маркеров, были проанализированы 130 экземпляров *T. brandtii* и *T. hakonensis*. По четырем маркерам (общий белок мышц и плазмы крови, эстераза мышц и плазмы) выявлялись четкие генетические различия, что подтверждало выводы Ю.И. Гавренкова и В.Н. Иванкова (Гавренков, Иванков, 1979) о существование двух видов на юге Приморского края *T. brandtii* и *T. hakonensis* (Бушуев и др., 1980).

Сравнение T. brandtii T. hakonensis видов И ИЗ р. Нарва (юг Приморского края) для выявления внутривидового И межвидового полиморфизма было проведено с привлечением 23 белковых маркеров (Гавренков и др., 1984). Авторы измеряли красноперок и определяли возраст рыб. Межвидовые различия были обнаружены авторами по пяти белковым системам (по неидентифицированому белку мышц, по эктеразам сыворотки и мышц, гемоглобину, фосфоглюкомутазе). У *T. brandtii* был выявлен внутривидовой полиморфизм по эстеразе эритроцитов, трансферрину и гемоглобину, а у *T. hakonensis* – по гемоглобину (Гавренков и др., 1984).

При исследовании видов дальневосточных красноперок ДЛЯ идентификации особей успешно применяется комплексный подход на основе ДНК-штрихкодирования (Hebert et al., 2003). В отличие от традиционного морфологического определение ДНК-штрихкода подхода, ПО последовательности стандартного мтДНК маркера (оксидазы цитохрома с, *Co-1*) или по некоторым другим маркерам помогает идентифицировать особь отдельного вида даже, если структуры, несущие морфологические признаки, еще не сформировались или отсутствуют (Schindel, Miller, 2005). По мнению многих авторов, ДНК-штрихкодирование стало надежным инструментом для быстрой идентификации и обнаружения новых видов (Ward et al., 2005; Chen et al., 2011) как водных, так и наземных организмов (Hebert et al., 2003; Ward et al., 2005; Clare et al., 2007; Ratnasingham, Hebert, 2007; Ward et al., 2009; Шнеер, 2009; Ratnasingham, Hebert, 2013; Turanov, Kartavtsev, 2014).

Несмотря на преимущества, молекулярные методы, как и любые другие, имеют недостатки как для исследования видов данного рода, так и других таксонов (Collins, Cruickshank, 2013). Наиболее существенным недостатком, в контексте изучения видов красноперок, является неспособность маркеров мтДНК отличать гибридных особей. У позвоночных животных это связано с преимущественной наследуемостью митохондрий только от одного из родителей – по материнской линии. А дальневосточные

красноперки *Tribolodon* могут сквещиваться в пределах рода (Hanzawa et al., 1988; Sakai, 1995: Sakai et al., 2002).

0 недостаточно выясненных родственных отношениях видов красноперок рода дальневосточных Tribolodon И филогенетических отношениях этих рыб с другими родами, а также их место в сем. Cyprinidae указывалось в работе К. Saitoh с соавторами (Saitoh et al., 2011). Многие авторы подходили к исследованию генетической дивергенции основываясь как на результатах анализа отдельных белковых систем и фрагментов ДНК, так и на информации о полном митохондриальном геноме (митогеноме) или всей мтДНК (Saitoh et al., 2011; Imoto et al., 2013).

В подсемействе карповых рыб Leuciscinae были проанализированы различия последовательностей гена *Cyt-b* и D-петли мтДНК и тридцати белковых локусов (Картавцев и др., 2002; Kartavtsev, Hansava, 2007). Авторы подтвердили сведения о существовании четырех видов рода *Tribolodon*. Номинальные виды достаточно хорошо отличались по исследованным генетическим последовательностям и по данным аллозимного анализа. Все четыре вида имели индивидуальные штрих-коды ДНК, позволяющие однозначно сгруппировать отдельных особей по последовательностям генов, на основании данных о *Cyt-b* и диагностическим ферментным локусам. При построении филогенетического дерева ветвь *Tribolodon nakamurai* получила высокие бутстреп-поддержки по обеим последовательностям мтДНК и ядерным белковым локусам (Kartavtsev, Hansava, 2007).

В работах японских авторов на о. Хоккайдо упоминалось о способности некоторых самцов *T. hakonensis* и *T. sachalinensis* скрещиваться с самками *T. brandtii* (Sakai, Hamada, 1985; Sakai, 1995).

С целью выявления генетической дивергенции и распространения видов рода *Tribolodon* вокруг Японского моря Н. Sakai с соавторами (Sakai et al., 2002) изучили 22 изоферментных локуса из 29 популяций *T. hakonensis* (анадромная и/или речная формы), *T. brandtii* (анадромная форма), *T. sachalinensis* (пресноводная форма) и *T. nakamurai* (пресноводная форма). Маркирующие аллели имели *T. hakonensis* (фосфоглюкомутаза и общий протеин, обозначенный Prot-2*), *T. sachalinensis* (L-лактатдегидрогеназа, обозначенная Ldh-2* и фосфоглюкомутаза), и *T. nakamurai* (дегидрогеназа, обозначенная Idhp-2*). С другой стороны, *T. brandtii* не имел таких диагностических локусов, все аллельные изоформы мелкочешуйной красноперки были характерены и для других представителей рода. Кроме того, все три вида были одинаково близки к *T. brandtii*. Диагностические генетико-биохимические маркеры всех видов однако были приведены в другом исследовании (Картавцев и др., 2002).

На возможную гибридизацию близких видов с *T. brandtii* указывала межвидовая аллельная интрогрессия глицерол-6-фосфат-изомеразы (Gpi-1) между *T. brandtii* и *T. hakonensis* или *T. sachalinensis*. Эти результаты по мнению исследователей свидетельствуют о поддержании определенной интрогрессии на о. Сахалин и о. Хоккайдо между *T. brandtii* и *T. hakonensis* или *T. sachalinensis* (Sakai et al., 2002). В своей работе авторы приводили кластеризацию отдельно южной (с юга Приморского края и из двух рек Корейского полуострова) и северной форм *T. hakonensis* (выборки, сделанные в зоне возле Японских островов, острова Сахалин и реки Тумнин в Хабаровском крае) (Sakai et al., 2002).

Некоторые авторы считали, что если частота гибридных особей невелика, как в природных популяциях (Sakai et al., 2002), то ошибки ложной идентификации гибридов и мультилокусных гетерозигот не могли быть частыми (Kartavtsev, 2013, 2016). Даже при относительно низком уровне гибридизации в некоторых исследованиях ставится вопрос о возникновении за счет гибридизации на границе Плиоцена и Плейстоцена пятого, криптического вида красноперок (Брыков и др., 2011). В качестве механизма видообразования авторами была предложена гипотеза гомоплоидной гибридизации *T. brandtii* и *T. hakonensis* на юге Приморья (Polyakova et al., 2015). В таких ситуациях, для полного понимания генетических процессов необходимо включать в исследование кроме мтДНК, маркеры яДНК,

наследующих гены обоих родителей. Однако яДНК маркеры обычно более консервативны, чем мтДНК, что отражается на уменьшении их изменчивости и дискриминирующей способности. В последние годы были выявлены достаточно вариабельные последовательности некодирующих фрагментов яДНК, способных быть диагностическими для разных видов рыб (Tang et al., 2010; Chen, Mayden, 2009; Mayden, 2009, Chang et al., 2014 и др.) в том числе для Leuciscinae s.l. Для этих рыб в качестве молекулярных маркеров наиболее подходящими считаются участки *Суt-b*, *Co-1* мтДНК (Hanzawa et al., 1987; Sasaki et al., 2007; Kartavtsev, Hanzawa, 2007; Saitoh et al., 2006, 2011; Mayden et al., 2009; Kartavtsev, 2011a, 2011б; Батищева и др., 2011), участок родопсина яДНК (*Rh*) (Palandačić et al., 2010), включая в частности дальневосточных красноперок (Семина и др., 2007; Семина, 2008; Рязанова, Полякова, 2012; Saitoh et al., 2006; Polyakova et al., 2015). Первые из цитированных выше авторов выполнили разнообразные исследования и сформировали содержательные гипотезы о дивергенции дальневосточных красноперок в северо-западной Пацифике.

Гипотеза о разделении *T. hakonensis* на южную и северную формы поднимает одну из важных проблем рода *Tribolodon*. Было видвинуто предположение о присвоения этим формам видового статуса (Семина и др., 2007).

Для уточнения систематического положения, изучения генетического разнообразия взаимоотношений И ЭВОЛЮЦИОННЫХ V карповых рыб (Cyprinidae) авторами (Семина и др., 2007) был использован метод полиморфизма длины рестрикционных фрагментов митохондриальной ДНК, амплифицированных в ПЦР. По результатам, полученным на основе анализа амплифицированых участков, кодирующих ND3/ND4L/ND4, четырех ND5/ND6, 12S/16S pPHK, и двух субъединиц АТФазы и цитохромоксидазы III (ATP6/ATP8/COIII), обрабортанных 13 рестриктазами (Hin6I, MspI, VspI, PstI, AvaI, Cfr13I, MboI, HindIII, RsaI, BsuRI, MvaI, HinfI и StyI) в программе РАUР* 4.0b10 было получено консенсусное дерево. На дереве виды рода *Tribolodon* сформировали общий кластер, в основании которого находится *T. sachalinensis*. Виды *T. brandtii* и *T. nakamurai* формировали отдельные ветви. *T. hakonensis* разделялся на две ветви: северная (Охотское море, о. Сахалин, р. Бахура; Татарский пролив, Хабаровский край, р. Тумнин) и южная формы (Японское море – предположительно с побережья южной части Приморского края, однако точных координат и географических обозначений в работе не имеется, Приморский край, р. Раздольная). Генетические расстояния (*p*-расстояния) по мтДНК между двумя выборками *T. hakonensis* составили 2,4% нуклеотидных замен. Как считают авторы, обнаруженная форма (южная), вероятнее всего, представляет собой самостоятельный вид (Семина и др., 2007).

В своей работе В.А. Брыков с соавторами (Брыков и др., 2011) анализировали изменчивость мтДНК у Tribolodon hakonensis. В результате было выявлено наличие трех филогрупп мтДНК на российской части ареала, генетически отличающихся друг от друга. Для анализа авторами были использованы фрагменты ND3/ND4L/ND4, ND5/ND6 и две субъединицы АТФазы и цитохромоксидазы III (АТР6/АТР8/СОІІІ), обрабортанных 13 рестриктазами. Результаты анализа выявили два кластера северной формы и один кластер южной формы T. hakonensis. При оценке северных выборок, были обнаружены различия между выборкой из р. Тумнин (юг Хабаровского края) и исследованными водоемами Сахалина (р. Ильинка, р. Корсаковка, р. Бахура, р. Фирсовка, зал. Набильский). Авторы предполагали, что в истории этого вида было два периода дивергентной эволюции: «первый этап на границе Плиоцена–Плейстоцена привел к образованию в районе Японского моря генетически изолированной южной формы, возможно – вида, в то время как более поздний второй период дивергенции, связанный, повидимому, с отделением Охотского моря от Тихого океана, закончился впоследствии объединением ранее генетически разделенных форм в один вид с общим генофондом» (Брыков и др., 2011).
Были сделаны попытки провести морфологический анализ (Гудков и др., 2010) и сопоставить полученные данные с результатами генетического анализа видов рода Tribolodon (Семина, 2008). П.К. Гудков с соавторами в своей работе провели сравнительный анализ некоторых пластических и меристических признаков крупночешуйной краснопёрки T. hakonensis (Гудков Сахалина южного Приморья и др., 2010). Результаты И морфологического анализа сравнивались с результатами ПДРФ-анализа, проведенного отдельно на других выборках красноперок из сходных, но не идентичных, точках сбора (Семина, 2008). Анализ пластических признаков проводился с использованием длины рыбы от начала верхней челюсти до точки SL (соответствует промеру 2-25 Рис. 2.1.2.1, Рис. 2.1.2.2), и числа позвонков (авторы подсчитывали диагностикой ИХ вместе С уростилем), проведенным по рентгенограммам. Исследовали различия в промерах двух популяций: 1. зал. Анива, р. Лютога; 2. зал. Петра Великого, зал. Восток. 5 экземпляров T. hakonensis (место вылова зал. Восток) были переданы в коллекцию зоологического института РАН под № 53766. Результаты измерений, используемые авторами для анализа, взяты для сопоставления с результатами данной диссертационной работы.

В работе авторы (Гудков и др., 2010) сделали вывод о выявлении различий, подтверждающих гипотезу о происхождении южной формы крупночешуйной краснопёрки, выдвинутую ранее (Семина, 2008).

В качестве подтверждения гипотезы о существования двух видов вместо одного *T. hakonensis* И.Н. Рязанова и Н.Е. Полякова провели сравнительный кариологический и генетический ПДРФ-анализ. Для ПДРФанализа использовали рыб из рек: Раздольная (Приморский край), Бахура (о.Сахалин), Сусуя (о. Сахалин), Амур (Хабаровский край). Авторы проанализировали фрагменты ND3/ND4L/ND4, ND5/ND6, 12S/16S рРНК и две субъединицы АТФазы и цитохромоксидазы III (АТР6/АТР8/СОІІІ). Обработку ДНК осуществляли 13 рестриктазами. Для кариологического анализа, авторами были взяты отдельные выборки (не используемые для

ПДРФ-анализа): зал. Восток, р. Найба, р. Большой Такой, р. Белая, р. Большой Омокой. В ходя исследования обнаружены различия кариотипов *T. hakonensis*: 1) формула кариотипа 2n=50, NF=80, включающая 10 метацентрических, 20 субмета-субтелоцентрических, 20 акроцентрических – хромосом была у особей южного Приморья; 2) формула кариотипа 2n=50 (NF – 88, 92 и 94) была у особей о. Сахалин. Различия в числе хромосомных плеч были отмечены не только между двумя выделяемыми формами южной и северной, но и в пределах северной формы (Рязанова, Полякова, 2012).

В работе авторов представлены кариотипы *T. sachalinensis* (2n=50, NF=88, из них 10 метацентрических, 28 субмета-субтелоцентрических, 12 акроцентрических-хромосом), и*T. brandtii*<math>(2n=50, NF=88, из них 12 метацентрических, 26 субмета-субтелоцентрических, 12 акроцентрических хромосом) (Рязанова, Полякова, 2012).

На основании сравнительного филогенетического анализа при уровне дивергенции 3,27–3,63% участка 12S/16S рРНК и кариологического анализа видов рода *Tribolodon* сделано предположение о независимой дивергенции южной и северной форм *T. hakonensis*, выдвинута гипотеза об аллопатрическом видооброзовании и предложено признать таксономический ранг южной формы, как отдельного вида (Рязанова, Полякова, 2012).

Однако остались не вполне ясными, как уровни внутри и межвидовой генетической дивергенции потенциальных родителей предполагаемого гибридного вида, так и сама диагностика гибридов (Kartavtsev, 2013), в рамках точных подходов к их идентификации (Campton, 1987).

1.3. Межвидовые различия в эмбриональном развитии, гибридизация

У побережья о. Хоккайдо на основание нескольких выборок из рек Мукава, Сару, Атсума, Тошибетсу, Ассабу, Могасэ и Шириучи проведен анализ аллозимной изменчивости у *T. brandtii, T. hakonensis* и *T. sachalinensis* (Sakai, Hamada, 1985). Авторами выполнен анализ состава аллелей общих белков и изоферментов. Белковые фракции разделялись посредством электрофореза в полиакриламидном геле. Установрено наличие гетерозигот в первом поколении (F1). Рыбы, идентифицированные на отдельные виды и гибриды, затем использовались для морфометрического анализа. В работе сравнивали сейсмосенсорную систему головы, число чешуй в боковой линии, а так же расстояние от кости frontale до основания дорзального плавника. Значение числа чешуй у гибридов было промежуточным по сравнению со значениями, характерными для родительских видов. Из морфологического анализа авторами были исключены гибриды *T. hakonensis* × *T. sachalinensis* из-за маленьких размеров рыб.

Гибриды T. hakonensis \times T. sachalinensis, T. brandtii \times T. sachalinensis, T. hakonensis \times T. brandtii выявлялись по аллозимным системам Ldh-A, Pgm-A, Pgi-A, Mp-2, Mp-3. Кроме того, были обнаружены варианты возвратного скрещивания всех трех видов: 1) T. hakonensis \times T. brandtii \times T. hakonensis; 2) T. hakonensis \times T. brandtii \times T. brandtii; 3) T. brandtii \times T. sachalinensis \times T. brandtii; 4) T. brandtii \times T. sachalinensis \times T. sachalinensis; 5) T. hakonensis \times T. sachalinensis \times T. hakonensis; 6) T. hakonensis \times T. sachalinensis \times T. sachalinensis.

При изучении сейсмосенсорной системы головы этими авторами показано (Sakai, Hamada, 1985) было наличие y гибридов F1 $T. brandtii \times T. sachalinensis$ соединения между надглазничным (CSO) и подглазничным (CIO) каналами. Соединение имелось либо с одной стороны тела (только справа), либо с обеих сторон. Присутствовал вариант недоразвитого канала с одной стороны тела (левой или правой) при его наличии с другой стороны тела.

У гибридов F1 *T. brandtii* × *T. hakonensis* отмечалось либо отсутствие соединения между каналами CSO и CIO, либо (один зафиксированный вариант) наличие недоразвитого варианта соединения справа и наличие его слева. У всех гибридов возвратного скрещивания *T. hakonensis* × *T. brandtii* × *T. brandtii* фиксировали либо наличие соединения

между CSO и CIO, либо, его наличие, полностью сформированного, с одной стороны и недоразвитого – с другой стороны тела (Sakai, Hamada, 1985).

При сравнении эмбрионального развития О.Ф. Гриценко отмечал, что «различия между видами проявляются преимущественно в гетерохронности закладки тех или иных органов (Гриценко, 2002). Так, у T. hakonensis несколько раньше, чем у T. ezoe (=T. sachalinensis), происходит образование хвостовой почки и грудных плавников, черный пигмент на спине появляется на четверо суток раньше, чем у *T. ezoe* (=*T. sachalinensis*). От двух других видов эмбрионы *T. hakonensis* отличаются большим объемом желточного мешка в момент вылупления, более широкой хвостовой частью первичноплавниковой складки и большим диаметром глаза к моменту перехода в личиночный период развития. У *Т. brandtii* раньше, чем у других видов, развивается перикардиальная полость, голова у вылупившихся эмбрионов загнута вниз в меньшей степени, чем у *T. hakonensis* и Τ. ezoe (T. sachalinensis)».

Автор впервые провел межвидовое скрещивание самки T. sachalinensis с самцами T. hakonensis. «В этом опыте набухание произошло у всех яиц, однако объем перивителлинового пространства сильно варьировал. Дальнейшее развитие наблюдалось только у яиц с большим набуханием. До завершения гаструляции из 500 яиц дошло только 31» (Гриценко, 2002). «В возрасте 7,5 суток вылупились два эмбриона. Одна из этих двух предличинок имела нормальное строение, длина ее равнялась 5,5 мм; другая предличинка имела сильно искривленную хорду и тело» (Гриценко, 2002). Автор скрестил T. hakonensis с самцами T. sachalinensis, в результате этого самок скрещивания набухания икры и последующего развития не отмечалось. О.Ф. Гриценко сделал вывод о нежизнеспособности гибридного потомства.

Подобные исследования были проведены В.Т. Омельченко с соавторами в южных районах Приморского края. Скрещивание проводилось между *T. hakonensis* и *T. brandtii*, однако из-за несоответствия русских названий латинским («Материалом для настоящего исследования служили

крупночешуйной потомство Т. brandtii (13)экз.) аквариумное И мелкочешуйной T. hakonensis (15 экз.) красноперок и 21 особь гибридного происхождения» (Омельченко и др., 1986)) и из-за отсутствия информации о принадлежности половых продуктов тому или иному виду, результаты трудно интерпретировать. Данные неточности не умаляют значимости работы, в которой была проведена попытка провести сравнение между полученными промерами для гибридных особей и их родителями. Авторами было проведено сопоставление полученных для потомства дальневосточных красноперок параматров с использованием четырнадцати аллозимных маркеров, семь из которых продемонстрировали положительные результаты для разделение видов и выявления гибридов (Омельченко и др., 1986).

В.Н. Иванков с соавторами провели скрещивание *T. hakonensis* и *T. brandtii*. Авторы отметили наличие репродуктивной изоляции у этих видов. «На это указывает большая гибель в период эмбрионального и личиночного развития (до 96%), а также в период подращивания молоди (до 78%). У выживших гибридных особей часто отмечалось аномальное развитие частей тела, в частности хвостового отдела. Эти рыбы имеют резко пониженную жизнеспособность и выживать могут, видимо, лишь в искусственно созданных условиях...» (Иванков и др., 1987).

Данные о низком вылуплении гибридов межвидового скрещивания самок *T. brandtii* с самцами *T. sachalinensis* были показаны позже (Atsumi et al., 2018). Авторы проанализировали процент вылупления гибрибов для самцов *T. brandtii* с самками *T. hakonensis* (вылупляемость от 58-89 %); самцов *T. hakonensis* с самками *T. brandtii* (вылупляемость от 76-95 %); самцов *T. sachalinensis* с самками *T. brandtii* (вылупляемость от 15-92 %); самцов *T. sachalinensis* с самками *T. hakonensis* (вылупляемость от 88-95 %). Дальнейшее развитие и строение проклюнувшихся личинок не исследовалось (Atsumi et al., 2018). В противовес исследователям (Омельченко и др., 1986; Иванков и др., 1987; Гриценко, 2002) был сделан вывод не только о жизнеспособности полученных гибридов, но и об их способности к размножению (Atsumi et al., 2018).

Несмотря на описанные выше различия, отсутствие четких, не пересекающихся в значениях, диагностических морфологичеких признаков, очевидно, приводило к ошибкам при идентификации видов рода *Tribolodon* при проведении исследований. Поэтому помимо традиционной морфологии во многих работах на дальневосточных красноперках для видовой идентификации стали применять более однозначные подходы, включающие использование молекулярных маркеров в качестве альтернативы морфологическим признакам.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал данной работы составили представители трех видов рода *Tribolodon: T. hakonensis, T. brandtii, T. sachalinensis* (Табл. 2.1). Рыбы отловлены при помощи жаберной сети и на удочку в пяти точках острова Сахалин и в двух точках юга Приморского края (Табл. 2.1, Рис. 2.1). *Oreoleusicus humilis, Oreoleuciscus potanini* и *Phoxinus ujmonensis* были выловлены в Республике Тува и Алтайском крае (Приложение: Табл. 2). Пойманные особи составили коллекцию ваучерных экземпляров согласно принятым правилам международной программы iBOL и базы данных BOLD. Для молекулярно-генетического анализа у каждого экземпляра были взяты части грудного плавника и мышцы рядом с дорзальным плавником, весом приблизительно 0,3–0,5 г. Ткани были зафиксированы в 96% этаноле и хранились при температуре -20°С. Сами рыбы были зафиксированы в 4% формалине. Затем часть коллекции была переведена в 70% этанол, часть в 70% изопропанол.

Вид	Лабораторный	Дата	Место сбора	Географический	Число
	код	сбора	(координаты)	район	особей в
					выборке
T. hakonensis	THK13	9 Июля	42° 84'N	Приморский край,	19
		2013	133° 69′E	б. Киевка	
T. hakonensis	THV13	15 Мая	42° 89′N	Приморский край,	20
		2013	132° 72′E	зал. Восток	
T. hakonensis	THL13	6 Октября	46° 79'N	О. Сахалин, р.	27
		2013	142° 45′E	Лютога	
T. hakonensis	THN13	8 Октября	47° 34'N	О. Сахалин, р.	10
		2013	142° 78′E	Найба	
T. hakonensis	THA13	5 Октября	46° 72'N	О. Сахалин, зал.	21
		2013	142° 58′E	Анива	
T. hakonensis	THT13	29	51° 15′N	О. Сахалин, р.	5
		Сентября	142° 66′E	Тымь	
		2013			
T. brandtii	TBK13	9 Июля	42° 84'N	Приморский край,	22

Таблица 2.1 – Выборки Tribolodon, использованные в работе

		2013	133° 69′E	. Киевка	
T. brandtii	TBV13	15 Мая	42° 89′N	Приморский край,	23
		2013	132° 72′E	зал. Восток	
T. brandtii	TBL13	6 Октября	46° 79'N	О. Сахалин, р.	3
		2013	142° 45′E	Лютога	
T. brandtii	TBN13	8 Октября	47° 34′N	О. Сахалин, р.	1
		2013	142° 78′E	Найба	
T. sachalinensis	TSP13	1 Октября	51° 14′N	О. Сахалин, р.	5
		2013	142° 67′E	Пиленга	
T. sachalinensis	TSN13	8 Октября	47° 34′N	О. Сахалин, р.	4
		2013	142° 78′E	Найба	



Рисунок 2.1 – Карта-схема расположения районов вылова красноперок: -T. hakonensis; -T. brandtii; -T. sachalinensis.

Все экземпляры были помещены в музей ННЦМБ ДВО РАН, где им были присвоены музейные номера. Кроме того, все секвенированные

последовательности генов помещены в базу данных GenBank, NCBI (Приложение: Табл. 1.). Для анализа подсемейства Leuciscinae часть последовательностей были взяты из GenBank (Приложение: Табл. 2).

2.1. Морфологический анализ

Первичную оценку принадлежности особей к тому или иному виду проводили по морфологическим признакам (Гриценко, 1974; Свиридов, 2002). На основе ключей морфологических признаков (Гавренков, Свиридов, 2001; Линдберг, Легеза, 1965; Nakabo, 2002) все отловленные особи отнесены к трем видам: Tribolodon brandtii (Dybowski, 1872), Tribolodon hakonensis (Günther, 1876) и Tribolodon sachalinensis (Nikolskii, 1889). В материале который присутствовал экземпляр, было однозначно трудно идентифицировать. Так, y номинального экземпляра *T. brandtii* (TBK012NTHK0_12), брачная окраска и количество чешуй в боковой линии не позволяли однозначно отнести его точно к этому конкретному виду. Поэтому при проведение сравнительного морфологического анализа этот экземпляр не учитывали. При проведение морфологического анализа руководствовались рекомендациями Богуцкой с соавторами (Богуцкая и др., 2013).

Все промеры и счетные признаки были сведены в общие таблицы. Сравнение исследованных признаков проводилось в процентах и долях. Для части морфометрических промеров формулы для сопоставления значений V J. W. Armbruster (Armbruster, 2012), таблица признаков взяты сопоставлений – из работы N.G. Bogutskaya с соавторами (Bogutskaya et al., 2017), а для части промеров формулы написаны впервые. Статистический анализ проводили на основе пакета программ Statistica (StatSoft, 2005). Для выявления информативных признаков был проведен факторный многомерный анализ. Визуализацию результатов проводили в програмном средстве RStudio (http://www.rstudio.com/ide/) при помощи графиков Boxplot (Шипунов и др., 2017). Исследование неоднородности выборки проводилось методом главных компонент. Отдельно для меристических признаков был

проведен тест Манна-Уитни (Mann, Whitney, 1947). Для пластических признаков использовали попарное сравнение выборок при помощи t-критерия Стьюдента (Лакин, 1980). Уровень значимости t-критерия Стьюдента рассчитывался для выборок неравного объема при $P \le 0.05$. Для оценки значимости различий дисперсии анализируемых выборок проводили тест Левена (Levene, 1960). Если тест Левена был значим ($P \le 0.05$) и значение t-критерия Стьюдента составляли $P \le 0.05$, то соответствующие признаки считали значимыми.

2.1.1. Анализ счетных признаков

2.1.1.1. Число лучей

При подсчете числа лучей руководствовались рекомендациями Н.Г. Богуцкой с соавторами (Богуцкая и др., 2013). Анализ числа лучей проводили отдельно в хвостовом, грудном (левая сторона тела), брюшном (левая сторона тела), анальном (двумя способами: с учетом подкожных лучей, и без учета подкожных лучей) и спинном (двумя способами: с учетом подкожных лучей, и без учета подкожных лучей) плавниках.

При подсчете лучей в брюшных и грудных плавниках пользовались визуальным методом. Для определения числа лучей в анальном и спинном плавниках помимо визуального метода использовали рентгенограммы (Рис. 2.1.1.1.1, Рис. 2.1.1.1.2). На рентгенограммах определяли число лучей луча, находящихся над птеригофорами. Два расположенных над проксимальным птеригофором подсчитывали как «1,5 луча». Помимо видимых лучей, для дорзального плавника анализировали число подкожных лучей. На важность учета этого признака («зачаточных лучей») указывал Л.С. Берг (Берг, 1949). Разделение на ветвистые и неветвистые лучи при подсчете не учитывалось.



Рисунок 2.1.1.1.1 – Образец рентгенограмм спинного плавника (D) для *T. hakonensis* экземпляра № 3 (о. Сахалин, зал. Анива). Римскими цифрами I и II указаны подкожные лучи. Рентгенограммы использованы при подсчете числа лучей.



Рисунок 2.1.1.1.2 – Рентгенограмма анального плавника (А) *Т. brandtii* экземпляра № 1 (о. Сахалин, р. Лютога). Римскими I и II цифрами указаны подкожные лучи.

2.1.1.2. Анализ рентгенограмм позвоночника

В качестве одного из методов исследования морфологических признаков использован анализ рентгенограмм позвоночника. Для каждой особи на приборе Faxitron X-rays MX-20 (Faxitron X-ray Corporation, USA) сделана рентгенограмма и проанализированы общее число позвонков (Рис. 2.1.1.2.1, Рис. 2.1.1.2.2).

По рентгенограммам у всех особей проведен анализ общего числа позвонков и числа позвонков в каждом из выделенных отделов. Отдельно сопоставлено число позвонков у трёх видов красноперок в выборках из пяти мест обирания о. Сахалин и б. Киевка с юга Приморского края. Подсчитывали максимальное, минимальное и среднее число позвонков, стандартное отклонение и стандартную ошибку для анализируемых отделов.

За общее число позвонков (Т) приняты все позвонки от первого веберовского до последнего хвостового позвонка перед комплексным позвонком (плеуростилем). Число позвонков в туловищном отделе вычислялось от первого веберовского до последнего промежуточного повонка. У карповых рыб веберовские позвонки представляют собой первые четыре позвонка до начала позвонков с остистыми отростками (Богуцкая и др., 2013).

Отдельно анализировалось число предорзальных (A1) и промежуточных (A2) позвонков. Подсчитывалось как число позвонков хвостового отдела (C), так и отдельно число преанальных (C1) и постанальных позвонков (C2).



Рисунок 2.1.1.2.1 – Схема строения и деления позвоночника на отделы и подотделы (Naseka, 1996). Т, общее число позвонков; А, туловищные позвонки (включая веберовские); А1, предорсальные позвонки (включая веберовские); А2, промежуточные позвонки; С, хвостовые позвонки; С1, преанальные хвостовые позвонки; С2, постанальные хвостовые позвонки (по: Богуцкая и др., 2013).

Деление на абдоминальный и хвостовой отделы осуществлялось визуально. Началом хвостового отдела считался первый позвонок с нормальным остистым отростком (Рис. 2.1.1.2.3). Первый птеригофор анального плавника не считался ориентиром для начала хвостового отдела (Naseka, 1996).

Истинно туловищным позвонком считался позвонок с наличием отдельно парапофиза, гемального отростка и ребра. Промежуточными позвонками считались позвонки с отсутствующими рёберами, с переходными стадиями слияния парапофиза с гемальным отростком и телом позвонка вплоть до полного слияния и образования нижней гемальной дуги с гемальным отростком вокруг гемального канала (Богуцкая и др., 2013).



Рисунок 2.1.1.2.2 – Рентгенограмма *Т. sachalinensis* экземпляра № 4 (о. Сахалин, р. Пиленга) с обозначениями отделов позвоночника.

Для нахождения границ между истинными туловищными и переходными, а также между переходными и хвостовыми позвонками приняты следующие формальные морфологические определения: «Первый переходный позвонок — позвонок, к телу которого хоть с одной из сторон прирастает парапофиз, не имеющий сочленения с ребром; первый хвостовой позвонок – позвонок с замкнутой гемальной дугой и гемальным остистым отростком, развитым подобно следующему хвостовому позвонку» (Богуцкая и др., 2013).

Деление на предорзальные и постдорзальные туловищные позвонки осуществлялось визуальным методом. Ориентиром служил первый птеригофор. Позвонки, лежащие до первого птеригофора дорзального плавника считались предорзальными. Позвонки, лежащие после первого птеригофора – постдорзальными-туловищными (Рис. 2.1.1.2.4).



Рисунок 2.1.1.2.3 – Рентгенограмма части позвоночного столба *T. sachalinensis* экземпляра № 3 (о. Сахалин, р. Пиленга) с обозначениями трёх видов позвонков. Т.П. – туловищные позвонки; П.П. – промежуточные позвонки; Х.П. – хвостовые позвонки.

В связи с влиянием условий окружающей среды на строение некоторых пластических и счётных признаков (Правдин, 1966) для сравнения разных видов были выбраны два места сбора материала: с юга Приморского край (б. Киевка) и р. Найба (о. Сахалин).

Для б. Киевка была проведена диагностика максимального, минимального и среднего (со стандартным отклонением и стандартной ошибкой) числа позвонков для всех исследованных отделов у T. hakonensis и *T. brandtii*. Для р. Найба проведено сравнение максимального, минимального И среднего числа позвонков для всех исследованных отделов У T. sachalinensis, T. hakonensis и T. brandtii.



Рисунок 2.1.1.2.4 – Рентгенограмма части позвоночного столба *T. sachalinensis* экземпляра № 3 (о.Сахалин, река Пиленга) с обозначениями видов позвонков. Пд.П. – предорзальные позвонки. Т.П. – постдорзальные туловищные позвонки; Пт.1. – первый птеригофор.

2.1.1.3. Анализ числа чешуй

Число чешуй анализировалось на левой стороне тела: 1) в боковой линии от конца головы до основания хвостового плавника, 2) в боковой линии от конца головы до конца чешуйного покрова, 3) в ряду над боковой линией от конца головы до конца чешуйного покрова.

Подсчитывалось число чешуй над и под боковой линией. Последние значения устанавливались двумя способами: 1) подсчёт чешуй «по диагонали» от основания дорзального плавника до боковой линии, и, соответственно, от основания брюшного плавника до боковой линии; 2) подсчет чешуй «лесенкой» от основания дорзального плавника до боковой линии, и, соответственно, от основания брюшного плавника до боковой линии, и, соответственно, от основания брюшного плавника до боковой линии (Рис. 2.1.1.4.1). Чешую, находящуюся на боковой линии принимали за 0,5.



Рисунок 2.1.1.4.1 – Схема вариантов подсчета чешуй 1,2 – над боковой линией; 3,4 – под боковой линией. На рисунке изображен *T. hakonensis* экземпляр №6 из зал. Анива.

2.1.1.4. Анализ сейсмосенсорной системы

В работе проведена оценка числа пор В отделах черепа: 1) надглазничном (CSO), c выделением двух 30H над nasale И frontale + parietale; 2) подглазничном (CIO) с выделением участка infraorbitale (io1); 3) предкрышечно-челюстном канале (СРМ) с выделением зоны dentale (Рис. 2.1.1.3.1).

Для сохранения целостности ваучерных экземпляров подсчет пор у большинства экземпляров проводился под бинокуляром, без предварительного окрашивания, после 10–15 минутного подсушивания. Однако для минимизации ошибки были отобраны по две особи каждого вида для окрашивания каналов тушью (Свиридов, Иванков, 2002). У этих особей поры подсчитывались в два этапа. Вначале проводилось подсушивание тушек, а затем подсчет пор в каналах, заполненных воздухом. После каналы наполняли тушью и вторично подсчитывали число пор. Поскольку обоими способами было определено равное число пор, к остальным экземплярам метод окрашивания тушью не применялся.

Анализ каналов проводился с обеих сторон головы рыбы. Для многих особей вне зависимости от вида была характерна ассиметрия по числу пор с правой и с левой сторон. Сравнения числа пор были проведены для каждой

стороны тела отдельно и с обеих сторон тела. В качестве метода визуализации были выбраны графики Boxplot (Шипунов и др., 2012; Мастицкий, Шитиков, 2015).



Рисунок 2.1.1.3.1 – Схема расположения сейсмо-сенсорных каналов на голове красноперок: **А**. *Т. sachalinensis* и *T. hakonensis*, **Б**. *T. brandtii*.

2.1.2. Анализ пластических признаков

Перед измерением на каждом экземпляре были зафиксированы энтомологические иглы в точках на границах промеров. Это позволило избежать неточностей во время многократного нахождения точек при измерениях. Измерение пластических признаков видов проводились при помощи штангенциркуля по обозначенным точкам. И.Ф. Правдин отмечал, что «в систематике необходима полная согласованность в методике, чтобы результаты, полученные одним исследователем, можно было сравнить с результатами другого автора». Поэтому для возможности повторения анализа, все измерения проводились по разработанной схеме промеров в которую были включены общие признаки для промера рыб (Hubbs, Lagler, 1958; Правдин, 1966), признаки для измерения карповых рыб (Armbruster, 2012; Bogutskaya et al., 2017), а также промеры применяемые ранее для рода *Tribolodon* (Гавренков, Иванков, 1979) (Рис. 2.1.2.2; Приложение: Табл. 11).

В качестве основного линейного промера выбрана длина рыбы от начала верхней челюсти до точки SL (Рис. 2.1.2.1, Рис. 2.1.2.2 промер 2-25,), которая отличается от точки L — конеца чешуйного покрова (Hubbs, Lagler,

1958; Правдин, 1966; Armbruster, 2012; Bogutskaya et al., 2017; Рис. 2.1.2.1, Рис. 2.1.2.2).



Рисунок 2.1.2.1 – Вертикальные линии отмечают основания хвостового плавника (SL) и конец чешуйного покрова, до которого измеряется длина тела без С (l)(по: Богуцкая и др. 2013).



Рисунок 2.1.2.2 – Схема измерения красноперок. На рисунке изображен экземпляр *T. hakonensis* экземпляра № 4 из р. Лютога. Цифрами обозначены точки по которым проводились измерения. 2-25 – длина тела до SL; 1-4 – длина рыла; 5-7 – горизонтальный диаметр глаза; 7-9 – посторбитальное расстояние (до кости жаберной крышки); 7-10 – посторбитальное расстояние (до коснца кожной складки на жаберной крышки); 2-9 – длина головы; 28-29 – высота головы (сквозь ноздри); 30-31– высота головы (сквозь глаз); 2-4 – длина верхней челюсти; 3-6 – длина нижней челюсти; 32-33 – высота ₅₅

operculum; 13-14 – наибольшая высота тела (у основания дорзального плавника); 23-24 – наименьшая высота тела (высота хвостового стебля); 2-13 – придорсальное расстояние; 13-25 – постдорсальное расстояние; 2-11 – расстояние до грудного плавника; 2-15 – расстояние до брюшного плавника; 2-19 – расстояние до анального плавника; 20-25 – длина хвостового стебля (по: Armbruster, 2012); 22-25 – длина хвостового стебля (по: Правдин, 1966); 13-18 – длина основания дорзального плавника (D); 13-17 – высота дорзального плавника (D) (по 2 лучу); 19-20 – длина основания анального плавника (А); 19-21 – высота анального плавника (А) (по 2 лучу); 11-12 – длина грудного плавника (P) (по 3 лучу) ; 15-16 – длина брюшного плавника (V) (по 3 лучу); 11-15 – расстояние между основаниями грудного и брюшного плавников; 15-19 – расстояние между основаниями брюшного и анального плавников; 25-27 – длина верхней лопасти хвостового плавника; 25-26 – длина выямки хвостового плавника; 18-25 – постдорсальное расстояние 2; 3-33 – расстояние от начала нижней челюсти до края operculum; 2-7 – расстояние от начала до конца горизонтального диаметра глаза; 5-9 – расстояние от начала горизонтального диаметра глаза до края жаберной крышки; 11-19 – расстояние от основания грудного плавника до основание анального; 15-25 – расстояние от основания брюшного плавника до точки SL; 11-25 – расстояние от основания грудного плавника до SL; 8-13 - расстояние от cranium до основания дорзального плавника; 34-8 расстояние от nasale до конца cranium.

2.2. Молекулярно-генетический анализ

Материалом для молекулярно-генетического исследования послужила коллекция дальневосточных краснопёрок рода *Tribolodon* и последовательности нуклеотидов представителей Leuciscinae (Приложение: Табл. 2, Рис. 3)

Для анализа использовались метод секвенирования (Sanger et al., 1977) с модификациями (Ronaghi al., 1996, современными et 1998). Последовательности нуклеотидов, получены для нескольких маркеров генов. Использованы наиболее распространенные маркеры, принятые в программе ДНК-штрихкодирования: цитохром оксидаза *с*, субъединица 1 (*Co-1*) и цитохром *b* (*Cyt-b*) мтДНК. Анализ осуществлялся с исправлением типичных ошибок (Collins, Cruickshank, 2013). Наиболее существенным недостатком в контексте изучения видов дальневосточных красноперок является неспособность мтДНК маркеров отличать гибридных особей. У позвоночных животных это связано с наследуемостью митохондрий только от одного из родителей - по материнской линии. Дальневосточные красноперки Tribolodon могут гибридизовать с представителями своего рода (Hanzawa et al., 1988; Sakai, 1995; Sakai et al., 2002). Если встречаемость гибридных особей невелика, как в природных популяциях (Sakai et al., 2002), то ошибки идентификации не могут быть частыми (Kartavtsev, 2013, 2016). Одни из способов избежать ошибок идентификации гибридов – использование маркеров яДНК. Для дальневосточных красноперок рода Tribolodon в маркера яДНК выбрали качестве участок гена родопсина (Rh)И включающую последовательность нуклеотидов, первый внутренний транскрибируемый спейсер рибосомальной РНК (рРНК), 5.8S рРНК, второй внутренний транскрибируемый спейсер рРНК: иными словами, фрагмент ITS-1 - 5.8S - ITS-2 (далее для краткости ITS-1,2).

Для выявления уровня различий подвидов, были проанализированы десять последовательностей *Cyt-b T. brandtii brandtii и T. brandtii maruta* из генного банка: AB198964.1; AB198963.1; AB198962.1; AB198961.1;

АВ162642.1; АВ162641.1; LC277194.1; LC277195.1; АВ626854.1; АР011418.1. Для сопоставления подвидов использовали *p*-расстояния. Для оценки взаимосвязи между ними методом NJ реконструировали генное дерево.

Leuciscinae Для представителей В анализ включены последовательности маркера *Cyt-b* и полный митогеном, представленный 97 последовательностями из GenBank. Информация о последовательностях соответствующих митогенома была приведена на филогенетических деревьях, с указанием их номеров доступа и наименования вида для каждого представленного образца (Приложение: Рис. 3). Сравнительный анализ дивергенции и изменчивости митогенома ограничен только 13 белковыми генами: 1. ND1, 2. ND2, 3. COI (Co-1), 4. COII, 5. ATP8, 6. ATP6, 7. COIII, 8. *ND3*, 9. *ND4L*, 10. *ND4*, 11. *ND5*, 12. *ND6* 13. *CYTB* (*Cyt-b*).

2.2.1. Выделение ДНК

Тотальная ДНК была выделена согласно протоколам методами Hot Shot (Truett et al., 2000) и фенол-хлороформной экстракции (Sambrook et al., 1989) с небольшими изменениями (Заславская и др., 2009) из 10-20 мг ткани.

2.2.1.1. ДНК-амплификация и секвенирование

Участки *Co-1* (557 п.н.), *Cyt-b* (1078 п.н.), *ITS-1,2* (580 п.н.) и *Rho* (677 п.н.) были амплифицированы посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора специфических праймеров по прописям из литературных источников и в авторской композиции: *Co-1* (Ivanova et al. 2007); *Cyt-b* - оригинальные праймеры автора на основе последовательностей карпообразных рыб из GenBank (AP009047.1, AB626855.1, AB626854.1, NC_018821.1, AB671170.1): *Cyt-b* прямой 1– ATC GCT AAT CAT GCA CTA GTY GA; *Cyt-b* обратный 1 – AGC TCA TTT CAG TGC YTT AT; *Cyt-b* прямой 2 – TCC GAC GCA GAT AAA ATY TC; *Cyt-b* обратный 2 – GAR ATT TTA TCT GCG TCG A; *ITS-1,2*: прямой – GTT TCC GTA GGT GAA CCT G, обратный – CTC GTC TGA TCT GAG GTC G; для *Rho:* прямой –

CNT ATG AAT AYC CTC AGT ACT ACC, обратный – TGC TTG TTC ATG CAG ATG TAG A.

Для проведения ПЦР в качестве ДНК-праймеров использовалась термостойкая *Taq* ДНК-полимераза. Оптимальная концентрация ДНК-полимеразы подобранна из расчета 1-4 единицы на 100 мкл реакционной смеси. При приготовлении общей реакционной смеси ДНК-полимераза была внесена в пробирку в последнюю очередь. ДНК-матрица использовалась в объеме 1 мкл. Это связано с тем, что норма для выделения мтДНК из морских организмов находится в пределах 0,1-0,5 мкл на 100 мкл реакционной смеси (Заславская и др., 2009). Реакция с использованием ДНК - полимеразы проводилась на приборе GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Foster City, USA). Были подобраны следующие условия реакции: 94°C – 5 мин, денатурация 94°C – 1 мин, 49-53°C – 1 мин, элонгация 72°C – 2 мин (пункты 2-4 повторяли 30 раз), финальная элонгация 73°C – 3 мин. ПЦР смесь, общим объёмом 21 мк, включала:

2,5 мкл 10-краткного буфера (трис-боратный рН 8,5);

2,5 мкл 10 мМ смеси dNTP;

2,5 мкл «прямого» праймера Р1;

2,5 мкл «обратного» праймера Р2;

2 мкл 5 M MgCl₂;

0,2 мкл 5000 единиц/мл Таа ДНК-полимеразы;

7,8мкл бидистиллированной воды (ddH₂O);

1 мкл ДНК-матрицы.

Концентрация MgCl₂ была подобрана экспериментально (Заславская и др., 2009).

Для *ITS-1,2* дополнительно изготавливалась смесь для полимеразы Q5: 2 мкл 5х Q5 буфера;

- 0,2 мкл dNTP;
- 0,5 мкл Р1;
- 0,5 мкл Р2;

0,1 мкл ДНК-полимеразы Q5;

11,8 мкл ddH₂O;

0,5 мкл ДНК-матрицы.

Все этапы ПЦР с ДНК-полимеразой Q5 проводились с использованием амплификатора GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Foster City, USA). При этом протокол ПЦР включал: первичный нагрев $94^{\circ}C - 5$ мин, денатурация $94^{\circ}C - 1$ мин, $53^{\circ}C - 1$ мин, элонгация $72^{\circ}C - 2$ мин (пункты 2-4 повторяли 30 раз), финальная элонгация $73^{\circ}C - 3$ мин.

Визуализация продуктов ПЦР (ампликонов) проводилась в два этапа: сначала разделение фракции ДНК электрофорезом в 1,5% агарозном геле, а затем окрашивание фрагментов ампликонов этидиум бромидом (5%). На втором этапе фракции ДНК выявлялись в геле посредством транслюминатора в проходящем ультрафиолетом свете (230 нм) и документировались фотографированием (Рис. 2.2.1.1.1).



Рисунок 2.2.1.1.1 – Результаты ПЦР при амплификации участка гена *Co-1* мтДНК 12 особей *Tribolodon brandtii*, маркер в крайней справа лунке.

Перед проведением секвенирования ПЦР-продукты очищались от неиспользованных dNTP и праймеров, которые могли остаться в реакционной смеси после проведения ПЦР.

Для этого был использован способ переосаждения продукта ПЦР этанолом в условиях не осаждения dNTP и коротких фрагментов ДНК (например праймеров). К исходному объему ПЦР в 10 мкл смеси было добавлено два объема 96% этилового спирта (20 мкл). Плотно закрытые пробирки были помещены в центрифугу. ДНК осаждали при температуре 4⁰C в течение 10 минут при 10000 об/мин. Сразу после окончания центрифугирования супернатант был аккуратно извлечен. При этом ДНК оставалась на дне пробирки в виде осадка.

К осадку было добавленно 100 мкл 70% этилового спирта. После чего так же осуществлялось центрифугирование при температуре 4⁰C в течение 10 минут при 10000 об/мин. Затем этанол был удален так, чтобы осадок ДНК оставался на стенке пробирки. Стадия очистки 70% спиртом повторялась дважды.

Открытые пробирки с ДНК были инкубировали в термостате при температуре 37⁰С в течение 90 минут до полного испарения спирта. После этого ДНК была растворена в 10 мкл воды.

Успешно амплифицированные И очищенные ПЦР-продукты использовались для проведения циклического секвенирования. Для этого применялись pearent BigDye в комплекте со стандартным набором производителя (для этой peakции BigDye ABI были использованы стандартные киты v. 3.1; Applied Biosystems Incorporated, Foster City, CA, USA). Для секвенирования была выбрана стандартная программа, созданная для BigDye амплификатора GeneAmpPCR (Перкина-Эльмера): первичный нагрев $96^{\circ}C - 1$ мин, денатурация $96^{\circ}C - 10$ сек., $50^{\circ}C - 5$ сек., элонгация $60^{\circ}C$ - 4 мин (пункты 2-4 повторялись 25 раз). Все этапы реакции были соответствии воспроизведены В с инструкцией К протоколу ПО реагента **BigDye** Terminators, с детекцией использованию последовательности нуклеотидов (секвенирование), выполненной также с использованием GeneAmp 9700. Визуализация продуктов циклосеквенирования проводилась в восьмиканальном капиллярном генетическом анализаторе модели ABI-3500 (ABI, Foster City, CA, USA)

2.2.2. Анализ последовательностей

Анализируемые области участков *Co-1*. Cyt-b, *ITS-1.2*. Rho выравнивали используя программу MEGA-6 (Tamura et al., 2013) на основе утилит ClustalW и Muscul, инделы удалялись вручную. Обработка последовательности маркера Cyt-b осуществлялась в программе Geneous. Вначале проводилось выравнивание первого и второго фрагментов *Cyt-b* Затем отдельно. совмещались (сшивались) две части В ОДНУ последовательность (Рис. 2.2.2.1).



Рисунок 2.2.2.1 – Схема сшивки двух секвенированых нуклеотидных последовательностей *Cyt-b* мтДНК.

При выравнивании последовательностей маркеров белок-кодирующих генов была устанавлена рамка считывания. Затем фрагменты *Co-1*, *Cyt-b* мтДНК переводили в последовательности аминокислот согласно генетическому коду митохондриальной ДНК позвоночных, маркер *Rho* – согласно генетическому коду яДНК позвоночных. После трансляции в белок-кодирующую последовательность, проводили поиск стоп-кодонов.

Для части экземпляров были получены последовательности для всех четырех маркеров; эти наборы последовательностей анализировали отдельно. Для минимизации риска контаминации последовательностей для участков *Co-1, Cyt-b* и *Rho* проводили сравнение последовательностей с имеющимися в базе данных GenBank (NCBI, <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</u>) при помощи программы BLAST. В базе Genbank для рода *Tribolodon* находились последовательности маркера *Rho* не превышающие длину 480 п.н., последовательности маркера *Rho* длиной более 600 п.н. для одного из рассматриваемых в работе видов (*T.brandtii*) отсутствовали. При

сопоставлении последовательностей маркера *Rho* использовали последовательность *T. sachalinensis* (номер Genbank JX443118).

Поэтому для этого маркера проводили сравнение только с последовательностемя *T.hakonensis*. Последовательности *ITS-1,2* были получены для рода *Tribolodon* впервые, поэтому для их сопоставления использовали последовательности *Cyprinus carpio* (AF133089), хотя процент сходства последовательностей в этом случае достигал только 82%.

Ортологичные последовательности для *Co-1, Cyt-b* и *Rho*, содержащие неопределенные основания, удалялись из анализа при помощи алгоритма попарного удаления (pairwise deletion). Анализ внутривидовой и межвидовой дивергенции и морфологических признаков проводили в программе Statistica 6 (StaSoft Inc., 2005).

Различия последовательностей (попарные генетические расстояния) внутри и между видами были подсчитаны для каждого гена и, отдельно, для объединенного набора данных, используя *p*-расстояние (Nei, Kumar, 2000), реализованное в программе MEGA-6. При расчетах использовались как кодировка для митохондриальной ДНК позвоночных, так и стандартный код. Расстояния К2Р также использовали для анализа. Однако, *p*-расстояниям было отдано предпочтение, как наиболее простой мере, не имеющей значительных отклонений от других при оценке дивергенции до величины 15% (Kartavtsev, 2009, 2011; Nei, Kumar, 2000), как в наших данных, а также применяемой при ДНК-штрихкодировании (Srivathsan, Meier, 2012).

2.2.3. Диагностика видов

Для диагностирования видов использовался метод сравнительной топологии деревьев и автоматическое определение разрывов в матрицах расстояний (Automatic Barcoding Gap Discovery, ABGD; Puillandre et al., 2011). Реконструкцию ВА-деревьев проводили в MrBayes 3.2 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003), остальные генные деревья строили в программе MEGA-6 (Tamura et al., 2013).

2.2.4. Анализ, выполненый в программе DnaSP

2.2.4.1. Оценка генетической дифференциации и потока генов

По матрице последовательностей нуклеотидов, преобразованной из MEGA в FASTA-формат, в программе DnaSP (Librado, Rozas, 2009) была рассчитана степень генетической дифференциации между выделенными группировками (выборками). Для оценки потока генов, были сформированы четыре группировки: 1) *Т. hakonensis* (зал. Анива, о. Сахалин); 2) *Т. hakonensis* (б. Киевка, Приморский край); 3) потенциальные гибридные экземпляры *Т. brandtii* × *T. hakonensis* (б. Киевка и зал. Восток, Приморский край); 4) *Т. brandtii* (зал. Восток, Приморский край).

DnaSP Согласно возможностям программы были определены следующие величины: k (число использованных последовательностей); S (число полиморфных сайтов); h (значение гаплотипического разнообразия); полиморфных сайтов) (Nei, 1987); К (среднее Hd (доля значение нуклеотидной дивергенции) (Tajima, 1983); χ^2 (хи-квадрат) и взвешенные средние значения оценок разнообразия гаплотипов в субпопуляции, Hs; Hst (коэфициент генетической дифференциации) (Hudson et al., 1992, уравнение 2). Инделы были закодированы как пятый вариант нуклеотида и из анализа в этом случае не исключались. Для большинства расчетов по мтДНК, учитывая слабый вклад инделов в дифференциацию, они в анализе не учитывались.

Для оценки генетической дифференциации были использованы следующие параметры для гаплотипов: Ks (Hudson et al., 1992, уравнение 10);

Kst (Hudson et al., 1992, уравнение 9); Ks* (Hudson et al., 1992, уравнение 11); Kst* (Hudson et al., 1992, уравнение 11); Z (Hudson et al., 1992); Z* (Hudson et al., 1992). В качестве статистического теста использовали значения χ^2 (Chi2, по обозначениям из протокола программы DnaSP) для гаплотипов и пермутационный тест (PM) для последовательностей нуклеотидов (1000 реплик). Оценки считались незначимыми при низких значениях *P* и обозначались: * 0,01<*P*<0,05; ** 0,001<*P*<0,01; *** *P*<0,001 (Hudson et al., 1992).

Оценки потока генов вычислялись с использованием информации о типе генома организма (гаплоидного или диплоидного). Для четырех объединенных последовательностей маркеров расчеты проводились как для гаплоидных организмов (исходя из свойств мтДНК). Поскольку *Rho* и *ITS-1,2* не продемонстрировал изменчивости комплиментарных последовательностей после секвенирования, то при анализе четырех фрагментов генов применяли такой же анализ, как для гаплоидного организма. При их отдельном рассмотрении *Rho* и *ITS-1,2* устанавливали параметры для диплоидного организма.

Для оценки потока генов для сравниваемых группировок рассчитывали параметры по гаплотипам: Gst (Nei, 1973, уравнение 9); Nm (Nei, 1973); и по последовательностям: GammaSt (Nei, 1973); Fst (Hudson et al., 1992). Значения Hst и Gst использовали в качестве тестовой статистики (Nei, 1987; Hudson et al., 1992).

2.2.4.2. Оценка ДНК-полиморфизма

После выравнивания последовательностей нуклеотидов, инделы исключались из анализа вручную (Hall, 2000; Kartavtsev et al., 2014). В случаях с маркером *ITS-1,2*, они использовались в анализе.

При помощи программы DnaSP рассчитывались показатели степени полиморфизма ДНК и их дисперсии. Сравнивали 14 последовательностей,

как по четырем объединенным маркерам, так и отдельно по объединенным маркерам мтДНК (*Cyt-b*, *Co-1*) и яДНК (*Rho* и *ITS-1,2*).

Нуклеотидное разнообразие на сайт (Pi) для всего набора последовательностей, среднее число нуклеотидных различий на сайт между двумя последовательностями и их дисперсии рассчитывалось на основе моделей замен (Jukes, Cantor, 1969; Nei, 1987; Nei, Miller, 1990).

Оценивалась нуклеотидная изменчивость Theta на сайт для Eta (общее число мутаций) и для S (число сегрегирующих – полиморфных - сайтов) (Watterson, 1975, уравнение 1.4.а).

Вычислялись параметры согласно протоколу программы DnaSP: 1) модель конечного числа сайтов (при четырех возможных варианта нуклеотидов на сайте); 2) общее число мутаций Eta (Fu, Li,1993); 3) среднее значение нуклеотидных различий, k (Tajima, 1983); 4) стохастическая изменчивость k (при отсутствие рекомбинации), Vst(k) (Tajima, 1993); 5) дискретная изменчивость k (при отсутствие рекомбинации), Vs(k) (Tajima, 1993); 6) общая изменчивость k (при отсутствие рекомбинации), Vs(k) (Tajima, 1993); 7) стохастическая изменчивость k (при свободной рекомбинации), Vst(k) (Tajima, 1993); 8) дискретная изменчивость k (при свободной рекомбинации), Vst(k) (Tajima, 1993); 9) общая дисперсия k (при свободной рекомбинации), Vs(k) (Tajima, 1993); 9) общая дисперсия k (при свободной рекомбинации), V(k) (Tajima, 1993); 9) общая дисперсия k (при свободной рекомбинации), V(k) (Tajima, 1993).

2.2.5. Диагностика рекомбинантных последовательностей (RDP-анализ)

Для выявления гибридных особей использовались модели RDP (Martin, Rybicki, 2000; Arenas, Posada, 2010), Geneconv (Padidam et al., 1999; Sawyer, 1989), Bootstcan (Salminen et al., 1995; Martin et al., 2005), MAXCHI (Smith, 1992; Posada, Crandall, 2001), CHIMAERA (Posada, Crandall, 2001), Şişcan (Gibbs et al., 2000), LARD (Holmes et al., 1999) на базе программного обеспечения RDP4 (Martin et al., 2015).

2.2.5.1. Р-значение

P-значение – это самая высокая приемлемая вероятность того, что последовательности могут являться высокоидентичными в потенциально рекомбинантных случайных участках.

Наиболее оптимальное значение *P* зависит от: 1) числа последовательностей в выборке, 2) методов для поиска рекомбинации, 3) размера «скользящих окон», которые используются (для методов RDP, Bootstcan, MAXCHI, CHIMAERA и Şişcan), а также 4) от того, включена или выключена установка многократного сравнения коррекции.

В работе применялась включенная установка коррекции «Bonferroni correction» для поправки многократного сравнения. С помощью коррекции «Bonferroni correction» можно анализировать весь массив данных, а не только «триплет», кроме того эта установка позволяет уменьшить количество ложно-положительных результатов.

Поскольку исследуемые последовательности обладали низким уровнем изменчивости, для их сравнения применялся пермутационный тест, с установкой коррекции многократного сравнения в опции «выключена» и со значениями *P*-вероятности пониженными до 0,001.

2.2.5.2. Пермутационный тест

Пермутационный тест был применен автоматически, при числе пермутационных установок, принятых за 3 (как соответствующие числу номинальных видов). Программой были сформированы группы последовательностей, участвующие в рекомбинации. Вероятность наличия рекомбинации рассчитывалась учитывая два условия, как это изложено в RDP:

1) При идентифицировании большего числа рекомбинационных событий посредством RDP в реальном наборе данных, по сравнению с смоделированными, достоверным являлся результат с $P \ge 95\%$ или более. Это означает, что пороговое значение вероятности $P \le 0.05$. То есть, ошибка того,

что рекомбинации в наборе данных нет составляет 5%. Иными словами, вероятность наличия рекомбинации в наборе данных $P \ge 95$ %. Очевидно, что полученные при этом подходе результаты демонстрируют наличие рекомбинационных событий, а ложные рекомбинации исключены с указанной точностью.

2) Если обнаружение RDP-сигнала о рекомбинации в реальных данных, сильнее связано с значением вероятности (P), чем самый лучший сигнал (95% и более) в смоделированной выборке, то это принималось эквивалентым тому, что полученный сигнал имеет значение вероятности $P \leq 0,05$. Событие рекомбинации, связанное с этим сигналом является истинным, а не ложным положительным с вероятностью 95%.

Чтобы проанализировать последовательности, они были адаптированы для программы как массивы нуклеотидов с примерно одинаковым пространственным распределением полиморфных сайтов. Для этого применяли метод для имитации наборов данных в программе SEQ-GEN.

2.2.5.3. Параметры обработки данных при пермутационном тесте

После сканирования последовательностей и выявления всех сигналов рекомбинации, RDP осуществляет отсеивание части потенциальных сигналов рекомбинации за счет уникальных рекомбинационных событий. Этот процесс был необходим, для понимания смысла результатов программы, поскольку одно реальное рекомбинационное событие почти всегда можно обнаружить с помощью множественных комбинаций последовательностей выборки.

2.2.5.3.1. Общие настройки опций RDP

Опция «запрос филогенетических доказательств» (require phylogenetic evidence). Поскольку программа RDP4 (Martin et al., 2015) была способна обнаружить реальные события рекомбинации, которые не приводят к каким-

либо видимым изменениям филогенетических топологий деревьев при выравнивании, то были использованы обе возможности данной опции.

 Включена опция, чтобы отказаться от рекомбинации сигналов, которые не имеют филогенетической поддержки.

2) Выключена опция (для обнаружения потенциальных сигналов).

B течение сканирования различные обнаружения методы идентифицируют рекомбинантные области последовательности. Границы областей («точки разрыва»), найденных этих разными методами принимались как предшествующие оптимальным или «первичные». Поэтому при расчетах был выбран параметр «очищенные точки разрыва» (polish breakpoints). Эта настройка позволила осуществить поиск более точных «точек разрыва» в непосредственной близости от «первичных» точек.

Выравнивание последовательностей было проведено методами ClustalW для ITS-1,2 и Muscul для остальных участков. Из-за частой встречаемости гэпов в участке ITS-1,2, характерных для разных видов рода Tribolodon, для ИХ правильного сопоставления и поиска истинных рекомбинаций была «включена» опция «проверки согласованности выравнивания».

Поскольку для рода *Tribolodon* отмечены межвидовые скрещивания, то при работе RDP был отключена опция «распутывания рекомбинационных сигналов» (disentangle recombination signals), так как потенциальные «родители» рекомбинационной последовательности могли сами быть рекомбинантами, что привело бы к бесконечным подсчетам.

Выявление рекомбинации осуществлялось всеми методами программы. Нахождение наиболее оптимальной рекомбинации достигалось путем «первичного», а, затем «вторичного» сканирований. Для изучения новых сигналов рекомбинации были выбраны следующие методы "первичного сканирования": RDP, GENECONV, MAXCHI и CHIMAERA. Для изучения последовательностей, в которых сигналы рекомбинации обнаружены методами "первичного сканирования", далее использовали методы

"вторичного сканирования": 3SEQ, RDP, GENECONV, MAXCHI, CHIMAERA, BOOTSCAN, LARD. Для установки достоверности наличия рекомбинации в выявленном участке выбрана настройка «List all events» (список всех событий), при которой больше половины (>3) методов выявляло рекомбинацию.

2.2.5.3.2. «Первичное сканирование»

Рассмотрим семь методов сканирования последовательностей, использованных для поиска рекомбинаций.

1) RDP (Martin, Rybicki, 2000; Arenas, Posada, 2010). Использовалась установка отсутствия референсной последовательности (no reference), которая подходит для анализа выборок больших размеров. Поскольку изучались небольшие наборы данных (<30 последовательностей), то для сравнения применяли установку «внутренние и внешние связи» (internal and external references). Для выявления внутри- и межвидовых рекомбинаций выбран процент идентичности 70-100%. Размер «скользящего окна» установлен величиной 20 п.н.

2) GENECONV (Padidam et al., 1999; Sawyer, 1989). Для того, чтобы программа рассмотрела все возможные «триплеты» из последовательностей в качестве независимых группировок и отобразила их, как при установке опции «сканирование пар последовательностей» (scan sequence pairs) применялась настройка «сканирование триплетов последовательностей» (scan sequence triplets). Благодаря тому, что число вариантов выравниваний при формировании «триплетов» последовательностей больше, чем при группировке пар последовательностей, установка «триплет» позволила точнее многократное осуществлять сопоставление для коррекции последовательностей. Программа автоматически определяла ТИП последовательности как «нуклеотидная». Поскольку во фрагменте ITS-1,2 содержалось большое число инделов, они были закодированы как два разных варианта. В первом варианте каждый блок с инделами был проанализирован

как «один вариант полиморфизма» (treat indel blocks as one polymorphism). Во втором варианте анализа каждый индел был принят за «отдельный вариант полиморфизма» (treat each indel site as an individual polymorphism). Значение G-шкалы (G-scale) устанавливалось как «1», для выявления не поздних рекомбинационных событий, а более ранних. Величина минимального выровненного фрагмента принята за «1», а число полиморфных сайтов принималось за «2» (для исключения случайных индивидуальных замен), минимальное число попарно сравниваемых последовательностей принималось за 2, для указания числа потенциальных рекомбинантных областей, которые перекрываются участками, имеющими меньшие значения вероятности (P). «Максимальное число перекрывающихся фрагментов» равным «1». Поскольку, принято для анализа последовательностей применялись и другие методы, премутационный тест не проводился.

3) BOOTSCAN (Salminen et al., 1995; Martin et al., 2005). Для данного метода большое значение имела величина окна и шага. Большой размер окна увеличивал сигнал, и, следовательно, количество шума. Размер шага был установлен как 30 п.н. (меньше, чем 50% от величины окна), размер окна -200 п.н.- был подобран так, чтобы в среднем внутри него оказывалось больше, чем 10 вариабельных нуклеотидов. Для этого метода первичного сканирования была выбрана опция «использовать расстояния» (use distances), которая позволяла быстро анализировать сравнения последовательностей, используя попарные-расстояния без реконструкции деревьев. Число бутстреп-реплик было принято равным 200. Значение выбиралось исходя из величины выборки (анализируемая выборка включала менее 20 особей, следовательно, необходимое количество бутстрэп- реплик составило менее 1000 повторов). Как правило, 200 реплик с долей среза 95%, дают сходные результаты, с полученными другими методами при использовании значения вероятности (*P*) 0,05. Применение опции «одинаковое случайное число набора» (the same random number seed) в нескольких отдельных анализах гарантирует, что обработанные бутстрепом наборы данных останутся

одинаковыми для обоих анализов, и что конкретный результат будет воспроизводимым. «Процент отсечения» (cut-off percentage) означает процент минимальной поддержки, необходимой до каких-либо изменений в соотношении трех последовательностяей В пределах выборки, И интерпретируется, как свидетельство потенциальной рекомбинации. При анализе выбрано значение отсечения 70%. Для определения вероятности того, что участки, превышающие 70%-ный порог рекомбинации, применяли две статистических проверки: «вычисление биномиального *p*-значения» (calculate binomial *p*-value) и «вычисление Хи-квадрата *p*-значений» (calculate Chi Square *p*-value). В качестве моделей для вычисления матрицы расстояний нуклеотидных замен в последовательностях, реплицированных при помощи бутстрепа, применяли модель Jukes-Cantor (1969) и модель Kimura (1980) с коэффициентом трансверсий 0,5.

4) MAXCHI (Smith, 1992; Posada, Crandall, 2001) рассматривает только переменные нуклеотидные позиции (размер окна относится строго к числу переменных сайтов), а не число нуклеотидных позиций. При этом анализе детектирования установлены оптимальные размеры окна ДЛЯ рекомбинантных областей с 20 вариабельными нуклеотидными участками размером 40. Расчеты проводились двумя способами: 1) не учитывая инделы и 2) с использованием инделов. При этом индел рассматривался в качестве пятого нуклеотида (потенциально, это могло вызвать проблемы, если, например, одна из последовательностей «триплета» содержит инделы в конкретном регионе, тогда остальные две последовательности будут более схожи друг с другом).

5) CHIMAERA (Posada, Crandall, 2001). Для этого метода размер окна зависил от анализируемых последовательностей и размера рекомбинантных областей, которые должны были быть обнаружены. Поскольку CHIMAERA анализировала только вариабельные нуклеотидные позиции, то за оптимальный размер окна для определения рекомбинантных областей, в
которых находилось 20 вариабельных нуклеотидных участков, приняли размер, равный 40.

6) SISCAN (Gibbs et al., 2000). Также как и для настройки BOOTSCAN анализа SISCAN большой размер окна увеличивал сигнал, и, для следовательно, количество шума. Для данного метода большое значение имела величина окна и шага. Последний был установлен как 30 п.н. (меньше, чем 50% от величины окна). Размер окна в 200 п.н. подбирался так, чтобы в среднем внутри оказывалось больше, чем 10 вариабельных нуклеотидов. Расчеты проводились двумя способами: 1) не учитывая инделы (strip gaps) и 2) с использованием инделов (use gaps). При этом индел рассматривался в Чтобы качестве ПЯТОГО нуклеотида. исключить ненадежный рекомбинационный сигнал, использована настройка для анализа сайтов, которые отличались в последовательностях только в «триплете», иными словами, функция «использовать только первую, вторую И третью вариабельные позициии» (use only 1/2/3 variable positions). Поскольку SISCAN сравнивал «триплеты» последовательностей вместе с четвертой, сильно отличающейся, последовательностью, то применялась опция «использование ближайшей отличающийся последовательности» (use nearest outlier), которая давала результаты, как правило, хорошо поддерживающиеся другими методами обнаружения сигналов рекомбинации. При проведении пермутационного теста в SISCAN «сканирование числа пермутационных перестановок» (the scan permutation number) было установлено как 100, значением вероятности (P)пермутационных перестановок (*P*-values permutation number) - 1000. Для достоверной воспроизводимости конкретного результата, который был получен после обработки наборов данных в SISCAN, параметр «одинаковое случайное число набора» (the same random number seed) принимался за три. «Быстрое сканирование» для использования пермутационных тестов проводилось только для анализа окон, в которых парные сравнения между последовательностями в триплете отличались при сопоставлении со всей длиной последовательностей (то есть, окна, в пределах которых сигнал рекомбинации был найден с наибольшей вероятностью).

7) LARD (Holmes et al., 1999). В этом методе применялась возможность использования одной ИЗ трех моделей нуклеотидных замен ДЛЯ реконструкции методом ML трех филогений последовательностей. При помощи программы jModel-test и MEGA-6, была определена наиболее подходящая модель для данного набора последовательностей - НКҮ+G (Hasegawa et al., 1985). НКҮ+G допускает наличие различных скоростей для И трансверсий И неравномерное распределение транзиций частот нуклеотидов. Частными случаями этой модели являются модели Kimura (1980) и Jukes-Cantor (1969). Набор данных анализировали с применением модели, присваивающей различные скорости замещения сайтов на основе (G). Показатель гамма-распределения «гамма-значения для скорости гетерогенности на сайт» (gamma shape for site rate heterogeneity) для НКҮ был равен 0,05 (различие сайтов по скорости эволюции). Нуклеотидный состав был установлен на основе расчетов, сделанных в МЕGA: Тимин (Т) - 25,7 %, Аденин (A) - 21,7%, Цитозин (C) - 30,6%, Гуанин (G) - 22,0 %. Настройка «категории гамма-коэфициента гетерогенности» (# categs for gamma rate heterogeneity) также был устанавлен как 0,05 для присвоения всем сайтам разной скорости замещения в указанном пределе. Соотношение транзиций и трансверсий рассчитывалось в программе MEGA-6 и составило 4,9. Для набора последовательностей анализировались 2 точки разрыва. Для этого применялся перемещения доменов («партиций») метод вдоль последовательностей (moving a partition scan) вместе с определением вероятности того, что деревья, построенные на основе последовательностей, по обе стороны разделяющей разрывы имели одинаковую длину ветвей. Размер шага (число нуклеотидов на которое перемещается окно за один раз в анализе) был установлен как 10 п.н. (такой размер позволял сканировать точно, достигая средней скорости анализа).

2.2.5.3.3. Метод обнаружения сигнала рекомбинации с применением графического воспроизведения результатов

Для визуализации сигнала использовалась программа RDP-4. В качестве первичного метода была выбрана утилита RDP (Martin, Rybicki, 2000; Arenas, Posada, 2010). Чтобы проверить достоверность результатов, полученных другими методами обнаружения рекомбинантных регионов или контрольных точек, применяли также методы: GENECONV, MAXCHI, фактором, оказывающим CHIMAERA. Основным влияние на поиск рекомбинаций, оказался учет инделов. Если каждый сайт индела (настройки для первичного анализа) анализировался как отдельный полиморфизм (24 варианта из 98), то программа отказывалась производить расчеты, ссылаясь на нахождение значений за пределами диапазона, ввиду лимита вычислительных возможностей.

2.2.5.3.3.1. Метод RDP

Утилита RDP позволила просканировать множественное выравнивание последовательностей для доказательства присутствия рекомбинации путем изучения каждой потенциальной группы из трех последовательностей с использованием трехступенчатой процедуры:

1) Внутри каждого уникального набора из трех последовательностей -«триплекса», - все филогенетически неинформативные сайты отбрасывались. На UPGMA дендрограмме, построенной после полного выравнивания, в конкретном «триплексе» выявлялись две последовательности «А» и «В», которые обладали большим сходством, по сравнению с третьей «C». Неинформативными последовательностью, считались сайты. идентичные во всех трёх последовательностях или разные во всех трех последовательностях.

2) Анализируемое окно перемещалось вдоль последовательности информативных сайтов: на один нуклеотид за шаг. В каждом положении нуклеотида из трех возможных пар рассчитывался средний процент

идентичности. Потенциально-рекомбинантные регионы определялись как регионы, где процент идентичности «А»-«С» или «В»-«С» выше, чем у «А»- «В».

3) В потенциально-рекомбинантном регионе с помощью биномиального распределения рассчитывалась вероятность случайной идентичности в конкретной нуклеотидной позиции. *Р*-значение рассчитывалось из этой вероятности путем умножения ее на число уникальных проанализированных «окон». Множественное сравнение с корректировкой Бонферони, рассчитывалось из этого значением вероятности (*P*) путем его умножения на общее число «триплексов», рассматриваемых в выравнивании.

После того, как потенциально-рекомбинантная область была обнаружена, оценивали, какая из трех последовательностей являлась рекомбинантной и какие являлись "родительскими".

2.2.5.3.3.2. Установки для метода RDP

Так как метод RDP анализирует только информативные сайты, он должен быть относительно нечувствителен к различиям в скоростях, при которых различные участки последовательности меняются. Тем не менее, данный способ анализа не использует моделей замещения при расчете расстояний (не имеет никакого способа однозначной обработки необычных нуклеотидных композиций).

Поскольку в этой работе анализировали наборы объединенных последовательностей, при совместном анализе которых нельзя однозначно определить скорость изменения с момента происхождения, то была выбрана опция «отсутствие референсной последовательности» (по reference). Несмотря на то, что эта установка часто дает ложноположительные результаты, как правило (RDP-manual), для наборов данных с низким уровнем изменчивости или разнообразия (> 70% идентичности) проблем не возникает. Это соответствовало характеристикам в анализируемой нами выборке.

Из-за того, что большие (экстремальные) различия в некоторых типах замещения могли скрывать доказательства рекомбинации, которые искал метод RDP, и по причине того, что сложные нуклеотидные композиции могли поставить под сомнение справедливость значения вероятности (*P*), рассчитанных методом RDP, были привлечены дополнительные методы анализа.

2.2.5.3.3.3. Метод GENECONV

Модуль GENECONV (Padidam et al., 1999; Sawyer, 1989) способен обнаруживать в массиве выровненных последовательностей участки, в которых пары последовательностей достаточно схожи, для того, чтобы предполагать, их возникновение за счет рекомбинации. Метод, используемый для «триплетного» сканирования был идентичен тому, который применялся для сканирования «пар» (изложено в руководстве RDP), за исключением того, что массив данных разбивался на все возможные варианты «триплетов», которые анализировались по отдельности, а не вместе. Основная процедура состояла в следующем:

1. Мономорфные сайты исключались при выравнивании в качестве контроля для неизменных или сильно вариабельных сайтов. Оставляли только последовательности полиморфных сайтов.

2. Для каждой возможной пары последовательностей в выборке, участки выделялись по принципу: (а) идентичности и необычной длины для этой пары последовательностей, (б) наличия нетипично высокой степени сходства. Сходство оценивалось на основе схемы, где (а) сходные (или согласующиеся сайты) принимались за +1 и (б) за несовпадающие сайты (или несогласованные участки) вычитались баллы (штрафы). Величина штрафов за несовпадающие нуклеотиды зависила от концентрации полиморфных участков между двумя последовательностями и от параметра величины несоответствий или G-шкалы.

3. *Р*-значения вычислялись для областей с большей величиной баллов. *Р*значения, присвоенные этим регионам были получены: (а) пермутационным путем (медленно, но точно) и/или (б) методом BLAST (Karlin, Altschul, 1990; KA) (приблизительно, но быстро). Хотя приблизительное, множественное сравнение корректирровалось (при помощи поправок Бонферрони), в подходе KA *P*-значения были, как правило, гораздо более консервативны, чем пермутационные *P*-значения. Множественная сравнительная коррекция включала в себя умножение парных KA *P*-значений на число парных сравнений, сделанных в ходе анализа.

2.2.5.3.3.4. Установки для метода GENECONV

При выполнении утилиты GENECONV любая последовательность, сильно отличающаяся от всего массива данных, может приводить к выявлению большого количества полиморфных сайтов, которые не имеют отношения к обнаружению рекомбинации среди схожих последовательностей. Большие участки этой последовательности заставляют программу считать рекомбинантными схожие области в более близких последовательностях. Из-за увеличения числа полиморфных участков доля *P*-значений снижается, что может привести к утрате небольших (но точных) рекомбинантных участков.

Для решения этой проблемы в GENECONV не рассматривались рекомбинации внутри одного вида. Всегда выполняли сканирование «триплексов» вместо парного сканирования. Поскольку метод демонстрировал наименьшие значения точек разрыва, то позиции точек сравнивались с позициями, полученными при помощи метода MAXCHI и СНІМАЕRA. Обнаруженные GENECONV рекомбинации не учитывались отдельно, без сравнения с результатами, полученными другими методами.

2.2.5.3.3.5. Метод МАХСНІ

M.J. Smith предложил метод для определения контрольных точек рекомбинации (так называемый метод максимального Хи-квадрата, χ2), (Smith, 1992) которые позже были реализованы программе MAXCHI (Posada, Crandall, 2001).

При выравнивании MAXCHI рассматривает пары последовательностей и стремится определить точки разрыва рекомбинации путем поиска существенных различий в пропорциях вариабельных и неизменных полиморфных позиций в смежных областях последовательностей. Способ включал три этапа.

1) Все мономорфные сайты из анализа исключались. В работе анализировали данные как с учетом инделов, так и без них.

2) Для каждой возможной пары последовательностей вдоль последовательности на один нуклеотид за шаг перемещалось окно, заданной длины в 40 п.н. с разделением в центре.

3) В каждой позиции окна значение «2 × 2 χ 2» вычислялось как выражение разницы переменных участков числа между ДВУМЯ последовательностями по обе стороны от центрального разделения. На графике пики значений указывали на потенциальные этих точки рекомбинации.

2.2.5.3.3.6. Установки для метода МАХСНІ

Поскольку метод максимального χ^2 лучше всего работал при наличии только двух исходных последовательностей и рекомбинантной последовательности, с которой проводилось сравнение, то при расчетах не использовали опцию сканирования «триплетов».

Как и в случае GENECONV, при попарном сканировании, в МАХСНІ использовали весь набор данных для определения вариабельных сайтов. При наличии последовательностей, которые сильно дивергировали и были очень похожи, МАХСНІ мог иногда давать ложноотрицательные результаты. В

других случаях метод легко выявлял события между близкородственными последовательностями. Для предотвращения ложноотрицательных результатов проводили анализ С выделением единственной Т. последовательности sachalinensis. как контрольной для других представителей рода.

2.2.5.3.3.7. Метод CHIMAERA

Метод CHIMAERA - это модификация, сделанная D. Posada и K.A. Crandall (Posada, Crandall, 2001) максимального метода χ^2 M.J. Smith (Smith, 1992). Между CHIMAERA и MAXCHI существуют следующие отличия: 1) способ которым выбираются полиморфные сайты; 2) CHIMAERA анализа «триплетов». Каждый используется только для возможный выборке «триплет» последовательностей В сканировался. Каждая последовательность в «триплет», оценивалась, затем определялось, является ли она потенциально-рекомбинантной по отношению к двум другим последовательностям в «триплете». Этапы анализа были следующие:

1) Все мономорфные сайты и сайты, для которых ни одна из двух «родительских» последовательностей не соответствовала выбранной «рекомбинантной» последовательности, отбрасывались. Три последовательности переводились в строку из «1» и «0», где «1» – совпадение рекомбинанта с одним родителем, и «0» - с другим.

2) Окно заданной длины с перегородкой в центре перемещалось вдоль строки из «1» и «0» на одну позицию за шаг.

3) Для каждой позиции окна вычислялось значение $\chi 2 2 \times 2$, как разница «1» и «0» по обе стороны от перегородки. Пики этих значений ($\chi 2 2 \times 2$) на графике для всей длины последовательностей, указывали на потенциальные точки разрыва или точки рекомбинации.

Как и в случае MAXCHI, CHIMAERA предоставляла информацию о позициях потенциальных точек разрыва, но не давала информацию о степени рекомбинации участков.

2.2.5.3.3.8. Установки для метода CHIMAERA

Как и для MAXCHI были использовали размеры окна «40». МАХСНІ и СНІМАЕRА – одни из самых точных методов установки точек разрыва в программе RPD4.

2.2.6. Построение филогенетических деревьев

Реконструкцию генных деревьев проводили несколькими методами. Для объединенных нуклеотидных последовательностей анализировались консенсунсные деревья.

Реконструкцию топологий генных деревьев проводили методами ближайшего присоединения (NJ) (Saitou, Nei, 1987), максимального правдоподобия (ML) (Felsensten, 1981), максимальной парсимонии (MP) (Kumar et al., 1993) и байесовским выведением (BA) на основе программы MrBayes 3.2 (Ronquist et. al., 2012).

Деревья, построенные дистанционным методом NJ, основанные на матрице расстояний, были реконструированы для графической демонстрации изменчивости внутри и между видами для каждого маркера ДНК отдельно. Такие филограммы не отражали эфолюционного процесса, а только показывали конечную степень дивергенции таксонов.

Для построения дерева, исходя из оценки вероятности (правдоподобия) нахождения конкретного нуклеотида в каждой конкретной позиции (Лукашов, 2009), использовали метод ML. Метод MP использовали для анализа дискретных признаков и анализа различий в конкретных позициях последовательностей (Лукашов, 2009).

При реконструкции деревьев NJ, ML, ВА применены оптимальные эволюционные модели, выбранные при помощи программы MEGA или программы jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008). Для каждого исследованного маркера были подобраны следующие модели: *Co-1* (TrN+I), *Cyt-b* (TIM2+I+G), *ITS-1,2* (HKY+G) и *Rho* (TIM2+I). Оптимальность оценивалась на основе информационного критерия AIC (Akaike, 1973) и AICc (Hurvich,

Tsai, 1989). Инделы в интронах между последовательностями *ITS-1,2* введены в матрицу в виде двоичной кодировки и также включены в анализ последовательностей при расчетах. Основные параметры в MrBayes для каждого гена были подобраны с учетом наиболее подходящей модели, постоянным оставляли значение стандартного отклонения в разрыве частот (standard deviation of split frequencies) < 0,008. Число модельных повторов (генераций) составляло 1 000 000 поколений, частота выборки (sample frequency) – каждая 100 генерация.

2.2.7. Анализ объединенных последовательностей мтДНК (митогенома)

2.2.7.1. Анализ изменчивости и реконструкция филогенетических

гипотез

25 Для сравнительного анализа сформировали наборы по последовательностей Cyt-b. Для оценки совместного эффекта видов Tribolodon дифференциации рода по маркерам ЭТИМ ДВУМ использованы ближайшие родственники из рода Oreoleuciscus: O. potanini и *O. humilis*, которые анализировались в комбинации с дальневосточными красноперками (Приложение: Табл. 2)

Основной первичный материал представлен попарными генетическими расстояниями (*p*-расстояния; Nei, Kumar, 2000) по всем последовательностям и таблицами нуклеотидного состава (%) суммарно и по каждому из трех положений кодона (Приложение: Табл. 24, 25). В обработке сгруппированных последовательностей при оценке моделей использовали программу MEGA-6 и базировались на значениях AIC (Akaike, 1973) и lnL (Huelsenbeck, Crandall, 1997).

Для набора объединенных последовательностей родов *Tribolodon* и *Oreoleuciscus* как лучшая выбрана модель TrN93+G+I (Tamura-Nei), с параметрами для маркера *Cyt-b*: AIC=13348 и lnL=-5892,7; G=1,2344; R=5,1399; I=0,5257. Для байесовского анализа использовали наиболее близкую модель GTR (General Time Reversible), которая доступна в программе MrBayes (Huelsenbeck, Ronquist, 2001; Ronquist, Huelsenbeck, 2003).

Для расчета деревьев по маркеру *Cyt-b* использовали MrBayes и MEGA-6: MrBayes 3.2 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001; Ronquist, Huelsenbeck, 2003; BA-дерево) и MEGA-6 (Tamura et al., 2013) (ML-, MP-, NJ-деревья; n = 1000 бутстреп реплик). MP-дерево строили в программе MEGA, с методом поиска стартовых деревьев по принципу обмена ближайшими соседями, CNI (close-neighbor-interchange) и уровнем поиска 1. Была использована опция случайного добавления стартовых деревьев (10 реплик) при CNI поиске. При

построении NJ дерева в программе MEGA использовали модель TrN+I+G (n = 1000 реплик). Для построения ВА-дерева использовали модель GTR+G +I (параметры: AIC=12052; -ln L = -5882,7; R = 4,61; A:T:C:G = 0,2430; 0,2993; 0,2902; 0,250; G = 0,2251) с n = 10^6 модельных генераций. Расчетные опции: MCMCP ngen = 1000000, printfreq = 1000, samplefreq = 1000, nchains = 4, μ SUMP burnin = 100; остальные параметры были заданы как опции по умолчанию для программы MrBayes. Эти же параметры использованы при построении ML-дерева в программе MEGA и числом реплик бутстрепа, n = 1000. Деревья, построенные с помощью программы MrBayes, визуализировали и при необходимости редактировали, используя программу FigTree (Ronquist et al., 2012). Общий статистический анализ выполнен с использованием программы STATISTICA 6.0 (StaSoft Inc, 2005).

Все аналитические вычислительные процедуры, применялись и для анализа последовательностей митогенома. Сто полных последовательностей митогенома были извлечены из генного банка. После выравнивания и удаления не белковых фрагментов для анализа было оставлено 97 последовательностей, включающих 13 маркеров белок-кодирующих генов. Номера доступа последовательностей NCBI GenBank приведены на ветвях филогенетического дерева (Приложение: Рис. 3). Набор последовательностей после выравнивания имел длину 11408 п.н. и включал следующие 13 генов: 1. ND1, 2. ND2, 3. COI (Co-1), 4. COII, 5. ATP8, 6. ATP6, 7. COIII, 8. ND3, 9. *ND4L*, 10. *ND4*, 11. *ND5*, 12. *ND6*, 13. *СҮТВ* (*Cyt-b*). Наилучшая модель замен для этого набора была GTR+G+I, с параметрами: AIC=440511 и lnL=-220052,8; G=1,1144; I=0,5053. Для аминокислотных последовательностей 13 митохондриальных маркеров наиболее подходящей оказалась модель JTT+G+I (Jones-Taylor-Thornton) с параметрами: AIC=122110 и lnL=-60842,9; G=0.6233. С последовательностями нуклеотидов митогенома, при генерировании деревьев в ВА- и ML анализе применяли модель GTR+G+I (AIC=440511; lnL=-220052,8; R = 7,66; A:T:C:G = 0,2924; 0,2698; 0,2843;0,1535; G = 1,1144). Для сокращения времени вычисления использовали суперкомпьютер рабочей платформы CIPRES (<u>https://www.phylo.org</u>) с параметрами, описанными выше.

ГЛАВА З. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Морфологический анализ

Все этапы морфологического анализа проводили после установления принадлежности экземпляров рыб к тому или иному виду по внешним молекулярным маркерам. Для первичного признакам И определения применяли общие ключи для рыб (Линдберг, Легеза, 1965; Nakabo, 2002) и ключи, составленные отдельно для рода Tribolodon (Свиридов, 2002). На первом этапе определения использовали внешние признаки. Второй этап определения проводили после секвенирования последовательностей мтДНКмаркеров путем сопоставления экземпляров с базами данных (BOLD, NCBI). В результате сравнительного анализа исследоемые особи были отнесены к особям был трем номинальным видам, a ДВУМ присвоен статус потенциальных гибридов.

3.1.1. Счетные признаки

3.1.1.1. Число лучей в плавниках

При анализе строения плавников было вычислено минимальное, максимальное и среднее число лучей у разных видов рода *Tribolodo*. Число лучей в анальном (А), дорзальном (D), брюшном (V) и грудном (P) плавниках изменялось незначительно, но зависимости числа лучей от видовой принадлежности и места сбора не выявлено (Приложение: Табл. 3, 4, 5, 6). Число лучей в хвостовом плавнике (С) у всех особей было равно 19. Подсчет лучей в С проводили от самого длинного луча верхней лопасти до самого длинного луча нижней лопасти павника.

Различий между видами и внутривидовыми локальными группировкаи по числу лучей в дорзальном (D, включая подкожные лучи), в анальном (A, включая подкожные), брюшном (V), грудном (P) и хвостовом (C) плавниках не обнаружено (Табл. 3.1.1.1.1). Критерием Манна-Уитни была выявлена индивидуальная изменчивость по числу лучей в анальном (A) плавнике (Табл. 3.1.1.1.2).

Таблица 3.1.1.1.1 – Среднее число лучей в плавниках трёх видов рода *Tribolodon* из шести мест вылова

	Среднее значение ±SD; ±SE числа лучей в плавниках						
Вид (место сбора)	D	А	Р	V	C		
<i>T. brandtii</i> (Приморский край,	10,06	10,12	16,35	10,00	19,00		
б. Киевка)	±0,24;	±0,33;	±0,86;	±0,00;	±0,00;		
	±0,06	$\pm 0,08$	±0,21	±0,00	±0,00		
<i>T. brandtii</i> (о. Сахалин, р.	10,00	9,00	16,00	9,50	19,00		
Найба)	±0,00;	±0,00;	±1,41;	±0,71;	±0,00;		
	±0,00	±0,00	$\pm 0,80$	±0,50	$\pm 0,00$		
<i>T. brandtii</i> (о. Сахалин, р.	10,00	10,33	15,00	9,00	19,00		
Лютога)	±0,00;	±0,58;	±1,00;	±0,00;	±0,00;		
	±0,00	±0,33	±0,58	±0,00	±0,00		
Т. hakonensis (Приморский	10,05	9,05	15,71	9,95	19,00		
край, б. Киевка)	±0,22;	±0,22;	±0,88;	±0,22;	±0,00;		
	±0,05	±0,06	±0,19	±0,05	±0,00		
<i>T. hakonensis</i> (о. Сахалин,	9,91	9,27	16,09	9,00	19,00		
р. Найба)	±0,30;	±0,47;	±1,14;	±0,45;	±0,00;		
	±0,09	±0,14	±0,34	±0,14	±0,00		
<i>T. hakonensis</i> (о. Сахалин, р.	10,12	10,31	15,30	9,04	19,00		
Лютога)	±0,33;	±0,47;	±1,12;	±0,20;	±0,00;		
	±0,06	±0,09	±0,22	±0,04	$\pm 0,00$		
<i>T. hakonensis</i> (о. Сахалин, р.	10,00	9,80	16,60	9,00	19,00		
Тымь)	±0,00;	±0,84;	±0,89;	±0,00;	±0,00;		
	±0,00	±0,37	±0,40	±0,00	±0,00		
<i>T. hakonensis</i> (о. Сахалин, зал.	10,06	9,94	15,25	9,06	19,00		
Анива)	±0,25;	±0,44;	±0,68;	±0,25;	±0,00;		
	±0,06	±0,11	±0,17	±0,06	$\pm 0,00$		
<i>T. sachalinensis</i> (о. Сахалин, р.	10,00	9,00	15,5	9,00	19,00		
Найба)	±0,00;	±0,58;	±0,56;	±0,00;	±0,00;		
	±0,00	±0,333)	±0,33	±0,00	±0,00		
<i>T. sachalinensis</i> (о. Сахалин, р.	9,80	10,20	15,80	9,20	19,00		
Пиленга)	±0,45;	±0,45;	±0,45;	±0,45;	±0,00;		
	±0,20	±0,20	±0,20	±0,20	±0,00		

Таблица 3.1.1.1.2 – Значения критерия Манна-Уитни для числа лучей в анальном плавнике при попарном сравнение трёх видов рода *Tribolodon* из шести мест вылова

выборки	THA	THL	THN	THT	THK	TBL	TBN	TBK	TSP	TSN
THA	-									
THL	0,6597	-								
THN	0,0011	0,0002	-							
THT	0,0258	0,0107	0,7595	-						
THK	0,0000	0,0000	0,6600	0,4969	-					
TBL	0,7373	0,9145	0,0225	0,0736	0,0062	-				
TBN	0,0492	0,0323	0,8299	0,6985	1,0000	0,0833	-			
ТВК	0,4074	0,6019	0,0003	0,0109	0,0000	0,8739	0,0336	-		
TSP	0,6797	0,8932	0,0059	0,0367	0,0007	1,0000	0,0528	0,8447	-	
TSN	0,0189	0,0099	0,7999	0,6547	1,0000	0,0495	1,0000	0,0110	0,0253	-

Примечание: ТНА — *T. hakonensis* (о. Сахалин, зал. Анива); ТНС — *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Лютога); ТНХ — *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Найба); ТНТ — *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Тымь); ТНК — *T. hakonensis* (Приморский край, б. Киевка); ТВС — *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Лютога); ТВХ — *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Найба); ТВК — *T. brandtii* (Приморский край, б. Киевка); ТSР — *T. sachalinensis* (о. Сахалин, р. Пиленга); ТSN — *T. sachalinensis* (о. Сахалин, р. Найба). Жирным шрифтом выделены статистически значимые величины Критерия Манна-Уитни ($P \le 0,05$).

3.1.1.2. Описание рентгенограмм позвоночника

У *Т. hakonensis* из пяти районов исследования: б. Киевка (юг Приморского края) (T=47-49; A=27-29; A1=14-16; A2=5-7; C=19-21; C1=0-1; C2=18-21), р. Найба (о. Сахалин) (T=45-49; A=26-28; A1=15-16; A2=4-6; C=18-21; C1=0-1; C2=17-21), р. Лютога (о. Сахалин) (T=46-48; A=26-28; A1=14-16; A2=4-6; C=19-21; C1=0-1; C2=19-21), р. Тымь (о. Сахалин) (T=47-49; A=27-28; A1=15; A2=4-5; C=18-21; C1=0; C2=18-21), зал. Анива (о. Сахалин) (T=45-48; A=26-28; A1=15-16; A2=4-6; C=19-21; C1=0-1; C2=19-21), – средние значения числа позвонков различались несущественно (Рис. 3.1.1.2.1, Приложение: Табл. 7). У *Т. hakonensis* из Приморского края и о. Сахалин значения числа позвонков в каждом из отделов A, A2 и T пересекались, но критерием Манна-Уитни по этим признакам выявлены статистически значимые величины (Приложение: Табл. 8).

У *Т. brandtii* из трех мест обитания: б. Киевка (юга Приморского края) (T=46-48; A=27-28; A1=14-16; A2=5-6; C=19-21; C1=0-1; C2=19-21), р. Найба (о. Сахалин) (T=47-49; A=27-28; A1=15-16; A2=4-5; C=20-21; C1=0; C2=20-21), р. Лютога (о. Сахалин) (T=46-47; A=26-27; A1=15; A2=5; C=20; C1=0-1; C2=19-20), – число позвонков в каждом из исследованных отделов, кроме промежуточного (A2) было больше, чем у особей из р. Найба, что соответствовало ранее выявленной зависимости числа позвонков от температуры воды, в которой проходило развитие рыб (Гриценко, 1974) (Рис. 3.1.1.2.2). Вместе с тем, по данным признакам не выявлено значимых различий (Приложение: Табл. 8).



Рисунок 3.1.1.2.1 – Среднее число позвонков у *Т. hakonensis* из б. Киевка (юг Приморья), р. Найба (о. Сахалин), р. Лютога (о. Сахалин), р. Тымь (о. Сахалин), зал. Анива (о. Сахалин): Т – общее число позвонков; А – туловищные позвонки (включая веберовские); А1 – предорсальные позвонки (включая веберовские); А2 – промежуточные позвонки; С – хвостовые позвонки; С1 – преанальные хвостовые позвонки; С2 – постанальные хвостовые позвонки.



Рисунок 3.1.1.2.2 – Среднее число позвонков у *T. brandtii* из б. Киевка с юга Приморского края, из р. Найба о. Сахалин и р. Лютога о. Сахалин: Т - общее число позвонков; А – туловищные позвонки (включая веберовские); А1 – предорсальные позвонки (включая веберовские); А2 – промежуточные позвонки; С – хвостовые позвонки; С1 – преанальные хвостовые позвонки; С2 – постанальные хвостовые позвонки.

Между *T. sachalinensis* из двух мест обитания на о. Сахалин: р. Найба (T=45; A=25-26; A1=15; A2=4-5; C=19-20; C1=0-1; C2=18-20) и р. Пиленга (о. Сахалин) (T=43-45; A=25-27; A1=14-15; A2=3-5; C=18-19; C1=0-1; C2=17-18), –по числу позвонков не выявлены значимые различия критерием Манна-Уитни (Рис. 3.1.1.2.3, Приложение: Табл. 7, 8).

Для пары *T. hakonensis* и *T. brandtii* общее число позвонков (T) для всех отделов не является таксономическим признаком. У *T. sachalinensis*, в среднем, меньше позвонков (T), чем у *T. brandtii* и *T. hakonensis* из всех

исследованных мест обитания. У *Т. sachalinensis* максимальное значение числа позвонков (Т) составило 45 и оказалось равным минимальному у *T. hakonensis* (зал. Анива). Число дорзальных позвонков *T. sachalinensis* не превышало 27. Разброс в значений этого признака у *T. brandtii* и *T. hakonensis* составил 25–29 (Рис. 3.1.1.2.1, Рис. 3.1.1.2.2, Рис. 3.1.1.2.3, Рис. 3.1.1.2.4, Рис. 3.1.1.2.5) (Приложение: Табл. 7, 8).



Рисунок 3.1.1.2.3 – Среднее число позвонков у *T. sachalinensis* из р. Найба и р. Пиленга (о. Сахалин): Т – общее число позвонков; А – туловищные позвонки (включая веберовские); А1 – предорсальные позвонки (включая веберовские); А2 – промежуточные позвонки; С – хвостовые позвонки; С1 – преанальные хвостовые позвонки; С2 – постанальные хвостовые позвонки.



Рисунок 3.1.1.2.4 – Среднее число позвонков у *T. brandtii* и *T. hakonensis* из б. Киевка (юг Приморского края): Т – общее число позвонков; А – туловищные

позвонки (включая веберовские); А1 – предорсальные позвонки (включая веберовские); А2 – промежуточные позвонки; С – хвостовые позвонки; С1 – преанальные хвостовые позвонки; С2 – постанальные хвостовые позвонки.



Рисунок 3.1.1.2.5 – Среднее число позвонков у *T. brandtii*, *T. hakonensis* и *T. sachalinensis* из р. Найба (о. Сахалин): Т – общее число позвонков; А – туловищные позвонки (включая веберовские); А1 – предорсальные позвонки (включая веберовские); А2 – промежуточные позвонки; С – хвостовые позвонки; С1 – преанальные хвостовые позвонки; С2 – постанальные хвостовые позвонки.

3.1.1.3. Число чешуй

Числа чешуй исследовали для всех выделенных линий тела: 1) в боковой линии от конца головы до конца хвостового плавника (SL) (Рис. 2.1.2.1); 2) в боковой линии от конца головы до конца чешуйного покрова; 3) в ряду над боковой линией от конца головы до конца чешуйного покрова; 4) над боковой линией; 5) под боковой линией (Рис. 2.1.1.4.1, Рис. 3.1.1.3.1, Приложение: Табл. 9).



Рисунок 3.1.1.3.1 — Число чешуй В боковой линии В выборках дальневосточных красноперок: А – число чещуй в боковой линии до конца хвостового плавника (SL); Б – число чешуй в боковой линии до конца чешуйного покрова; В – число чешуй в ряду над боковой линией до конца чешуйного покрова. По оси абсцисс указаны виды и места вылова рыб: 1 – *T. hakonensis* (зал. Анива, о. Сахалин); 2 – *T. hakonensis* (р. Лютога, о. Сахалин); 3 – T. hakonensis (р. Найба, о. Сахалин); 4 – T. hakonensis (р. Тымь, о. Сахалин); 5 – T. hakonensis (б. Киевка, юг Приморского края); 6 – *T. brandtii* (р. Лютога, о. Сахалин); 7 – *T. brandtii* (р. Найба, о. Сахалин); 8 – *T. brandtii* (б. Киевка, юг Приморского края); 9 – *T. sachalinensis* (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 – T. sachalinensis (р. Найба, о. Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.

Для видов рода *Tribolodon* число чешуй является одним из диагностических признаков (Линдберг, Легеза, 1965, Steindachner, 1881). Несмотря на перекрытие значений признака для разных видов, число чешуй использовали в определительных ключах в совокупности с другими признаками (Линдберг, Легеза, 1965; Nakabo, 2002).

Число чешуй вдоль боковой линии тела было наибольшим у *T. brandtii* (Рис. 3.1.1.3.1). У *T. sachalinensis* и *T. hakonensis* число чешуй в боковой линии было сходным. Исключение составила выборка №5 *T. hakonensis* из б. Киевка (Рис. 3.1.1.3.1). Среднее число чешуй в боковой линии у особей из этой выборки было больше, чем у рыб этого же вида из других локальностей (Рис. 3.1.1.3.1, Приложение: Табл. 9).

Пределы изменчивости числа чешуй у *T. brandtii* и *T. hakonensis* с о. Сахалин перекрывались с таковыми у рыб из р. Киевка юга Приморья, но критерием Манна-Уитни по этим признакам выявлены статистически значимые различия (Рис. 3.1.1.3.1, Приложение: Табл. 10). Значения числа чешуй были 69–79 у *T. brandtii*, р. Найба, 76–82 у *T. brandtii*, р. Лютога, 77–93 у *T. brandtii* б. Киевка; 77–80 у *T. hakonensis*, р. Найба, 65–76 у *T. hakonensis*, р. Лютога, 70–78 у *T. hakonensis*, зал. Анива, 74–84 у *T. hakonensis*, б. Киевка. В б. Киевка были самые высокие значение числа чешуй для *T. brandtii* и *T. hakonensis*.

Различия между представителями разных видов дальневосточных красноперок обнаружены по числу чешуй над и под боковыми линиями. Так, в среднем, число чешуй над боковой линией у *T. brandtii* и *T. sachalinensis* было больше, чем у *T. hakonensis* (Рис. 3.1.1.3.2, Приложение: Табл. 9). Для большинства сравнений *T. hakonensis* с *T. brandtii* и *T. sachalinensis* значимость различий подтверждена значениями критерия Манна-Уитни (Приложение: Табл. 10). Незначительные различия по эти признакам зафиксированы только между *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Тымь) и *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Найба), *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Тымь) и *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Лютога) (Приложение: Табл. 10).

Значение среднего числа чешуй под боковой линией было наибольшим у *T. sachalinensis*, а наименьшим у *T. hakonensis*. Вид *T. brandtii* занимал промежуточной положение по среднему числу чешуй под боковой линией (Рис. 3.1.1.3.3, Приложение: Табл. 9). У всех трех исследуемых видов значения этого признака также пересекрывались (Приложение: Табл. 9).



Рисунок 3.1.1.3.2 – Число чешуй над боковой линией. По оси абсцисс указаны виды и места вылова 1 – *T. hakonensis* (зал. Анива, о. Сахалин); 2 – *T. hakonensis* (р. Лютога, о. Сахалин); 3 – *T. hakonensis*(р. Найба, о. Сахалин); 4 – *T. hakonensis* (р. Тымь, о. Сахалин); 5 – *T. hakonensis* (б. Киевка, юг Приморского края); 6 – *T. brandtii* (р. Лютога, о. Сахалин); 7 – *T. brandtii* (р. Найба, о. Сахалин); 8 – *T. brandtii* (б. Киевка, юг Приморского края); 9 – *T. sachalinensis* (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 – *T. sachalinensis* (р. Найба, о. Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.

Также проведено сравнение радиусов, формы чешуи и числа ребер на чешуйной пластинке у *T. brandtii*, *T. sachalinensis* и *T. hakonensis*. Наибольшее число рёбер отмечено у *T. sachalinensis* (46,737±0,791 (SD)), наименьшее – у *T. hakonensis* (23,756±0,672 (SD)). Число рёбер на чешуе *T. brandtii* (41,143±1,664 (SD)) перекрывается со значениями этого признака у *T. sachalinensis* и *T. hakonensis*.



Рисунок 3.1.1.3.3 – Число чешуй под боковой линией. По оси абсцисс указаны виды и места вылова 1 – *T. hakonensis* (зал. Анива, о. Сахалин); 2 – *T. hakonensis* (р. Лютога, о. Сахалин); 3 – *T. hakonensis* (р. Найба, о. Сахалин); 4 – *T. hakonensis* (р. Тымь, о. Сахалин); 5 – *T. hakonensis* (б. Киевка, юг Приморского края); 6 – *T. brandtii* (р. Лютога, о. Сахалин); 7 – *T. brandtii* (р. Найба, о. Сахалин); 8 – *T. brandtii* (б. Киевка, юг Приморского края); 9 – *T. sachalinensis* (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 – *T. sachalinensis* (р. Найба, о. Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.

Форма чешуи также различается у трех исследованных видов. Наиболее продолговатая чешуя у T. sachalinensis. Более округлую форму имеет чешуя T. hakonensis; у T. brandtii чешуя более овальная, схожая по форме с таковой у T. sachalinensis. Между T. hakonensis и T. brandtii имеются «переходные» формы чешуи, не позволяющие однозначно идентифицировать ЭТИ Сходные данные по мелкочешуйной и крупночешуйной ВИДЫ. Г.Ф. Рухловой дальневосточным красноперкам были получены И В.В. Свиридовым (Рухлова, 1984; Свиридов, 2002).

Отношение меньшего диаметра чешуи к большему у *T. sachalinensis* на разных участках тела изменяется от 0,49 до 0,71, а у *T. hakonensis* и *T. brandtii* – от 0,65 до 0,88 (Ivankov et al., 2017; Иванков и др., 2017).

3.1.1.4. Сейсмосенсорная система

Для выявления различий между видами дальневосточных красноперок в трех каналах сейсмосенсорной системы подсчитали число пор. У *T. hakonensis*, *T. brandtii* и *T. sachalinensis* число пор для обеих сторон головы было сходным.

Для всех представителей *T. brandtii* отличительное свойство – наличие перемычки между надглазничным (CSO) и подглазничным (CIO) каналами. Эти данные согласуются с описаниями особенностей сейсмосенсорной системы *T. brandtii* (Nakamura, 1963; Kurawaka, 1977; Гриценко, 2002; Свиридов, Иванков, 2002). Канал-связка CSO и CIO считается образованием кожного происхождения (Богуцкая, 1988).

Показано, что число пор у *T. hakonensis* меньше (12–21), чем у *T. sachalinensis* (16–26) и *T. brandtii* (17–26) (Рис. 3.1.1.4.1А). На участке infraorbitale различий видоспецифичных или характерных для выборок из определенных локальностей не наблюдалось. У *T. sachalinensis* и *T. brandtii* внутривидовой изменчивости числа пор в СІО канале также не выявлено.

При сравнении видов отличия обнаружены в предкрышечночелюстном канале (СРМ). У *T. brandtii* общее число пор в канале (19–24) было больше, чем у двух других видов: *T. hakonensis* (12–18) и *T. sachalinensis* (14–17) (Рис. 3.1.1.4.1Б). В выделенной зоне dentale большее число пор было только у *T. brandtii* из б. Киевка (7–9), но эти значения пересекались с таковыми *T. hakonensis* из б. Киевка (5–8) и р. Лютога (5–8) (Рис. 3.1.1.4.2А).



Рисунок 3.1.1.4.1 – Число пор в исследованных сейсмосенсорных каналах T. hakonensis, T. brandtii, T. sachalinensis. А головы число пор В подглазничном канале (CIO). Б – число пор в предкрышечно-челюстном канале (СРМ). По оси абсцисс указаны виды и места вылова: 1 – T. hakonensis (зал. Анива, о. Сахалин); 2 – *Т. hakonensis* (р. Лютога, о. Сахалин); 3 – *T. hakonensis* (р. Найба, о. Сахалин); 4 – *T. hakonensis* (р. Тымь, о. Сахалин); 5 -T. hakonensis (б. Киевка, юг Приморского края); 6 - T. brandtii (р. Лютога, о. Сахалин); 7 – *T. brandtii* (р. Найба, о. Сахалин); 8 – *T. brandtii* (б. Киевка, юг Приморского края); 9 – T. sachalinensis (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 – T. sachalinensis (р. Найба, о. Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.

Число пор в надглазничном канале *T. hakonensis*, *T. brandtii* было сходно с таковым, описанным Богуцкой (1988). Наблюдается перекрывание значений числа пор между видами, с большим числом у *T. brandtii* как во всем канале CSO (10 – 19), так и в выделенной части frontale+parietale (6 – 13) (Рис. 3.1.1.4.2Б, Рис. 3.1.1.4.3).



Рисунок 3.1.1.4.2 – Число пор в отделах исследованных сейсмосенсорных каналах головы *T. hakonensis*, *T. brandtii*, *T. sachalinensis*. А – число пор в канале районе dentale (канал СРМ). Б – число пор в канале районе frontale+parietale (канал СЅО). По оси абсцисс указаны виды и места вылова: 1 - T. hakonensis (зал. Анива, о. Сахалин); 2 - T. hakonensis (р. Лютога, о. Сахалин); 3 - T. hakonensis (р. Найба, о. Сахалин); 4 - T. hakonensis (р. Тымь, о. Сахалин); 5 - T. hakonensis (б. Киевка, юг Приморского края); 6 - T. brandtii (р. Лютога, о. Сахалин); 7 - T. brandtii (р. Найба, о. Сахалин); 8 - T. brandtii (б. Киевка, юг Приморского края); 9 - T. sachalinensis (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 - T. sachalinensis (р. Найба, о. Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.



Рисунок 3.1.1.4.3 – Число пор в надглазничном канале. По оси абсцисс указаны виды и места вылова 1 – *T. hakonensis* (зал. Анива, о. Сахалин); 2 – *T. hakonensis* (р. Лютога, о. Сахалин); 3 – *T. hakonensis* (р. Найба, о. Сахалин); 4 – *T. hakonensis* (р. Тымь, о. Сахалин); 5 – *T. hakonensis* (б. Киевка, юг Приморского края); 6 – *T. brandtii* (р. Лютога, о. Сахалин); 7 – *T. brandtii* (р. Найба, о. Сахалин); 8 – *T. brandtii* (б. Киевка, юг Приморского края); 9 – *T. sachalinensis* (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 – *T. sachalinensis* (р. Найба, о. Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.

3.1.2. Пластические признаки

Пластические признаки расмотренны у трех видов рода *Tribolodon* из пяти локальностей о. Сахалин и из р. Киевка Приморского края (Рис. 2.1.2.2) (Приложение: Табл. 11). Сравнение признаков проводили по схемам, разработанным специально для данного исследования, с учетом рекомендаций для карповых рыб (Правдин, 1966; Богуцкая, 1990; Armbruster, 2012; Bogutskaya et al., 2017).

Результатов анализа изменчивости пластических признаков дальневосточных красноперок сопоставляли с опубликованными данными (Гудков и др., 2010).

Значимых межвидовых различий между *T. brandtii* и *T. hakonensis*, а также между *T. brandtii* и *T. sachalinensis* не выявленно (Приложение: Табл. 11, Табл. 12). Отличия между *T. sachalinensis* и *T. hakonensis* обнаружены по признакам № 2 «отношение высоты хвостового стебля к длине тела (%)» и № 44 «отношение длины орегсиlum к длине головы (%)» (Рис. 3.1.2.1, Приложение: Табл. 11, Табл. 12).

Между выборками *T. hakonensis* с юга Приморского края и с о. Сахалин были обнаружены различия по признаку № 4 «отношение ширины тела в районе основания дорзального плавника к длине тела до SL (%)» и № 32 «отношение ширины межглазничного расстояния к длине головы (%)» (Рис. 3.1.2.2, Приложение: Табл. 11, Табл. 12).

Выявлены значимые отличия между четырьмя выборками *T. hakonensis* (зал. Анива, р. Лютога, р. Найба, бух. Киевка) и *T. sachalinensis* из р. Пиленга (Приложение: Табл. 13) по признаку № 48 «отношение длины рыла к горизонтальному диаметру глаза» (Приложение: Табл. 11). Диапазоны значений данного признака перекрываются для всех видов (Рис. 3.1.2.2B, Приложение: Табл. 11). Для *T. sachalinensis* из р. Найба и этих же выборок *T. hakonensis*, различия по признаку № 48 были незначимы.

Статистически значимых отличий между *T. brandtii* и *T. hakonensis*, а также между *T. brandtii* и *T. sachalinensis* по выбранным пластическим признакам не выявлено. Различий между выборками *T. hakonensis* с юга Приморского края и о. Сахалин по выбранным пластическим признакам также не выявлено (Приложение: Табл. 13).



3.1.2.1 Изменчивость пластических Рисунок _ индексов признаков T. hakonensis, T. brandtii, T. sachalinensis: А – отношение высоты хвостового стебля к длине тела; Б – отношение длины operculum к длине головы. По оси абсцисс указаны виды и места вылова 1 – T. hakonensis (зал. Анива, о. Сахалин); 2 – T. hakonensis (р. Лютога, о. Сахалин); 3 – T. hakonensis (р. Найба, о. Сахалин); 4 - T. hakonensis (р. Тымь, о. Сахалин); 5 - T. hakonensis (б. Киевка, юг Приморского края); 6 – Т. brandtii (р. Лютога, о. Сахалин); 7 – T. brandtii (р. Найба, о. Сахалин); 8 – T. brandtii (б. Киевка, юг Приморского края); 9 - T. sachalinensis (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 - T. sachalinensis (р. Найба, о. Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.



Рисунок 3.1.2.2 Изменчивость _ индексов пластических признаков T. hakonensis, T. brandtii, T. sachalinensis: А – отношение ширины тела в районе основания дорзального плавника к длине тела до SL; Б – ширины межглазничного расстояния к длине головы. В – отношение длины рыла к горизонтальному диамерту глаза. По оси асцисс указаны виды и места вылова 1 - T. hakonensis (зал. Анива, о. Сахалин); 2 - T. hakonensis (р. Лютога, о. Сахалин); 3 – *Т. hakonensis* (р. Найба, о. Сахалин); 4 – T. hakonensis (р. Тымь, о. Сахалин); 5 – T. hakonensis (б. Киевка, юг Приморского края); 6 – *T. brandtii* (р. Лютога, о. Сахалин); 7 – *T. brandtii* (р. Найба, о. Сахалин); 8 - Т. brandtii (б. Киевка, юг Приморского края); 9 -T. sachalinensis (р. Пиленга, о. Сахалин); 10 – T. sachalinensis (р. Найба, о.

Сахалин). Показаны средние значения, квартили и пределы изменчивосто признака.

3.2. Результаты молекулярно-генетического исследования

3.2.1. Анализ последовательностей маркеров мтДНК и яДНК

Определены и депонированы в международные базы данных BOLD (www.boldsystems.org) и GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) в общей сложности 220 новых нуклеотидных последовательностей участков мтДНК (*Cyt-b* - 67 последовательностей, Co-1-73 последовательности) и яДНК (ITS-1,2 - 23) последовательности, *Rho* – 57 последовательностей) представителей рода Впервые в базы данных BOLD и GenBank добавлены Tribolodon. последовательности ITS-1,2 видов T.hakonensis, T.brandtii и T. sachalinensis, a также последовательности Rho видов T.brandtii и T. sachalinensis длиной более 500 п.н. Депонированы в GenBank, NCBI 27 нуклеотидных *Cyt-b* представителей рода Oreoleusicus 15 последовательностей И нуклеотидных последовательностей Cyt-b Phoxinus ujmonensis. Исследованы четыре молекулярных маркера: Co-1, Cyt-b, Rho (Табл. 3.2.1.1) и участка рРНК ITS-1,2 у видов T.hakonensis, T.brandtii и T. sachalinensis.

Таблица 3.2.1.1 – Коэффициенты транзиций и трансверсий последовательностей трёх маркеров у изученых видов рода *Tribolodon*

Маркер	длина	Ts			Tv			Ts/Tv		
	последова-	1 ^{ая}	2 ^{ая}	3 ^{яя}	1 ^{ая}	2 ^{ая}	3 ^{яя}	1 ^{ая}	2 ^{ая}	3 ^{яя}
	тельности	позиция								
	(п.н.)	кодона								
Co-1	557	1,00	0,00	17,00	0,00	0,00	1,00	17,96	1,00	11,26
Cyt-b	1078	5,00	0,00	37,00	0,00	0,00	4,00	11,98	0,67	9,76
Rho	677	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	1,42

Примечание: Ts – коэффициент транзиций; Tv – коэффициент трансверсий; Ts/Tv – коэффициен соотношения транзиций и трансверсий.

Число вариабельных сайтов последовательности *Co-1*, представленной участком длиной 557 п.н., составило 56, из них информативными для парсимонии были 46 сайтов. Число вариабельных сайтов последовательности *Cyt-b*, представленной участком длиной 1078 п.н., составило 187, из них информативными для парсимонии были 152. Число вариабельных сайтов последовательности *Rho*, длиной 677 п.н., составило 11, информативными для парсимонии были 8. Участкок рРНК *ITS-1,2* длиной 591 п.н. имел 63 вариабельных сайта, из них 39 были информативными для парсимонии.

Для *Co-1*, *Cyt-b* и *Rho* самое большое число транзиций (Ts) и трансверсий (Tv) наблюдалось в третей позиции кодона. Наибольшее значение отношения Ts/Tv для *Co-1* и *Cyt-b* обнаружено в первой позиции кодона (17,96 и 11,98), наименьшее – во второй (1,00 и 0,67), а в третьей для *Co-1* оно равно 11,26, а для *Cyt-b* – 9,76.

3.2.2. Анализ изменчивости и дивергенции

3.2.2.1. Маркер Со-1

Изменчивость (*p*-расстояние) рассчитывали для каждого вида из исследованных мест обитания. По маркеру *Co-1* максимальные средние значения изменчивости внутри выборок зафиксированны для *T. hakonensis* (1,8%) и *T. brandtii* (2,9%) в б. Киевка. Максимальные средние значения внутривидовой изменчивости выявлены между локальными группировками *T. hakonensis* из б. Киевка и зал. Анива (3,2%), и *T. brandtii* из б. Киека и р. Лютога (3,5%) (Приложение: Табл. 14).

Максимальные значения межвидовой изменчивости получены между *T. hakonensis* из зал. Анива и *T. brandtii* из р. Лютога (7,0%), для *T. hakonensis* из б. Киевка и *T. sachalinensis* р. Пиленга (6,7%) (Приложение: Табл. 14).

Обе потенциально гибридные особи были ближе к *T. brandtii* (*p*расстояние для TBV03NTHV03_03=1,8%; TBK012NTHK0_12=1,2%) (Приложение: Табл. 18).

3.2.2.2. Маркер *Суt-b*

По маркеру *Cyt-b* максимальные средние значения изменчивости внутри выборок получены для *T. hakonensis* из зал. Анива (0,8%) и *T. brandtii* из р. Найба (1%). Наибольшие показатели внутривидовой изменчивости были между *T. hakonensis* из р. Найба и бух. Киевка (3,3%), а у *T. brandtii* между особями из зал. Восток и р. Найба (2,6%). При этом максимальмое среднее *p*-расстояние между *T. hakonensis* и *T. brandtii* равнялось 9,3%.

Средние значения изменчивости между локальными группировками *T. sachalinensis* составили 1,4%. Максимальные различия между *T. sachalinensis* и другими видами рода зафиксированы при сравнении этого вида с *T. hakonensis* р. Найба (10,5%) (Приложение: Табл. 15).

особи Потенциальные гибридные значительно отличались OT T. hakonensis, *p*-расстояние составили TBV03NTHV03_03=9,2%; для ТВК012NTHK0_12=7,7%). И в меньшей степени отличались от T. brandtii, p-TBV03NTHV03 03=0,7%; TBK012NTHK0 12=2,4%. расстояние лля (Приложение: Табл. 18).

2.2.3. Маркер *ITS-1,2*

Средние значения *p*-расстояний для последовательностей *ITS-1,2* внутри и между видами рода *Tribolodon* представлены в Приложении (Табл. 16). Наибольшие средние *p*-расстояния внутри выборок получены для *T. hakonensis* p. Лютога (0,7%) и *T. brandtii* зал. Восток (0,8%). Максимальные значения внутривидовых *p*-расстояний для *T. hakonensis* зафиксированы между выборками из p.Лютога и бух. Киевка (1,5%). Наибольшие значения межвидовой изменчивости получены для *T. hakonensis* бух. Киевка и *T. brandtii* зал. Восток (4,9%), и между *T. sachalinensis* из p. Пиленга и *T. brandtii* зал. Восток (5,3%).

Значения *p*-расстояний между потенциальными гибридными особями и родительскими видами разнились. ТВV03NTHV03_03 из зал. Восток

сильнее отличался от *T. brandtii* (5,4%), в то время, как ТВК012NTHK0_12 – от *T. hakonensis* (5,2%) (Приложение: Табл. 18).

Визуальным методом в программе BioEdit (Hall, 1999) обнаружены вставки и замены в последовательностях нуклеотидов участка *ITS-1,2*, по которым четко разделялись особей разных видов. Вид *T. brandtii* отличался по каждому участку последовательностей, перечисленных в Приложении в Табл. 19, за исключением позиции 362. Вид *T. sachalinensis* отличался от двух других видов рода в позициях 42–61, 290, 321–329, 362, 411–424 и 578 (Приложение: Табл. 19).

2.2.4. Маркер *Rho*

Значения уровней внутривидовой и межвидовой изменчивости маркера *Rho* были крайне малы, так как последовательности различались по небольшому числу нуклеотидных замен. Для *T. hakonensis* наибольшие внутривидовое значение *p*-расстяния, равное 0,5%, обнаружено между двумя особями из р. Найба и зал. Восток. Самое большое значение межвидового *p*-расстяния составило 0,7% для *T. sachalinensis* из р. Пиленга и *T. hakonensis* из зал. Анива (Приложение: Табл. 17).

Для последовательностей каждого ИЗ четырех изученных молекулярных маркеров T. hakonensis проведен сравнительный анализ pрасстояний, который базировался на параметрическом дисперсионном ANOVA (Приложение: Рис. 1). Соответственно анализе ДЛЯ всей совокупности последовательностей *T. hakonensis* по каждому маркеру анализировали *p*-расстояния, предварительно разделив выборку на 3 группировки: 1) особи *T. hakonensis* из одной выборки, 2) особи *T. hakonensis* географически разобщенных популяций, 3) особи ИЗ разных видов (T. hakonensis, T. brandtii и T. sachalinensis). Для трех групп подсчитаны средние значения *p*-расстояний и степень их различия. Для выявления изменчивости и различий *p*-расстояний внутри- и между тремя группами использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Различия

средних величин *p*-расстояний оказались статистически значимыми для всех кроме последовательностей маркера *ITS-1,2*. Для ЭТОГО маркеров, молекулярного маркера отличия между первой и второй группами были незначительными, и только третья группа отличалась существенно. В Приложении на Рис. 1 приведены данные об изменчивости *p*-расстояний для всех четырех маркеров: А. *Co-1*: F=449,31, d.f.=2 и 2056, *P* < 0,0001; В. *Cyt-b*: F=61184,0, d.f.=2 μ 1640, P < 0,0001; C. Rho: F=567,35, d.f.=2 μ 1205, P < 0,0001; D. ITS-1,2; F=167,92, d.f.=2 и 206, P < 0,0001. При сравнении особей одного вида из разных локальных группировок статистически значимых различий по *p*-расстояниям не обнаружено.

3.2.3.Результаты автоматического поиска разрывов ДНК-штрихкода (ABGD)

С целью разделения изученных особей на гипотетические виды, для каждого маркера проанализированы генетические расстояния с использованием трех моделей замен нуклеотидов: JC, K80, *p*-расстояние. При проведении анализа последовательностей четырех маркеров на основе программы ABGD Web (www.abi.snv.jussieu.fr/public/abgd/abgdweb) было выделено различное число видоспецифичных групп в зависимости от маркера.

Со-1. Для Со-1 при использовании каждой из эволюционных моделей было выделено четыре группы последовательностей. Первая группа включала в себя представителей T. brandtii из всех точек сбора и два потенциальных гибридных экземпляра TBK012NTHK0_12 И TBV03NTHV03 03. Вторая группа включала T. hakonensis c юга Приморского края из б. Киевка и зал. Восток. Третья группа состояла только из T. hakonensis зал. Анива о. Сахалин. Четвертая группа состояла из представителей T. sachalinensis. Начальные группы (partitions) определены с предварительным максимальным расстоянием: P=0,00464 (JC); P=0,00464 (K80) и *P*=0,001 (*p*-расстояние).
Суt-b. Для *Суt-b*, используя модели K80 и *p*-расстояния, было выделено пять групп: 1) T. brandtii с юга Приморского края из б. Киевка и зал. Восток и потенциальных гибридных экземпляра TBK012NTHK0_12 два И ТВV03NTHV03_03; 2) T. brandtii из р. Найба о. Сахалин; 3) T. hakonensis с юга Приморского края из б. Киевка и зал. Восток; 4) T. hakonensis зал. Анива о. Сахалин; 5) T. sachalinensis из р. Найба и р. Пиленга о. Сахалин. заданы предварительным Начальные группировки с максимальным генетическим расстоянием P=0,00469 для модели K80 и P=0,00278 для pрасстояния. Однако, при использовании модели ЈС выявлено наличие трех групп: 1) T. hakonensis из всех точек сбора; 2) T. brandtii из всех точек сбора и **TBK012NTHK0** 12 два потенциальных гибридных экземпляра И ТВV03NTHV03_03; 3) T. sachalinensis из всех точек сбора. Начальные заданы с предварительным максимальным расстоянием группировки *P*=0,0215. Такое разделение соответствовало номинальным видам, выделяемым методами сравнительной морфологии.

ITS. Для *ITS* при использовании всех трех моделей выделено две группы: 1) *T. hakonensis* и *T. sachalinensis* из всех исследованных мест обитания и экземпляр TBV03NTHV03_03; 2) *T. brandtii* и экземпляр TBK012NTHK0_12. Начальные группировки заданы с предварительным максимальным расстоянием: P=0,00464 (JC); P=0,00464 (K80); P=4,64e-03 (*p*-расстояние).

Rho. Изменчивость *Rho* была настолько низкой, что все последовательности попали в одну группу.

Данные ABGD анализа совпадают с реконструкциями генных деревьев, полученных с использование алгоритмов NJ, ML и MP. Кроме того, для маркера *ITS-1,2* были выявлены участки последовательностей, позволяющие точно идентифицировать особей до вида (Приложение: Табл. 19).

109

3.2.4. Результаты анализа на основе программы DnaSP

3.2.4.1. Генетическая дифференциация и поток генов

Проведена оценка потока генов между сформированными группами были получены по 13 последовательностям четырех объединенных маркеров общей длиной 2903 п.н. Значения уровня потока генов между популяциями крупночешуйной красноперки с о. Сахалин и юга Приморского края, а также между крупно- и мелкочешуйной красноперками и предполагаемыми гибридными особями представлены в Приложении: Табл. 20, Табл. 21.

Общее число последовательностей в анализе составило k=13. Оценки параметров изменчивости были следующими: нескольких число полиморфных сайтов (инделы/ пропущенные сайты) S=14; значение гаплотипического разнообразия h=8; доля полиморфных сайтов Hd=0,9103; среднее значение нуклеотидной дивергенции К=6,0513. Получены значения генетической дифференциации: хи-квадрат, $\chi 2 = 26,90$ (P=0,1741)И средние разнообразия взвешенные значения оценок гаплотипов В субпопуляции, Hs=0,7333 (P=0,0420*; PM тест); коэфициент генетической дифференциации Hst (Hudson et al., 1992, уравнение 2) Hst=0,1944 (Р=0,0420*; РМ тест).

Подсчитан также ряд других мер генетической дифференциации, указывающих на генетическую неоднородность ряда совокупностей: Ks=2,7179 (Hudson et al., 1992); Kst=0,5508 (P=0,0030**; PM тест для Ks и Kst) (Hudson et al., 1992, уравнение 9); Ks*=0,68967; Kst* (Hudson et al., 1992, уравнение 11); Kst*=0,59187 (P=0,0000***; PM тест для Ks* и Kst*) (Hudson et al., 1992, уравнение 11); Z=11,26667 (P=0,0000***; PM тест для Z) (Hudson et al., 1992); Z*=2,3297 (P=0,0000***; PM тест для Z*) (Hudson et al., 1992).

Значения генетической дифференциации были рассчитаны отдельно для каждой группировки:

1) *T. hakonensis* (зал. Анива, о. Сахалин) – северная часть ареала (k=4, S=1; h=2; Hd=0,5; K=0,5);

T. hakonensis (б. Киевка, Приморский край) – южная часть ареала (k=4, S=3; h=4; Hd=1,0; K=1,83);

Гибридные особи *T. brandtii* × *T. hakonensis* (б. Киевка и зал. Восток, Приморский край) (k=2, S=11; h=2; Hd=1; K=11);

4) *T. brandtii* (зал. Восток, Приморский край) – южная часть ареала
(k =3, S=2; h=2; Hd=0.6; K=1,33).

Общие значения для гаплотипов: Gst=0,1494 (Nei, 1973, уравнение 9) и Nm=1,42 (Nei, 1973), – для четырех объединенных последовательностей нуклеотидов: GammaSt=0,7154; Nm=0,10 (Nei, 1973), Fst=0,4864; Nm=0,26 (Hudson et al., 1992). Результаты попарного сравнения группировок представлены в Приложении: Табл. 20, Табл. 21.

3.2.4.2. Полиморфизм ДНК

Значения полиморфизма ДНК получены для 14 последовательностей четырех объединенных генов, а также раздельно для митохондриальных (Со-1, Cyt-b) и ядерных маркеров (Rho, ITS-1,2) (Приложение: Табл. 22). Кроме того, отдельно получены значеия полиморфизма по 42 последовательностям мтДНК генов *Co-1* и *Cyt-b* (Приложение: Табл. 22). Значения Theta (θ) (нуклеотидной изменчивости на сайт), S (число сегрегирующих (полиморфных) сайтов) и Рі (нуклеотидное разнообразие на сайт) представлены в виде графика с шагом в 100 п.н. для всех четырех объединенных генов по 14 последовательностям, по 14 объединенным последовательностям ядерных маркеров (*Rho* и *ITS-1,2*), а также по 42 объединенным последовательностям *Co-1* и *Cyt-b* мтДНК (Рис. 3.2.4.2.1).



Рисунок 3.2.4.2.1 – Оценки степени полиморфизма ДНК 14 последовательностей: А) для всех четырех маркеров генов, Б) для митохондриальных маркеров генов (*Co-1* и *Cyt-b*) и В) для ядерных маркеров генов (*Rho* и *ITS-1,2*).

3.2.5. Рекомбинантный анализ. Результаты, полученные на основе программы RDP

Для поиска рекомбинаций в последовательностях изученных видов дальневосточных красноперкок разработано 98 вариантов настроек для анализа. Каждый вариант подбирали исходя из свойств выборки. Для анализируемого рекомбинантного участка реконструировали 98 вариантов NJ-деревьев, на которых для рекомбинантной последовательности обозначались предполагаемые предковые последовательности. Также для каждого фрагмента проводили анализ графиков, построенных четырьмя основными методами на основе четырех утилит (Глава «Материалы и методы»): RDP, Genconv, MaxChi, Chimaera.

Если блок инделов (настройки для первичного анализа) анализировался как один полиморфимзм (40 варианта из 98), то на всех графиках выявлялось только рекомбинация в диапазоне 718–1270 п.н., обнаруживаемая у экземпляра № 3 *T. hakonensis* из зал. Восток. В качестве «потенциальных родительских последовательностей» программа RDP определяла участки последовательностей *T. hakonensis* экземпляра №12 из б. Киевка и *T. hakonensis* экземпляра №6 из зал. Анива о. Сахалин. При исключении инделов в первичных настройках анализа (32 вариантов из 98), на графиках выявлялись следующие пять рекомбинаций.

Рекомбинация №1 (локализация 718–1270 п.н.) присутствовала у T. hakonensis экземпляра <u>№</u>3 ИЗ зал. Восток «предполагаемыми С родительскими последовательностями» *Т. hakonensis* экземпляр № 12 из б. Киевка и *T. hakonensis* экземпляр № 6 из зал. Анива о. Сахалин. Значения попарной идентичности (Pairwise identity) для рекомбинации №1 следующие: $P=2,526*10^{-12}$ (RDP); $P=2,307*10^{-9}$ (Genconv); $P=1,618*10^{-7}$ μ $P=4,438*10^{-8}$ (MaxChi; последнее значение – с учетом инделов при построении графиков); *P*=3,068*10⁻⁷ (Chimaera). Данная потенциально-рекомбинантная особь присутствовала во всех вариантах анализа.

Рекомбинация №2 (локализация 1047 – 1193 п.н.) присутствовала у 2 T. sachalinensis экземпляра № ИЗ p. Пиленга 0. Сахалин с «предполагаемыми родительскими последовательностями» T. hakonensis экземпляр № 2 и *T. hakonensis* экземпляр № 11 из б. Киевка, юг Приморского края. Данная потенциально-рекомбинантная особь обнаруживалась при настройке опции «отсутствие референсной последовательности» в первичном сканировании. Значения попарной идентичности для рекомбинации №2 следующие: $P=5,649*10^{-6}$ (RDP); $P=3,967*10^{-10}$ (Genconv); $P=9,470*10^{-2}$ (MaxChi, только с учетом инделов при построении графика). Эта рекомбинантная особь присутствовала в 24 из 98 вариантов.

Рекомбинация №3 (локализация 850–1100 п.н.) присутствовала у *T. hakonensis* экземпляра № 6 из б. Киевка с «предполагаемыми родительскими последовательностями» *T. hakonensis* экземпляр № 6 из зал. Анива о. Сахалин и *T. hakonensis* экземпляр № 2 из б. Киевка. Значения попарной идентичности для рекомбинации №3 следующие: $P=1,845*10^{-2}$ (Genconv); $P=8,256*10^{-1}$ (MaxChi) и $P=8,256*10^{-1}$ (MaxChi utility, с учетом инделов при построении графиков); $P=5,014*10^{-1}$ (MaxChi). Данная потенциально-рекомбинантная особь присутствовала при расчетах без учета инделов и при построении графиков эта особь присутствовала в 18 из 98 вариантов. За исключением Genconv, три другие утилиты не указывали на присутствие статистически значимых рекомбинаций в данном участке.

Рекомбинация №4 (локализация 850 – 1120 п.н.) присутствовала у *T. hakonensis* экземпляра № 7 из б. Киевка. «Предполагаемые родительские последовательности» были *T. hakonensis* экземпляр № 6 из залива Анива о. Сахалин и *T. hakonensis* экземпляр № 2 из б. Киевка. Значения попарной идентичности для рекомбинации №4 следующие: $P=1,208*10^{-1}$ (Genconv); $P=3,539*10^{-2}$ (MaxChi; с учетом инделов при построении графиков); $P=3,161*10^{-1}$ (MaxChi, без учета инделов при построении графиков). Эта потенциально-рекомбинантная особь присутствовала в 18 из 98 вариантов; вероятность ее наличия была относительно низкая и определялась только с учетом инделов одной из утилит.

Рекомбинация №5 (локализация 850–1120 п.н.) присутствовала у *T. hakonensis* экземпляра № 11 из б. Киевка с «предполагаемыми родительскими последовательностями» *T. hakonensis* экземпляр № 6 из залива Анива о. Сахалин и *T. hakonensis* экземпляр № 2 из б. Киевка. Значения попарной идентичности для рекомбинации №4 следующие: $P=6,006*10^{-1}$ (Genconv); $P=7,903*10^{-3}$ и 2,793 х 10^{-1} (MaxChi; без учета и с учетом инделов при построении графиков). Эта потенциальнорекомбинантная особь присутствовала в 18 из 98 вариантов.

Заключая анализ, можно констатировать следующее:

Рекомбинация №1. Локализация рекомбинантного участка 718–1270 п.н. объединенной последовательности четырех генов подтверждалась всеми графиками, построенными разными методами.

Рекомбинация №2. Локализация рекомбинантного участка 1047–1193 п.н. объединенной последовательности выявлялась при использовании параметра «отсутствие референсной последовательности» в настройках RDP. Рекомбинация подтверждалась только с использованием утилит RDP и Genconv. Однако, методом MaxChi рекомбинация выявлялась на графике только при использовании инделов. Метод Chimaera не подтверждал наличие этой рекомбинации.

Рекомбинации №3, №4 и №5 выявлялись только при расчете биноминального *р*-значения в BOOTSCAN (Salminen et al., 1995; Martin et al., 2005). Рекомбинации №3 и №4 подтверждались оценками, полученными в Genconv и MaxChi как с использованием инделов при построение графиков, так и без учета инделов. Рекомбинация №5 подтверждалась только при использовании MaxChi без учета инделов при построение графиков. Потенциально-рекомбинантная особь встречается на всех графиках вне зависимости от настроек, подобранных индивидуально для выборки. Остальные графики демонстрируют варианты возможных рекомбинантных

последовательностей, обнаруживаемых в зависимости от калибровок (Рис. 3.2.5.1).

С помощью программы RDP цветом выделяли разные виды, а также потенциальные гибриды. Особь *T. hakonensis* №12 TBK012NTHK0_12 б. Киевка, принималась программой за отдельный вид. При визуальном анализе последовательности нуклеотидов *ITS-1,2* у этой особи (Приложение: Табл. 19) были выявлены признаки, характерные как для *T. hakonensis*, так и для *T. brandtii*. На этом основании данная особь была отнесена к потенциально-гибридным особям.

T.hakonensis 03 Aniva bay THA13 03
T.hakonensis 06 Aniva bay THA13 06
T.hakonensis 09 Aniva bay THA13 09
T.hakonensis 19 Aniva bay THA13 19
T.hakonensis 02 Kievka bay THK13 02
T.hakonensis 06 Kievka bay THK13 06
T.hakonensis 07 Kievka bay THK13 07
T.hakonensis 11 Kievka bay THK13 11
Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 12 Kievka TBK012NTHK0 12
Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 03 Vostok TBV03NTHV03 03
<i>T.hakonensis</i> 06 Aniva bay THA13 06 <i>T.brandtii</i> 14 Vostok bay TBV 13 14
T.brandtii 15 Vostok bay TBV 13 15
T.brandtii 20 Vostok bay TBV 13 20
T.sachalinensis 02 river Pilenga TSP13 02

A

T.hakonensis 03 Aniva bay THA13 03
T.hakonensis 06 Aniva bay THA13 06
T.hakonensis 09 Aniva bay THA13 09
T.hakonensis 19 Aniva bay THA13 19
T.hakonensis 02 Kievka bay THK13 02
T.hakonensis 06 Kievka bay THK13 06
T.hakonensis 07 Kievka bay THK13 07
T.hakonensis 02 Kievka bay THK13 02 T.hakonensis 11 Kievka bay THK13 11
Unknown Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 12 Kievka TBK012NTHK0 12
Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 03 Vostok TBV03NTHV03 03
<i>T.brandtii</i> 14 Vostok bay TBV 13 14
T.brandtii 15 Vostok bay TBV 13 15
T.brandtii 20 Vostok bay TBV 13 20
T.sachalinensis 02 river Pilenga TSP13 02
T.hakonensis 11 Kievka bay THK13 11

Б

T.hakonensis 03 Aniva bay THA13 03	T.hakonensis 03 Aniva bay THA13 03
T.hakonensis 06 Aniva bay THA13 06	T.hakonensis 06 Aniva bay THA13 06
T.hakonensis 09 Aniva bay THA13 09	T.hakonensis 09 Aniva bay THA13 09
T.hakonensis 19 Aniva bay THA13 19	T.hakonensis 19 Aniva bay THA13 19
T.hakonensis 02 Kievka bay THK13 02	T.hakonensis 02 Kievka bay THK13 02
T.hakonensis 06 Kievka bay THK13 06	T.hakonensis 06 Kievka bay THK13 06
T.hakonensis 07 Kievka bay THK13 07	T.hakonensis 06 Aniva bay THA13 06 T.hakonensis 07 Kievka bay THK13 07
T.hakonensis 11 Kievka bay THK13 11	T.hakonensis 02 Kievka bay THK13 02
Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 12 Kievka TBK012NTHK0 12	T.hakonensis 11 Kievka bay THK13 11
Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 03 Vostok TBV03NTHV03 03	Unknown Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 12 Kievka TBK012NTHK0 12
<i>T.brandtii</i> 14 Vostok bay TBV 13 14	Hybrid T.hakonensis x T.brandtii 03 Vostok TBV03NTHV03 03
T.brandtii 15 Vostok bay TBV 13 15	Thrandtii 14 Vostok hay TBV 13 14
T.brandtii 20 Vostok bay TBV 13 20	
T.sachalinensis 02 river Pilenga TSP13 02	1. brandth 15 Vostok bay 1BV 13 15
T hakanansis 11 Kievka hav THK13 11	T.brandtii 20 Vostok bay TBV 13 20
THUNNERSIS II MCTRA DAY IIINIS II	T.sachalinensis 02 river Pilenga TSP13 02

В

Рисунок Рекомбинантные последовательности четырех 3.2.5.1 _ (*Rho*, ITS-1,2, объединенных фрагментов *Cyt-b*,). *Co-1*, Показаны рекомбинанты, обнаруженные при индивидуальных настройках расчетов для исследуемой выборки 14 нуклеотидных последовательностей: А. Варианты 1-40; Б. Варианты 41-48; В. Варианты 49-64; Г. Варианты 65-74.

Г

3.2.6. Результаты анализа генных деревьев

Для четырех исследованных маркеров внутри- и межвидовые *p*расстояния совпадали с филогенетическими реконструкциями (Рис. 3.2.6.1 – 3.2.6.4, Приложение: Табл. 14–18). Виды *T. hakonensis* и *T. brandtii*, помимо видовых ветвей, формировали «географические» ветви, объединяющие особей с о. Сахалин и из Приморского края. Отдельно для каждой из двух маркеров *Rho+ITS-1,2* (13 пар молекулярных объединенных последовательностей) и *Co-1+Cyt-b* (42 объединенных последовательности) реконструировали молекулярно-филогенетические взаимосвязи видов и предполагаемых гибридных экземпляров используя четыре подхода: BA, ML, MP и NJ (Рис. 3.2.6.5, Рис. 3.2.6.6). Генное дерево, реконструированное на основе объединенных последовательностей *Rho+ITS-1,2* состояло из двух включающих: 1) T. hakonensis ветвей, И потенциальный гибрид T. brandtii × T. hakonensis TBV03NTHV03_03; 2) T. brandtii и потенциальный гибрид T. brandtii × T. hakonensis TBK012NTHK0 12, а также обособленной ветви T. sachalinensis (Рис. 3.2.6.5). Максимальные внутривидовые pрасстояния T.hakonensis (из Приморского края и о. Сахалин) для маркера ITS-1,2 составили 1,5%. Максимальные *p*-расстояния между видами *T.hakonensis* и *T.brandtii* для маркера *ITS-1,2* были 5,3%.



Рисунок 3.2.6.1 – Филогенетическое дерево рода *Tribolodon*, основанное на 76 нуклеотидных последовательностях маркера *Co-1*. Базовое дерево реконструировано на основе ML-метода. В узлах показаны поддержки топологии для четырех подходов конструирования дерева; порядок поддержек (%): BA/ML/MP/NJ.



Рисунок 3.2.6.2 – Филогенетическое дерево рода *Tribolodon*, основанное на 68 нуклеотидных последовательностях маркера *Cyt-b*. Базовое дерево реконструировано на основе NJ-метода. В узлах показаны поддержки топологии для четырех подходов конструирования дерева; порядок поддержек (%): BA/ML/MP/NJ.



0.0005

Рисунок 3.2.6.3 – Филогенетическое дерево рода *Tribolodon*, основанное на 57 нуклеотидных последовательностях маркера *Rho*. Базовое дерево реконструировано на основе NJ-метода. В узлах показаны поддержки топологии для четырех подходов конструирования дерева; порядок поддержек (%): BA/ML/MP/NJ.



0.005

Рисунок 3.2.6.4 – Филогенетическое дерево рода *Tribolodon*, основанное на 23 нуклеотидных последовательностях маркера *ITS-1,2*. Базовое дерево реконструировано на основе NJ-метода. В узлах показаны поддержки топологии для четырех подходов конструирования дерева; порядок поддержек (%): BA/ML/MP/NJ.

На дендрограммах, основанных на объединенных последовательностях Co-1+Cyt-b, выявляются три кластера с высокой бутстреп-поддержкой. Основные два кластера формируют *T. hakonensis* из зал. Анива Т. *hakonensis* из б. Киевка и зал. Восток. К ним присоединяются последовательности третей клады, представленной *T. brandtii* и предполагаемыми гибридными особями (*T. brandtii* × *T. hakonensis*), обозначенные TBK012NTHK0_12 и TBV03NTHV03_03. Обособленную ветвь формирует *T. sachalinensis* (Рис. 3.2.6.6). Максимальные внутривидовые *p*-расстояния между *T. hakonensis* из Приморского края и о. Сахалин для маркера *Co-1* составили 3,1%, для *Cyt-b* – 3,3% (Katugina, Kartavtsev, 2014). Максимальные внутривидовые *p*-расстояния между *T. brandtii* из Приморского края и о. Сахалин для маркера и о. Сахалин для маркера

Co-1 составили 3,5%, для *Cyt-b* – 2,3% Максимальные *p*-расстояния между видами *T. hakonensis* и *T. brandtii* составили для *Co-1* – 7,2%, для *Cyt-b* – 9,6%

Для четырех исследованных маркеров *p*-расстояния между гибридами и особями родительских видов хорошо соотносились с филогенетическими реконструкциями (Рис. 3.2.6.1 – 3.2.6.4, Приложение: Табл. 18). Генные леревья. реконструированные по нуклеотидным последовательностям маркеров мтДНК (*Co*-1 и *Cyt*-b) (Рис. 3.2.6.1, Рис. 3.2.6.2), состоят из ветвей с высокими поддержками топологий (>50%). Каждая ветвь соответствует одному из исследованных видов рода Tribolodon: T. hakonensis, T. brandtii и *T. sachalinensis*. Ветвь вида *T. hakonensis* разделяется на две ветви, соответствующие географически разобщенным популяциям с о. Сахалин и юга Приморского края. В пределах ветви *T. brandtii* базальное положение по отношения и особям с юга Приморского края занимают особи с о. Сахалин (Рис. 3.2.6.1, Рис. 3.2.6.2). На дендрограммах, построенных по маркерам мтДНК (*Co*-1, *Cvt*-*b*), предположительно гибридные особи находятся в одном кластере с *Т. brandtii* (Рис. 3.2.6.1, Рис. 3.2.6.2).

Филограмма, построенная по последовательностям маркера *Rho*, представлена видовыми ветвями с низкими поддержками топологии (<50%). Исключение составляет ветвь *T. sachalinensis*, поддержки которой более 64%. Гибриды сформировали отдельные ветви, занимая промежуточное положение между кластерами *T. hakonensis* и *T. brandtii* (Puc. 3.2.6.3).

На генном древе, построенном по нуклеотидным последовательностям маркера *ITS-1,2*, представители видов *T. hakonensis* и *T. sachalinensis* объединены в общий кластер, в пределах которого *T. sachalinensis* сформировал обособленную ветвь с высокой поддержкой топологии. По маркеру *ITS-1,2* особь TBK012NTHK0_12 кластеризовалась с *T. brandtii*, а особь TBHV03 с *T. hakonensis* (Рис. 3.2.6.4).

123



Рисунок 3.2.6.5 – Филогенетическое дерево рода *Tribolodon*, основанное на 14 нуклеотидных последовательностях маркеров *Rho* и *ITS-1,2*. Базовое дерево реконструировано на основе ML-метода. В узлах показаны поддержки топологии для четырех подходов конструирования дерева; порядок поддержек (%): BA/ML/MP/NJ.

Топология деревьев, построенных по митохондриальным маркерам *Co-I* и *Cyt-b*, заметно отличалась от картины дивергенции по генам яДНК *ITS-1,2* и *Rho*. Это согласуется с оценками *p*-расстояний для изученных участков ДНК (Приложение: Табл. 14–18). Подобные несоответствия наблюдались не только для разных организмов (Marchetto et al., 2010, Palumbi, Baker, 1994), но и у представителей Leuciscinae (Palandačić et al., 2010). Сложности в сопоставлении могут быть следствием разных скоростей замен по этим последовательностям, а также интрогрессивной гибридизацией, которая распространена среди Cyprinidae (Chen et al., 2008).



Рисунок 3.2.6.6 – Филогенетическое дерево рода *Tribolodon*, основанное на 42 нуклеотидных последовательностях маркеров *Co-1* и *Cyt-b*. Базовое дерево реконструировано на основе ML-метода. В узлах показаны поддержки топологии для четырех подходов конструирования дерева; порядок поддержек (%): BA/ML/MP/NJ.

Таким образом, кластеризацию на генных деревьях можно использовать для идентификации разных видов рода *Tribolodon*. Дендрограммы по маркерам *Co*-1, *Cyt-b* мтДНК можно применять для выявления трёх видов: *T. hakonensis*, *T. brandtii* и *T. sachalinensis*, а также локальных группировок с о.Сахалин и Приморского края для *T. hakonensis* и *T. brandtii*. Дендрограммы по маркеру *ITS-1,2* яДНК хорошо идентифицируют *T. hakonensis* и *T. brandtii*.

Исследования подвидов рода *Tribolodon* проводили на нуклеотидных последовательностях из Genbank. Значение *p*-расстояний между подвидами *T. brandtii brandtii* и *T. brandtii maruta* составили 3,7–4,3, внутри подвидов - 0,09–1,7 (Приложение: Табл. 23). На генном древе подвиды формируют отдельные ветви со 100% бутстреп-поддержкой (Рис. 3.2.6.7).



0.005

Рисунок 3.2.6.7 – Филогенетическое NJ дерево, основанное на 10 нуклеотидных последовательностях маркера *Cyt-b* для подвидов *T. brandtii brandtii u T. brandtii maruta* (Genbank).

3.2.7. Реконструкции филогенетических деревьев для Leuciscinae

После выравнивания длина секвенированных последовательностей Cyt-b 1039 представителей Leuciscinae изученных составила П.Н. Для для выделенных последовательностей были рассчитаны *p*-расстояния: внутривидовые, внутриродовые и внутри семества (Приложение: Табл. 24). Для построения деревьев использовали четыре методики: BA, ML, MP и NJ (Приложение: Рис. 2). Полученное консенсусное дерево состояло из ветвей (последовательностей) подсемейства Leuciscinae С внешней группой, представленной Squaliobarbinae. Ветвь с родами Oreoleuciscus, Phoxinus (Rhynchocypris), Pseudaspius и Tribolodon разделялись на две основные

линии, для удобства названные Phoxininae A и Phoxininae B (= триба Pseudaspinini) (Богуцкая, 1990). На данном дереве представители Phoxininae B (номинальных родов *Pseudaspius* и *Tribolodon*) сформировали единую, только частично разрешенную топологически, парафилетическую ветвь. Представители родов *Oreoleuciscus* и *Tribolodon* сформировали две обособленных ветви, с высокой поддержкой для каждой. Внешняя ветвь Phoxininae A, объединяющая *Chrosomus eos* Cope, 1861, а также *Leuciscus waleckii* (Dybowski, 1869), занимают базальное положение по отношению к этой ветви. Хорошо поддержанная всеми методами (100%) группа *Ph. phoxinus* (Linnaeus, 1758) – *Ph. ujmonensis* Kaschenko, 1899 также находится в группе Phoxininae A.

Описанные выше филогенетические взаимосвязи хорошо согласуются с филограммой полученной по нуклеотидным последовательностям 13 белоккодирующих маркеров генов мтДНК (Приложение: Табл. 25, Рис. 3). На построенном последовательностям консенсусном ПО ЭТИМ древе подсемейства Leuciscinae sensu lato формируется ветвь группы Leuciscinae sensu stricto, которая распадается на кластеры Leuciscinae и Phoxininae, последний включает ветвь представителей рода Tribolodon. С высокой вероятностью (100%)также поддержаны ветви европейских И дальневосточных Phoxininae.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Морфологический анализ

4.1.1. Счетные признаки

4.1.1.1. Число лучей в плавниках

Выявлены особенности изменчивости морфологических признаков и определена пригодность признаков для популяционного таких И дальневосточных таксономического анализа красноперок. Полученные сведения о числе лучей в плавниках были сопоставлены с опубликованными в определителях данными. П.Ю. Шмидт (1904) приводил следующие данные о числе лучей: T. brandtii D 10, A 11-12, V 9-10; T. hakonensis D 10, A 10-11, V 10 и *T. sachalinensis* D 10, A 10-11, V 12. Г.У. Линдберг и М.Н. Легеза (1965), а также Л.С. Берг (1916) приводят следующие числа лучей для T. brandtii и *T. hakonensis*: D III 7-8, A III 8 (у единичных экземпляров A III 12). T. Nakado (2002) приводит следующие формулы для лучей: T. brandtii D III~IV+7, А III~IV+8; T. hakonensis D IV+7, A III~IV+7~8 и T. sachalinensis (=T. esoe) D III~IV+7, А III~IV+7~8. Неизвестно, использовали ли авторы определителей подкожные лучи для составления формул плавников. Несмотря на отсутствие информации об учете подкожных лучей в приведенных выше литературных источниках, в целом, числа лучей в плавникахдальневосточных красноперок в настоящем исследовании (Приложение: Табл. 3-6) с учетом подкожных лучей соответствуют таковым, опубликованным в определителях (Шмидт, 1904; Берг, 1916; Линдберг, Легеза, 1965; Nakado 2002).

Число лучей В непарных плавниках Tribolodon видов рода (Приложение: Табл. 3–6) также сходно с опубликованными данными (Гудков 2010). Наблюдалось перекрывание значений признака И дp., ДЛЯ представителей исследованных популяций разных видов из различных мест обитания. Значимые отличия по числу лучей были обнаружены только в анальном (А) плавнике при использовании критерия Манна-Уитни (Mann, Whitney, 1947). Выявленные отличия между особями были проявлением индивидуальной изменчивости И не зависели ОТ принадлежности

сравниваемых особей к разным видам или географическим популяциям одного вида,

Различия (по средним значениям признака) в один ветвистый луч в плавниках D и A между T. hakonensis из Приморского края и с о. Сахалин, о чем указывалось ранее (Гудков и др., 2010), в данной работе не обнаружены (Приложение: Табл. 3-4). Возможно, это связано с тем, что авторы цитируемой работы не подсчитывали число подкожных лучей, которые необходимо учитывать у видов семейства Cyprinidae (Богуцкая и др., 2013). Также причиной описанных различий особей *T. hakonensis* из разных районов обитания (Гудков и др., 2010) могли быть следствием развития при разных условиях окружающей среды. Ранее было показано, что основным фактором, оказывающим влияние на число количественных признаков V дальневосточных красноперок, является температура воды во время эмбрионального развития (Гриценко, 1974). Увеличение числа счетных признаков наблюдается при понижении температуры воды во время эмбрионального развития. Средняя температура воды в реках Сахалина, в которых происходит нерест и эмбриональное развитие дальневосточных красноперок, ниже (Гриценко, 1974, 2002), чем в реках на юге Приморского 1982). края (Гавренков, Разница в температуре воды В период эмбрионального развития могла привести к выявленной разнице в числе лучей *T. hakonensis* (Гудков и др., 2010)

Выявленное в настоящем исследовании отсутствие статистическизначимой межвидовой изменчивости по числу лучей в плавниках разных видов рода *Tribolodon* не позволяет использовать данные морфологические признаки в качестве видовых таксономических признаков для изученной группы карповых рыб.

4.1.1.2. Число позвонков

Подсчет числа позвонков видов рода *Tribolodon* на основании анализа рентгенограмм показал, что в отделах Т и А у особей *T. hakonensis* из

б. Киевка, в среднем, на один позвонок больше, чем в соответствующих отделах у особей T. hakonensis с о. Сахалин (Рис. 15, Приложение: Табл. 7). Также на один позвонок больше у представителей подвида *T. brandtii brandtii* по сравнению с особями, принадлежащими T. brandtii maruta (Sakai, Amano, 2014). Исследование *T. b. brandtii* показало, что у особей южных материковых популяций (Корейский п-ов, Приморский край Российской Федерации) и северных островных популяций (о. Сахалин, о. Хокайдо, о. Хонсю) среднее число позвонков составило 47,8±0,8 (диапазон от 46-50). Среднее число позвонков у *T. b. maruta* с юго-западного побережья о. Хонсю составило 46,5±0,8 (диапазон 45-48) (Sakai, Amano, 2014). У Т. b. brandtii и *T. b. maruta*, а также у географических популяций *T. hakonensis* (о. Сахалин и юг Приморского края) средние значения числа позвонков отличались, а диапазоны значений данного признака пересекались (Приложение: Табл. 7).

Между *T. hakonensis* (о. Сахалин и Приморского края) различий по числу позвонков в хвостовом отделе (С), описанных ранее (Гудков и др., 2010), в данной работе не обнаружено (Рис. 15, Приложение: Табл. 7, Табл. 8). Уменьшения числа позвонков в хвостовом отделе позвоночника в зависимости от места обитания *T. hakonensis* не отмечено.

Показано, что общее число позвонков у *T. sachalinensis*, в среднем, меньше, чем у *T. hakonensis* и *T. brandtii*, хотя диапазоны изменчивости этого признака у *T. sachalinensis* и *T. hakonensis* перекрываются (Рис. 15–19, Приложение: Табл. 7).

Число позвонков у «однополосной красноперки с черным пятном» (*T. sachalinensis*) и «трехполосной красноперкой» (*T. hakonensis*) составили $44,4\pm0,14$ и $47,0\pm0,2$, соответственно. Диапазоны изменчивости этого признака у *T. sachalinensis* и *T. hakonensis*, по данным настоящей работы, составили 43-45 и 45-49, соответственно, что близко к аналогичным опубликованным данным: 42-46 и 43-49, соответственно (Гриценко, 1974). В настоящем исследовании показано, что у *T. sachalinensis* меньше позвонков, чем у *T. hakonensis* и *T. brandtii* (Приложение: Табл. 7).

Сравнительно небольшое число позвонков *T. sachalinensis* можно объяснить тем, что производители этого вида заходят на нерест в реки позже, чем *T. hakonensis* и *T. brandtii*, и предпочитают более высокую температуру (Гриценко, 2002). В результате, у развивающихся мальков *T. sachalinensis* закладывается и формируется, в среднем, меньшее число позвонков, чем у *T. hakonensis* и *T. brandtii*.

Среднее значение числа позвонков (отдел Т) (Приложение: Табл. 7, 8) можно использовать для определения *T. sachalinensis* (Katugina et al., 2015), но только совместно с другими морфологических признаками, такими, например, как форма плавательного пузыря (Kahata, 1981; Чуриков, Сабитов,1982) и форма чешуи (Иванков и др., 2016б; Иванков и др., 2016в; Ivankov et al., 2017; Иванков и др., 2017).

4.1.1.3. Число чешуй

Данные по числу чешуй вдоль боковой линии, полученные в настоящей работе, согласуются с данными других авторов (Steindachner, 1881; Линдберг, Легеза, 1965; Nakabo, 2002 и др.). Для всех трех видов рода *Tribolodon* число чешуй изменялось в широком диапазоне. Тем не менее, у *T. brandtii* число чешуй в боковой линии, в среднем, больше, чем у *T. hakonensis* и *T. sachalinensis*, имеющих одинаковые значения данного признака (Рис. 3.1.1.3.1, Приложение: Табл. 9).

Различия в числе чешуй в боковой линии у видов T. brandtii и *T. hakonensis* неоднократно отмечали авторы, составлявшие определители видов рода *Tribolodon*, и использовавшие этот признак для видой идентификации (Линдберг, Легеза, 1965; Гавренков, Иванков, 1979: Гриценко, 2002; Nakabo, 2002). B настоящей работе обнаружено перекрывание значений числа чешуй у дальневосточных красноперок разных видов и представителей одного вида из разных мест обитания, что отмечалось ранее (Гавренков, Иванков, 1979; Гриценко, 2002; Гудков и др., 2010).

Указывалось, что число чешуй у *T. hakonensis* из р. Богатая о. Сахалин сходно с таковым *T. sachalinensis* из р. Тымь о. Сахалин. При этом в пределах р. Богатая эти два вида дальневосточных красноперок отличаются между собой по числу чешуй. Различия по числу чешуй в боковой линии были выявлены между *T. hakonensis* из разных мест обитания, а также между *T. brandtii* и *T. sachalinensis* (Гриценко, 1974).

В данной работе у особей *Т. hakonensis* из локальной группировки на юге Приморского края выявлено большее, в среднем, число чешуй, чем у особей *Т. hakonensis* из локальной группировки с о. Сахалин (Рис. 3.1.1.3.1, Приложение: Табл. 9, Табл. 10). Аналогичные результаты были получены ранее (Гудков и др., 2010). Выявленные различия в средних значениях числа чешуй у *Т. hakonensis* из разных мест обитания могут быть связаны с особенностями эмбрионального развития.

У особей T. brandtii, T. sachalinensis и T. hakonensis с о. Сахалин наблюдается сходство в продолжиетльности формирования скелетных структур онтогенезе (Гриценко, 2002). Позвоночный столб В У дальневосточных красноперок формируется на самых ранних этапах эмбриогенеза (через 36 часов после оплодотворения), далее закладываются складки спинного и анального плавников (300 часов после оплодотворения), позже закладываются грудные плавники (334 часа). Эти структуры возникают при определенном диапазоне температуры воды. Далее, примерно на 44 сутки, у эмбрионов появляется положительная реакция на свет, что связано со способностью личинок передвигаться (Крыхтин, 1960).

Примерно на 45 сутки, личинки скатываются на прогреваемые мелководья у кос с более слабым течением и более высокой (на 1,5–4°С) температурой (Крыхтин, 1960), где и происходит активное питание и рост личинок (Гриценко, 2002). Эмбриональное развитие было описано у дальневосточной красноперки из р. Айнской с западного побережья о. Сахалин (Крыхтин, 1960). Автор не разделял дальневосточную красноперку на разные виды, принимая ее за один вид, но из описания

особенностей срока нереста (вторая половина мая – июнь) можно предположить, что был изучен эмбриогенез *T. hakonensis* (Гриценко, 2002). Ни О.Ф. Гриценко (2002), ни М.Л. Крыхтин (1960) не описывали формирование чешуи на стадии личинки. Очевидно, что она начинает формироваться позже, на стадии малька, после совершения миграции в воду с более высокой температурой.

Вероятно, T. hakonensis именно вследствие миграции личинок о. Сахалин в более теплую воду в боковой линии формируется, в среднем, меньше чешуй, чем у T. hakonensis из Приморского края. На юге Приморского края у *T. hakonensis* на седьмые сутки отмечается переход к жизни в толще воды, при этом, миграции личинок в воду с более высокой температурой не отмечено (Гавренков, Свиридов, 2001). Тем не менее, несмотря на различия в средних значениях числа чешуй (Приложение: Табл. 9, Табл. 10), доверительные интервалы значений данного признака у особей из географически разобщенных популяций перекрываются, следовательно, использовать признак разделения популяций этот для локальных красноперок не следует.

У *Т. hakonensis* из южных районов Приморского края, в среднем, число чешуй в боковой линии больше, чем у *Т. hakonensis* с о. Сахалин (данная работа; Гудков и др., 2010). Отмечена изменчивость числа чешуй у *Т. hakonensis*: 73–76 (среднее 74,43±0,17) зал. Анива, 69–78 (среднее 73,3±0,29) р. Тымь, 71–80 (среднее 76,14±0,2) р. Богатая (Гриценко, 2002). Особи *Т. hakonensis* с максимальным и минимальным для этого вида числом чешуй встречаются и на о. Сахалин, и на юге Приморского края. Можно заключить, что особи *Т. hakonensis* с большим числом чешуй в боковой линии присутствуют на о. Сахалин реже, чем в Приморском крае, поэтому разница наблюдается только по средним величинам.

Среднее значение числа чешуй над и под боковой линией у *T. hakonensis* меньше, чем у других исследованных видов рода *Tribolodon*. У *T. sachalinensis* и *T. brandtii* одно и то же среднее число чешуй над боковой линией. Среднее число чешуй под боковой линией у *T. brandtii* имеет промежуточное значение по отношению с числом чешуй под боковой линией *T. hakonensis* и *T. sachalinensis* (Рис. 3.1.1.3.2, Приложение: Табл. 9, Табл. 10).

По совокупности признаков строения чешуи (число ребер на чешуйной пластине и форма чешуи) можно идентифицировать три исследованных вида дальневосточных красноперок: 1) У *T. hakonensis* самая округлая чешуя и наименьшее число ребер; 2) у *T. sachalinensis* самая продолговатая чешуя и наибольшее число ребер; 3) у *T. brandtii* промежуточное значение числа ребер и чешуя овальная, но менее вытянутая, чем у *T. sachalinensis*, и не такая округлая, как у *T. hakonensis* (Иванков и др., 2016в; Ivankov et al., 2017; Иванков и др., 2017).

4.1.1.4. Сейсмосенсорная система

У *Т. brandtii* присутствовала перемычка между подглазничным (CIO) и предкрышечно-челюстным (CPM) каналами, а число пор в исследованных отделах сейсмосенсорной системы головы (CSO, CIO, CPM, dentale, frontale+parietale) было наибольшим (Рис. 3.1.1.4.1–3.1.1.4.3).

У *T. sachalinensis* и *T. hakonensis* перемычка отсутствовала, а число пор в предкрышечно-челюстном канале (СРМ) было меньше, чем у *T. brandtii* (Рис. 3.1.1.4.1Б). Число пор в подглазничном канале (СІО) (Рис 3.1.1.4.1А) у *T. sachalinensis* и *T. brandtii* было сходным. У *T. hakonensis* в подглазничном канале (СІО) (Рис 3.1.1.4.1А) меньше пор, чем у *T. brandtii* и *T. sachalinensis*. Пределы изменчивости числа пор перекрываются в соответствующих исследованных отделах сейсмосенсорной системы головы у *T. hakonensis*, *T. brandtii* и *T. sachalinensis*.

Число пор на участках dentale (Рис. 3.1.1.4.2А), frontale+parietale (Рис. 3.1.1.4.2Б) и в надглазничном канале (СSO) (Рис. 3.1.1.4.3) было сходным у *T. hakonensis*, *T. sachalinensis* и *T. brandtii*. Следовательно, эти признаки нельзя использовать для идентификации перечисленных видов рода *Tribolodon*.

Для первичного определения трёх видов рода *Tribolodon* можно использовать комплекс параметров строения сейсмосенсорной системы головы: 1) у *T. brandtii* наибольшее число пор в сейсмосенсорных каналах головы, имеется перемычка между СІО и СРМ; 2) у *T. hakonensis* число пор во всех каналах меньше, чем у *T. sachalinensis* и *T. brandtii*, перемычка между СІО и СРМ отсутствует; 3) у *T. sachalinensis* в СІО число пор сходно с таковым у *T. brandtii* и большее, чем у *T. hakonensis*, перемычка между СІО и СРМ отсутствует.

У *Т. brandtii* больше пор в СІО, чем у *Т. hakonensis*, а *Т. sachalinensis* занимает промежуточное положение между этими видами по данному признаку (Nakamura, 1963; данная работа). К. Kurawaka (1977) отмечал, что у *T. hakonensis* наименьшее число пор, однако, японские авторы не приводили данных об учете пор с каждой из сторон тела (Kurawaka, 1977). Н.Г. Богуцкая (1988) отмечала, что у *T. brandtii* больше пор, чем у *T. hakonensis* не только в СІО и СРМ, но и в надглазничном (СЅО) канале, а также в участке frontale (Богуцкая, 1988). В настоящей работе отличий между *T. brandtii* и *T. hakonensis* по числу пор в СЅО, frontale+parietale не выявлено.

4.1.2. Пластические признаки

В настоящем исследовании по выбранным пластическим признакам не выявлено значимых отличий между видами или особями одного вида из разных мест обитания (Приложение: Табл. 13). Выявлены отличия между *T. sachalinensis* и *T. hakonensis* по признакам N_{2} «отношение высоты хвостового стебля к длине тела (%)» и № 44 «отношение длины operculum к длине головы (%)» при использовании t-критерия Стьюдента (Рис. 3.1.2.1, Приложение: Табл. 11, Табл. 12). Значения признаков № 2 и № 44 у T. sachalinensis И T. hakonensis перекрываются, поэтому некорректно использовать данные пластические признаки для диагностики T. sachalinensis без учета дополнительных признаков: строения сейсмосенсорной системы, числа позвонков, числа чешуй над, под и в боковой линии, а также формы плавательного пузыря (Kahata, 1981; Чуриков, Сабитов, 1982) и формы чешуи (Иванков и др., 2016б; Иванков и др., 2016в; Ivankov et al., 2017; Иванков и др., 2017). При использовании метрического признака «длина хвостового стебля по отношению к длине тела» (%) выявлены небольшие различия между видами. У *T. sachalinensis* значение индекса длины хвостового стебля несколько больше (до 24,2±0,26), чем у *T. brandtii* (до 22,8±0,33) и *T. hakonensis* (до 22,6±0,14), но диапазоны значений данного признака для разных видов перекрывались (Гриценко, 1974).

Несмотря на выявленную значимость различий между выборками *T.hakonensis* с юга Приморского края и о. Сахалин по признакам № 4 и № 32 (t-критерий Стьюдента), представляется сомнительным использование данных признаков для видовой идентификации. Признак № 4 «отношение ширины тела в районе основания дорзального плавника к длине тела до SL» может меняться в зависимости от периода жизненного цикла рыбы. В разные периоды жизненного цикла (нерест, нагул, зимовка) упитанность рыб различается и, как следствие, могут наблюдаться различия в индексах ширины тела. Исследованная коллекция дальневосточных красноперок формировалась в разное время, и в ней присутствуют особи разной упитанности. Средние значения признака № 32 как *T. hakonensis*, так и *T. brandtii* были меньше у особей из Приморского края, чем у особей с о. Сахалин (Рис. 3.1.2.2Б). Разброс значений признаков № 4 и № 32 перекрывался для всех исследованных выборок, и, как следствие, данные признаки не были использованы для видовой идентификации.

В литературе есть сведения о существовании значимых пластических признаков, потенциально пригодных для идентификации видов рода Tribolodon. вентроанальное расстояние Например, (соответствующее признаку № 11, Приложение: Табл. 11), среднее значение которого у T. sachalinensis на 3-4% меньше, чем у T. hakonensis и T. brandtii (Гриценко, 1972). В настоящей работе значения данного признака, в среднем, меньше у T. sachalinensis (от 18,9 до 19,3), чем у T. hakonensis (от 21,4 до 22,8) и T. brandtii (от 19,6 до 21,7) (Приложение: Табл. 11). Между T. sachalinensis (р. Пиленга, о. Сахалин) и *T. hakonensis*, *T. sachalinensis* (р. Пиленга, о. Сахалин) и T. brandtii (р. Киевка, Приморский край) выявлены значимые различия (t-критерий Стьюдента). При использовании поправки Левена существенные различия по данному признаку зафиксированы только между T. sachalinensis (р. Пиленга, о. Сахалин) и тремя выборками других видов (Приложение: Табл. 12, 13). Различий между T. sachalinensis (р. Найба, о. Сахалин) И T. brandtii. T. sachalinensis (р. Найба, о. Сахалин) И T. hakonensis в настоящем исследовании не выявлено (Приложение: Табл. 12, 13).

Еще 14 пластических признаков приводятся в литературе для выяления различий между *T. hakonensis* из разных районов (Гудков и др., 2010). В настоящей работе проводили сравнение выборок *T. hakonensis* с юга Приморского края: зал. Восток (данные Гудкова и др., 2010) и б. Киевка (данные Свиридова и Иванкова, 2003), а также о. Сахалин: р. Богатая (все данные об измерениях рыб с о. Сахалин были взяты из работы Гриценко, 1974, 2002). Отметим, что из 14 только по двум признакам («высота анального плавника» и «горизонтальный диаметр глаза») обе выборки

Т. hakonensis из Приморского края (зал. Восток и б. Киевка) отличаются от выборки *Т. hakonensis* с о. Сахалин. По признаку «высота анального плавника» особи *Т. hakonensis* из зал. Восток отличаются от особей *Т. hakonensis* из б. Киевка, но для использования данного признака в популяционном/таксономическом анализе необходимы дальнейшие исследования. Признак «горизонтальный диаметр глаза» соответствует признаку № 28 (Приложение: Табл. 11). В настоящей работе только одна выборка *Т. hakonensis* (р. Лютога, о. Сахалин) отличалась от *Т. hakonensis* (р. Киевка, Приморский край) по признаку № 28 (Приложение: Табл. 12).

Настоящим исследованием (Приложение: Табл. 12. Табл. 13) подтверждается гипотеза о невозможности использования пластических признаков видов рода Tribolodon в качестве диагностических (Гриценко, 1974) ввиду большого разброса значений и перекрывания диапазонов изменчивости пластических признаков у разных видов рода Tribolodon, а также вследствие влияния условий окружающей среды на формирование этих признаков (Иванков и др., 2016а; Иванков, Иванкова, 2017). Так, было между представителями показано, что различия разных видов дальневосточных красноперок (*T. hakonensis* и *T. brandtii*) из близких районов Приморского края по набору пластических признаков могут быть меньше, чем между представителями одного вида из разных, подчас отдаленных локальностей (Иванков и др., 2016а).

4.2. Молекулярно-генетический анализ

4.2.1. Анализ дивергенции нуклеотидных последовательностей

Картины генетической дифференциации дальневосточных красноперок оказались довольно сложными, и разные авторы по-разному интерпретировали наблюдаемое разнообразие выявляемой изменчивости у видов рода *Tribolodon* (Hanzawa et al., 1987; Картавцев и др., 2002; Семина и др., 2006, 2007; Брыков и др., 2011; Брыков и др., 2013; Polyakova et al., 2015; Маляр, 2017 и др.).

Для трех исследованных маркеров (Co-1, Cyt-b и ITS-1,2) обнаружены статистически значимые различия генетической дивергенции между представителями рода Tribolodon на межвидовом уровне. Для T. hakonensis на внутрипопуляционном и межпопуляционном уровнях статистически значимые различия выявлялись только по двум маркерам мтДНК (Co-1 и Cyt*b*) (Приложение: Рис. 1). Незначительные отличия *p*-расстояний для T. hakonensis выборки И T. hakonensis ИЗ одной ИЗ географически разобщенных популяций и значительные отличия особей разных видов дальневосточных красноперок (T. brandtii, T. hakonensis и T. sachalinensis) указывают на обособленность генофондов изученных видов рода Tribolodon и интегрированность генофонда каждого вида.

По четвертому маркеру (*Rho*) обнаружены лишь незначительные информативных сайтов). различия (восемь для парсимонии Последовательности маркера Rho были использованы для видовой идентификации представителей класса Actinopterygii (Chen et al., 2003; Dettai, Lecointre, 2005, Sevilla et al., 2007), в частности, семейства Cyprinidae (Chen et al., 2008), а также использовались для выявления наличия гибридизации между некоторыми видами этого семейства (Collins et al., 2012). Нами была показана невозможность точно идентифицировать виды рода Tribolodon по маркеру *Rho*. Несмотря на наличие отдельных кластеров *T. hakonensis* и T. brandtii промежуточное положение ветвей гибридных И особей TBV003NTHV03 03 и TBK012NTHK0_12 на дереве, построенному по маркеру *Rho*, он не является достаточно информативным для выявления видов в пределах рода Tribolodon и гибридов между T. hakonensis и T. brandtii. Кроме того, низкие значения топологий (<50%) кластеров T. hakonensis и T. brandtii и значения p-расстояния <1% подтверждают недавно предложенную гипотезу о невозможности однозначной видовой идентификации отдельных представителей семейства Cyprinidae при помощи маркера *Rho* (Behrens-Chapuis et al., 2015).

На генном древе, реконструированном по последовательностям

139

маркера ITS-1,2, виды T. hakonensis и T. brandtii формируют независимые ветви с высокими значениями поддержек (>50%), а *р*-расстояний между <4%. Следовательно, для T. hakonensis И T. brandtii идентификации T. hakonensis И *T. brandtii* можно применять ЭТОТ маркер яДНК. Обнаруженные индивидуальные замены нуклеотидных последовательностей маркера *ITS-1,2*, впервые секвенированного для трёх видов рода *Tribolodon*, позволили разработать таблицу для идентификации дальневосточных красноперок до вида (Приложение: Табл. 19).

Полученные значения соотношений Ts/Tv для трех положений кодонов маркеров Co-1 и Cyt-b совпадают с ранее полученными данными для *Tribolodon* (Семина, 2008) и указывают на различную селективную ценность трех разных позиций в кодонах структурных генов.

Поток генов оценивался между представителями одного вида из разных мест обитания и между разными видами дальневосточных красноперок. Поток генов между разными видами рода *Tribolodon* и между *T. hakonensis* с о. Сахалин и юга Приморского края был статистически незначим: Nm=0,03–0,21 (P>0,05) (Приложение: Табл. 20). Между географически близко расположенными популяциями *T. hakonensis* поток генов обычно весьма значительный. Например, между популяциями *T. brandtii* бух. Киевка и зал. Восток значения потока генов Nm составили 1,20 (P<0,05), для *T. hakonensis* из бух. Киевка и зал. Восток значения Мт были высоки и достоверны (Nm = 9,33, P<0,05) (Приложение: Табл. 20).

О гетерогенности генофонда *Т. hakonensis* свидетельствуют различия между выборками из южных и северных районов видового ареала (Брыков и др., 2011; Брыков и др., 2013; Маляр, 2017; наши данные). Выявлено, что географические группировки *Т. hakonensis* (Приморский край и о. Сахалин) отличаются по средним значениям *p*-расстояний: для маркеров мтДНК *Co-1 p*-расстояние $\leq 2,6\%$, *Cyt-b* – *p*-расстояние $\leq 3,2\%$, а для маркеров яДНК *ITS-1,2 p*-расстояние $\leq 2,3\%$ и *Rho p*-расстояние $\leq 0,8\%$. Как следствие, поток генов между *Т. hakonensis* Приморского края и о. Сахалин оказался низким,

составил Nm=0,03–0,21 и был статистически незначим (*P*>0,05). Это свидетельствует о практически полном отсутствии обмена особями между *T. hakonensis* Приморского края и о. Сахалин.

Для видов, подвидов и популяций рода *Tribolodon* выявлены различные диапазоны значений *p*-расстояний. Например, для маркера *Cyt-b* мтДНК значения *p*-расстояний составили: $8,7\pm1,0-10,2\pm1,1\%$ для разных видов; $3,7\pm0,6-4,3\pm0,6\%$ для подвидов *T. brandtii brandtii* и *T. brandtii maruta* (последовательности из генного банка, Рис. 3.2.6.7, Приложение: Табл. 23); $2,7\pm0,2-3,2\pm0,5\%$ для популяций *T. hakonensis* (о. Сахалин и юг Приморского края) и $2,2\pm0,4-2,4\pm0,4\%$ для популяций *T. brandtii* (о. Сахалин и юг Приморского края). Межвидовые *p*-расстояния приблизительно в два раза превышают *p*-расстояния между подвидами и разными популяциями, а *p*-расстояния между конспецифичными популяциями *T. hakonensis* и *T. brandtii* (о. Сахалин и юг Приморского края).

Особи *T. hakonensis* с о. Сахалин и юга Приморского края формируют разные ветви (бутстреп-поддержка 100%) на генных деревьях, построенных по двум объединенным маркерам мтДНК (*Co-1* и *Cyt-b*) (Рис. 3.2.6.6), тогда как на генном дереве, реконструированном по двум объединенным маркерам яДНК (*ITS-1,2* и *Rho*) (Рис. 3.2.6.5), отнесение их к разным ветвям статистически не поддержано (бутстреп-поддержки \leq 50%). Это может быть связано с меньшей скоростью накопления нуклеотидных замен для яДНК по сравнению с мтДНК (Nei, 1987).

Максимальное число групп, виделяемое у дальневосточных красноперок ABGD-анализом, в целом, соответствовало числу ветвей на филогенетических реконструкциях (Рис. 3.2.6.1, Рис. 3.2.6.2, Рис. 3.2.6.3, Рис. 3.2.6.4). Неполное совпадение результатов реконструкций генных деревьев и ABGD анализа, вероятно, связано с ошибками выборочности.

Наблюдаемую дивергенцию между популяциями *T. hakonensis* с о. Сахалин и юга Приморского исследователи объясняют по-разному.

Согласно одной из трактовок, южная форма *T. hakonensis* сформировалась вследствие гомоплоидной гибридизации (Семина и др., 2006, 2007; Брыков и др., 2011; Polyakova et al., 2015). Другая трактовка объясняет наблюдаемые различия географической изоляцией, которая привела к накоплению нуклеотидных различий (Золотова, Картавцев, 2017; Zolotova, Kartavtsev, 2017a, 2017b, 2018).

В пользу первой гипотезы можно привести такой довод, как обитание дальневосточные красноперок в бореально-арктической зоне. Нестабильность данной среды, широкие экологические ниши, а также условия Плейстоцен-голоценового периода потенциально могли способствовать межвидовой гибридизации (Hubbs, 1961; Mayr, 1963).

Против этой гипотезы свидетельствуют значения *p*-расстояний между выборками *T. hakonensis* с о. Сахалин и юга Приморского края, которые несоответствуют межвидовым и отсутствие двух выделяемых авторами «форм» (Семина и др., 2006, 2007; Брыков и др., 2011; Polyakova et al., 2015) в одном месте обитания или на границе обозначенных ареалов. Репродуктивной изоляции для *T. hakonensis* с о. Сахалин и юга Приморского края не прослеживается.

Дальневосточные красноперки рода Tribolodon обладают особенностями биологии, обеспечивающими возможность межвидовой гибридизации, например: внешнее оплодотворение, сходный ареал и экологические ниши популяций разных видов и частично перекрывающиеся сроки нереста. Таким образом, периодически отсутствуют препятствия для скрещивания особей разных видов, что может приводить к образованию гибридов. Однако для того, чтобы такие особи сформировали гибридный вид, требуется приспособленность гибридов. повышенная ЭТИХ Гибриды, полученные для T. brandtii и T. hakonensis с юга Приморского края не жизнеспособны (Омельченко и др., 1986; Иванков и др., 1987) и, следовательно, не формируют устойчивые самостоятельные популяции. В случае справедливости гипотезы о гомоплоидной гибридизации наблюдалась бы жизнеспособность потомства *T. brandtii* и *T. hakonensis* с юга Приморского края.

Полученные в исследовании данные подтверждают присутствие на территории юга Дальнего Востока трех видов рода *Tribolodon*, описанных ранее методами классической морфологии. Эти три вида выделены при исследовании о. Сахалин Н.О. Шмидтом и О.Ф. Гриценко (Шмидт, 1905; Гриценко, 1974). Последний автор в своей работе упоминал неоднократные попытки выделять подвиды у *T. hakonensis* на основание наличия жилых и анадромных форм, однако, *T. hakonensis* ведет и проходной, и жилой образ жизни, и поэтому правильнее считать все формы одним видом, отличным от *T. brandtii* и *T. sachalinensis*, а также от *T. nakamurai*, не представленного в настоящем исследовании (Гриценко, 1974). Несмотря на существование различий между северной и южной «формами» *T. hakonensis* (Брыков и др., 2011; Рязанова, Полякова, 2012; Семина и др., 2006, 2007; Polyakova et al., 2015; Маляр, 2017; данная работа), даже подвидовой ранг этих двух географических группировок требует дополнительных обоснований.

Следует учитывать, что для некоторых представителей Phoxininae значения *p*-расстояний могут быть небольшими даже между разными видами одного рода. Например, для близких к роду Tribolodon видов рода Oreoleusicus (O. humilis и O. potanini) межвидовые значения p-расстояний составили $1,74\pm0,01\%$ (по маркеру *Cyt-b* мтДНК) (Kartavtsev et al., 2017). Учитывая вышесказанное и неоднозначность в трактовке наблюдаемых дивергенции по отдельным взятым генетическим признакам картин (маркерам), исследование генетического разнообразия и дифференциацию представителей рода Tribolodon нужно продолжать, применяя комплексный включающий сравнительно-морфологический и подход, молекулярногенетический анализ.

В ряде работ (Avise, Wollenberg, 1997; Avise, 2000, 2001; Arnold, Fogarty, 2009; Saitoh et al., 2010; Боркин, Литвинчук, 2013; Kartavtsev, 2013) и в данном исследовании выявленная рекомбинация указывает на наличие событий гибридизации. Случаи поимки отдельных гибридных особей *T. brandtii* × *T. hakonensis* (TBV003NTHV03_03 и TBK012NTHK0_12) были отмечены в б. Киевка и зал. Восток (Золотова, Картавцев, 2017; Zolotova, Kartavtsev, 2017a, 2017b, 2018).

Неоднозначная кластеризация особи TBV003NTHV03_03 на генных деревьях для маркеров мтДНК и яДНК, наряду с особенностями строения сейсмосенсорной системы, указывают на гибридное происхождение данной особи. Возможно, TBHV03 является гибридом F1 двух видов: *T. brandtii* по материнской линии (результаты анализа мтДНК, а также кластеризация с *T. brandtii*) и *T. hakonensis* по отцовской линии (результаты анализа яДНК, а также кластеризация с *T. brandtii*) и *T. hakonensis* по отцовской линии (результаты анализа яДНК, а также кластеризация с *T. brandtii*). Внешний общий облик и отдельные морфологические признаки TBV003NTHV03_03 сходны с *T. hakonensis*, а у TBK012NTHK0_12 – с *T. brandtii*.

Экземпляр ТВК012NTHК0_12 по данным анализа митохондриальных маркеров относится к T. brandtii (Рис. 3.2.6.1, Рис. 3.2.6.2, Рис. 3.2.6.6). На дендрограмме для гена *Rho* данный образец ТВК012NTHK0 12 находится между T. brandtii с юга Приморья и T. hakonensis из зал. Восток (Рис. 3.2.6.3) По ITS-1,2 рРНК этот образец близок к T. brandtii (Рис. 3.2.6.4). Результаты RDP-анализов DnaSP исследовании И при нуклеотидных последовательностей выявляют гибридное происхождение данной особи. На гибридное происхождение этой особи также указывают последовательности маркера Co-1 и Cyt-b мтДНК, сходные с T. brandtii, и строение маркера ITS-1,2, часть нуклеотидной последовательности которого сходна с T. hakonensis, а часть – с *T. brandtii*.

Оба экземпляра (TBV003NTHV03_03 и TBK012NTHK0_12) являются гибридами двух видов: *T. brandtii* по материнской линии (данные мтДНК) и *T. hakonensis* по отцовской линии (данные яДНК). Случаи обнаружения гибридов указывают на теоретическую возможность существования гибридной зоны у красноперок *Tribolodon* на юге Приморья.

Ранее гибриды возвратного скрещивания, в том числе и

144
(*T. brandtii* × *T. hakonensis*) × *T. brandtii*, выявлялись только на основании анализа аллозимов дальневосточных красноперок из рек Японских островов, и их доля составила 3% от всех выявленных особей гибридного приосхождения (Sakai, Hamada, 1985). Частота встречаемости гибридов между видами рода *Tribolodon* на юге Приморского края России пока недостаточно исследована и требует дальнейшего изучения. Наши данные указывают на единичную встречаемость гибридных особей первого поколения *T. brandtii* и *T. hakonensis* и гибридов возвратного скрещивания.

4.2.2. Сравнение морфометрии и молекулярных данных гибридных особей

Полученные комплексного результаты анализа дальневосточных Tribolodon с красноперок рода использованием сравнительноморфологического и молекулярно-генетического подходов позволили точно идентифицировать представителей видов T. hakonensis и T. brandtii, а также гибридных особей между этими двумя видами (Zolotova, 2018). Данные диссертационной работы подтвердили существование гибридов между представителями рода *Tribolodon*. Согласно кариологическому анализу (Рязанова, Полякова, 2012) кариотипы T. hakonensis, *T. brandtii* И T. sachalinensis стабильны по количеству хромосом. Несмотря на различия в числе митохондрий в сперматозоидах (Незнанова, 2012, Neznanova, 2015) и разные сроки нереста (Гриценко, 1974, 2002; Гавренков, Иванков, 1979), у красноперок существует способность к гибридизации и возникновению гибридных особей (Sakai, Hamada, 1985; Sakai, 1995: Sakai et. al, 2002).

К сожалению, не удалось сохранить этикетки для выборки рыб из зал. Восток. Поэтому проведение сопоставления молекулярных параметров и морфометрических признаков для потенциального гибрида *T. brandtii* × *T. hakonensis* №3 (TBV003NTHV03_03) не проводили.

У потенциального гибрида (*T. brandtii* × *T. hakonensis*) × *T. brandtii* № 12 из б. Киевка (TBK012NTHK0_12) число чешуй в боковой линии было 80,

в ряду над боковой линией – 79 или до hypurale – 78 шт, что совпадало с аналогичными значениями счетных признаков у родительских видов (Рис. 3.1.1.3.1, Приложение: Табл. 9). Среднее число чешуй над боковой линией у гибрида было 15,5, что больше среднего значения у *T. hakonensis* (14,4) и меньше среднего *T. brandtii* (16,3) из б. Киевка (Рис. 3.1.1.3.2, Приложение: Табл. 9). Число чешуй под боковой линией (10,5) соответствует средним значениям *T. hakonensis* (Рис. 3.1.1.3.3, Приложение: Табл. 9). Таким образом, по числу чешуй гибридная особь ТВК012NTHK0_12 занимает как промежуточное положение, так и более близкое к родительскому виду *T. hakonensis*. Сходные результаты для гибридный особей были описаны в литературе (Иванков и др., 1984; Sakai, Hamada, 1985).

Число позвонков у ТВК012NTHК0_12 в разных отделах было следующим: А, туловищные позвонки (включая веберовские) - 49 шт.; А1, предорсальные позвонки (включая веберовские) – 15 шт.; А2, промежуточные позвонки – 6 шт.; С, хвостовые позвонки – 21 шт.; С1, преанальные хвостовые позвонки – 0 шт.; С2, постанальные хвостовые позвонки – 21 шт. По данному признаку не наблюдается отличий с родительскими видами (Приложение: Табл. 7). Это объясняется сходством числа позвонков *T. hakonensis* и *T. brandtii*.

В сеймосенсорной системе слева было обнаружено соединение между надглазничным (CSO) и подглазничным (CIO) каналами только с левой стороны тела. Подобные наблюдения для гибридов возвратного скрещивания рода *Tribolodon* были зафиксированы ранее на Японских островах (Sakai, Hamada, 1985; Sakai, 1995).

Среднее число пор с левой и с правой сторон головы в разных отделах каналов составило: 1) в надглазничном канале (CSO) – 12 и 10, в зоне над nasale – 6 и 5, в зоне «frontale + parietale» – 7 и 6; 2) в подглазничном канале (CIO) – 16 и 14, в зоне infraorbitale (io1) – 6 и 6; 3) в предкрышечночелюстном канале (CPM) – 19 и 18, в зоне dentale – 7 и 7. Все полученные значения характерны как для *T. hakonensis*, так и *T. brandtii*. Программа ABGD относила особь TBK012NTHK0_12 в группу *T. brandtii*. На филогенетических реконструкциях особь TBK012NTHK0_12 также формирует единую ветвь с представителями *T. brandtii* (Рис. 3.2.6.1 – 3.2.6.6). В программе RDP этот экземпляр был отмечен как отдельный вид. Тем не менее, программа RDP не могла выявить рекомбинантные участки у этой особи. Определить данную особь как потенциально гибридную, возможно лишь визуальным методом в программе BioEdit и с применением таблицы (Приложение: Табл. 19) для фрагмента *ITS-1,2*.

Часть участков фрагмента *ITS-1,2* более сходна с *T. brandtii*, а часть с *T. hakonensis* (Приложение: Табл. 19). Вероятно, такое хаотичное расположение не позволяет программе RDP вычислить рекомбинацию.

На основании изученной морфологии сейсмосенсорной системы и результатов рекомбинантного анализа (программа RDP) для особи ТВК012NTHK0 12 может быть присвоен статус потенциального гибрида.

Возможно, ТВК012NTHK0_12 является гибридом возвратного скрещивания второго или более позднего поколения: *T. brandtii* по материнской линии (результаты анализа мтДНК и кластеризация с *T. brandtii*) и *T. brandtii* × *T. hakonensis* по отцовской линии (результаты анализа яДНК и кластеризация с *T. hakonensis*).

При помощи молекулярно-генетических методов анализа И особенностей строения сейсмосенсорных было каналов головы гибридов подтверждено предположение 0 наличии между видами *T. hakonensis* и *T. brandtii* на юге Приморского края России. Показано, что для первичного определения гибридов между T. brandtii и T. hakonensis юга Приморского края в полевых условиях можно использовать признак «наличие или отсутствие соединения между надглазничным (CSO) и подглазничным (CIO) каналами». Наиболее точно идентифицировать гибриды между видами T. brandtii и T. hakonensis возможно по p-расстояниям при совместном анализе маркеров мтДНК и яДНК. Для определения гибридов скрещивания возвратного можно использовать таблицу,

4.2.3. Филогенетическое положение рода *Tribolodon* в подсемействе Leuciscinae

В работах Н.Г. Богуцкой (1990), а также Н.Г. Богуцкой и А.М. Насеки (2004) роды Tribolodon, Pseudaspius и Oreoleuciscus объедтнены в трибу Pseudaspinini (Богуцкая, 1990; Богуцкая, Насека, 2004). Вместе с группой Phoxinus, включающей Rhyncocypris и Chrosomus, перечисленные роды соотавляют подсемейство Phoxininae Bleeker, 1863-1864 (Saitoh et al., 2004). Данный вариант объединения родов в отдельные подсемейства согласуется с филогенетической реконструкцией предстаивтелей перечисленных таксонов, базирующейся на полном митогеноме (Imoto et al., 2013) (Приложение: Рис. 3, отмечено скобкой справа сверху). G.J. Howes, наиболее подробно описавший анатомические и остеологические характеристики видов Cyprinidae, заключил, что род *Oreoleuciscus* связан с Евразийскими родами карповых Pseudaspius и Tribolodon, которые включены в трибу Aspinini в пределах подсемейства Leuciscinae (Howes, 1991). Однако R.A. Travers настаивал, что Oreoleuciscus морфологически ближе к роду Phoxinus (Travers, 1989). Цитированное исследование Ітото и соавторов (Ітото et al., 2013) и данные этой работы (Приложение: Рис. 2) показали (100% поддержка ветви), что род Oreoleuciscus располагается в одной монофилетической ветви с дальневосточными и центрально-азиатскими видами *Phoxinus* s.l. (включая Rhyncocypris) (Приложение: Рис. 3; Phoxininae; Far East+). Тем не менее, Oreoleuciscus также формировал индивидуальную ветвь с высокой поддержкой (100%). Эта информация подтверждается на уровне отдельных генных деревьев Cyt-b (Приложение: Рис. 2; Slynko, Borovikova, 2012), Co-1 (Батищева и др., 2011), а также филогенией, полученной по митогеному (Приложение: Рис. 3; см. также Imoto et al., 2013; Kartavtsev et al., 2017).

Как следует из топологии отдельных генных деревьев для *Cyt-b* (Приложение: Рис. 2; (Sasaki et al., 2007; Батищева и др., 2011)), полного

митогенома (Приложение: Рис. 3; (Imoto et al., 2013; Kartavtsev et al., 2015; Kartavtsev et al., 2017)), и соответствующих значений генетических расстояний, между родами *Pseudaspius* и *Tribolodon* по генам мтДНК имеется Однако делать значительное сходство. заключение об ИХ полной идентичности преждевременно. Так, *Pseudaspius* на деревьях, построенных белковым маркерам, сохраняет внешнее положение по по ядерным отношению к представителям рода *Tribolodon* (Картавцев и др., 2002; Durand, 2002). Это обстоятельство, а также неполное топологическое разрешение некоторых индивидуальных деревьев и расхождения в типе ветвления по маркерам генов мтДНК и яДНК, предполагает необходимость продолжения работы по уточнению филогении членов рода *Tribolodon*, в первую очередь подключая данные о дивергенции по ядерным генам.

Выполненный анализ подтвердил монофилию группы ельцов (sensu топологии Leuciscinae *stricto*) в пределах sensu lato, поддерживая состоятельность подсемейства Phoxininae с родами Tribolodon, Oreoleuciscus, Pseudaspius и Phoxinus (Rhynchocypris) Дальнего Востока (Богуцкая, 1990; Картавцев и др., 2002), отделенных от подсемейства Phoxininae в семействе Leuciscidae (Chen, Mayden, 2009). Это заключение поддерживается также ранними исследованиями этой группы (Kartavtsev, Hanzawa, 2007; Sasaki et al., 2007; Imoto et al., 2013). В пределах Phoxininae, триба Pseudaspinini поддержана хорошо (Приложение: Рис. 2, Рис. 3) и включает, по меньшей И Tribolodon. Однако *Pseudaspius* топологическая мере, два рода нестабильность Oreoleuciscus на двух деревьях (Приложение: Рис. 2, Рис.3) требует дальнейшего уточнения филогении Phoxininae.

Дерево, основанное на последовательностях 13 белковых генах митогенома, также демонстрирует высокую поддержку двух основных ветвей, Lineage 1 (Phoxininae+Leuciscinae) и Lineage 2; последняя включает все основные группы, обычно рассматриваемые как подсемейства (Tincinae, Rasborinae, Cultrinae, Xenocypridinae, Gobioninae, Leuciscinae, Нурорhthalmichthyinae) (Puc. 1.4). Весь набор данных, включенных в анализ,

принадлежит Leuciscinae s.l., одной из двух основных групп, вместе с Cyprininae s.l., признаваемых в семействе Cyprinidae традиционной концепцией (Chen et al., 1984). Топология дерева подтверждает данные предыдущих исследований (например, Saitoh et al., 2006; Chen et al., 2009). показавших филогенетическую близость Tincinae, Squaliobarbinae и Gobioninae к Leuciscinae нежели к Cyprininae.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании исследования в комплексе молекулярно-генетических и морфологических признаков проанализированы внутри- и межвидовая изменчивость и филогенетические отношения дальневосточных красноперок, выявлены молекулярные маркеры, позволяющие идентифицировать виды рода *Tribolodon* и их гибриды, уточнено положение рассмотренных таксонов в системе карповых рыб подсемейства Leuciscinae.

Разработанный комплексный подход к исследованию изменчивости и дифференциации дальневосточных красноперок позволяет обоснованно судить о степени генетической и популяционной разобщенности рыб из разных районов видовых ареалов, а также об уровне генетической дивергенции между разными видами рода *Tribolodon*. Вовлечение в сравнительный анализ популяционных выборок рыб из как можно большего числа рек на протяжении видовых ареалов позволит не только получить более детальную картину популяционной организации отдельных видов, но и выявить особенности видообразования в данной группе рыб.

выводы

1. Выявлены особенности изменчивости морфологических признаков видов рода Tribolodon: T. hakonensis, T. brandtii и T. sachalinensis. Показано, что внешние признаки дальневосточных красноперок могут быть использованы как систематические в комплексе при идентификации видов с дальнейшей верификацией определения на основе молекулярногенетического анализа.

2. Выявлены особенности молекулярно-генетической изменчивости, а межвидовой генетической дифференциации также внутри-И дальневосточных красноперок рода Tribolodon: T. hakonensis, T. brandtii и T. sachalinensis. Между тремя изученными видами дальневосточных красноперок обнаружены существенные различия по маркерам мтДНК (Со-1 и *Cyt-b*) и маркеру яДНК (*ITS-1,2*).

3. мтДНК Показано, ЧТО ПО использованным маркерам между T. hakonensis с юга Приморского края и острова Сахалин, а также между T. brandtii с юга Приморского края и острова Сахалин различия в несколько раз меньше, чем различия между видами. Значения потока генов между близко расположенными популяциями T. hakonensis статистически значимы, между географически удаленными популяциями T. hakonensis а статистически незначимы.

4. Показано, что невысокий уровень изменчивости маркера яДНК *Rho* не позволяет с надежностью использовать данный маркер для идентификации видов рода *Tribolodon*. На основании анализа последовательностей участка *ITS-1,2* выявлены существенные различия между тремя видами рода *Tribolodon*; разработана методика для дифференциации исследованных видов по данному маркеру яДНК.

5. Показано, что анализ морфологических признаков совместно с анализом *p*-расстояний, дендрограмм, рекомбинантным анализом, популяционно-генетическим анализом, анализом ординации генетических расстояний и сопоставлением нуклеотидного состава исследованных

молекулярно-генетических маркеров позволяют идентифицировать виды рода *Triboldon* и гибриды между *T. brandtii* и *T. hakonensis*.

6. Подтверждена монофилия Leuciscinae sensu stricto в пределах топологии Leuciscinae sensu lato при использовании 13 объединенных белок-кодирующих последовательностей маркеров мтДНК и *Cyt-b*. Показано положение видов рода *Tribolodon* на обособленной ветви Phoxininae, объединившей роды Oreoleuciscus, Pseudaspius и Phoxinus (Rhynchocypris).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барабанщиков Е.М., Магомедов Р.А. Состав и некоторые черты биологии рыб эстуарной зоны рек Приморья // Изв. ТИНРО. 2002. Т. 131. С. 179–200.

2. Батищева Н. М., Картавцев Ю. Ф., Богуцкая Н. Г. Филогенетический анализ рода *Oreoleuciscus* (Pisces, Cyprinidae, Leuciscinae) основанный на исследовании нуклеотидных последовательностей гена цитохромоксидазы 1 (*Co 1*) // Генетика животных. 2011. Т. 47, № 10. С. 1335–1345.

Берг Л.С. Фауна России. СПб.: Изд-во Академии Наук. Т. 3. Вып. 1.
 1912. 336 с.

4. Берг Л.С. Рыбы пресных вод Российской империи. М. 1916. 563 с.

Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. Ч. 1. 3-е изд.
 Л.: Всесоюз. ин-т озерного и речного рыбного хозяйства. 1932. С.1–544.

Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. Ч.2. 4-е изд.
 М.-Л.: АН СССР. 1949. С. 469–925.

7. Богуцкая Н.Г. Топография каналов сейсмосенсорной системы Карповых рыб подсемейств Leuciscinea, Xenocyprinidae и Cultrinae // Вопр.ихтиологии. 1988. Т. 28, № 3. С. 367–382.

 Богуцкая Н.Г. Морфологические основы системы карповых рыб подсемейства Ельцовых (Leuciscinae, Cyprinidae) // Вопр. ихтиологии. 1990.
 Т. 30, № 6. С. 920–933.

9. Богуцкая Н.Г., Насека А.М. Каталог бесчелюстных и рыб пресных и солоноватых вод России с номенклатурными и таксономическими комментариями. Москва. Товарищество Научных изданий КМК. 2004. 383 с.

10. Богуцкая Н.Г., Кияшко П.В., Насека А.М., Орлова М.И. Определитель рыб и беспозвоночных Каспийского моря. Т. 1. Рыбы и моллюски. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. 2013. 543 с.

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

дальневосточных красноперок на юге Приморья // Изв. ТИНРО. 2013. Т. 175. С. 141–158.

12. Большаков С.Г. Некоторые черты биологии и географическая изменчивость дальневосточных красноперок и пиленгаса южного Приморья. Афтореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток. 2014. 24 с.

13. Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н. Гибридизация, видообразование и систематика животных // Труды Зоологического института РАН Приложение № 2. 2013. С. 83–139.

14. Брыков Вл. А., Полякова Н. Е., Семина А. В. Филогенетический анализ выявляет два периода дивергенции у крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* (Pisces, Cyprinidae) // Генетика. 2011. Т. 47, № 11. С. 1491–1500.

15. 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.

16. Бушуев В.П., Шитикова О.Ю., Богданов Л.В. Биохимическая дифференциация дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Cyprinidae) реки Киевка // Вопр. ихтиологии. 1980. Т. 20, № 3. С. 451–459.

17. Гавренков Ю.И. Экология мелкочешуйной *Tribolodon brandti* (Dybowskii) и крупночешуйной *Tribolodon hakonensis* (Gunther) дальневосточных красноперок в период размножения // Вопр. ихтиологии. 1982. Т. 22, № 1. С. 49–53.

18. Гавренков Ю.И. Биология дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* как перспективного объекта аквакультуры южного Приморья. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М.: ВНИИПРХ. 1989. 25 с.

19. Гавренков Ю.И. Биология, морфология и состояние запасов дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* в южном Приморье // Изв. ТИНРО. 1998. Т. 123. С. 74–81.

20. Гавренков Ю.И., Иванков В.Н. Таксономический статус и биология дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* Южного Приморья // Вопр.ихтиологии. 1979. Т. 19, № 6. С. 1014–1023.

21. Ю.И., Коваль Е.З., Мизюркина А.В. Гавренков Генетические исследования мелкочешуйной Tribolodon brandti (Dybowskii) И Tribolodon hakonensis (Günther) крупночешуйной дальневосточных красноперок в Южном Приморье (р. Нарва) // Вопр. ихтиологии. 1984. Т. 24. № 3. C. 374–379.

22. Гавренков Ю.И., Свиридов В.В. Экология размножения дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* в бассейнах рек Приморья // Чтения памяти В.Я. Леванидова. Вып. 1. Владивосток: Дальнаука. 2001. С. 296–304.

23. Гриценко О.Ф. О двух разновидностях дальневосточных красноперок рода *Leuciscus* в реках Сахалина // Зоологический Журнал. 1972. Т. 51, № 2. С. 388–392.

24. Гриценко О.Ф. Систематика дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Cyprinidae) *Leuciscus brandti* (Dybowskii) (Cyprinidae) // Вопр. ихтиологии. 1974. Т. 5, № 88. С. 782–795.

25. Гриценко О.Ф. Экология размножения дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Cyprinidae) // Вопр. ихтиологии. 1982. Т. 22, № 6. С. 1015–1028.

26. Гриценко О.Ф. Проходные рыбы острова Сахалин (систематика, экология, промысел). Автореф. дисс. докт. биол. наук. М.: ВНИРО. 1990. 42 с.

27. Гриценко О.Ф. Проходные рыбы острова Сахалин (систематика, экология, промысел). М.: Издательство ВНИРО. 2002. 248 с.

28. Гудков П.К., Полякова Н.Е., Семина А.В., Назаркин М.В. Сравнительный морфологический анализ красноперки *Tribolodon hakonensis* (Günther) острова Сахалин и южного Приморья // Вопр. ихтиологии. 2010. Т. 50, № 6. С. 772–776.

29. Дружинин А.Д. Материалы о дальневосточной красноперке *Leuciscus brandti* (Dyb.) // Вопр. ихтиологии. 1970. Т. 10, № 4. С. 650–654.

 Дулькейт Г.Д. К ихтиофауне пресноводных рыб Южного Сихотэ-Алиня (Уссурийский край) // Ежегодн. зоол. музея АН СССР. 1927. Т. 28, № 1. С. 3–46.

31. Завлавская Н.И., Скурихина Л.А., Панькова В.В., Рязанова И.Н. Методы генетических исследований морских организмов: учебнометодическое пособие к спецкурсу «Методы генетических исследований». ИБМ ДВО РАН, ДВГУ. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та. 2009. 160 с.

32. Золотова А.О., Картавцев Ю.Ф. Анализ дивергенции последовательностей участка митохондриальной (*Co-1* и *Cyt-b*) и ядерной (*Rho* и *ITS-1* – 5.8S – *ITS-2*) ДНК трёх видов рода *Tribolodon* (Cypriniformes, Cyprinidae) юга Приморья и острова Сахалин // Материалы Региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам. Владивосток. Дальневост. федерал. ун-т. 2017. С. 215.

33. Иванков В.Н., Борисовец Е.Э., Большаков С.Г. Анализ межпопуляционных и межвидовых различий дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Teleostei: Cyprinidae) // Биология моря. 2016а. Т. 42, № 1. С. 3–12.

34. Иванков В.Н., Каплуненко В.А., Борисовец Е.Э. Диагностика морфологически близких видов дальневосточных краснопёрок poдa *Tribolodon* (Osteichthyes: Cyprinidae) по структуре чешуи // Биология моря. 2016б. Т. 42, № 5. С. 343–348.

35. Иванков В.Н., Каплуненко В.А., Борисовец Е.Э., Золотова А.О. Методы диагностики морфологически И экологически близких видов дальневосточных красноперок рода Tribolodon (Teleostei: Cyprinidae) по различиям структуры чешуи // Сборник всероссийской научно-практической конференции международным участием «Морские биологические с

исследования: достижения и перспективы», приуроченной к 145-летию Севастопольской биологической станции. 2016в. Т. 2. С. 73–76.

36. Иванков В.Н., Иванкова Е.В. Экологические подвиды и локальнотемпоральные популяции анадромных рыб // Вопр. ихтиологии. 2017. Т. 57. № 1. С. 59–65.

37. Иванков B.H., Борисовец Е.Э., Каплуненко B.A., Золотова А.О. Межвидовая и географическая изменчивость структуры чешуи у дальневосточных красноперок рода Tribolodon (Teleostei: Cyprinidae) // сборник трудов Всероссийской конференции V Балтийского морского форума «Водные биоресурсы, аквакультура и экология водоемов». Калининград. 2017. С. 26–29.

38. Иванков В.Н., Лукьянова П.Е., Мостовая Н.В., Рухлова Г.Ф. Таксаномическое значение морфологических признаков двух видов дальневосточных красноперок // Биология моря. 1984. №. 3. С. 29–32.

39. Иванков В.Н., Лукьянов П.Е., Мостовая Н.В. Гибридизация двух близких видов дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Cyprinidae) // Рыбохозяйственная гидробиология и ихтиология. 1987. Т. 23. № 3, С. 35–39.

40. Картавцев Ю.Ф., Свиридов В.В., Ханзава Н., Сазаки Т. Генетическая дивергенция видов дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae) и близких таксонов // Генетика животных. 2002. Т. 38, № 9. С. 1–14.

41. Колпаков Н.И., Миловакин П.Г. Результаты мечения рыб в заливе Петра Великого в 2007-2008 гг. // Изв. ТИНРО. 2009. Т. 158. С. 142–159.

42. Крыхтин М.Л. Развитие дальневосточной красноперки - угая *Leuciscus brandti* (Dyb.) // Вопр. ихтиологии. 1960. № 16. С. 144–153.

43. Лакин Г.Ф. Биометрия:учебное пособие для биологических специальностей вузов. 3-е издание. М.: Изд-во высшая школа. 1980. 293 с.
44. Линдберг Г.У., Легеза М.Н. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Часть 2. М.-Л.: Издательство «Наука». 1965. 391 с.

45. Лукашов В.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ. М.: БИНОМ. 2009. 256 с.

46. Маляр В. В. Сравнительная филогеография четырех видов рыб семейств Salmonidae и Cyprinidae в Японском и Охотском морях Афтореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток. 2017. 27 с.

47. Моисеев Н.А. Состав ихтиофауна реки Седанка в связи с постройкой Владивостокского водопровода // Вести. ДВО АН СССР. 1936. № 18. С. 133–140.

48. Незнанова С.Ю. Ультраструктурное исследование спермиогенеза дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Pisces: Cyprinidae) // Биология моря. 2012. Т. 38, № 2. С. 144–152.

49. Никитинская И.В. Некоторые данные об образе жизни красноперки *Leuciscus brandti* (Dybowskii) // Вопр. ихтиологии. 1962. Т. 2, № 4. С. 609–614.

50. Никольский Г.В. Рыбы бассейна Амура. М.: АН СССР. 1956. 551 с.

51. Новиков Н.П., Соколовский А.С., Соколовская Т.Г.,Яковлев Ю.М. Рыбы Приморья. Владивосток. Дальрыбвтуз. 2002. 552 с.

52. Омельченко В.Т., Полякова Н.Е., Иванков В.Н., Лукьянов П.Е. Генетико-биохимическая и морфологическая характеристика дальневосточных красноперок *Tribolodon brandti* (Dybowski), *Tribolodon hakonensis* (Gunther) (Cyprinidae) и их гибридного потомства // Вопр. ихтиологии. 1986. Т. 26, № 2. С. 246–252.

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

54. Рухлова Г.Ф. Строение чешуи разновозрастных особей дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* из рек Киевка и Раздольная (Приморье) // Биология проходных рыб Дальнего Востока. Владивосток: Издво ДВГУ. 1984. С. 121–122.

55. Рязанова И.Н., Полякова Н.Е. Дивергенция 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.

56. Световидова А.А. Систематика дальневосточной красноперки *Leuciscus brandti* (Dybowski) (Cyprinidae) // Вопр. ихтиологии. 1973. Т. 13, № 2. С. 202–218.

57. Свиридов В.В. Морфологическая и генетическая дивергенция и географическая изменчивость дальневосточных красноперок рода *Tribolodon*. Афтореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток. 2002. 16 с.

58. Свиридов В.В., Иванков В.Н. Топография сейсмосенсорных каналов головы молоди дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Cyprinidae) и ее значение для видовой диагностики // Вопр. ихтиологии. 2002. Т. 42, № 3. С. 418–420.

59. Свиридов В.В., Иванков В.Н. Морфологическая дивергенция дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* // Изв. ТИНРО. 2003. Т. 132. С. 82–111.

60. Свиридов В.В., Иванков В.Н., Лукьянов П.Е. Изменчивость брачной окраски дальневосточных красноперок рода *Tribolodon*. I. *Tribolodon brandti* и *T. ezoe* // Вопр. ихтиологии. 2002. Т. 42, № 4. С. 558–563.

61. Свиридов В.В., Иванков В.Н., Лукьянов П.Е. Изменчивость брачной окраски дальневосточных красноперок рода *Tribolodon*. II. *Tribolodon hakonensis* // Вопр. ихтиологии. 2003. Т. 43, № 1. С. 106–109.

62. Семина А. В. Молекулярная эволюция и филогенетические отношение в двух группах рыб семейства Mugilidae и Cyprinidae. Афтореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток. 2008. 24 с.

63. 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.

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

65. Солдатов В.К., Линдберг Г.У. Обзор рыб дальневосточных морей // Изв. ТИНРО. 1930. Т. 5. С. 1–576.

66. Таранец А. Я. Материалы к познанию ихтиофауны Советского Сахалина // Изв. ТИНРО. 1937. Т. 12. С. 5–44.

67. Чуриков А.А., Сабитов Э.Х. Дополнение к диагнозу дальневосточных красноперок // Вопр. ихтиологии. 1982. Т. 22, № 5. С. 881–883.

68. Шедько С.В. О таксономическом статусе *Leuciscus sachalinensis* Nikolsky, I889 (Cypriniformes, Cyprinidae) // Вопр. ихтиол. 2005. Т. 45, № 4. С. 475–48I.

69. Шипунов А.Б., Балдин Е.М., Волкова П.А., Коробейников А.И., Назарова С.А., Петров С.В., Суфиянов В.Г. Наглядная статистика. Используем R! М.: ДМК Пресс. 2017. 289 с.

70. Шмидт П.Ю. Рыбы восточных морей Российской империи. СПб. 1904.466 с.

71. Шмидт П.Ю. Морские промыслы острова Сахалин. СПб. 1905.

72. Шнеер В.С. ДНК-штрихкодирование видов животных и растений - способ их молекулярной идентификации и изучения биоразнообразия // Журнал общей биологии. 2009. Т.70, № 3. С. 296–315.

73. Akaike H. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle // Second International Symposium on Information Theory. editors B.N.Petrov, F. Csaki. Akademia Kiado. Budapest. 1973. P. 267–281.

74. Arenas M., Posada D. The effect of recombination on the reconstruction of ancestral sequences // Genetics. 2010. Vol. 184, № 4. P. 1133–1139.

75. Armbruster J.W. Standardized measurements, landmarks, and meristic counts for cypriniform fishes // Zootaxa. 2012. Vol. 3586. P. 8–16.

76. Arnold M.L., Fogarty N.D. Reticulate evolution and marine organisms: The final frontier? // International Journal of Molecular Sciences. 2009. Vol. 10. P. 3836–3860.

77. Atsumi K., Nomoto K., Machida Y., Ichimura M., Koizum I. No reduction of hatching rates among F1 hybrids of naturally hybridizing three Far Eastern

daces, genus *Tribolodon* (Cypriniformes, Cyprinidae) // Ichthyol. Res. 2018. Vol. 65. P. 165–167.

78. Avise J.C. Phylogeography The History and Formation of Species. London, Cambridge, MA: Harvard University Press. 2000. 447 p.

79. Avise J.C. Cytonuclear genetic signatures of hybridization phenomena: Rationale, utility, and empirical examples from fishes and other aquatic animals // Reviews in Fish Biology and Fisheries. 2001.Vol. 10. P. 253–263.

80. Avise J.C., Wollenberg K. Phylogenetics and the origin of species (allelic genealogies gene trees lineages mitochondrial DNA phylogeography) // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 7748–7755.

81. Behrens-Chapuis S., Herder F., Esmaeili H.R., Freyhof J., Hamidan N.A., Özuluğ, M., Šanda R., Geiger M.F. Adding nuclear rhodopsin data where mitochondrial COI indicates discrepancies – can this marker help to explain conflicts in cyprinids? // DNA Barcodes. 2015. Vol. 3, N_{2} 1. P. 187–199.

82. Bufalino A.P., Mayden R.L. Phylogenetic relationships of North American phoxinins (Actinopterygii: Cypriniformes: Leuciscidae) as inferred from S7 nuclear DNA sequences // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2010a. Vol. 55, № 1. P. 143–152.

83. Bogutskaya N.G., Zupančič P., Jelić D., Diripasko O.A., Naseka A.M. Description of a new species of *Alburnus* Rafinesque, 1820 (Actinopterygii, Cyprinidae, Leuciscinae) from the Kolpa River in the Sava River system (upper Danube drainage), with remarks on the geographical distribution of shemayas in the Danube // ZooKeys. 2017. Vol. 688. P. 81–110.

84. Bufalino A.P., Mayden R.L. Molecular phylogenetics of North American phoxinins (Actinopterygii: Cypriniformes: Leuciscidae) based on RAG1 and S7 nuclear DNA sequence data // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2010b. Vol. 55, № 1. P. 274–283.

85. Campton D.E. Natural hybridization and introgression in fishes: methods of detection and genetic interpretations / editors Ryman N., Utter F. eds. Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Seattle. 1987.

P. 161–192.

86. Chang C.-H., Li, F., Shao K.-T., Lin Y.-S., Morosawa T., Kim, S., Koo H., Kim W., Lee J.-S., He Sh., Smith C., Reichard M., Miya M., Sado T., Uehara K., Lavoue S., Chen W.-J., Mayden R. L. Phylogenetic relationships of Acheilognathidae (Cypriniformes: Cyprinoidea) as revealed from evidence of both nuclear and mitochondrial gene sequence variation:evidence for necessary taxonomic revision in the family and the identification of cryptic species // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2014. Vol. 81. P. 182–194.

87. Chen J., Li Q., Kong L., Yu H. How DNA barcodes complement taxonomy and explore species diversity: The case study of a poorly understood marine fauna // PLoS ONE. 2011. Vol. 6, N_{2} 6. P. 1–9.

88. Chen X.L., Yue P.Q., Lin R.D. Major groups within the family Cyprinidae and their phylogenetic relationships // Acta Zootaxonomica Sinica. 1984. P. 424–440.

89. Chen W. J., Bonillo C., Lecointre G. Repeatability of clades as a criterion of reliability: A case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2003. Vol. 26. P. 262–288.

90. Chen W.J., Miya M., Saitoh K., Mayden R.L. Phylogenetic utility of two existing and four novel nuclear gene loci in reconstructing Tree of Life of ray-finned fishes: The order Cypriniformes (Ostariophysi) as a case study // Gene. 2008.Vol. 423. P. 125–134.

91. Chen W.J., Mayden R.L. Molecular systematics of the Cyprinoidea (Teleostei: Cypriniformes), the world's largest clade of freshwater fishes: Further evidence from six nuclear genes // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. Vol. 52, N_{2} 2. P. 544–549.

92. Chen W.J., Mayden R. L. Phylogeny of suckers (Teleostei: Cypriniformes: Catostomidae): further evidence of relationships provided by the single-copy nuclear gene IRBP2 // Zootaxa. 2012. Vol. 210. P. 195–210.

93. Clare E.L., Lim B.K., Engstrom M.D., Eger J.L., Hebert P.D.N. DNA

barcoding of Neotropical bats: Species identification and discovery within Guyana: Barcoding // Molecular Ecology Notes. 2007. Vol. 7. P. 184–190.

94. Collins R.A., Armstrong K.F., Meier R., Yi Y., Brown S.D., Cruickshank R.H., Keeling S., Johnston C. Barcoding and border biosecurity: identifying cyprinid fishes in the aquarium trade // PLoS One. 2012. Vol. 7. № 1. e28381

95. Collins R.A., Cruickshank R.H. The seven deadly sins of DNA barcoding // Molecular Ecology Resources. 2013. Vol. 13, № 6. C. 969–975.

96. DeMarais B.D., Dowling, T.E., Douglas M.E., Minckley W.L., Marsh P.C. Origin of *Gila seminuda* (Teleostei: Cyprinidae) through introgressive hybridization: implications for evolution and conservation // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1992. Vol. 89. P. 2747–2751.

97. Dettai A., Lecointre G. Further support for the clades obtained by multiple molecular phylogenies in the acanthomorph bush // Comptes Rendus - Biologies. 2005.Vol. 328. P. 674–689.

98. Doi A., Shinzawa, H. *Tribolodon nakamurai*, a new cyprinid fish from the middle part of Honshu Island, Japan // Raffles Bulletin of Zoology. 2000.Vol. 48, № 2. P. 241–247.

99. Durand J.D., Tsigenopoulos C.S., Unlu E., Berrebi P. Phylogeny and biogeography of the family Cyprinidae in the Middle East inferred from cytochrome b DNA - Evolutionary significance of this region // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2002. Vol. 22, N_{2} 1. P. 91–100.

100. Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach // J. Mol. Evol. 1981. Vol. 17, № 6. P. 368–376.

101. Fu Y.-X., Li W.-H. Statistical tests of neutrality of mutations // Genetics.1993. Vol. 133. P. 693–709.

102. Gibbs M.J., Armstrong J.S., Gibbs A.J. Sister-Scanning: a Monte Carlo procedure for assessing signals in recombinant sequences // Bioinformatics. 2000. Vol. 16. P. 573–582.

103. Hall T.A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignmenteditor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Ac. Symp. Ser. 1999. Vol. 41 P. 95–8.

104. Hall E. 2000. Radiobiology for the radiologist. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins. p.608.

105. Hanzawa N., Yonekawa H., Numachi K.-I. Variability of mitochondrial DNA in Japanese dace, *Tribolodon hakonensis* (Cyprinidae) // Jpn. J. Genet. 1987.
Vol. 62. P. 27–38.

106. Hanzawa N., Taniguchi N., Numachi K.-I. Geographical Differentiation in Populations of Japanese Dace *Tribolodon hakonensis* Deduced from Allozymic Variation : Ecology and Taxonomy // Zoological Science. 1988. Vol. 5, № 2. P. 449–461.

107. Hasegawa M, Kishino H, Yano T. Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA // Evolution. 1985. Vol. 22. P. 160–174.

108. Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., deWaard J.R. Biological identifications through DNA barcodes // Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society. 2003. Vol. 270, № 1512. P. 313–321.

109. Holmes E.C., Worobey M., Rambaut A. Phylogenetic evidence for recombination in Dengue virus // Mol. Biol. Evol. 1999. Vol. 16, № 3. P. 405–409.
110. Howes G.J. Systematic and Biogeography: an overview. London: Chapman

and Hall. 1991. P. 1-33.

111. Hubbs C.L. Developmental Temperature Tolerances of Four Etheostomatine Fishes Occurring in Texas // Copeia. 1961. Vol. 1961, № 2. P. 195–198.

112. Hubbs C.L., Lagler K.F. Fishes of the Great Lakes Region. Ann Arbor: University of Michigan Press. 1958. 213 p.

113. Hudson D.H., Scornavacca C. Dendroscope 3: An Interactive Tool for Rooted Phylogenetic Trees and Networks // Systematic Biology. 2012. Vol. 61. P. 1061–1067.

114. Hudson R.R., Boos D.D., Kaplan N.L. A statistical test for detecting geographic subdivision // Molecular Biology and Evolution. 1992. Vol. 9, № 1. P.

138–151.

115. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics (Oxford, England). 2001. Vol. 17. P. 754–755.

116. Hurvich C., Tsai C. Regression and time series model selection in small samples // Biometrika. 1989. Vol. 76, № 2. P. 297–307.

117. Huelsenbeck J.P., Crandall K.A. Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood // Annu Rev Ecol Syst. 1997. Vol. 28. P. 437–466.

118. Imoto J.M., Saitoh K., Sasaki T., Yonezawa T., Adachi J., Kartavtsev Y. P., Miya M., Nishida M., Hanzawa N. Phylogeography of highly diverged freshwater fish species (Leuciscinae, Cyprinidae, Teleostei) inferred from mitochondrial genome analysis // Gene. 2013. Vol. 514. P. 112–124.

119. Ivankov V.N., Kaplunenko V.A., Borisovets E.E., Zolotova A.O. Taxonomic differences and ecological conditionality of scale structure in three morphologically similar species of Far Eastern redfins of the genus *Tribolodon* (Teleostei: Cyprinidae) // Russian Journal of Marine Biology. 2017. Vol. 43, N_{2} 3. P. 209–215.

120. Ivanova N.V., Zemlak T.S., Hanner R.H., Hebert P.D.N. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding // Molecular Ecology Notes. 2007. Vol. 7, № 4.
P. 544–548.

121. Jukes T.H., Cantor C.R. Evolution of protein molecules / Mammalian Protein Metabolism. eds. H. N. Munro. Academic Press. New York. 1969. Vol. 3. p. 21–123.

122. Kahata M. Differences in swim bladder of three species of genus *Tribolodon* from Hokkaido // Jap. J. Ichthyol. 1981. Vol. 28, № 2. P. 349–350

123. Karlin S., Altschul S.F. Methods for assessing the statistical significance of molecular sequence features by using general scoring schemes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. Vol. 87. P. 2264–2268.

124. Kartavtsev Y.Ph. Analysis of sequence diversity at mitochondrial genes on different taxonomic levels. Applicability of DNA based distance data in genetics of

speciation and phylogenetic / Genetic diversity. Eds. C. L. Mahoney, D. A. Springer. New York. 2009. P. 1–50.

125. Kartavtsev Y.Ph. Sequence divergence at mitochondrial genes in animals: Applicability of DNA data in genetics of speciation and molecular phylogenetics // Marine Genomics. 2011a. Vol. 4. P. 71–81.

126. Kartavtsev Y.Ph. Divergence at Cyt-b and Co-1 mtDNA genes on different taxonomic levels and genetics of speciation in animals // Mitochondrial DNA. 20116. Vol. 22, № 3. P. 55–65.

127. Kartavtsev Y. Ph. Some Current Concerns of Neo-Darwinism:Gene Introgression Throughout a Species Border // J Phylogen Evolution Biol. 2013. Vol. 1, № 5. P. 1–4.

128. Kartavtsev Yu.Ph., Batishcheva N.M., Bogutskaya N.G., Katugina A.O., Hanzawa N. Molecular systematic and DNA barcoding of Altai osmans, *Oreoleuciscus* (Pisces, Cyprinidae, Leuciscinae) and the nearest relatives, as revealed by sequences of cytochrome b (Cyt B), cytochrome oxidase (Co-1), and complete mitochondrial genome // Modern Achievement in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics International Symposium. 2015. P. 35.

129. Kartavtsev Y.Ph. Molecular evolution and population genetics of marine biologistc. eds. M. S. Johnson. New York, Boca Raton, London: CRC Press Taylor&Francis Group. 2016. 349 p.

130. Kartavtsev Y.Ph., Hanzawa N. Inferences in Leuciscinae (Pisces, Cyprinidae) phylogeny and taxonomy based on cytochrome b sequence distances and on enzyme loci diversity// Korean Journal of Genetics. 2007. Vol. 29, № 4. P. 427-435.

131. Kartavtsev Y.Ph , Sharina S.N., Saitoh K., Imoto J.M., Hanzawa N., Redin A.D. Phylogenetic relationships of Russian far eastern flatfish (Pleuronectiformes, Pleuronectidae) based on two mitochondrial gene sequences, Co-1 and Cyt-b, with inferences in order phylogeny using complete mitogenome data // Mitochondrial DNA. 2014. Vol. 28. P. 667–678.

132. Kartavtsev Y.Ph., Batischeva N.M., Bogutskaya N.G., Katugina A.O., Hanzawa N. Molecular systematics and DNA barcoding of Altai osmans, *Oreoleuciscus* (pisces, cyprinidae, and leuciscinae), and their nearest relatives, inferred from sequences of cytochrome b (*Cyt-b*), cytochrome oxidase c (*Co-1*) // Mitochondrial DNA Part A. 2017. Vol. 28, No 4. P. 502–517.

133. Katugina A.O., Kartavtsev Yu.Ph. Comparative genetic analysis of three species of the genus *Tribolodon* (Cyprinidae, Cypriniformas) based on sequence data of mitochondrial DNA CO-1 gene // The Ninth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology. 2014. P.79.

134. Katugina A.O., Kartavtsev Yu.Ph., Nikitin V.D., Den G.N., Hapochkin E.E., Bogutskaya N.G. Comparative genetic analysis of some far Eastern dace of the genus *Tribolodon* (Cyprinidae, Cypriniformes) based on some morphological and genetical traits // Modern Achievement in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics International Symposium. 2015. P. 38.

135. Kimura M.A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // Journal of Molecular Evolution. 1980. Vol. 16. P. 111–120.

136. Kumar S., Tamura K., Nei M. Manual for MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software. University Park. PA: Pennsylvania State University.1993. 16802 p.

137. Kurawaka K. Cephalic lateral-line systems and geographical distribution of the genus Tribolodon (Cyprinidae) // Jap. J. Ichthyol. 1977. Vol. 24, № 3. P. 167–175.

138. Levene H. Robust tests for equality of variances / Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling. Edts. I. Olkin, S.G. Ghurye, W. Hoeffging, W.G. Madow, H.B. Mann. Stanford University Press. 1960. P. 278–292.

139. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. Vol. 25. P. 1451–1452.

140. Mann H.B., Whitney D.R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other // Annals of Mathematical Statistics. 1947. N_{2} 18. P. 50 – 60.

141. Marchetto F., Zaccara S., Muenzel F., Salzburger W. Phylogeography of the Italian vairone (*Telestes muticellus*, Bonaparte 1837) inferred by microsatellite markers: evolutionary history of a freshwater fish species with a restricted and fragmented distribution // BMC Evolutionary Biology. 2010. Vol. 10, N_{2} 1. P. 111. 142. Martin D., Rybicki E. RDP: detection of recombination amongst aligned sequences // Bioinformatics. 2000. Vol. 16. P. 562–563.

143. Martin D.P, Posada D., Crandall K.A., Williamson C. A modified BOOTSCAN algorithm for automated identification of recombinant sequences and recombination breakpoints // AIDS Res Hum Retroviruses. 2005. Vol. 21. P. 98–102.

144. Martin D.P., Murrell B., Golden M., Khoosal A., Muhire B. RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes // Virus Evolution. 2015. Vol. 1, N_{2} 1. P. 1–5.

145. Mayden R.L., Chen W.J., Bart H. L., Doosey M.H., Simons A.M., Tang K.L., Wood R.M., Agnew M.K., Yang L., Hirt M.V., Clements M.D., Saitoh K., Sado T., Miya M., Nishida M. Reconstructing the phylogenetic relationships of the earth's most diverse clade of freshwater fishes-order Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): A case study using multiple nuclear loci and the mitochondrial genome // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. Vol. 51. P. 500–514.

146. Mayr E. Animal species and evolution. Belknap Press. Harvard. 1963. 797 p.147. Mayr E. Animal species and evolution. Harvard Universuty Press. 1963.reprint 2014. 797 p.

148. Mayr E., Linsley E.G., Usinger R.L. Methods and principles of systematic zoology. Mc-Graw-ill Book Co., New York. 1953. 336 p.

149. Nakabo T. Fishes of Japan with pictorial keys to the species. Tokai Univ. press. 2002. 1747 p.

150. Nakamura M. Keys to the freshwater fishes of Japan. Tokyo: Hokuryukan. 1963. 260 p.

151. Naseka A.M. Comparative study on the vertebral column in the Gobioninae (Cyprinidae,Pisces) with special reference to its systematics // Publicaciones Especiales. Instituto Espanol de Oceanografia. 1996. №.21. P.149–167.

152. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc Natl Acad Sci USA. 1973. Vol. 70, № 12. P. 3321–3323.

153. Nei M. Evolution of human races at the gene level / Human genetics part A: The unfolding genome. Edts. B. Bonne-Tamir, T. Cohen, R.M. Goodman, A.R. Liss. New York. 1982. P. 167–181.

154. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.

155. Nei M., Kumar S. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press. 2000. 333 p.

156. Nei M., Miller J.C. A simple method for estimating average number of nucleotide substitutions within and between populations from restriction data // Genetics. 1990. Vol. 125. P. 873–879.

157. Nelson J.S. Fishes of the World, third ed. Inc. New York: John Wiley and Sons. 1994. 600 p.

158. Nelson J.S. Fishes of the World, 4th edition. Fish and Fisheries. Inc. New York: John Wiley and Sons. 2006. 601 p.

159. Neznanova S.Yu. Comparative analysis of gamete ultrastructure in bigscaled redfin *Tribolodon hakonensis* (Cyprinidae) from Southern Primorye and Sakhalin // Voprosy Ikhtiologii. 2015. Vol. 55, № 6. P. 713–718.

160. Okada S. Spawning habits of "ugui", *Leuciscus hakonensis* Gunther // Zool.Mag. 1935. Vol. 47. P. 767–783.

161. Okada Y. Fishes of Japan. Illustrations and descriptions of fishes of Japan.Tokyo: Merusen Co., Ltd. 1955. 960 p.

162. Okada Y. Studies on the freshwater fishes of Japan. Tokyo: Merusen Co.,Ltd. 1960. 498 p.

163. Okada Y., Ikeda H. Statistical observations on the species of the genus *Tribolodon* in Hokkaido, Japan and notes on its distriction // Zool. Mag. Tokyo. 1937. Vol. 49, N_{2} 5. P. 161–172.

164. Padidam M., Sawyer S., Fauquet C.M. Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination // Virology. 1999. Vol. 265. P. 218–225.

165. Palandačić A., Zupančič P., Snoj A. Revised classification of former genus *Phoxinellus* using nuclear DNA sequences // Biochemical Systematics and Ecology. 2010. Vol. 38. P. 1069–1073.

166. Palumbi S.R., Baker C.S. Contrasting population structure from nuclear intron sequences and mtDNA of humpback whales // Molecular Biology & Evolution. 1994. Vol. 11, № 3. P. 426–435.

167. Polyakova N.E., Semina A.V., Brykov VI.A. Analysis of mtDNA and nuclear markers points to homoploid hybrid origin of the new species of far eastern redfins of the genus *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae) // Rus J Genetica. 2015.Vol. 51, N 11. P. 1075–1087.

168. Posada D. jModelTest: Phylogenetic model averaging // Molecular Biology and Evolution. 2008. Vol. 25, № 7. P. 1253–1256.

169. Posada D., Crandall K.A. Evaluation of methods for detecting recombination from DNA sequences: Computer simulations // Proc. Natl. Acad. Sci. 2001. Vol. 98. P. 13757–13762.

170. Puillandre N., Lambert A., Brouillet S., Achaz G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation // Mol Ecol. 2012. Vol. 21, № 8. P. 1864–1877.

171. Ratnasingham S., Hebert P.D.N. BOLD: The Barcode of Life Data System: Barcoding // Molecular Ecology Notes. 2007. Vol. 7. P. 355–364.

172. Ratnasingham S., Hebert, P.D.N. A DNA-Based registry for all animal species: the barcode index number (BIN) system // PLoS ONE. 2013. Vol. 8, №8.
P. 1–16.

173. Ronaghi M., Karamohamed S., Pettersson B., Uhlén M., Nyrén P. Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release // Analytical

biochemistry. 1996. Vol. 242, № 1. P. 84–89.

174. Ronaghi M., Uhlén M., Nyrén P.A sequencing method based on real-time pyrophosphate // Science New York. 1998. Vol. 281, № 5375. P. 363–365.

175. Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D. L., Darling A., Hohna S., Larget B., Liu L., Suchard M. A., Huelsenbeck J. P. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space // Systematic Biology. 2012. Vol. 61, N_{2} 3. P. 539–542.

176. Saitoh K., Sado T., Doosey M.H., Bart H.L., Inoue J.G., Nishida M., Mayden R.L., Miya M. Evidence from mitochondrial genomics supports the lower Mesozoic of South Asia as the time and place of basal divergence of cypriniform fishes (Actinopterygii: Ostariophysi) // Zoological Journal of the Linnean Society. 2011. Vol. 161. P. 633–662.

177. Saitoh K., Sado T., Mayden R.L., Hanzawa N., Nakamura K., Nishida M., Miya M. Mitogenomic evolution and interrelationships of the cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): The first evidence toward resolution of higher-level relationships of the world's largest freshwater fish clade based on 59 whole mitogenome sequences // Journal of Molecular Evolution. 2006. Vol. 63, $N_{\rm P}$ 6. P. 826–841.

178. Saitoh T., Alström P., Nishiumi I., Shigeta Y., Williams D., Olsson U., Ueda K. Old divergences in a boreal bird supports long-term survival through the Ice Ages // BMC Evolutionary Biology. 2010. Vol. 10, № 35. P. 1–13.

179. Saitou N., Nei M. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol Biol Evo. 1987. Vol. 4, № 4. P. 406–425.

180. Sakai H. Population genetics of hybridization in the genus *Tribolodon*, Cyprinidae / eds. N. Mizuno, A. Goto. The freshwater fishes of Japan. Tokai Univ. Press. Tokyo. 1987. P. 18–30.

181. Sakai H. Life-histories and genetic divergence in three species of *Tribolodon* (Cyprinidae) // Mem. Fac. Fish Hokkaido Univ. 1995. Vol. 42. P. 1–98.

182. Sakai H., Amano S. A New Subspecies of Anadromous Far Eastern Dace, *Tribolodon brandtii maruta* subsp. nov.(Teleostei, Cyprinidae) from Japan // Bull.

Natl. Mus. Nat. Sci., Ser.A. 2014. Vol. 40, № 4. P. 219–229.

183. 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.

184. Sakai H., Hamada. K. Electrophoretic discrimination of *Tribolodon* species (Cyprinidae) and the occurrence of their hybrids // Japan. J. Ichthyol. 1985. Vol. 32, № 2. P. 216–224.

185. Sakai H., Ito Y., Shedko S.V., Safronov S.N., Frolov S.V, Chereshnev I.A., Jeon S.-R., Goto A. Phylogenetic and Taxonomic Relationships of Northern Far Eastern Phoxinin Minnows, *Phoxinus* and *Rhynchocypris* (Pisces, Cyprinidae), as Inferred from Allozyme and Mitochondrial 16S rRNA Sequence Analyses // Zoological Science. 2006. Vol. 23. P. 323–331.

186. Sakai H., Yoshii K. A possibility of species discrimination by olfaction of the cyprinid fish genus *Tribolodon* // Jap. J. Ichthyol. 1990. Vol. 37, № 2. P. 194–197.

187. Salminen M.O., Carr J.K., Burke D.S., McCutchan F.E. Identification of breakpoints in intergenotypic recombinants of HIV type 1 by BOOTSCANning // AIDS Res Hum Retroviruses. 1995. Vol. 11. P. 1423–1425.

188. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual // Cold Spring Harbor laboratory press. New York. 1989. 1626 p.

189. 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 & Genetic Systems. 2007. Vol. 82, №4. P. 329–340.

190. Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chainterminating inhibitors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. Vol. 74, № 12. P. 5463–5467.

191. Sauvage H.E. Sur une collection de poissons recuellie dans le lac Biwako (Japon) par MF Steenackers // Bulletin de la Société Philomáthique. Paris. 1883.Vol. 77. P. 144–150.

192. Sawyer S. Statistical tests for detecting gene conversion // Mol. Biol. Evol.1989. Vol. 6. P. 526–538.

193. Schindel D.E., Miller S.E. DNA barcoding a useful tool for taxonomists // Nature. 2005. Vol. 435, № 7038. P. 17.

194. Sevilla R.G., Diez A., Norén M., Mouchel O., Jerome 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 // Mol. Ecol. Notes. 2007. Vol. 7. P. 730–734.

195. Slynko Y.V., Borovikova E.A. Phylogeography of Altai osmans fishes (Oreoleuciscus sp., Cyprinidae, Pisces) inferred from nucleotide variation of the mitochondrial DNA cytochrome b gene // Russian Journal of Genetics. 2012. Vol. 48, N_{2} 6. P. 618–627.

196. Smith M.J. Analyzing the mosaic structure of genes // J. Mol. Evol. 1992.Vol. 34. P. 126–129.

197. Srivathsan A., Meier R. On the inappropriate use of Kimura-2-parameter (K2P) divergences in the DNA-barcoding literature // Cladistics. 2012. Vol. 28. P. 190–194.

198. Steindachner F. Ichthyologische Beitrage (X) // Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Classe. Wien. Sitzungsberichte. Kaiserlichen akademie der wissenschaften. 1881.Vol. 1, № 5. P. 179–222.

199. StatSoft Inc. StatSoft. Statistica Data Analysis Software System, version 7.2005. Retrieved from http://www.statsoft.com/

200. Steinke D., Hanner R. The FISH-BOL collaborators' protocol // Mitochondrial DNA. 2011. Vol. 22, № 1. P. 10–14.

201. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // Molecular Biology and Evolution. 2013. Vol. 30, № 12. P. 2725–2729.

202. Tajima F. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations // Genetics. 1983. Vol. 105. P. 437–460.

203. Tajima F. Measurement of DNA polymorphism / ed. Takahata N., Clark A.G. Mechanisms of Molecular Evolution. Sinauer Associates. Inc. Sunderland. Massachusetts. 1993. P. 37–59.

204. Tang K.L., Agnew M.K., Hirt M.V., Sado T., Schneider L.M., Freyhof J., Sulaiman Z., Swartz E., Vidthayanon C., Miya M., Saitoh K., Simons A.M., Wood R.M., Mayden R. L. Systematics of the subfamily Danioninae (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2010. Vol. 57, № 1. P. 189–214.

205. Travers R.A. Systematic account of collection of fishes from the Mongolian People's Republic: with a review of the hydrobiology of the major Mongolian drainage basins // Bull Br Mus Nat Hist Zool. 1989. P. 173–207.

206. Truett G.E., Heeger P., Mynatt R.L., Truett A.A., Walker J.A., Warman M.L. Preparation of PCR-quality mouse genomic dna with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT) // BioTechniques. 2000. Vol. 29, № 1. P. 52–54.

207. Turanov S.V., Kartavtsev Y.Ph. The Taxonomic Composition and Distribution of Sand Lances from the Genus *Ammodytes* (Perciformes: Ammodytidae) in the North Pacific // Russian Journal of Marine Biology. 2014. Vol. 40, N_{2} 6. P. 447–454.

208. Uchida K. The fishes of Tyosen (Korea) // Bull. Fish. Exp. St. Government-General Tyosen. 1939. Vol. 6. P. 1–458.

209. Ward R.D., Hanner R., Hebert P.D.N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL // Journal of Fish Biology. 2009. Vol. 74. P. 329–356.

210. Ward R.D., Zemlak T.S., Innes B.H., Last P.R., Hebert P.D.N. DNA barcoding Australia's fish species // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences. 2005. Vol. 360. P. 1847–1857.

211. Zolotova A.O. Identification of hybrids between *Tribolodon hakonensis* and *Tribolodon brandtii* using morphological traits and four molecular genetic markers // Molecular Phylogenetics and Biodiversity Biobanking MolPhy-5. 2018. P.66.

212. Zolotova A.O., Kartavtsev Y.Ph. Sequence divergence in the genus *Tribolodon* (Cypriniformes: Cyprinidae) based on mtDNA and nDNA markers and

its applications to the systematics and genetics of speciation of redfin // Scientific and Technological Developments of Research and Monitoring of Marine Biological Resources. 2017a. P. 125.

213. Zolotova A.O., Kartavtsev Y.Ph. Analysis of sequence divergence in Pacific red fin (Cypriniformes: Cyprinidae, *Tribolodon*) based on mtDNA and nDNA markers with inferences in systematics and genetics of speciation // Modern Achievement in population, evolutionary, and ecological genetics international symposium. 2017b. P. 49.

214. Zolotova A.O., Kartavtsev Yu.Ph. Analysis of sequence divergence in redfin (Cypriniformes, Cyprinidae, Tribolodon) based on mtDNA and nDNA markers with inferences in systematics and genetics of speciation // Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis. 2018. Vol. 29. No. 7. P. 975–992.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1 – ДНК маркеры генов исследуемых видов красноперок, *Tribolodon*

Порядковый	Вил/	номер	Номер в BOLD	Маркеры генов
номер	название вида	образца	(наверху);	1 1
1		1	GenBank	
			(внизу для	
			каждого	
			маркера)	
1	T. hakonensis 01	THK13 01	TRIBS022-16	Co-1; Cyt-b
	_	_	KY250578;	, ,
			KY250642	
2	T. hakonensis 02	THK13 02	TRIBS023-16	<i>Co-1: Cvt-b: Rho: ITS-1.2</i>
			KY250577:	
			KY250641:	
			KY250702:	
			KY250505	
3	T hakonensis 03	THK13_03	TRIBS024-16	Co-1: Cyt-b: Rho
5	1. numerionsis_05	111110_00	KY250576	
			KY250640	
			KY250701	
Δ	T hakonensis 04	THK13 04	TRIBS025-16	Co-1: Cyt-h: Rho
-	1. <i>hakonensis_</i> 0+	1111115_04	KY250575	
			KY250639	
			KY250700	
5	T hakonansis 05	THK13 05	TRIBS026 16	Cut h: Pho
5	1. nakonensis_05	111K15_05	KV250638	Суг-д, Кид
			KY250699	
6	T hakonansis 06	THK13 06	TRIBS027 16	Co. 1: Cut h: Pho: ITS 1.2
0	1. nakonensis_00	111K15_00	KV250574	<i>C0-1, Cyl-0, Kn0, 115-1,2</i>
			K1250574, KV250627	
			K1250608	
			K1250098, KV250504	
7	T hakonansis 07	TUK12 07	TDIDS028 16	Co. 1: Cut h: Pho: ITS 1.2
/	1. nukonensis_07	111K15_07	KV250572	<i>C0-1, Cyl-0, Kn0, 113-1,2</i>
			K1250575, KV250636	
			K1250607	
			K1230097, KV250503	
0	Thakananaia 09	TUV12 00	TDIDS020 16	Co. 1. Cut h
0	1. nakonensis_08	111115_00	INIDS029-10 VV250572	CO-1, $Cyl-D$
			K I 230372; VV250625	
0		TUK12 00	K I 230033	C = 1: Cot h: Ph =
9	1. nakonensis_09	IHK15_09	IKIBS050-10	CO-1; Cyt-b; Kno
			KY250624	
			K I 250054;	
10	Thehem 10	THE 12 10	NI 200090	
10	1. nakonensis_10	1HK13_10	1KIBS031-10	<i>Cyt-D; 115-1,2</i>
			KY250633;	
11			KY250502	
11	T. hakonensis_11	THK13_11	TRIBS032-16	Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2
			KY250570;	
			КҮ250632;	
			KY250695;	

		-		
			KY250501	
12	Hybrid	TBK012NT	TRIBS033-16	Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2
	T. hakonensis x	HK0_12	KY250594;	
	T. brandtii _12		KY250662;	
			KY250719;	
			KY250513	
13	T. hakonensis_13	THK13_13	TRIBS034-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250569;	
			KY250631;	
			KY250694	
14	T. hakonensis_14	THK13_14	TRIBS035-16	Co-1; Cyt-b
			KY250568;	
			KY250630	
15	T. hakonensis_15	THK13_15	TRIBS036-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250567;	
			KY250629;	
			KY250693	
16	T. hakonensis_16	THK13_16	TRIBS037-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250566;	
			KY250628;	
			KY250692	
17	T. hakonensis_17	THK13_17	TRIBS038-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250565;	
			KY250627;	
			KY250691	
18	T. hakonensis_18	THK13_18	TRIBS039-16	Cyt-b; Rho
			KY250626;	
			KY250690	
19	T. hakonensis_19	THK13_19	TRIBS160-16	ITS-1,2
• •			KY250496	
20	T. hakonensis_20	THK13_20	TRIBS040-16	Cyt-b; Rho
			KY250625;	
	T I I I I I I I		KY250689	<i>a</i> 1 Pl
21	T. hakonensis_01	THV13_01	TRIBS117-16	Co-1; Rho
			KY250592;	
			KY250717	
22	T. hakonensis_02	THV13_02	TRIBS118-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250591;	
			KY250656;	
			KY250/16	
23	T. hakonensis_04	THV13_04	TRIBS120-16	Cyt-b; Rho
			KY250654;	
2.1			KY250/14	
24	T. hakonensis_05	THV13_05	TRIBS121-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250589;	
			KY25053;	
25			KY250/13	
25	T. hakonensis_07	THV13_07	TRIBS123-16	Co-1; Cyt-b
			KY250588;	
06			KY250652	
26	T. hakonensis_08	THV13_08	TRIBS124-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KI20058/;	
			K1200001;	
		1	KY250/12	

27	T. hakonensis_09	THV13_09	TRIBS125-16	Co-1; Rho
			KY250586;	
			KY250711	
28	T. hakonensis 10	THV13 10	TRIBS126-16	Co-1; Cyt-b; Rho
	_	_	KY250585;	
			KY250650:	
			KY250710	
29	T. hakonensis 12	THV13 12	TRIBS128-16	Co-1: Cvt-h: Rho
			KY250584:	
			KY250649:	
			KY250709	
30	T. hakonensis 13	THV13 13	TRIBS129-16	Co-1; Cvt-b; Rho
	_	_	KY250583;	
			KY250648;	
			KY250708	
31	T. hakonensis 14	THV13 14	TRIBS130-16	Cvt-b: Rho
	_	_	KY250647;	
			KY250707	
32	T. hakonensis 15	THV13 15	TRIBS131-16	Co-1; Rho
	_	_	KY250582;	
			KY250706	
33	T. hakonensis 16	THV13 16	TRIBS132-16	<i>Co-1</i>
			KY250581	
34	T. hakonensis 17	THV13 17	TRIBS133-16	Cyt-b
	_	_	KY250646	
35	T. hakonensis_18	THV13_18	TRIBS134-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250580;	
			KY250645;	
			KY250705	
36	T. hakonensis_19	THV13_19	TRIBS135-16	Co-1; Cyt-b; Rho
			KY250579;	
			KY250644;	
			KY250704	
37	T. hakonensis_20	THV13_20	TRIBS136-16	Rho
			KY250703	
38	T. hakonensis_03	THL13_03	TRIBS082-16	ITS-1,2
			KY250495	
39	T. hakonensis_05	THL13_05	TRIBS084-16	ITS-1,2
			KY250494	
40	T. hakonensis_07	THL13_07	TRIBS086-16	ITS-1,2
			KY250510	
41	T. hakonensis_02	THN13_02		Cyt-b
		_	TRIBS067-16	
			KY250607	
42	T. hakonensis_03	THN13_03	TRIBS068-16	Rho
			KY250676	
43	T. hakonensis_04	THN13_04	TRIBS069-16	Rho
	_	_	KY250675	
44	T. hakonensis 08	THN13 08	TRIBS073-16	Rho
			KY250674	
45	T. hakonensis 02	THA13 02	TRIBS042-16	Cyt-b
			KY250624	
46	T. hakonensis 03	THA13 03	TRIBS043-16	<i>Co-1; Cvt-b; Rho: ITS-1.2</i>
			KY250564;	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
ı				

			KY250623;	
			KY250688;	
15			KY250500	
47	T. hakonensis_04	THA13_04	TRIBS044-16	Cyt-b; Rho
			KY250622;	
40			KY25068/	
48	T. hakonensis_05	THA13_05	TRIBS045-16	Co-1; Rho
			KY250563;	
40		THA 12.00	KY250686	
49	1. hakonensis_06	1HA13_06	TRIBS046-16	Co-1; Cyt-b; Rho; 115-1,2
			KY250562;	
			KY250621;	
			KY250400	
50	The have seen size 07	TUA 12 07	K I 250499	Co. L. Crit he Dha
50	1. nakonensis_07	IHA15_07	IKIBS047-10	Co-1; Cyt-b; Kho
			K1250501, KV250620;	
			K1250620, KV250684	
51	T hakonansis 08	THA13 08	TPIPS048 16	Co. 1: Cyt. h: Rho
51	1. nakonensis_08	111A15_00	KV250560	C0-1, Cyl-b, Khb
			KV250610	
			KY250683	
52	T hakonansis 09	THA13 00	TRIBS0/19-16	C_{0} 1: C_{vt} b: Rho : ITS_{-1} 2
52	1. hukohensis_09	111A15_07	KY250559	C0-1, Cyl-0, Kh0, 115-1,2
			KY250618	
			KY250682	
			KY250498	
53	T. hakonensis 10	THA13 10	TRIBS050-16	Rho: Cvt-b
	11.10000101000210	111110_10	KY250681:	
			KY250617	
54	T. hakonensis 11	THA13 11	TRIBS051-16	Rho; Cyt-b
	_	_	KY250680;	
			KY250616	
55	T. hakonensis_12	THA13_12	TRIBS052-16	Rho; Cyt-b
			KY250679;	
			KY250615	
56	T. hakonensis_13	THA13_13	TRIBS053-16	Rho; Cyt-b
			KY250678;	
			KY250614	
57	T. hakonensis_14	THA13_14	TRIBS054-16	Co-1; Cyt-b
			KY250558;	
			KY250613	
58	T. hakonensis_15	THA13_15	TRIBS055-16	Co-1; Cyt-b
			KY250557;	
			KY250612	
59	T. hakonensis_16	THA13_16	TRIBS056-16	Co-1; Cyt-b
			KY250556;	
			KY250611	
60	T. hakonensis_17	THA13_17	TRIBS057-16	Cyt-b
			KY250610	
61	T. hakonensis_18	THA13_18	TRIBS058-16	Cyt-b
			KY250609	
62	T. hakonensis_19	THA13_19	TRIBS059-16	Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2
			KY250555;	
			KY250608;	
----	------------------------	----------	-------------	-------------
			KY250677;	
			KY250497	
63	T. hakonensis_20	THA13_20	TRIBS060-16	Cyt-b
			KY250643	
64	T. hakonensis 02	THT13 02	TRIBS113-16	ITS-1,2
	_		KY250509	
65	T. hakonensis 04	THT13 04	TRIBS115-16	ITS-1,2
	_		KY250508	
66	T. hakonensis 05	THT13 05	TRIBS116-16	ITS-1,2
			KY250507	
67	T. brandtii 02	TBK13 02	TRIBS002-16	Co-1
	_		KY250527	
68	T. brandtii 03	TBK13 03	TRIBS003-16	Co-1
	_		KY250528	
69	T. brandtii_04	TBK13_04	TRIBS004-16	Co-1
			KY250529	
70	T. brandtii_05	TBK13_05	TRIBS005-16	Co-1; Cyt-b
		_	KY250531;	
			KY250598	
71	T. brandtii_06	TBK13_06	TRIBS006-16	Co-1
			KY250540	
72	T. brandtii_07	TBK13_07	TRIBS007-16	<i>Co-1</i>
			KY250541	
73	T. brandtii_08	TBK13_08	TRIBS008-16	Co-1
			KY250542	
74	T. brandtii_09	TBK13_09	TRIBS009-16	Co-1; Rho
			KY250538;	
			KY250665	
75	T. brandtii_10	TBK13_10	TRIBS010-16	Co-1; Rho
			KY250547;	
			KY250667	
76	<i>T. brandtii</i> _11	TBK13_11	TRIBS011-16	Co-1
			KY250554	
77	T. brandtii_12	TBK13_12	TRIBS012-16	Co-1; Rho
			KY250553;	
			KY250672	
78	T. brandtii_13	TBK13_13	TRIBS013-16	Co-1; Rho
			KY250552;	
			KY250671	
79	T. brandtii_14	TBK13_14	TRIBS014-16	Co-1; Rho
			KY250551;	
			KY250670	
80	T. brandtii_15	TBK13_15	TRIBS015-16	Co-1; Rho
			KY250550;	
			KY250669	
81	T. brandtii_16	TBK13_16	TRIBS016-16	<i>Co-1</i>
			KY250549	
82	T. brandtii_17	TBK13_17	TRIBS017-16	Rho
			KY250668	
83	T. brandtii_18	TBK13_18	TRIBS018-16	<i>Co-1</i>
			KY250548	
84	T. brandtii_19	TBK13_19	TRIBS019-16	<i>Co-1</i>
			KY250595	

85	T. brandtii_20	TBK13_20	TRIBS020-16	<i>Co-1</i>
			KY250546	
86	T. brandtii_02	TBV13_02	TRIBS138-16	Co-1; Cyt-b
			KY250526;	
			KY250597	
87	T. brandtii_03	TBV13_03	TRIBS139-16	Co-1; Cyt-b
			KY250525;	
			KY250596	
88	T. brandtii_06	TBV13_06	TRIBS142-16	Co-1
			KY250524	
89	T. brandtii_07	TBV13_07	TRIBS143-16	<i>Co-1</i>
			KY250523	
90	T. brandtii_09	TBV13_09	TRIBS145-16	<i>Co-1</i>
			KY250545	
91	<i>T. brandtii</i> _10	TBV13_10	TRIBS146-16	<i>Co-1</i>
			KY250544	
92	<i>T. brandtii</i> _11	TBV13_11	TRIBS147-16	<i>Co-1</i>
			KY250543	
93	<i>T. brandtii</i> _14	TBV13_14	TRIBS150-16	Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2
			KY250539;	
			KY250605;	
			KY250666;	
			KY250493	
94	<i>T. brandtii</i> _15	TBV13_15	TRIBS151-16	Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2
			KY250537;	
			KY250604;	
			KY250664;	
			KY250492	
95	<i>T. brandtii</i> _16	TBV13_16	TRIBS152-16	Co-1; Cyt-b
			KY250536;	
			KY250603	
96	<i>T. brandtii</i> _17	TBV13_17	TRIBS153-16	Co-1; Cyt-b
			KY250535;	
			KY250602	
97	T. brandtii_18	TBV13_18	TRIBS154-16	Co-1; Cyt-b
			KY250534;	
			KY250601	~ . ~ .
98	T. brandtii_19	TBV13_19	TRIBS155-16	Co-1; Cyt-b
			KY250533;	
			KY250600	
99	T. brandtii_20	TBV13_20	TRIBS156-16	<i>Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2</i>
			KY250532;	
			KY250599;	
			KY250663;	
100			KY250491	
100	Hybrid	TBV03NT	TRIBS119-16	Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2
	1. hakonensis x	HV03_03	KY250590;	
	1. brandtu_03		KY250555;	
			K1230/13;	
101		TOL 12 01	K I 20000	
101	1. brandtu_03	1SL13_01	1KIBS0/9-16	C0-1
102	T h 1.: 01	TDN12 01	KI230330	Cut h
102	1. pranatii_01	1BN13_01	1KID5002-10	Cyt-D
			IX I 230000	

103	T. sachalinensis_02	TSP13_02	TRIBS108-16	Co-1; Cyt-b; Rho; ITS-1,2
			KY250593;	
			KY250661;	
			KY250718;	
			KY250512	
104	T. sachalinensis_03	TSP13_03	TRIBS109-16	Cyt-b
			KY250658	
105	T. sachalinensis_04	TSP13_04	TRIBS110-16	ITS
			KY250511	
106	T. sachalinensis_05	TSP13_05	TRIBS111-16	Cyt-b
			KY250657	
107	T. sachalinensis_02	TSN13_02	TRIBS063-16	Cyt-b
			KY250659	
108	T. sachalinensis_04	TSN13_04	TRIBS065-16	Cyt-b
			KY250660	
109	T. sachalinensis_09	THN13_09	TRIBS074-16	Rho
			KY250673	

Таблица 2 – Список исследованных последовательностей видов, сем. Leuciscus и номера доступа в генном банке (GenBank) по гену *Cyt-b*

Номер	Номера доступа	Виды	Локальности
	в генном		
	(GenBank)		
1	KP942598	Oreoleuciscus potanini 1	Алтайский край (озеро Колдинголь)
2	KP942599	Oreoleuciscus potanini 2	Алтайский край (озеро Колдинголь)
3	KP942600	Oreoleuciscus potanini 3	Алтайский край (озеро Коллинголь)
			11000,41111 0012)
4	KP942601	Oreoleuciscus potanini 4	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
5	KP942602	Oreoleuciscus potanini 5	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
6	KP942603	Oreoleuciscus potanini 6	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
7	KP942604	Oreoleuciscus potanini 7	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
8	KP942605	Oreoleuciscus potanini 8	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
9	KP942606	Oreoleuciscus potanini 9	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
10	KP942607	Oreoleuciscus potanini 10	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
11	KP942608	Oreoleuciscus potanini 26	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)

12	KP942609	Oreoleuciscus potanini 27	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
13	KP942610	Oreoleuciscus potanini 28	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
14	KP942611	Oreoleuciscus potanini 29	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
15	KP942612	Oreoleuciscus potanini 30	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
16	KP942613	Oreoleuciscus potanini 31	Алтайский край (озеро Узинкель)
17	KP942614	Oreoleuciscus potanini 32	Алтайский край (озеро
			Узинкель)
18	KP942615	Oreoleuciscus potanini 33	Алтайский край (озеро
			Колдинголь)
19	KP942616	Oreoleuciscus potanini 34	Алтайский край (озеро
			узинкель)
20	KP942617	Oreoleuciscus potanini 35	Алтайский край (озеро Колдинголь)
21	KR819909	Oreoleuciscus potanini Al35	Республика Тува, Кош-
			Агач
22	KR819907	Oreoleuciscus potanini 36	Алтайский край (озеро Узинкель)
22	KD910009		
23	KK819908	Oreoleuciscus potanini 37	Алтаиский край (озеро Узинкель)
24	KP942597	Oreoleuciscus humilis T2	Республика Тува
			(бассейн озера Увс-
25			
25	КР942596	Oreoleuciscus humilis T5	Респуолика Тува (бассейн озера Увс-
			Нуур, река Тес-Хем)
26	KP942595	Oreoleuciscus humilis T6	Республика Тува
			(бассейн озера Увс-

			Нуур, река Тес-Хем)
27	KP942594	Oreoleuciscus humilis T7	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тогалык)
28	AB198955	Tribolodon hakonensis	GenBank
29	AB198956	Tribolodon hakonensis	GenBank
30	AB198957	Tribolodon hakonensis	GenBank
31	AB198967	Tribolodon nakamurai	GenBank
32	AB198968	Tribolodon nakamurai	GenBank
33	AB218896	Tribolodon nakamurai	GenBank
34	AB198962	Tribolodon brandtii	GenBank
35	AB198963	Tribolodon brandtii	GenBank
36	AB198964	Tribolodon brandtii	GenBank
37	AB162649	Pseudaspius leptocephalus	GenBank
38	NC008681	Pseudaspius leptocephalus	GenBank
39	AP009058	Pseudaspius leptocephalus	GenBank
40	AB198970	Pseudaspius leptocephalus	GenBank
41	AB198965	Tribolodon sachalinensis	GenBank
42	AB198966	Tribolodon sachalinensis	GenBank
43	AB162643	Tribolodon sachalinensis	GenBank
44	AB162644	Tribolodon sachalinensis	GenBank
45	AY026395	Leuciscus waleckii	GenBank
46	AB162651	Leuciscus waleckii	GenBank

47	AP009151	Phoxinus eos	GenBank
48	EF094550	Phoxinus phoxinus	GenBank
49	EU755036	Phoxinus phoxinus	GenBank
50	EU352213	Phoxinus phoxinus	GenBank
51	KR819892	Phoxinus ujmonensis 11	Алтайский край (озеро Колдинголь)
52	KR819893	Phoxinus ujmonensis 12	Алтайский край (озеро Колдинголь)
53	KR819894	Phoxinus ujmonensis 13	Алтайский край (озеро Колдинголь)
54	KR819895	Phoxinus ujmonensis 14	Алтайский край (озеро Колдинголь)
55	KR819896	Phoxinus ujmonensis 15	Алтайский край (озеро Колдинголь)
56	KR819897	Phoxinus ujmonensis 16	Алтайский край (озеро Колдинголь)
57	KR819898	Phoxinus ujmonensis 17	Алтайский край (озеро Колдинголь)
58	KR819899	Phoxinus ujmonensis18	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)
59	KR819900	Phoxinus ujmonensis 19	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)
60	KR819901	Phoxinus ujmonensis 20	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)
61	KR819902	Phoxinus ujmonensis 21	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)

62	KR819903	Phoxinus ujmonensis 22	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)
63	KR819904	Phoxinus ujmonensis 23	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)
64	KR819905	Phoxinus ujmonensis 24	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)
65	KR819906	Phoxinus ujmonensis 25	Республика Тува (бассейн озера Увс- Нуур, река Тес-Хем)
66	EU979306	Mylo piceus	GenBank
67	DQ026435	Mylo piceus	GenBank
68	EU979307	Mylo piceus	GenBank
69	EU979305	Mylo piceus	GenBank

Примечание: номера 1-27, 58-65 – собственные данные.

.

Таблица 3 – Число лучей в дорзальном плавнике (D) трех исследованных видов красноперок рода *Tribolodon*

Вид	Географический район	Мин.	Макс.	Среднее	SD	SE
T. hakonensis	Приморский край, б. Киевка	10	11	10,050	0,224	0,049
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Лютога	10	11	10,115	0,326	0,064
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Найба	9	10	9,909	0,302	0,091
T. hakonensis	о. Сахалин, зал. Анива	10	11	10,063	0,250	0,063
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Тымь	10	10	10,000	0,000	0,000
T. brandtii	Приморский край, б. Киевка	10	11	10,059	0,243	0,061
T. brandtii	о. Сахалин, р. Лютога	10	10	10,000	0,000	0,000
T. brandtii	о. Сахалин, р. Найба	10	10	10,000	0,000	0,000
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Пиленга	9	10	9,800	0,447	0,200
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Найба	10	10	10,000	0,000	0,000

Таблица 4 – Число лучей в анальном плавнике (А) трех исследованных видов красноперок рода *Tribolodon*

Вид	Географический район	Мин.	Макс.	Среднее	SD	SE
T. hakonensis	Приморский край, б.	9	10	9,050	0,224	0,058
	КИЕВКА					
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Лютога	10	11	10,308	0,471	0,092
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Найба	9	10	9,273	0,467	0,141
T. hakonensis	о. Сахалин, зал. Анива	9	11	9,938	0,443	0,111
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Тымь	9	11	9,800	0,837	0,374
T. brandtii	Приморский край, б. Киевка	10	11	10,118	0,332	0,083
T. brandtii	о. Сахалин, р. Лютога	10	11	10,333	0,577	0,333
T. brandtii	о. Сахалин, р. Найба	9	9	9,000	0,000	0,000
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Пиленга	10	11	10,200	0,447	0,200
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Найба	9	9	9,000	0,577	0,333

Таблица 5 – Число лучей в грудном плавнике (Р) трех исследованных видов красноперок рода *Tribolodon*

Вид	Географический район	Мин.	Макс.	Среднее	SD	SE
T. hakonensis	Приморский край, б.	14	17	15,714	0,875	0,191
	Киевка					
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Лютога	14	19	15,308	1,123	0,220
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Найба	14	18	16,091	1,136	0,343
T. hakonensis	о. Сахалин, зал. Анива	14	17	15,250	0,683	0,171
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Тымь	16	18	16,600	0,894	0,400
T. brandtii	Приморский край, б. Киевка	15	18	16,353	0,862	0,212
T. brandtii	о. Сахалин, р. Лютога	14	16	15,000	0,798	0,577
T. brandtii	о. Сахалин, р. Найба	15	17	16,000	1,414	1,000
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Пиленга	15	16	15,800	0,447	0,200
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Найба	15	16	15,500	0,577	0,333

Таблица 6 – Число лучей в брюшном плавнике (V) трех исследованных видов красноперок рода *Tribolodon*

Вид	Географический район	Мин.	Макс.	Среднее	SD	SE
T. hakonensis	Приморский край, б.	9	10	9,950	0,224	0,049
	Киевка					
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Лютога	9	10	9,038	0,196	0,038
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Найба	8	10	9,000	0,447	0,135
T. hakonensis	о. Сахалин, зал. Анива	9	10	9,063	0,250	0,063
T. hakonensis	о. Сахалин, р. Тымь	9	9	9,000	0,000	0,000
T. brandtii	Приморский край, б. Киевка	10	10	10,000	0,000	0,000
T. brandtii	о. Сахалин, р. Лютога	9	9	9,000	0,000	0,000
T. brandtii	о. Сахалин, р. Найба	9	10	9,500	0,707	0,500
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Пиленга	9	10	9,200	0,447	0,200
T. sachalinensis	о. Сахалин, р. Найба	9	9	9,000	0,000	0,000

Вид (место	Т	А	A1	A2	C	C1	C2
сбора)/позвоночный							
отдел (SD; SE)							
<i>T. brandtii</i> (б. Киевка)	47,000	27,118	14,647	5,471	19,882	0,059	19,882
	±0,500;	±0,332;	±0,606;	±0,514;	±0,485;	±0,243;	±0,485;
	±0,107	±0,083	±0,146	±0,125	±0,107	±0,000	±0,107
<i>T. brandtii</i> (о. Сахалин,	48,000	27,500	15,500	4,500	20,500	0,000	20,500
р. Найба)	±1,414;	±0,707;	±0,707;	±0,707;	±0,707;	±0,000;	±0,707;
	±0,870	$\pm 0,500$	±0,500	$\pm 0,500$	±0,500	±0,000	±0,500
<i>T. brandtii</i> (о. Сахалин,	46,667	26,667	15,000	5,000	20,000	0,333	19,667
р. Лютога)	±0,577;	±0,577;	±0,000;	±0,000;	±0,000;	±0,577;	±0,577;
	±0,333	±0,333	±0,000	±0,000	±0,000	±0,333	±0,333
<i>T. hakonensis</i> (б.Киевка)	48,389	27,944	15,444	5,889	20,333	0,167	20,211
	±0,608;	±0,725;	±0,616;	±0,758;	±0,686;	±0,383;	±0,809;
	±0,141	±0,151	±0,138	±0,157	±0,141	±0,079	±0,141
T. hakonensis (o.	47,000	26,909	15,182	4,909	20,091	0,455	19,900
Сахалин, р. Найба)	±1,095;	±0,701;	±0,405;	±0,831;	±0,831;	±0,522;	±0,738;
	±0,330	±0,211	±0,122	±0,251	±0,251	±0,157	±0,251
T. hakonensis (o.	47,269	27,269	15,077	5,038	20,000	0,077	19,600
Сахалин, р. Лютога)	±0,874;	±0,874;	±0,628;	±0,720;	±0,632;	±0,272;	±0,628;
	±0,171	±0,171	±0,123	±0,141	±0,124	±0,053	±0,124
T. hakonensis (o.	47,600	27,200	15,000	4,6	19,800	0,000	19,800
Сахалин, р. Тымь)	±0,894;	±0,447;	±0,000;	±0,548;	±1,095;	±0,000;	±1,095;
	±0,400	±0,200	±0,000	±0,245	±0,490	±0,000	±0,200
T. hakonensis (o.	47,000	27,125	15,188	5,250	19,875	0,125	19,75
Сахалин, зал. Анива)	±0,966;	±0,719;	±0,403;	±0,577;	±0,719;	±0,342;	±0,775;
	±0,242	±0,180	±0,101	±0,144	±0,180	±0,085	±0,144

Таблица 7 – Среднее число позвонков с SD и SE трёх видов рода *Tribolodon* из 6 мест вылова

T. sachalinensis (o.	45,000	25,500	15,000	4,500	19,500	0,500	19,000
Сахалин, р. Найба)	±0,000;	±0,100;	±0,000;	±0,577;	±0,100;	±0,577;	±0,100;
	±0,000	±0,577	±0,000	±0,333	±0,577	±0,333	±0,577
T. sachalinensis (o.	44,400	26,000	14,800	4,000	18,400	0,600	17,800
Сахалин, р. Пиленга)	±0,894;	±0,707;	±0,447;	±0,707;	±0,548;	±0,548;	±0,447;
	±0,400	±0,316	±0,200	±0,316	±0,245	±0,245	±0,216

Примечание: Т - общее число позвонков; А - туловищные позвонки (включая веберовские); А1 - предорсальные позвонки (включая веберовские); А2 - промежуточные позвонки; С - хвостовые позвонки; С1 - преанальные хвостовые позвонки; С2 - постанальные хвостовые позвонки.

Таблица 8 – Значения критерия Манна-Уитни для исследованных отделов позвоночника, попарное сравнение трёх видов рода *Tribolodon* из шести мест вылова

Выборки	THA	THL	THN	THT	ТНК	TBL	TBN	TBK	TSP	TSN
THA	-	C=0,5865;	C=0,1625;	C=0,9014;	C=0,0909;	C=0,7373;	C=0,2920;	C=0,9139;	C=0,0024;	C=0,1319;
		C1=0,7956;	C1=0,2463;	C1=0,6797;	C1=0,8360;	C1=0,5762;	C1=0,7787;	C1=0,7458;	C1=0,0337;	C1=0,0398;
THL	T=0.4372:	-	C=0.1917:	C=0.8775;	C=0.0944;	C=1.0000;	C=0.3489;	C=0.5284;	C=0.0005;	C=0.0576;
	A=0,5257;		C1=0,0216;	C1=0,5282;	C1=0,3619;	C1=0,4739;	C1=0,8584;	C1=0,8219;	C1=0,0041:	C1=0,0059;
	A1=0,6597;									
	A2=0,3999;									
THN	T=0,7719;	T=0,6501;	-	C=0,3755;	C=0,7456;	C=0,2987;	C=0,5600;	C=0,0427;	C=0,0011;	C=0,0256;
	A=0,4768;	A=0,1854;		C1=0,1106;	C1=0,1797;	C1=0,8415;	C1=0,2943;	C1=0,0306;	C1=0,4795;	C1=0,4350;
	A1=0,9580;	A1=0,6104;								
	A2=0,3041;	A2=0,6226;								
THT	T=0,3423;	T=0,6028;	T=0,4225;	-	C=0,2880;	C=1,0000;	C=0,4386;	C=0,8447;	C=0,0601;	C=0,2967;
	A=0,9014;	A=0,6820;	A=0,4028;		C1=0,3384;	C1=0,4560;	C1=1,0000;	C1=0,8447;	C1=0,1172;	C1=0,1360;
	A1=0,5357;	A1=0,7448;	A1=0,2994;							
	A2=0,0829;	A2=0,2063;	A2=0,5541;							
THK	T=0,0002;	T=0,0001;	T=0,0016;	T=0,0529;	-	C=0,3657;	C=0,8011;	C=0,0556;	C=0,0014;	C=0,0444;
	A=0,0083;	A=0,0145;	A=0,0030;	A=0,0397;		C1=0,6511;	C1=0,7055;	C1=0,5860;	C1=0,1461;	C1=0,1748;
	A1=0,1841;	A1=0,0577;	A1=0,2040;	A1=0,0875;						
	A2=0,0272;	A2=0,0014;	A2=0,0100;	A2=0,0045;						

TBL	T=0,5023;	T=0,2101;	T=0,3543;	T=0,1797;	T=0,0090;	-	C=0,3865;	C=0,7508;	C=0,0253;	C=0,1904;
	A=0,3419;	A=0,2101;	A=0,6400;	A=0,2967;	A=0,0270;		C1=0,5637;	C1=0,4587;	C1=0,5510;	C1=0,5127;
	A1=0,6149;	A1=0,8299;	A1=0,4185;	A1=1,0000;	A1=0,2278;					
	A2=0,5023;	A2=0,9145;	A2=0,7852;	A2=0,3711;	A2=0,0704;					
TBN	T=0,2920;	T=0,42201;	T=0,3561;	T=0,6985;	T=0,6592;	T=0,2482;	-	C=0,2319;	C=0,0528;	C=0,1489;
	A=0,5273;	A=0,7549;	A=0,2943;	A=0,5613;	A=0,4497;	A=0,2482;		C1=0,8943;	C1=0,2453;	C1=0,2482;
	A1=0,4824;	A1=0,4221;	A1=0,3918;	A1=0,3329;	A1=0,9498;	A1=0,3865;				
	A2=0,1820;	A2=0,3489;	A2=0,5672;	A2=0,8465;	A2=0,0588;	A2=0,3865;				
TBK	T=0,8149;	T=0,1456;	T=0,6095;	T=0,2100;	T=0,0000;	T=0,4273;	T=0,2588;	-	C=0,0020;	C=0,1248;
	A=0,8854;	A=0,2718;	A=0,3109;	A=0,7839;	A=0,0015;	A=0,2664;	A=0,3879;		C1= 0,0716;	C1=0,1009;
	A1=0,0233;	A1=0,0329;	A1=0,0190;	A1=0,2399;	A1=0,0027;	A1=0,3408;	A1=0,1439;			
	A2=0,3490;	A2=0,0500;	A2=0,0754;	A2=0,0231;	A2=0,1290;	A2=0,2040;	A2=0,0968;			
TSP	T=0,0011;	T=0,0004;	T=0,0017;	T=0,0090;	T=0,0008;	T=0,0253;	T=0,0528;	T=0,0009;	-	C=0,3711;
	A=0,0124;	A=0,0072;	A=0,0493;	A=0,0283;	A=0,0015;	A=0,2330;	A=0,0814;	A=0,0061;		C1=0,8815;
	A1=0,0909;	A1=0,3427;	A1=0,1144;	A1=0,6015;	A1=0,0678;	A1=0,6547;	A1=0,2453;	A1=0,5834;		
	A2=0,0034;	A2=0,0124;	A2=0,0771;	A2=0,2101;	A2=0,0017;	A2=0,0736;	A2=0,4386;	A2=0,0029;		
TSN	T=0,0093;	T=0,0047;	T=0,0085;	T=0,0254;	T=0,0067;	T=0,0495;	T=0,0833;	T=0,0070;	T=0,3711;	-
	A=0,0629;	A=0,0438;	A=0,1480;	A=0,1011;	A=0,0138;	A=0,3827;	A=0,1489;	A=0,0567;	A=1,0000;	
	A1=0,1326;	A1=0,7985;	A1=0,4185;	A1=0,8815;	A1=0,2278;	A1=1,0000;	A1=0,3865;	A1=0,3408;	A1=0,6547;	
	A2=0,4263;	A2=0,3885;	A2=0,7184;	A2=1,0000;	A2=0,0348;	A2=0,5127;	A2=0,7728;	A2=0,0807;	A2=0,2330;	

Примечание: ТНА - *T. hakonensis* (о. Сахалин, зал. Анива); ТНС - *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Лютога); ТНК - *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Найба); ТНТ - *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Тымь); ТНК - *T. hakonensis* (Приморский край, б. Киевка); ТВС - *T. brandtii* (о. Сахалин,

р. Лютога); ТВN - *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Найба); ТВК - *T. brandtii* (Приморский край, б. Киевка); ТSP - *T. sachalinensis* (о. Сахалин, р. Пиленга); TSN - *T. sachalinensis* (о. Сахалин, р. Найба); Т - общее число позвонков; А - туловищные позвонки (включая веберовские); А1 - предорсальные позвонки (включая веберовские); А2 - промежуточные позвонки; С - хвостовые позвонки; С1 - преанальные хвостовые позвонки. Ниже диагонали представлены значения для T, A, A1, A2. Выше диагонали представлены значения для C, C1. Жирным шрифтом выделены статистически значимые величины Критерия Манна-Уитни *P*≤0,05.

Вид (локальность), способ подсчета чешуй (SD; SE)	В	В	Над	Над	Под
	боковой	боковой	боковой	боковой	боковой
	линии	линии	линией	линией от	линией от
	до SL	общее	общее	основания	основания
				D	V
Т. brandtii (б. Киевка, Приморский край)	82,706	85,118	86,235	16,265	11,912
	±3,687;	±3,655;	±3,734;	±1,091;	±0,795;
	±0,912	±0,907	±0,934	±0,262	±0,197
<i>T. brandtii</i> (р. Найба, о. Сахалин)	78,500	80,500	81,500	16,500	12,500
	±2,121;	±2,121;	±2,121;	±1,414;	±0,000;
	±1,500	±1,500	±1,500	±1,000	±0.000
<i>T. brandtii</i> (р. Лютога, о. Сахалин)	78,000	80,333	81,333	16,833	11,833
	±3,464;	±3,215;	±3,215;	±0,577;	±0,577;
	±1,856	±1,856	±1,856	±0,333	±0,333

Таблица 9 – среднее число чешуй с SD и SE трёх видов рода Tribolodon из 6 мест вылова

Т. hakonensis (б. Киевка, Приморский край)	78,421	80,474	81,053	14,395	9,921
	±3,006;	±2,796;	±2,592;	±0,875;	±0,507;
	±0,720	±0,667	±0,624	±0,205	±0,115
<i>T. hakonensis</i> (р. Найба, о. Сахалин)	74,182	76,364	76,727	14,045	10,409
	±2,892;	±2,942;	±3,036;	±1,368;	±1,221;
	±0,872	$\pm 0,887$	±0,915	±0,413	±0,368
<i>T. hakonensis</i> (р. Лютога, о. Сахалин)	72,808	75,654	76,769	14,538	10,462
	±2,433;	±2,828;	±2,861;	±0,720;	±0,720;
	±0,477	±0,555	±0,561	±0,141	±0,141
<i>T. hakonensis</i> (р. Тымь, о. Сахалин)	73,600	75,800	77,000	14,500	11,100
	±3,050;	±3,194;	±3,391;	±0,707;	±0,547;
	±1,364	±1,428	±1,517	±0,316	±0,245
<i>T. hakonensis</i> (зал. Анива, о. Сахалин)	72,813	75,813	76,063	14,625	10,125
	±2,105;	±2,040;	±2,205;	±0,719;	±0,500;
	±0,526	±0,510	±0,551	±0,180	±0,125
<i>T. sachalinensis</i> (р. Найба, о. Сахалин)	72,000	74,500	75,000	16,500	13,000
	±4,163;	±3,606;	±3,055;	±1,000;	±0,577;
	±2,404	±2,082	±1,764	±0,577	±0,333
T. sachalinensis (р. Пиленга, о. Сахалин)	72,600	75,200	77,200	17,700	13,700
	±3,209;	±3,337;	±3,194;	±0.837;	±1,095;
	±1,435	±1,497	±1,428	±0,374	±0,490

Таблица 10 – Значения критерия Манна-Уитни для числа чешуй, попарное сравнение трёх исследованных видов рода *Tribolodon* из шести мест вылова

Выборк	THA	THL	THN	THT	ТНК	TBL	TBN	TBK	TSP	TSN
THA	-	AbLS=0,7658;	AbLS=0,0190;	AbLS=0,8365;	AbLS=0,4562;	AbLS=0,0101;	AbLS=0,0492;	AbLS=0,0001;	AbLS=0,0004;	AbLS=0,0073;
		UnLS=0,1698;	UnLS=0,7922;	UnLS=0,0132;	UnLS=0,3985;	UnLS=0,0073;	UnLS=0,0246;	UnLS=0,0000;	UnLS=0,0004;	UnLS=0,0034;
THL	SSL=0,1698;	-	AbLS=0,0198;	AbLS=0,9754;	AbLS=0,5529;	AbLS=0,0027;	AbLS=0,0220;	AbLS=0,0000;	AbLS=0,0002;	AbLS=0,0051;
	AS=0,6318;		UnLS=0,3585;	UnLS=0,0430;	UnLS=0,0086;	UnLS=0,0080;	UnLS=0,0128;	UnLS=0,0000;	UnLS=0,0002;	UnLS=0,0024;
	AAbS=0,4526;									
THN	SSL=0,2684;	SSL=0,8737;	-	AbLS=0,1066;	AbLS=0,0883;	AbLS=0,0141;	AbLS=0,0442;	AbLS=0,0003;	AbLS=0,0021;	AbLS=0,0184;
	AS=0,3295;	AS=0,4691;		UnLS=0,0124;	UnLS=0,2729;	UnLS=0,0057;	UnLS=0,0161;	UnLS=0,0000;	UnLS=0,0012;	UnLS=0,0057;
	AAbS=0,1625;	AAbS=0,1577;								
THT	SSL=0,3859;	SSL=0,5313;	SSL=0,4517;	-	AbLS=0,7627;	AbLS=0,0254;	AbLS=0,0814;	AbLS=0,0048;	AbLS=0,0078;	AbLS=0,0314;
	AS=0,7412;	AS=0,7245;	AS=0,9002;		UnLS=0,0021;	UnLS=0,1797;	UnLS=0,0528;	UnLS=0,0378;	UnLS=0,0072;	UnLS=0,0203;
	AAbS=0,4574;	AAbS=0,3834;	AAbS=0,9013;							
THK	SSL=0,0000;	SSL=0,0000;	SSL=0,0010;	SSL=0,0378;	-	AbLS=0,0045;	AbLS=0,0429;	AbLS=,0000;	AbLS=0,0005;	AbLS=0,0105;
	AS=0,0000;	AS=0,0000;	AS=0,0026;	AS=0,0256;		UnLS=0,0027;	UnLS=0,0110;	UnLS=,0000;	UnLS=0,0003;	UnLS=0,0027;
	AAbS=0,0000;	AAbS=0,0000;	AAbS=0,0015;	AAbS=0,0163;						
TBL	SSL=0,0139;	SSL=0,0164;	SSL=0,0196;	SSL=0,1360;	SSL=0,8472;	-	AbLS=0,7609;	AbLS=0,3735;	AbLS=0,1557;	AbLS=0,6374;
	AS=0,0189;	AS=0,0190;	AS=0,0594;	AS=0,0736;	AS=0,9230;		UnLS=0,1824;	UnLS=0,9519;	UnLS=0,0303;	UnLS=0,0679;
	AAbS=0,0189;	AAbS=0,0071;	AAbS=0,0874;	AAbS=0,1011;	AAbS=0,9231;					
TBN	SSL=0,0351;	SSL=0,0330;	SSL=0,0288;	SSL=0,0814;	SSL=0,7172;	SSL=0,7671;	-	AbLS=0,8339;	AbLS=0,2235;	AbLS=1,0000;
	AS=0,0351;	AS=0,0309;	AS=0,0503;	AS=0,0528;	AS=0,8560;	AS=0,7671;		UnLS=0,1877;	UnLS=0,0943;	UnLS=0,1824;
	AAbS=0,0351;	AAbS=0,0185;	AAbS=0,0503;	AAbS=0,0528;	AAbS=0,9038;	AAbS=0,5536;				
TBK	SSL=0,0000;	SSL=0,0000;	SSL=0,0000;	SSL=0,0010;	SSL=0,0000;	SSL=0,0549;	SSL=0,0446;	-	AbLS=0,0147;	AbLS=0,7809;

	AS=0,0000;	AS=0,0000;	AS=0,0000;	AS=0,0008;	AS=0,0003;	AS=0,0606;	AS=0,0440;		UnLS=0,0031;	UnLS=0,0255;
	AAbS=0,0000;	AAbS=0,0000;	AAbS=0,0000;	AAbS=0,0008;	AAbS=0,0010;	AAbS=0,0783;	AAbS=0,0703;			
TSP	SSL=0,3587;	SSL=0,6044;	SSL=0,7078;	SSL=1,0000;	SSL=0,0290;	SSL=0,1337;	SSL=0,1213;	SSL=0,0011;	-	AbLS=0,1219;
	AS=0,7056;	AS=0,7453;	AS=0,6642;	AS=0,9139;	AS=0,0135;	AS=0,0970;	AS=0,0786;	AS=0,0008;		UnLS=0,4911;
	AAbS=0,9332;	AAbS=0,9783;	AAbS=0,3874;	AAbS=0,5245;	AAbS=0,0052;	AAbS=0,0471;	AAbS=0,0528;	AAbS=0,0008;		
TSN	SSL=0,7328;	SSL=0,8268;	SSL=0,9311;	SSL=0,6468;	SSL=0,0302;	SSL=0,0765;	SSL=0,0833;	SSL=0,0066;	SSL=0,6508;	-
	AS=0,6498;	AS=0,6910;	AS=0,8639;	AS=0,8786;	AS=0,0661;	AS=0,1840;	AS=0,1386;	AS=0,0065;	AS=0,7642;	
	AAbS=0,6110;	AAbS=0,4239;	AAbS=0,8633;	AAbS=0,8793;	AAbS=0,0736;	AAbS=0,2683;	AAbS=0,1386;	AAbS=0,0077;	AAbS=0,5486;	

Примечание: ТНА - *T. hakonensis* (о. Сахалин, зал. Анива); ТНL - *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Лютога); ТНN - *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Найба); ТНТ - *T. hakonensis* (о. Сахалин, р. Тымь); ТНК - *T. hakonensis* (Приморский край, б. Киевка); ТВL - *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Лютога); ТВN - *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Лютога); ТВN - *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Лютога); ТВN - *T. brandtii* (о. Сахалин, р. Найба); ТВК - *T. brandtii* (Приморский край, б. Киевка); ТSP - *T. sachalinensis* (о. Сахалин, р. Пиленга); ТSN - *T. sachalinensis* (о. Сахалин, р. Найба). Ниже диагонали представлены значения: SSL - число чешуй в боковой линии до SL; АS - общее число чешуй в боковой линии; AAbS - число чешуй над боковой линией общее. Выше диагонали представлены значения: AbLS - число чешуй над боковой линией от основания D; UnLS - число чешуй под боковой линией от основания V. Жирным шрифтом выделены статистически значимые величины Критерия Манна-Уитни *P*≤0,05.

Таблица 11 – среднее значение промеров со стандартным отклонением и стандартной ошибкой для трёх видов рода *Tribolodon* из 6 мест вылова

Номер	Сравниваемые	THA	THL	THN	THT	THK	TBL	TBN	TBK	TSP	TSN
промера	промеры (%	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
промери	/доли) (SD; SE) /	(№1)	(№2)	(No3)	(№4)	(№5)	(№6)	(№7)	(№8)	(№9)	(№10)
	Вид			(123)							
	(место сбора)										
1	Процент высоты	24,35	24,026	24,493	25,772	23,729	24,881	27,322	22,682	25,180	25,567
	тела в районе основания	±1,392;	±0,916;	±1,336;	±1,188;	±1,540;	±0,355;	±1,598;	±1,285;	±0,842;	±1,557;
	дорзального плавника от	±0,348	±0,180	±0,403	±0,531	±0,375	±0,205	±1,130	±0,308	±0,377	±0,899
	длины тела до SL (%)										
2	Отношение	10,483	10,368	10,739	11,128	9,746	10,622	11,634	10,376	11,646	12,100
	высоты хвостового	±0,293;	±0,367;	±0,471;	±0,761;	±0,427;	±0,911;	±0,036;	±0,375;	±0,267;	±0,347;
	стебля к длине тела до SL (%)	±0,073	±0,072	±0,142	±0,340	±0,094	±0,526	±0,025	±0,071	±0,119	±0,200
3	Процент высоты	47,702	47,997	49,715	50,465	46,493	49,004	52,448	50,396	51,134	50,482
	хвостового стебля от длины	±3,371;	±3,210;	±2,395;	±4,839;	±3,927;	±1,911;	±1,731;	±3,869;	±1,898;	±2,876;
	хвостового стебля (%)	±0,843	±0,630	±0,722	±2,164	±0,742	±1,103	±1,224	±0,860	±0,849	±1,660
4	Процент ширины тела в районе	13,418	13,927	14,280	14,460	11,948	12,894	15,967	11,359	13,076	15,830

	основания	±0,902;	±1,470;	±1,552;	±1,174;	±1,014;	±1,330;	±0,634;	±1,360;	±0,514;	±1,375;
	дорзального плавника к длине тела до SL (%)	±0,225	±0,288	±0,468	±0,525	±0,226	±0,768	±0,448	±0,333	±0,230	±0,794
5	Процент ширины	7,237	7,565	8,225	9,118	7,589	7,868	9,182	6,723	6,585	9,495
	хвостового стебле от длины	±0,566;	±0,772;	±0,983;	±0,775;	±0,860;	±0,851;	±0,436;	±0,432;	±0,638;	±1,291;
	тела до SL (%)	±0,141	±0,151	±0,296	±0,347	±0,187	±0,491	±0,308	±0,104	±0,285	±0,745
6	Процент	51,204	51,063	49,248	49,950	50,579	51,874	55,483	51,522	52,152	52,902
	придорзального расстояния от	±1,325;	±1,611;	±1,186;	±1,435;	±1,712;	±0,676;	±1,504;	±1,513;	±0,542;	±2,294;
	длины тела до SL (%)	±0,331	±0,316	±0,358	±0,642	±0,392	±0,390	±1,063	±0,379	±0,242	±1,325
7	Процент	52,810	51,607	52,974	50,821	52,541	51,786	54,011	50,513	51,885	52,733
	постдорзального расстояния от	±2,329;	±1,230;	±1,355;	±5,860;	±2,575;	±0,860;	±4,204;	±2,331;	±1,090;	±1,143;
	длины тела до SL (%)	±0,582	±0,241	±0,408	±1,621	±0,578	±0,496	±0,972	±0,524	±0,487	±0,660
8	Процент	50,887	51,779	51,359	50,136	50,063	52,359	52,421	51,650	52,780	51,434
	расстояния до брюшного	±1,187;	±1,699;	±2,050;	±1,023;	±3,230;	±1,707;	±3,057;	±1,278;	±0,476;	±2,367;
	плавника от длины тела до SL	±0,297	±0,333	±0,618	±0,457	±0,743	±0,985	±0,962	±0,313	±0,213	±0,966
	(%)										
9	Процент	70,543	72,528	71,825	71,317	71,331	70,822	77,370	73,274	69,988	68,630
	прианального расстояния от	±1,726;	±2,089;	±1,416;	±0,906;	±2,254;	±0,541;	±9,134;	±1,294;	±0,453;	± 2,671;

	длины тела до SL (%)	±0,432	±0,410	±0,427	±0,405	±0,427	±0,313	±0,459	±0,324	±0,202	±0,542
10	Процент	27,223	27,173	28,367	26,578	28,034	25,825	28,352	26,193	28,181	29,619
	основания	±1,790;	±1,477;	±1,277;	±0,543;	±1,644;	±0,556;	±3,685;	±1,269;	±0,835;	±0,596;
	грудного до основания	±0,447	±0,290	±0,385	±0,243	±0,292	±0,321	±1,606	±0,313	±0,373	±0,344
	брюшного										
	плавника от длины тела до SL										
	(%)										
11	Процент	21,418	22,539	22,853	22,513	21,765	19,651	21,189	22,609	18,890	19,254
	расстояния от основания	±1,241;	±1,062;	±0,939;	±0,669;	±1,684;	±1,726;	±0,760;	±1,460;	±0,327;	±2,410;
	брюшного до основания	±0,310	±0,208	±0,283	±0,299	±0,384	±0,996	±0,538	±0,364	±0,146	±0,391
	анального										
	плавника от длины тела до SL										
	(%)										
12	Процент длины	22,054	21,672	21,636	22,107	21,055	21,653	22,195	20,667	22,805	24,012
	хвостового стебле от длины	±1,277;	±1,277;	±1,250;	±0,869;	±1,347;	±1,090;	±0,801;	±1,206;	±1,102;	±0,934;
	тела до SL (%)	±0,319	±0,251	±0,377	±0,389	±0,265	±0,629	±0,566	±0,297	±0,146	±0,539
13	Процент длины	12,418	12,214	13,037	12,050	12,568	12,737	12,784	11,611	12,135	12,712
	основания дорзального плавника от	±0,711;	±0,863;	±0,778;	±0,850;	±1,105;	±0,616;	±2,123;	±0,962;	±0,928;	±0,194;

	длины тела до SL (%)	±0,178	±0,169	±0,235	±0,380	±0,262	±0,356	±0,501	±0,224	±0,415	±0,112
14	Процент высоты дорзального плавника от	21,696 ±0,929;	21,225 ±0,887;	22,651 ±0,910;	21,195 ±2,206;	21,089 ±1,420;	22,842 ±0,326;	21,873 ±3,283;	19,198 ±1,641;	21,631 ±0,709;	21,655 ±0,640;
	длины тела до SL (%)	±0,232	±0,174	±0,275	±0,987	±0,335	±0,188	±0,321	±0,403	±0,317	±0,369
15	Процент длины	10,016	10,231	10,711	10,883	10,102	10,314	11,243	9,838	11,034	11,497
	основания анального	±0,468;	±0,544;	±0,653;	±0,312;	±0,899;	±0,465;	±1,381;	±0,665;	±0,371;	±0,373;
	плавника от длины тела до SL	±0,117	±0,107	±0,197	±0,139	±0,211	±0,268	±0,977	±0,163	±0,166	±0,215
	(70)										
16	Процент высоты	14,898	14,644	16,292	16,469	14,077	15,786	15,850	15,104	15,406	15,684
	анального плавника от	±1,177;	±0,710;	±1,127;	±1,146;	±1,742;	±0,714;	±1,446;	±0,999;	±1,003;	±0,262;
	длины тела до SL (%)	±0,294	±0,139	±0,340	±0,512	±0,437	±0,412	±1,023	±0,230	±0,448	±0,151
17	Процент длины	18,309	17,517	18,593	19,149	16,904	18,670	18,055	17,617	17,992	18,259
	грудного плавника от	±0,809;	±0,945;	±1,191;	±1,227;	±0,898;	±0,708;	±2,492;	±1,256;	±0,483;	±0,216;
	длины тела до SL (%)	±0,202	±0,185	±0,359	±0,549	±0,193	±0,409	±1,762	±0,296	±0,216	±0,125
18	Процент длины	15,397	15,303	16,370	16,622	15,276	15,748	16,554	14,788	16,514	15,798
	брюшного плавника от длины тела до SL	±1,064;	±0,820;	±0,891;	±0,960;	±1,075;	±0,683;	±1,406;	±0,950;	±0,529;	±0,643;

	(%)	±0,266	±0,161	±0,269	±0,429	±0,245	±0,394	±0,994	±0,219	±0,237	±0,371
19	Процент длины головы от ллины	24,476	25,463	24,461	24,117	24,312	26,929	27,411	26,330	26,168	25,438
	тела до SL (%)	±0,878;	±0,990;	±0,931;	±0,774;	±0,674;	±1,542;	±2,992;	±0,950;	±0,298;	±0,709;
		±0,220	±0,194	±0,281	±0,346	±0,162	±0,891	±0,116	±0,246	±0,133	±0,409
20	Процент длины	100,778	106,08	100,136	93,656	103,034	108,20	100,18	116,04	104,01	99,581
	головы от высоты тела (%)	±6,024;	±4,596;	±6,634;	±2,950;	±5,907;	±5,271;	±5,090;	±5,350;	±3,431;	±8,985;
		±1,506	±0,901	±2,000	±1,319	±1,472	±1,043	±1,599	±1,573	±1,534	±1,187
21	Процент высоты	8,179	8,834	8,736	8,425	7,156	9,208	8,999	8,099	8,113	9,365
	головы в раионе ноздрей от длины	±0,528;	±0,729;	±0,762;	±0,717;	±0,442;	±0,687;	±0,177;	±0,688;	±0,207;	±0,397;
	тела до SL (%)	±0,132	±0,901	±0,230	±0,321	±0,094	±0,397	±0,125	±0,165	±0,093	±0,229
22	Процент высоты	33,447	34,674	35,708	34,900	29,370	34,176	33,062	30,712	31,008	36,820
	головы в районе ноздрей от длины	±2,338;	±2,246;	±2,736;	±2,124;	±1,732;	±0,928;	±4,255;	±2,432;	±0,977;	±0,969;
	головы (%)	±0,584	±0,440	±0,825	±0,950	±0,345	±0,536	±0,808	±0,582	±0,437	±0,560
23	Процент высоты	47,772	47,115	49,768	47,474	43,809	42,275	47,230	43,893	44,376	49,062
	головы через вертикальную	±2,462;	±1,995;	±1,245;	±1,614;	±1,808;	±1,438;	±0,296;	±2,709;	±1,335;	±0,657;
	диагональ глаза от длины головы (%)	±0,615	±0,391	±0,376	±0,722	±0,385	±0,830	±0,209	±0,677	±0,597	±0,379
	Пи от от т	12 141	12 (24	12.100	10.005	11.071	14 102	15 105	12.020	14517	12.020
24	процент высоты головы от длины	13,141	13,624	13,100	12,885	11,8/1	14,103	15,185	12,920	14,517	13,929

	тела до SL (%)	±0,648;	±0,754;	±1,004;	±0,613;	±0,561;	±0,830;	±1,486;	±0,727;	±1,133;	±0,465;
		±0,162	±0,148	±0,303	±0,274	±0,131	±0,479	±1,051	±0,181	±0,507	±0,268
25	Процент длины	8,075	8,320	7,780	7,707	8,004	8,785	9,680	8,196	9,352	8,622
	рыла от длины тела до SL (%)	±0,287;	±0,443;	±0,389;	±0,740;	±0,281;	±0,774;	±0,210;	±0,525;	±1,048;	±0,449;
		±0,072	±0,087	±0,117	±0,331	±0,060	±0,447	±0,149	±0,130	±0,468	±0,259
26	Процент длины	33,035	32,676	31,804	31,911	32,852	32,585	35,485	31,069	35,709	33,906
	рыла от длины головы (%)	±1,715;	±1,253;	±1,004;	±2,054;	±1,129;	±1,119;	±3,106;	±1,521;	±3,641;	±2,208;
		±0,429	±0,246	±0,303	±0,919	±0,274	±0,646	±0,996	±0,370	±1,028	±1,275
27	Процент длины	4,086	4,083	4,003	4,027	4,068	4,284	4,023	3,946	3,879	3,971
	горизонтального диаметра глаза от	±0,209;	±0,225;	±0,330;	±0,373;	±0,276;	±0,272;	±0,389;	±0,227;	±0,046;	±0,476;
	длины тела до SL (%)	±0,052	±0,044	±0,100	±0,167	±0,061	±0,157	±0,275	±0,057	±0,021	±0,275
28	Процент длины	16,710	16,035	16,347	16,690	16,684	15,907	14,685	14,965	14,825	15,609
	горизонтального диаметра глаза от	±0,977;	±0,692;	±0,888;	±1,317;	±0,874;	±0,152;	±0,184;	±0,713;	±0,221;	±1,393;
	длины головы (%)	±0,244-	±0,136	±0,268	±0,589	±0,188	±0,088	±0,130	±0,177	±0,099	±0,804
29	Процент длины	51,257	49,235	50,232	49,223	56,084	51,282	44,176	48,470	43,397	50,760
	горизонтального диаметра глаза от	±2,956;	±2,952;	±3,451;	±3,403;	±4,068;	±3,540;	±2,579;	±2,660;	±2,549;	±4,135;
	ширины межглазничного	±0,739	±0,579	±1,040	±1,522	±0,929	±2,044	±1,824	±0,655	±1,140	±1,387

	расстояния (%)										
30	Процент длины	53,793	52,471	52,157	51,505	52,259	50,853	52,433	51,269	51,526	51,744
	посторбитального расстояния от	±5,302;	±3,272;	±0,784;	±1,108;	±2,195;	±1,811;	±0,772;	±1,115;	±1,696;	±1,200;
	длины головы (%)	±1,325	±0,642	±0,237	±0,495	±0,564	±1,046	±0,546	±0,260	±0,759	±0,693
31	Процент ширины	7,978	8,303	7,968	8,174	7,260	8,361	9,147	8,145	8,958	7,826
	межглазничного расстояния от	±0,274;	±0,394;	±0,340;	±0,279;	±0,264;	±0,345;	±1,415;	±0,262;	±0,417;	±0,325;
	длины тела до SL (%)	±0,068	±0,077	±0,102	±0,125	±0,064	±0,199	±1,000	±0,065	±0,187	±0,188
32	Процент ширины	32,639	32,617	32,584	33,912	29,804	31,114	33,286	30,920	34,233	30,765
	межглазничного расстояния к	±1,684;	±1,183;	±1,032;	±1,385;	±1,157;	±2,107;	±1,528;	±1,545;	±1,563;	±0,510;
	длине головы (%)	±0,421	±0,232	±0,311	±0,619	±0,265	±1,216	±1,080	±0,386	±0,699	±0,294
33	Процент длины	30,168	30,182	30,065	30,569	29,973	28,993	31,358	27,389	32,164	30,594
	верхней челюсти от длины головы	±1,294;	±1,185;	±0,692;	±1,527;	±0,943;	±0,959;	±1,654;	±1,306;	±3,320;	±0,721;
	(%)	±0,323	±0,232	±0,209	±0,683	±0,239	±0,554	±1,170	±0,317	±1,485	±0,416
34	Процент длины	7,382	7,684	7,352	7,382	7,304	7,812	8,571	7,227	8,411	7,782
	верхней челюсти от длины тела до	±0,368;	±0,399;	±0,278;	±0,614;	±0,285;	±0,620;	±0,485;	±0,477;	±0,802;	±0,165;
	SL (%)	±0,092	±0,078	±0,084	±0,275	±0,070	±0,358	±0,343	±0,118	±0,358	±0,095

35	Процент длины	8,975	9,323	8,556	8,838	9,151	9,615	10,803	9,261	9,912	9,220
	нижней челюсти от длины тела до	±0,448;	±0,489;	±0,440;	±0,521;	±0,327;	±0,530;	±0,761;	±0,457;	±0,140;	±0,242;
	SL (%)	±0,112	±0,096	±0,133	±0,233	±0,068	±0,306	±0,538	±0,114	±0,063	±0,139
36	Процент длины	36,740	36,619	34,977	36,627	37,552	35,707	39,495	35,132	37,885	36,251
	нижней челюсти от длины головы	±2,807;	±1,333;	±1,249;	±1,286;	±1,017;	±0,081;	±1,534;	±1,742;	±0,843;	±1,542;
	(%)	±0,702	±0,261	±0,376	±0,575	±0,215	±0,047	±1,085	±0,436	±0,377	±0,890
37	Процент длины	112,533	112,36	107,412	108,16	126,168	115,10	118,88	113,812	110,850	117,808
	нижней челюсти от ширины	±5,194;	±4,612;	±4,279;	±6,115;	±5,852;	±7,654;	±10,07;	±6,782;	±5,584;	±5,439;
	межглазничного расстояния (%)	±1,299	±0,905	±1,290	±1,735	±1,222	±1,419	±0,118	±1,688	±1,497	±1,140
38	Процент длины	94.538	98.893	91.493	93.817	96.432	101.60	101.6	96.589	110.063	101.455
50	нижней челюсти от высоты	±4,866;	±6,581;	±5,014;	±5,314;	±7,902;	±3,862;	±11,54;	±5,519;	±8,041;	±5,866;
	operculum (%)	±1,216	±1,291	±1,512	±2,376	±1,573	±1,230	±1,157	±1,382	±1,596	±1,387
39	Процент длины	52,294	53,870	56,740	56,259	51,536	50,030	55,273	45,604	54,537	55,130
	между prooticum (между pterotic	±2,340;	±3,026;	±2,259;	±3,211;	±3,513;	±2,122;	±3,366;	±2,105;	±2,285;	±0,450;
	margins) от длины черепной	±0,585	±0,594	±0,681	±1,436	±0,781	±1,225	±1,380	±0,522	±1,022	±0,260
	коробки (%)										
40	Процент ширины	21,735	21,195	20,269	19,139	20,342	21,955	17,582	17,748	18,279	19,734
	sphenoticum от длины черепной	±0,843;	±1,441;	±0,884;	±1,405;	±1,442;	±1,803;	±2,017;	±1,432;	±2,894;	±0,655;

	коробки (%)	±0,211	±0,283	±0,267	±0,628	±0,289	±1,041	±1,426	±0,358	±1,294	±0,378
41	Процент ширины	59,223	59,989	62,339	61,771	56,898	57,303	62,224	50,947	58,815	64,969
	(между	±2,219;	±2,084;	±2,868;	±2,771;	±3,286;	±1,201;	±1,413;	±2,456;	±3,307;	±2,044;
	supraethmoid margins) от длины	±0,555	±0,409	±0,865	±1,239	±0,694	±0,693	±0,999	±0,612	±1,479	±1,180
	черепнои коробки (%)										
42	Процент длины	113,429	111,57	109,874	109,92	110,565	114,66	112,86	111,769	107,829	117,85
	между ethmoidale от ширины	±5,922;	±5,047;	±2,773;	±4,462;	±4,490;	±4,861;	±9,430;	±3,913;	±3,289;	±4,549;
	между prooticum (между pterotic margins) (%)	±1,481	±0,990	±0,836	±1,996	±0,774	±1,807	±1,668	±0,928	±1,471	±1,626
43	Процент длины	91,573	90,550	80,085	84,741	97,902	92,415	91,254	95,176	90,720	84,467
	нижней челюсти от ширины	±5,013;	±6,370;	±4,327;	±4,679;	±6,501;	±2,671;	±10,16;	±5,620;	±3,814;	±2,639;
	между prooticum (между pterotic margins) (%)	±1,253	±1,249	±1,305	±2,093	±1,490	±1,542	±1,183	±1,378	±1,606	±1,524
11	Отношение	38 901	37 146	38 329	39,090	39 207	35 180	39.039	36 478	34 547	35 732
44	длины operculum к длины головы	±2,742;	±2,174;	±2,408;	±1,374;	±3,640;	±1,442;	±2,922;	±2,683;	±2,253;	±0,758;
	(%)	±0,685	±0,426	±0,726	±0,615	±0,643	±0,833	±1,066	±0,672	±1,008	±0,438
45	Промер «рыло»:	91,425	92,319	94,595	95,880	91,279	88,989	88,507	88,230	90,720	90,426
	процент длины верхней челюсти	±3,688;	±2,125;	±2,934;	±2,426;	±2,574;	±1,639;	±3,085;	±3,426;	±3,814;	±3,753;

	от длины рыла (%)	±0,922	±0,531	±0,885	±1,085	±0,629	±0,946	±1,182	±0,858	±1,706	±2,167
46	Промер «дорзальный»: процент длины	97,124 ±4,710;	99,150 ±3,569;	93,015 ±3,037;	99,825 ±1,671;	96,575 ±7,192;	100,19 ±2,381;	102,93 ±5,227;	102,167 ±4,884;	100,547 ±2,211;	100,37 ±4,344;
	придорзального расстояния от постдорзального (%)	±1,177	±0,892	±0,916	±1,474	±1,610	±1,374	±1,696	±1,110	±0,989	±2,508
47	Отношение	1,957	2,038	1,999	2,040	1,792	1,956	2,268	2,069	2,310	1,975
	межглазничного расстояния к	±0,111;	±0,123;	±0,137;	±0,145;	±0,128;	±0,136;	±0,132;	±0,114;	±0,128;	±0,153;
	горизонтальному диаметру глаза (доли)	±0,028	±0,024	±0,041	±0,065	±0,029	±0,078	±0,094	±0,028	±0,057	±0,088
40	Отношалиа	1.080	2.041	1.051	1.021	1.075	2.040	2 415	2.082	2 412	2 1 9 1
48	длины рыла к горизонтальному	±0,108;	±0,118;	±0,118;	±0,184;	±0,133;	±0,069;	±0,181;	±0,170;	±0,275;	±0,302;
	диаметру глаза (доли)	±0,027	±0,023	±0,036	±0,082	±0,028	±0,040	±0,128	±0,042	±0,123	±0,174
49	Отношение	2,005	2,165	2,189	2,095	1,764	2,149	2,250	2,055	2,092	2,365
	высоты головы к горизонтальному	±0,139;	±0,154;	±0,186;	±0,104;	±0,129;	±0,068;	±0,262;	±0,171;	±0,058;	±0,211;
	диаметру глаза (доли)	±0,035	±0,030	±0,056	±0,046	±0,027	±0,039	±0,185	±0,042	±0,026	±0,122
50	Отношение длины головы к высоте	2,337	2,457	2,279	2,173	2,504	2,555	2,356	2,545	2,248	2,102

	хвостового	±0,106;	±0,094;	±0,063;	±0,125;	±0,108;	±0,348;	±0,250;	±0,120;	±0,058;	±0,121;
	стебля (доли)	±0,027	±0,018	±0,019	±0,056	±0,024	±0,201	±0,177	±0,027	±0,026	±0,070
51	Отношение	2,106	2,092	2,015	1,997	2,165	2,043	1,908	1,995	1,958	1,985
	длины хвостового стебля к высоте	±0,146;	±0,137;	±0,092;	±0,206;	±0,178;	±0,078;	±0,063;	±0,155;	±0,073;	±0,114;
	хвостового стебля (доли)	±0,037	±0,027	±0,028	±0,092	±0,035	±0,045	±0,045	±0,035	±0,032	±0,066
52	Отношение	0,857	0,900	0,797	0,795	0,940	0,912	0,928	0,894	0,852	0,762
	длины нижней челюсти к высоте	±0,049;	±0,044;	±0,031;	±0,024;	±0,041;	±0,123;	±0,063;	±0,054;	±0,029;	±0,033;
	хвостового стебля (доли)	±0,012	±0,009	±0,009	±0,011	±0,009	±0,071	±0,044	±0,013	±0,013	±0,019
53	Отношение	0,676	0,647	0,657	0,721	0,605	0,723	0,648	0,674	0,639	0,617
	длины грудного плавника к	±0,065;	±0,050;	±0,056;	±0,050;	±0,053;	±0,012;	±0,172;	±0,053;	±0,032;	±0,019;
	расстоянию между	±0,016	±0,010	±0,017	±0,022	±0,012	±0,007	±0,122	±0,012	±0,014	±0,011
	основаниями										
	грудного и										
	плавников (доли)										
54	Отношение	2,095	2,007	2,016	2,072	2,076	1,930	2,033	1,954	1,993	2,079
	придорзального расстояния к	±0,11;	±0,073;	±0,082;	±0,074;	±0,053;	±0,090;	±0,167;	±0,051;	±0,024;	±0,126;
	длине головы (доли)	±0,028	±0,014	±0,025	±0,033	±0,011	±0,052	±0,118	±0,013	±0,011	±0,073
L					1		1				

55	Отношение	0,996	0,944	1,002	1,069	0,973	0,926	1,000	0,860	0,962	1,005
	высоты тела в районе	±0,061;	±0,043;	±0,063;	±0,035;	±0,053;	±0,046;	±0,051;	±0,048;	±0,033;	±0,080;
	дорзального плавника к длине	±0,015	±0,008	±0,019	±0,016	±0,013	±0,027	±0,036	±0,011	±0,006	±0,046
	головы (доли)										
56	Отношение	1,165	1,090	1,397	0,897	1,107	0,968	0,904	1,192	0,831	0,902
	расстояния между	±0,590;	±0,484;	±0,800;	±0,028;	±0,492;	±0,138;	±0,046;	±0,552;	±0,168;	±0,021;
	основаниями грудного и	±0,147	±0,095	±0,241	±0,013	±0,126	±0,080	±0,033	±0,137	±0,075	±0,012
	анального плавника к										
	расстоянию										
	между брюшным										
	плавником и точки SL (доли)										
	To har 52 (doini)										
57	Отношение	2,920	3,255	2,799	3,521	3,305	3,432	3,603	3,152	3,372	3,307
	расстояния между	±1,157;	±0,964;	±1,396;	±0,119;	±1,029;	±0,108;	±0,180;	±1,150;	±0,172;	±0,074;
	основанием грудного	±0,289	±0,189	±0,421	±0,053	±0,246	±0,062	±0,128	±0,285	±0,077	±0,043
	плавника и точкой SL к										
	длине хвостового стебля (доли)										
58	Отношения	0,580	0,598	0,546	0,644	0,620	0,613	0,663	0,573	0,624	0,608
	расстояния от окончания	±0,103;	±0,090;	±0,106;	±0,124;	±0,097;	±0,015;	±0,037;	±0,103;	±0,018;	±0,010;

	cranium (=neurocranium)	±0,026	±0,018	±0,032	±0,056	±0,024	±0,009	±0,026	±0,026	±0,008	±0,006
	до дорзального плавника к										
	постдорзальному										
	расстоянию										
	(доли)										
59	Отношение	0,995	0,994	1,012	0,981	1,030	0,976	1,044	1,005	1,008	1,065
	длины головы к расстоянию до	±0,039;	±0,029;	±0,029;	±0,027;	±0,049;	±0,014;	±0,046;	±0,030;	±0,020;	±0,030;
	грудного плавника (доли)	±0,010	±0,006	±0,009	±0,012	±0,008	±0,008	±0,033	±0,007	±0,009	±0,017
60	Отношение	1,317	1,326	1,285	1,329	1,354	1,292	1,328	1,252	1,276	1,300
	расстояния от начала глаза до	±0,120;	±0,099;	±0,139;	±0,059;	±0,116;	±0,093;	±0,039;	±0,101;	±0,021;	±0,059;
	конца головы к расстоянию от	±0,030	±0,019	±0,042	±0,027	±0,029	±0,054	±0,028	±0,024	±0,009	±0,034
	начала головы до										
	конца глаза										
	(доли)										
61	Отношение	1,070	1,007	1,005	1,066	1,043	1,027	0,989	1,067	1,066	1,109
	высоты хвостового	±0,054;	±0,066;	±0,047;	±0,057;	±0,079;	±0,160;	±0,176;	±0,058;	±0,044;	±0,056;
	стебля к длине prooticum (между	±0,013	±0,013	±0,014	±0,026	±0,020	±0,092	±0,124	±0,012	±0,020	±0,033
	pterotic margins) (доли)										

62	Отношение	0,944	0,903	0,915	0,971	0,944	0,901	0,873	0,954	0,989	0,941
	высоты хвостового	±0,036;	±0,044;	±0,049;	±0,049;	±0,069;	±0,177;	±0,083;	±0,041;	±0,052;	±0,022;
	стебле к ширине ethmoidale (между	±0,009	±0,009	±0,015	±0,022	±0,016	±0,102	±0,059	±0,009	±0,023	±0,013
	supraethmoid										
	margins) (доли)										
63	Отношение	1,064	1,072	0,984	1,039	1,058	1,126	1,165	1,159	1,130	1,110
	промера «дорзальный» к	±0,064;	±0,042;	±0,044;	±0,149;	±0,075;	±0,040;	±0,100;	±0,064;	±0,197;	±0,033;
	промеру «рыло»	±0,016	±0,008	±0,013	±0,067	±0,016	±0,023	±0,070	±0,015	±0,088	±0,019

Таблица 12 – Номера морфологических признаков с достоверным значением t-критерия Стьюдента (≤5%)

Выборка	THA	THL	THN	THT	THK	TBL	TBN	TBK	TSP	TSN
_	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
THA	-	20	23	12	21	6	2	34	26	16
13										
THL	9 (0,0020);	-	28	17	27	9	0	35	31	15
13	11 (0,0056);									
	17 (0,0066);									
	19 (0,0019);									
	20 (0,0057);									
	21 (0,0017);									
	24 (0,0343);									
	25 (0,0358);									
	28 (0,0237);									

	29 (0.0389);									
	34 (0.0173):									
	38 (0.0187):									
	47 (0.0338);									
	49 (0.0014);									
	50 (0.0008);									
	52 (0.0082);									
	54 (0,0093);									
	55 (0,0069);									
	61 (0,0017);									
	62 (0,0021);									
THN	6 (0,0006);	6 (0,0009);	-	4	34	12	5	29	33	12
13	11 (0,0038);	7 (0,0038);								
	14 (0,0123);	10 (0,0452);								
	15 (0,0169);	13 (0,0005);								
	16 (0,0069);	16 (0,0012);								
	18 (0,0235);	17 (0,0197);								
	23 (0,0126);	18 (0,0067);								
	25 (0,0062);	19 (0,0002);								
	26 (0,0287);	20 (0,0008);								
	35 (0,0104);	23(0,0001);								
	36 (0,0467);	25(0,0001);								
	37 (0,0109);	26 (0,0413);								
	39 (0,0001);	31 (0,0086);								
	40 (0,0007);	34 (0,0008);								
	41 (0,0109);	35 (0,0001);								
	43 (0,0000);	36 (0,0047);								
	45 (0,0220);	37 (0,0068);								
	46 (0,0036);	38 (0,0018);								
	49 (0,0162);	39 (0,0055);								
	51 (0,0457);	40 (0,0281);								
	52 (0,0011);	41 (0,0361);								
	61 (0,0044);	43 (0,0000);								

	63(0.0003)	46(0.0000)								
	05 (0,0005),	50(0,0000)								
		51(0.0427)								
		51(0,0127); 52(0,0000);								
		55(0,0001)								
		63(0,0000)								
ТНТ	11 (0.0245)	1(0.0267)	10 (0 0033)		30	8	2	20	24	9
13	15(0,0007)	5(0.0072)	20(0.0283)	_	50	0	2	20	21	,
15	16(0.0331)	8(0,0072);	23(0.0289)							
	18(0.0439)	15(0.0044)	55(0.0334)							
	20(0.0030)	16(0.0211)	55 (0,0554),							
	39(0.0474)	10(0,0211), 17(00376):								
	40(0.0115)	17(0,0370), 18(0.0332).								
	43(0.0260)	10(0,0332), 19(0,0120).								
	45(0,0200), 45(0,0102).	20(0,0120);								
	50(0,0102)	40(0.0258)								
	50(0,0550), 52(0,0019).	43(0.0476)								
	52(0,0017); 55(0,0057):	45(0.0276)								
	55 (0,0057),	50(0,0270)								
		50(0,0001), 52(0,0000).								
		52(0,0000), 53(00251).								
		55(0,0291); 55(0,0003):								
		62 (0.0317)								
ТНК	2 (0 0000)	2(0,000)	2(0,0000)	1 (0.0126)	_	18	10	33	36	13
13	4(0.0001):	4 (0.0000):	3 (0.0066):	2(0.0130):		10	10	55	50	15
	12 (0.0222):	17 (0.0302):	4 (0.0010):	4(0.0055):						
	17 (0.0000):	19 (0.0000):	6 (0.0147):	5 (0.0068):						
	21 (0.0000):	21 (0.0000):	11 (0.0368):	10(0.0035):						
	22 (0.0000):	22 (0.0000):	14(0.0008):	12 (0.0481):						
	23 (0.0000):	23 (0.0000):	16 (0.0003):	15 (0.0046):						
	24 (0.0000):	24 (0.0000):	17 (0.0013):	16 (0.0045):						
	29 (0.0002):	25 (0.0051):	18 (0.0095):	17 (0.0116):						
	31 (0,0000);	27 (0,0051);	21 (0,0000);	18 (0,0301);						

	32 (0,0000);	28 (0,0089);	22 (0,0000);	20 (0.0003);						
	37 (0,0000);	31(0,0000);	23 (0,0000);	21 (0.0140);						
	40 (0,0013);	32 (0,0000);	24 (0,0059);	22 (0,0026);						
	41 (0,0165);	34 (0,0005);	25 (0,0186);	23 (0,0041);						
	43 (0,0023);	36 (0,0045);	26 (0,0107);	24 (0,0159);						
	47 (0,0002);	37 (0,0000);	29 (0,0000);	29 (0,0058);						
	49 (0,0000);	39 (0,0230);	31 (0,0001);	31 (0,0006);						
	50 (0,0000);	41 (0,0009);	32 (0,0000);	32 (0,0014);						
	52 (0,0000);	43 (0,0004);	35 (0,0005);	37 (0,0010);						
	53 (0,0015);	47 (0,0000);	36 (0,0001);	39 (0,0249);						
	59 (0,0292);	49 (0,0000);	37 (0,0000);	41 (0,0114);						
		52 (0,0026);	38 (0,0457);	43 (0,0007);						
		53 (0,0107);	39 (0,0001);	45 (0,0083);						
		54 (0,0002);	41 (0,0002);	47 (0,0142);						
		59 (0,0087);	43 (0,0000);	49 (0,0004);						
		60 (0,0081);	45 (0,0077);	50 (0,0023);						
		62 (0,0266);	46 (0,0321);	52 (0,0000);						
			47 (0,0001);	53 (0,0033);						
			49 (0,0000);	55 (0,0012);						
			50 (0,0000);	59 (0,0146);						
			51 (0,0035);							
			52 (0,0000);							
			53 (0,0131);							
			63 (0,0006);							
TBL	10 (0,0267);	1 (0,0202);	6 (0,0021);	7 (0,0435);	1 (0,0111);	-	3	10	12	9
13	14 (0,0035);	9 (0,0063);	10 (0,0014);	20 (0,0258);	7 (0,0496);					
	28 (0,0066);	10 (0,0196);	38 (0,0168);	39 (0,0173);	10 (0,0014);					
	44 (0,0166);	14 (0,0005);	39 (0,0113);	41 (0,0210);	14 (0,0002);					
	49 (0,0345);	36 (0,0020);	41 (0,0017);	43 (0,0256);	16 (0,0210);					
	53 (0,0185);	41 (0,0339);	43 (0,0011);	44 (0,0181);	17 (0,0292);					
		44 (0,0498);	44 (0,0283);	45 (0,0034);	21 (0,0291);					
		45 (0,0450);	45 (0,0042);	55 (0,0143);	22 (0,0014);					
		53 (0,0000);	46 (0,0112);		23 (0,0367);					

			53 (0.0089);		24 (0.0357);					
			59 (0.0238):		28 (0.0017):					
			63 (0,0082);		31 (0,0233);					
					36 (0,0000);					
					43 (0,0380);					
					44 (0,0096);					
					49 (0,0008);					
					53 (0,0000);					
					59 (0,0024);					
TBN	51 (0,0477);	0	2 (0,0000);	25 (0,0029);	2 (0,0000);	4 (0,0425);	-	11	4	2
13	57 (0,0489);		23 (0,0004);	28 (0,0257);	3 (0,0476);	28 (0,0180);				
			25 (0,0080);		4 (0,0293);	48 (0,0433);				
			28 (0,0005);		22 (0,0027);					
			58 (0,0334)		23 (0,0000);					
					25 (0,0278);					
					28 (0,0000);					
					29 (0,0486);					
					41 (0,0378);					
					51 (0,0211);					
TBK	1 (0,0012);	1 (0,0009);	1 (0,0017);	1 (0,0015);	2 (0,0000);	1 (0,0001);	2 (0,0000);	-	30	23
13	3 (0,0407);	3 (0,0422);	4 (0,0002);	4 (0,0013);	3 (0,0046);	9 (0,0008);	4 (0,0088);			
	4 (0,0000);	4 (0,0000);	5 (0,0006);	5 (0,0014);	4 (0,0305);	14 (0,0000);	21 (0,0043);			
	5 (0,0069);	5 (0,0001);	6 (0,0002);	8 (0,0252);	5 (0,0005);	22 (0,0023);	23 (0,0002);			
	7 (0,0081);	10 (0,0259);	7 (0,0007);	9 (0,0038);	7 (0,0168);	23 (0,0238);	24 (0,0000);			
	9 (0,0000);	12 (0,0131);	9 (0,0096);	12 (0,0158);	9 (0,0466);	28 (0,0002);	25 (0,0053);			
	11 (0,0168);	13 (0,0446);	10 (0,0006);	15 (0,0002);	10 (0,0005);	40 (0,0440);	41 (0,0141);			
	12 (0,0032);	14 (0,0001);	13 (0,0005);	17 (0,0463);	13 (0,0080);	41 (0,0006);	47 (0,0338);			
	13 (0,0101);	19 (0,0054);	14 (0,0000);	18 (0,0080);	14 (0,0008);	53 (0,0042);	48 (0,0184);			
	14 (0,0000);	20 (0,0000);	15 (0,0057);	19 (0,0006);	16 (0,0325);	59 (0,0371);	55 (0,0012);			
	19 (0,0000);	21 (0,0020);	16 (0,0133);	20 (0,0000);	19 (0,0000);		62 (0,0252);			
	20 (0,0000);	22 (0,0000);	17 (0,0480);	22 (0,0065);	20 (0,0000);					
	22 (0,0025);	23 (0,0003);	18 (0,0005);	23 (0,0035);	21 (0,0001);					
	23 (0,0002);	24 (0,0042);	19 (0,0000);	28 (0,0401);	24 (0,0000);					
	26 (0.0016);	25 (0.0011);	20 (0.0000);	32 (0.0041);	26 (0.0002):					
-----	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	-------------	---	----
	28 (0.0000);	28 (0.0000);	22 (0.0003):	33 (0.0059):	28 (0.0000);					
	29 (0,0080);	32 (0,0006);	23 (0,0000);	39 (0.0009);	29 (0,0000);					
	32 (0,0047);	33 (0,0000);	25 (0,0049);	41 (0.0002);	30 (0,0394);					
	33 (0,0000);	34 (0,0026);	28 (0,0008);	43 (0.0033);	31(0,0000);					
	39 (0,0000);	36 (0.0057);	30 (0,0014);	44 (0.0115);	32 (0,0276);					
	40 (0,0000);	39 (0,0000);	32 (0,0014);	45 (0,0027);	33 (0,0000);					
	41 (0,0000);	40 (0,0000);	33 (0,0000);	50 (0,0009);	36 (0,0000);					
	44 (0,0155);	41 (0,0000);	35 (0,0002);	52 (0,0000);	37 (0,0000);					
	45 (0,0151);	43 (0,0169);	37 (0,0054);	54 (0,0196);	39 (0,0000);					
	46 (0,0050);	45 (0,0002);	38 (0,0232);	55 (0,0000);	40 (0,0000);					
	47 (0,0075);	46 (0,0260);	39 (0,0000);	56 (0,0432);	41 (0,0000);					
	48 (0,0480);	49 (0,0396);	40 (0,0000);		44 (0,0098);					
	50 (0,0000);	50 (0,0172);	41 (0,0000);		45 (0,0052);					
	51 (0,0429);	51 (0,0439);	43 (0,0000);		46 (0,0084);					
	52 (0,0494);	54 (0,0077);	45 (0,0001);		47 (0,0000);					
	54 (0,0001);	55 (0,0000);	46 (0,0000);		48 (0,0428);					
	55 (0,0000);	60 (0,0006);	48 (0,0420);		49 (0,0000);					
	60 (0,0001);	61 (0,0036);	50 (0,0000);		51 (0,0038);					
	63 (0,0002);	62 (0,0004);	52 (0,0000);		52 (0,0066);					
		63 (0,0000);	54 (0,0130);		53 (0,0004);					
			55 (0,0000);		54 (0,0000);					
			60 (0,0001);		55 (0,0001);					
			61 (0,0072);		60 (0,0000);					
			63 (0,0000);		63 (0,0001);					
TSP	2 (0,0001);	1 (0,0327);	2 (0,0001);	5 (0,0006);	1 (0,0151);	10 (0,0034);	4 (0,0490);	1 (0,0004);	-	12
13	3 (0,0136);	2 (0,0000);	4 (0,0457);	7 (0,0230);	2 (0,0000);	14 (0,0173);	5 (0,0093);	2 (0,0000);		
	6 (0,0338);	3 (0,0154);	5 (0,0017);	8 (0,0023);	3 (0,0020);	22 (0,0075);	21 (0,0229);	4 (0,0005);		
	8 (0,0001);	4 (0,0325);	6 (0,0000);	9 (0,0267);	4 (0,0040);	23 (0,0463);	23 (0,0071);	8 (0,0075);		
	11 (0,0000);	5 (0,0209);	8 (0,0066);	10 (0,0090);	5 (0,0191);	28 (0,0002);		9 (0,0000);		
	15 (0,0009);	7 (0,0128);	9 (0,0047);	11 (0,0000);	6 (0,0023);	29 (0,0380);		10		
	18 (0,0071);	8 (0,0182);	11 (0,0000);	19 (0,0024);	8 (0,0226);	36 (0,0042);		(0,0021);		
	19 (0,0000);	9 (0,0000);	12 (0,0429);	20 (0,0010);	11 (0,0000);	39 (0,0402);		11		

22 (0,0039);	11 (0,0000);	14 (0,0287);	22 (0,0111);	12 (0,0153);	47 (0,0206);	(0,0000);	
23 (0,0016);	15 (0,0038);	19 (0,0000);	23 (0,0113);	15 (0,0024);	48 (0,0396);	12	
27 (0,0016);	18 (0,0027);	20 (0,0328);	24 (0,0290);	16 (0,0470);	53 (0,0023);	(0,0072);	
28 (0,0000);	19 (0,0066);	22 (0,0006);	25 (0,0234);	17 (0,0031);	59 (0,0399);	14	
29 (0,0005);	21 (0,0003);	23 (0,0001);	28 (0,0329);	18 (0,0027);		(0,0002);	
31 (0,0041);	22 (0,0000);	24 (0,0443);	29 (0,0170);	19 (0,0000);		15	
34 (0,0432);	23 (0,0050);	25 (0,0228);	31 (0,0101);	21 (0,0000);		(0,0002);	
35 (0,0000);	27 (0,0003);	28 (0,0003);	35 (0,0082);	22 (0,0197);		18	
38 (0,0096);	28 (0,0000);	29 (0,0021);	38 (0,0071);	24 (0,0052);		(0,0002);	
42 (0,0191);	29 (0,0034);	31 (0,0023);	44 (0,0070);	25 (0,0444);		20	
44 (0,0071);	31 (0,0034);	34 (0,0347);	47 (0,0143);	27 (0,0082);		(0,0001);	
46 (0,0415);	35 (0,0000);	36 (0,0003);	48 (0,0129);	28 (0,0000);		24	
47 (0,0014);	36 (0,0234);	38 (0,0036);	52 (0,0108):	29 (0,0000);		(0,0199);	
48 (0,0231);	8 (0,0322);	43 (0,0008);	53 (0,0188);	31 (0,0004);		26	
50 (0,0331);	44 (0,0266);	44 (0,0138);	55 (0,0011);	32 (0,0020);		(0,0446);	
51 (0,0087);	47 (0,0057);	46 (0,0001);		34 (0,0354);		29	
54 (0,0028);	48 (0,0382);	47 (0,0033);		35 (0,0000);		(0,0065);	
60 (0,0000);	51 (0,0090);	48 (0,0194);		37 (0,0013);		31	
	52 (0,0158);	52 (0,0098);		38 (0,0141);		(0,0093);	
	50 (0,0001);	55 (0,0288);		39 (0,0437);		32	
	60 (0,0291);	56 (0,0461);		43 (0,0086);		(0,0049);	
	61 (0,0367);	58 (0,0440);		44 (0,0043);		33	
	62 (0,0174);	60 (0,0002);		47 (0,0002);		(0,0307);	
		61 (0,0357);		48 (0,0217);		34	
		62 (0,0315);		49 (0,0000);		(0,0265);	
				50 (0,0000);		35	
				51 (0,0009);		(0,0001);	
				52 (0,0005);		36	
				54 (0,0001);		(0,0002);	
				60 (0,0000);		38	
						(0,0162);	
						39	
						(0,0002);	

								$\begin{array}{c} 41\\ (0,0036);\\ 47\\ (0,0090);\\ 50\\ (0,0000);\\ 52\\ (0,0416):\\ 54\\ (0,0329);\\ 55\\ (0,0003);\\ 56\\ (0,0292); \end{array}$		
TSN 13	2 (0,0110); 10 (0,0010); 12 (0,0378); 15 (0,0092); 16 (0,0216); 21 (0,0090); 22 (0,0025); 32 (0,0079); 34 (0,0103); 39 (0,0002); 40 (0,0218); 41 (0,0396); 43 (0,0075); 44 (0,0050); 52 (0,0220); 53 (0,0046);	2 (0,0093); 10 (0,0014); 12 (0,0284); 13 (0,0146); 15 (0,0173); 16 (0,0014); 17 (0,0135); 22 (0,0205); 23 (0,0044); 32 (0,0073); 39 (0,0278); 43 (0,0124); 50 (0,0470); 52 (0,0101); 53 (0,0410);	2 (0,0069); 10 (0,0159); 12 (0,0172); 19 (0,0393); 21 (0,0222); 32 (0,0056); 34 (0,0080); 35 (0,0096); 44 (0,0282); 53 (0,0240); 56 (0,0686); 63 (0,0077);	10 (0,0016); 12 (0,0410); 19 (0,0260); 21 (0,0271); 32 (0,0067); 44 (0,0083); 53 (0,0053); 57 (0,0167): 59 (0,0296);	2 (0,0023); 15 (0,0045); 16 (0,0007); 17 (0,0001); 21 (0,0031); 22 (0,0003); 23 (0,0000); 39 (0,0001); 43 (0,0003); 44 (0,0031); 49 (0,0451); 50 (0,0319); 52 (0,0041);	10 (0,0011); 12 (0,0446); 15 (0,0414); 22 (0,0210); 39 (0,0433); 41 (0,0148); 43 (0,0136): 53 (0,0017); 59 (0,0319);	23 (0,0201); 25 (0,0384);	$\begin{array}{c} 2 \ (0,0068);\\ 4 \ (0,0263);\\ 10\\ (0,0002);\\ 12\\ (0,0088);\\ 13\\ (0,0003);\\ 14\\ (0,0016);\\ 15\\ (0,0030);\\ 16\\ (0,0424);\\ 21\\ (0,0047);\\ 22\\ (0,0001);\\ 23\end{array}$	10 (0,0215); 21 (0,0134); 22 (0,0007); 23 (0,0005); 29 (0,0407); 31 (0,0144); 32 (0,0073); 35 (0,0218); 41 (0,0388); 43 (0,0188); 47 (0,0212); 52 (0,0290);	-

		(0,000);
		24
		(0.0499)
		(0,0+)),
		33
		(0,0026);
		34
		(0,0021);
		39
		(0.0000):
		40
		(0,00/3)
		(0,0043),
		41
		(0,0019);
		43
		(0,0011);
		50
		(0.0198):
		52
		(0.0058)
		52
		33
		(0,0037);
		56
		(0,0492);
		63
		(0,0365);

Примечание: ниже диагонали – номера признаков (Приложение: Табл. 9) со значением t-критерия Стьюдента <5%, при незначительно

различающихся значениях дисперсии; выше диагонали -- число отличающихся признаков.

Таблица 13 – Номера морфологических признаков с достоверным значением t-критерия Стьюдента ≤5% и достоверным значением теста Левена ≤5%

Выборка	THA	THL	THN	THT	THK	TBL	TBN	TBK	TSP	TSN
	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
THA 13	-	0,0311; (40)	0,0354; (24)	0,0240; 0,0599 (19)	0,0303; 0,0065; 0,0389; (34)	0	0	0	0,0241; 0,0347; 0,0004; 0,0007; (19)	0,0480; 0,0169; (17)
THL 13	55 (24,1099);	-	0,0389; 0,0434; (34)	0	0,0381; 0,0141; 0,0342; 0,0226; (44)	0,0194; (27)	0	0,02841; 0,0402; 0,0259; 0,0324; (41)	0,0254; 0,0326; 0,0012; (29)	0,0158; (27)
THN 13	46 (23,7875);	16 (11,6069); 34 (28,0454);	-	0	0,0465; 0,0063; 0,0374; 0,0139; (28)	0,0125; 0,0007; 0,0028; (11)	0	0,0315; 0,0187; (25)	0,0264; 0,0056; 0,0215; 0,0476; 0,0019; (13)	0,0048; (11)
THT 13	19 (14,6000); 55 (12,2346);	0	0	-	0,0261; 0,0323; (23)	0	0	0,0320; 0,0277; (20)	0,0313; 0,0281; 0,0365; 0,0053; (8)	0
THK 13	3 (33,3000); 40 (29,7000); 41 (33,1800);	25 (42,6240); 41 (30,3700); 54 (43,6688); 62 (30,3246);	3 (26,5300); 24 (11,6690); 39 (25,2700); 51 (27,8733);	10 (20,5700); 15 (19,8600);	-	0,0175; 0,0308; (21)	0	0,0024; 0,0399; 0,0153; 0,0049; 0,0337; (35)	0,0477: 0,0193; 0,0249; 0,0000; 0,0444; 0,0000; 0,0066; 0,0447;	0,0074 (21)

									(23)	
TBL	0	35 (26,2900);	21 (2,1900);	0	36 (20,3524);	-	0	0	0,0265;	0
13			50 (2,0423);		53 (15,3989);				(6)	
			52 (2,0864);							
TBN	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0
13										
TBK	0	14 (22,1800);	30 (22,1743)	45 (19,9956);	5 (28,9283);	0	0	-	0,0298;	0,0506
13		39 (40,7900);	60 (18,3946);	56 (16,2762);	21 (26,4737);				0,0030;	(18)
		54 (40,7877);			36 (24,4494);				0,0002;	
		63 (24,9309);			39 (31,7156);				0,0259;	
					60 (21,3012);				0,0073;	
									(20)	
TSP	11 (18,9100);	19 (22,6700);	8 (11,5969);	8 (5,6547);	15 (16,7706);	48 (4,7871);	0	11 (19,6384);	-	0
13	27 (18,4000);	21 (23,9600);	9 (11,9381);	28 (4,2245);	21 (14,3703);			26 (4,4183);		
	34 (4,5400);	48 (4,2878);	11 (12,0710);	35 (4,5774);	24 (4,5015);			33 (4,3698);		
	48 (4,3926);		19 (12,9954);		25 (4,1446);			34 (4,8651);		
			25 (4,3480);		28 (22,9897);			35 (19,7759);		
			48 (4,7049);		34 (4,2563);					
					48 (4,4811);					
					51 (16,9752);					
TSN	34 (6,7000);	39 (24,3200);	56 (9,0393);	0	39 (20,9970)	0	0	13 (2,9396);	0	-
13	39 (16,6400);									

Примечание: ниже диагонали – номера признаков (Приложение: Табл. 9) со значением t-критерия Стьюдента ≤5%, при незначительно различающихся значениях дисперсии, в скобках значение df для t-критерия Стьюдента; выше диагонали – значения теста Левена, в скобках значение df для теста Левена.

	T. hakonensis	T. hakonensis	T. hakonensis	T. brandtii	T. brandtii	T. brandtii	T. sachalinensis
	зал. Анива	зал. Восток	бух. Киевка	зал. Восток	бух. Киевка	река Лютога	река Пиленга
T. hakonensis	0,00488	0,00640	0,00625	0,01193	0,00925	0,01175	0,01110
зал. Анива							
T. hakonensis	0,02471	0,00000	0,00163	0,01129	0,00805	0,01111	0,01144
зал. Восток							
T. hakonensis	0,03195	0,00996	0,01847	0,00970	0,00738	0,00954	0,01037
б. Киевка							
T. brandtii	0,07222	0,06657	0,05764	0,00073	0,00332	0,00231	0,00887
зал. Восток							
T. brandtii	0,05851	0,04758	0,04409	0,01983	0,02917	0,00351	0,00821
б. Киевка							
T. brandtii	0,06999	0,06441	0,05601	0,00348	0,02009	0,00000	0,00920
р. Лютога							
T. sachalinensis	0,06358	0,06708	0,06405	0,04222	0,05027	0,04573	0,00000

Таблица 14 – *P*-расстояния внутри и между изученными выборками трех видов рода *Tribolodon*, (маркер *Co-1*)

р. Пиленга						
------------	--	--	--	--	--	--

Примечание: по диагонали указаны значения расстояний внутри групп, ниже диагонали – между группами, выше диагонали – стандартное отклонение.

Таблица 15 – *P*-расстояния внутри и между изученными выборками трех видов рода *Tribolodon* по последовательностям *Cyt-b*

	T. hakonensis	T. hakonensis	T. hakonensis	T. hakonensis	T. brandtii	T. brandtii	T. brandtii	T. sachalinensis	T. sachalinensis
	зал. Анива	зал. Восток	бух. Киевка	река Найба	зал. Восток	бух. Киевка	река Найба	река Найба	река Пиленга
T. hakonensis	0,00763	0,00472	0,00472	0,00291	0,01000	0,01012	0,01027	0,01039	0,01097
зал. Анива									
T. hakonensis	0,02738	0,00000	0,00046	0,00554	0,01040	0,01033	0,01069	0,01041	0,01103
зал. Восток									
T. hakonensis	0,02760	0,00116	0,00150	0,00553	0,01037	0,01031	0,01067	0,01038	0,01100
б. Киевка									
T. hakonensis	0,01275	0,03239	0,03261	0,00000	0,01055	0,01069	0,01058	0,01078	0,01142
р. Найба									
T. brandtii	0,08745	0,09332	0,09325	0,09209	0,00000	0,00245	0,00446	0,01009	0,00994
зал. Восток									
T. brandtii	0,08815	0,09048	0,09041	0,09308	0,00941	0,00093	0,00472	0,01002	0,00998
б. Киевка									

T. brandtii	0,08888	0,09650	0,09642	0,09189	0,02350	0,02201	0,00000	0,00896	0,00878
р. Найба									
T. sachalinensis	0,09487	0.09361	0.09380	0.09863	0,09718	0,08964	0,07884	0.00574	0,00307
	,	,	,	,	,	,	,	-)	,
р. Найба									
T. sachalinensis	0.10182	0.10071	0.10093	0.10459	0.10091	0.09708	0.08144	0.01403	0.00065
	- ,	-,	- ,	- ,	- ,	- ,	- ,	- ,	.,
р. Пиленга									

Примечание: по диагонали указаны значения расстояний внутри групп, ниже диагонали – между группами, выше диагонали – стандартное отклонение.

Таблица 16 – *P*-расстояния внутри и между изученными выборками трех видов рода *Tribolodon* по последовательностям рРНК *ITS-1,2*

			•			
	T. hakonensis	T. hakonensis	T. hakonensis	T. sachalinensis	T. brandtii	T. hakonensis
	река Лютога	Река Тымь	зал. Анива	река Пиленга	зал. Восток	бух. Киевка
T. hakonensis	0,00711	0,00224	0,00199	0,00576	0,00872	0,00342
р. Лютога						
T hakonensis	0.00714	0 00594	0.00151	0.00507	0.00858	0.00305
1. 1141011011313	0,00714	0,00574	0,00151	0,00507	0,00050	0,00505
т. т						
р. тымь						
T. hakonensis	0,00503	0,00386	0,00118	0,00543	0,00841	0,00288
зал. Анива						
T sachalinonsis	0.02167	0.01737	0.01800	0.00711	0.00031	0.00501
1. suchuinensis	0,02107	0,01737	0,01090	0,00711	0,00931	0,00501
п						
р. Пиленга						
T. brandtii	0.04940	0.04838	0.04604	0.05279	0.00833	0.00844
	-,	-,	-,	•,••	0,00000	-,
DOL DOCTOR						
Sall DOCTOR	0.0440.4				0.07010	0.04707
T. hakonensis	0,01486	0,01335	0,01223	0,02258	0,05310	0,01703
б. Киевка						

Примечание: по диагонали указаны значения расстояний внутри групп, ниже диагонали – между группами, выше диагонали – стандартное отклонение.

Таблица 17 – *P*-расстояния внутри и между изученными выборками трех видов рода *Tribolodon* по последовательностям *Rho*

	T. hakonensis	T. hakonensis	T. hakonensis	T. hakonensis	T. brandtii	T. sachalinensis
	зал. Анива	зал. Восток	бух. Киевка	река Найба	бух. Киевка	река Пиленга
T. hakonensis	0,00000	0,00241	0,00199	0,00097	0,00213	0,00320
зал. Анива						
T. hakonensis	0,00456	0,00021	0,00138	0,00214	0,00272	0,00292
зал. Восток						
T. hakonensis	0,00296	0,00159	0,00000	0,00167	0,00233	0,00255
б. Киевка						
T. hakonensis	0,00185	0,00494	0,00334	0,00322	0,00218	0,00244
р. Найба						
T. brandtii	0,00445	0,00635	0,00475	0,00565	0,00224	0,00291
б. Киевка						
T. sachalinensis	0,00744	0,00605	0,00445	0,00558	0,00655	0,00000
р. Пиленга						

Примечание: по диагонали указаны значения расстояний внутри групп, ниже диагонали – между группами, выше диагонали – стандартное отклонение.

Таблица 18 – Максимальные *p*-расстояния между изученными выборками *Tribolodon* и потенциальными гибридными особями

Название вида (№ гибрида) / маркер	Co-1	Cyt-b	ITS -1,2
<i>T. hakonensis</i> (ТВК012NТНК0_12 гибрид № 12 из б. Киевка)	6,8 %	7,7 %	5,2 %
<i>T. brandtii</i> (ТВК012NTHК0_12 гибрид № 12 из б. Киевка)	1,2 %	2,4 %	1 %
<i>T. hakonensis</i> (ТВV03NTHV03_03гибрид № 3 из зал. Восток)	6,7%	9,2 %	1,6 %
<i>T. brandtii</i> (ТВV03NTHV03_03 гибрид № 3 из зал. Восток)	1,8%	0,7 %	5,4 %

Таблица 19 – вставки и замены в последовательностях нуклеотидов видов рода *Tribolodon*

Последовате льность для вида/ номер нуклеотида	42-61	290	321- 329	362	411- 424	457	514	516	530	5 5 3	571-591
T. hakonensis	CATTTTT TTT- ATTCCCA -A	С	CCCC GGGG G	Т	CCC GGG	С	G	Т	С	G	TCGGGAGG- GAGCGGGAG TCG
T. brandtii	AATTTTT TTT <mark>TCCC</mark> CCCA <mark>C</mark> A	T	GCC GGG	Т	C G	T	A	C	T	C	<mark>GGAC</mark> G <mark>G</mark> AA <mark>G</mark> GAG <mark>G</mark> GGG <mark>G</mark> G T <mark>TC</mark>
T. sachalinens is	CATTTTT TTTT- TCCCA- A		CC GGG	C	C <mark>CCT</mark> TCCC GGGG GGG	С	G	Т	С	G	TCGGGAG <mark>T</mark> - GAGCGGGAG TCG

Примечание: нуклеотиды, отличающиеся от исходных последовательностей *T. hakonensis* выделены красным.

Таблица 20 – Поток генов между разными группировками красноперок рода *Tribolodon* по данным анализа последовательностей *Cyt-b*, *Co-1*, *Rho* и *ITS-1*,2

Сравниваемые группировки	Hs	Gst	Gamma St	Fst				
(I) Cyt-b, Co-1, Rho, ITS-1	,2; 14 сик	венсов						
Общий поток генов: Gamma St = 0,715; Nm = 0,10								
Т. hakonensis (зал. Анива) №1 и	0,750	0,143	0,600	0,667				
<i>T. hakonensis</i> (б. Киевка) №2								
Т. hakonensis (зал. Анива) №1 и	0,556	0,030	0,265	0,911				
Т. brandtii (зал. Восток) №4								
<i>Т. hakonensis</i> (зал. Анива) №1 и гибриды №3	0,500	0,158	0,448	0,148				
Т. hakonensis (б. Киевка) №2 и	0,889	0,089	0,799	0,850				
Т. brandtii (зал. Восток) №4								
<i>Т. hakonensis</i> (б. Киевка) №2 и гибриды №3	1,000	0,000	0,312	0,000				
Т. brandtii (зал. Восток) №4 и.	0,667	0,000	0,288	0,000				
гибриды №3								
(II) Cyt-b, Co-1; 14	сиквенсов	3						
Общий поток генов: Gamma	St = 0,939	; Nm = 0,03	3					
Т. hakonensis (зал. Анива) №1 и	0,917	0,043	0,779	0,834				
<i>T. hakonensis</i> (б. Киевка) №2								
Т. hakonensis (зал. Анива) №1 и	1,000	0,003	0,913	0,945				
Т. brandtii (зал. Восток) №4								
<i>Т. hakonensis</i> (зал. Анива) №1 и гибриды №3	1,000	0,020	0,872	0,918				
Т. hakonensis (б. Киевка) №2 и	0,889	0,046	0,976	0,984				
Т. brandtii (зал. Восток) №4								
<i>Т. hakonensis</i> (б. Киевка) №2 и гибриды №3	0,833	0,059	0,953	0,958				
Т. brandtii (зал. Восток) №4 и.	1,000	0,008	0,776	0,742				

гибриды №3									
(III) Сут-ь, Со-1; 42 сиквенсов									
Общий поток генов: Gamma	St = 0,708,	Nm = 0,21							
<i>T.hakonensis</i> (зал. Анива) + <i>T.hakonensis</i>	0,969	0,030	0,708	0,881					
(б. Киевка) и <i>T.brandtii</i> (зал. Восток)									
Общий поток генов: Gamma	St = 0,783,	Nm = 0,14							
T.hakonensis (б. Киевка) и T.hakonensis	0,704	0,033	0,051	0,021					
(зал. Восток)									
T.hakonensis (б. Киевка) и T.hakonensis	0,876	0,062	0,752	0,831					
(зал. Анива)									
T.hakonensis (зал. Восток) и	0,752	0,171	0,768	0,852					
T.hakonensis(зал. Анива)									
Общий поток генов: Gamma	St = 0,779,	Nm = 0,14		L					
T.hakonensis (зал. Анива) и T.hakonensis	0,916	0,043	0,916	0,834					
(б. Киевка) + <i>T.hakonensis</i> (зал. Восток)									
Общий поток генов: Gamma St = 0,051. Nm = 9,33									
T.hakonensis (б. Киевка) и T.hakonensis	0,704	0,033	0,051	0,021					
(зал. Восток)									
Общий поток генов: Gamma St = 0,294. Nm = 1,20									
<i>T.brandtii</i> (б. Киевка) и <i>T.brandtii</i> (зал. Восток)	0,972	0,062	0,294	0,299					

Примечание: все расчеты проводили в программе DnaSP. Не обнаружено значимого потока генов у сравниваемых группировок при помощи теста Хи-квадрат ($\chi 2$): P > 0,05. Пермутационный тест с количеством реплик n=1,000 в основном имел значение: P < 0,05 или выше при сравнение группировок одного вида. Оценка Потока генов выполнялась методом Nei (Nei, 1982).

Таблица 21 – Оценки изменчивости между сравниваемыми представителями таксонов (Популяция I – Популяция J) для последовательностей нуклеотидов видов рода *Tribolodon*

Популяция I	Популяция Ј	Hs	Ks	Gst	Gamma ST	Fst
T. hakonensis	T. hakonensis	0,75000	1,16667	0,14286	0,60000	0,66667
зал. Анива	б. Киевка					
T. hakonensis	Гибрид	0,50000	4,00000	0,15789	0,44853	0,14815
зал. Анива	T.hakonensis x T.brandtii					
T. hakonensis	T. brandtii	0,55556	0,85714	0,26477	0,88782	0,91057
зал. Анива	зал. Восток					
T. hakonensis	Гибрид	1,00000	4,88889	-0,03597	0,31250	-0,02667
б. Киевка	T. brandtii × T. hakonensis					
T. hakonensis	T. brandtii	0,88889	1,61905	0,08943	0,79871	0,85039
б. Киевка)	зал. Восток					
Гибрид	T. brandtii	0,66667	5,20000	-0,10092	0,28819	-0,12121
T. brandtii × T. hakonensis	зал. Восток					

Примечание: подсчеты проводили в программе DnaSP. Hst (Hudson et al., 1992, уравнение 2), Ks (Hudson et al., 1992, уравнение 10), Gst (Nei, 1973, уравнение 9), GammaSt (Nei, 1973), Fst (Hudson et al., 1992).

Таблица 22 – Оценки полиморфизма по 42 и 14 последовательностям мтДНК видов рода *Tribolodon*

Показатель/ Название последовательности	4 маркера	Rho, ITS-1,2	Co-1, Cyt-b	Co-1, Cyt-b
Количество сиквенсов	14	14	14	42
Количество сайтов	2948	1281	1651	1633
Общее число сайтов (за исключением инделов или отсутствующих сайтов)	2880	1245	1635	1633
Количество полиморфных (сегрегированных) сайтов, S	261	60	201	221
Общее количество мутаций, Еta	277	63	214	234
Количество гаплотипов, h	14	12	13	28
Гаплотипическая (генетическая) изменчивость, Hd	1,000	0,978	0,989	0,917
Дисперсия гаплотипической изменчивости	0,00073	0,00119	0,00099	0,00051
Стандартное отклонение гаплотипической изменчивости	0,027	0,035	0,031	0,023
Нуклеотидная изменчивость, Pi (Nei, 1987)	0,03400	0,01482	0,04860	0,03810
Дискретная изменчивость для Рі	0,0000126	0,0000041	0,0000272	-
Стандартное отклонение для Рі	0,00355	0,00202	0,00522	-
Нуклеотидная изменчивость для Pi (Jukes, Cantor, 1969)	0,03508	0,01503	0,05093	-
Theta (на сайт) из Eta	0,03024	0,01591	0,04116	0,02865
Theta (на сайт) из S, Theta-W	0,02850	0,01515	0,03866	0,02706
Изменчивость для theta (отсутствие рекомбинации)	0,0001119	0,0000342	0,0002074	0,0000480
Стандартное отклонение для theta (отсутствие рекомбинации)	0,01058	0,00585	0,01440	0,00693
Изменчивость для theta (свободная рекомбинация)	0,0000031	0,0000038	0,0000074	0,0000033
Стандартное отклонение для theta (свободная рекомбинация)	0,00176	0,00196	0,00273	0,00182

Модель ограниченного числа сайтов Theta (на сайт) из Рі	0,03561	0,01512	0,05197	0,04014
Модель ограниченного числа сайтов Theta (на сайт) из S	0,03022	0,01563	0,04190	0,02925
Модель ограниченного числа сайтов Theta (на сайт) из Eta, E	0,03129	0,01620	0,04312	0,02968
Среднее число нуклеотидных различий, k (Tajima, 1983)	97,912	18,451	79,462	62,218
Стохастическая изменчивость k (отсутствие рекомбинации), Vst(k) (Tajima, 1993)	1716,687	64,934	1134,637	717,597
Дискретная изменчивость k (отсутствие рекомбинации), Vs(k) (Tajima, 1993)	291,865	10,959	192,826	17,591
Общая изменчивость k (отсутствие рекомбинации),V(k) (Tajima, 1993)	2008,552	75,893	1327,463	735,188
Стохастическая изменчивость k (свободная рекомбинация), Vst(k) (Тајіта, 1993)	32,637	6,150	26,487	20,739
Дискретная изменчивость k (свободная рекомбинация), Vs(k) (Tajima, 1993)	5,021	0,946	4,075	0,500
Общая изменчивость k (свободная рекомбинация), V(k) (Tajima, 1993)	37,658	7,096	30,562	21,239
Theta (на последовательность) для S, Theta-W	82,072	18,867	63,205	44,182
Изменчивость theta (отсутствие рекомбинации)	927,946	52,994	554,298	127,884
Изменчивость theta (свободная рекомбинация)	25,808	5,933	19,875	8,833

Примечание: все статистические данные, приведенные в таблице, получены при помощи программы DnaSP.

Таблица 23 – *P*-расстояния для подвидов *T. brandtii brandtii и T. brandtii maruta* по 10 последовательностям маркера *Cyt-b*

	<i>T.b.brandtii</i> AB198964.1	<i>T.b.brandtii</i> AB198963.1	<i>T.b.brandtii</i> B198962.1	T.b.brandtii AB198961.1	<i>T.b.maruta</i> AB162642.1	<i>T.b.maruta</i> AB162641.1	<i>T.b.maruta</i> LC277194.1	<i>T.b.maruta</i> LC277195.1	<i>T.b.maruta</i> AB626854.1	<i>T.b.maruta</i> AP011418.1
<i>T.b.brandtii</i> AB198964.1		0,0026	0,0057	0,0039	0,0057	0,00407	0,0056	0,0055	0,0057	0.00581
<i>T.b.brandtii</i> AB198963.1	0,0080		0,0057	0,0040	0,0057	0,0041	0,0056	0,0056	0,0057	0.0058
<i>T.b. maruta</i> B198962.1	0,0392	0,0382		0,0060	0,0015	0,0062	0,0009	0,0017	0,0000	0,0017
<i>T.b.brandtii</i> AB198961.1	0,0151	0,0160	0,0401		0,0060	0,0020	0,0059	0,0058	0,0060	0,0062
<i>T.b.maruta</i> AB162642.1	0,0401	0,0392	0,0026	0,0411		0,0062	0,0012	0,0019	0,0015	0,0009
<i>T.b.brandtii</i> AB162641.1	0,0160	0,0169	0,0411	0,0044	0,0420		0,0061	0,0060	0,0062	0,0063
<i>T.b.maruta</i> LC277194.1	0,0382	0,0373	0,0009	0,0392	0,0018	0,0401		0,0014	0,0009	0,0015
<i>T.b.maruta</i> LC277195.1	0,0373	0,0364	0,0035	0,0382	0,0044	0,0392	0,0026		0,0017	0,0022
<i>T.b.maruta</i> AB626854.1	0,0392	0,0382	0,0000	0,0401	0,0026	0,0411	0,0009	0,0035		0,0017
<i>T.b.maruta</i> AP011418.1	0,0411	0,0401	0,0035	0,0420	0,0009	0,0430	0,0026	0,0053	0,0035	

Таблица 24 – Средние *p*-расстояния для трех сравниваемых групп, исследованных по 69 последовательностям маркера *Cyt-b*

Наименование группы	Значение	Стандартная	Число
	среднего <i>р</i> -	ошибка,	попарных
	расстояния, %	SE	сравнений
1.Внутри вида	1,16	0,96	11
2. Внутри рода	8,21	1.01	10
3. Внутри семейства	16,41	0.85	14

Примечание: каждое среднее значение получено на основании данных исходной матрицы сравнения парных *p*-расстояний последовательностей (Kartavtsev et al., 2017).

Таблица 25 – Средние *p*-расстояния для трех сравниваемых групп, исследованных по 97 последовательностям 13 маркеров мтДНК

Наименование группы	Значение	Стандартная	Число
	среднего р-	ошибка,SE	попарных
	расстояния,		сравнений
	%		
1.Внутри вида	1,04	0,78	7
2. Внутри рода	8,30	0,92	5
			_
3. Внутри семейства	10,74	0,79	7

Примечание: каждое среднее значение получено на основании данных исходной матрицы сравнения парных *p*-расстояний последовательностей (Kartavtsev et al., 2017).



Рисунок 1 – Распределение средних значений *p*-расстояний в трех группах сравнения для четырех проанализированных маркеров генов трех видов рода *Tribolodon*. 1) Особи *T. hakonensis* из одной выборки, 2) особи *T. hakonensis* из географически разобщенных популяций, 3) особи разных видов (*T. hakonensis, T. brandtii* и *T. sachalinensis*).



Рисунок 2 – Филогенетическое консенсусное дерево (ВА) построенное по изученным нуклеотидным последовательностям маркера *Cyt-b*. Порядок поддержек ветвей: ВА/ML/MP/NJ.



Рисунок 3 – Консенсусное дерево (ВА) подсемейства Leuciscinae, построенное по нуклеотидным последовательностям 13 генов мтДНК. Порядок поддержек ветвей: ВА/ML/MP/NJ.