

*На правах рукописи*

**РАДЧЕНКО**

**Ольга Аркадьевна**

**СИСТЕМАТИКА И ФИЛОГЕНИЯ  
БЕЛЬДЮГОВИДНЫХ РЫБ ПОДОТРЯДА ZOARCOIDEI  
(PISCES, PERCIFORMES)**

03.02.06 - ихтиология

03.02.07 - генетика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Москва – 2015

Работа выполнена в лаборатории генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук

**Официальные оппоненты: Балушкин Аркадий Владимирович**

доктор биологических наук, заведующий лабораторией ФГБУН  
Зоологический институт РАН

**Осинов Александр Георгиевич**

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник  
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

**Политов Дмитрий Владиславович**

доктор биологических наук, заведующий лабораторией  
ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

**Ведущая организация:** ФГБУН Институт биологии моря ДВО РАН

Защита состоится \_\_\_\_\_ 2015 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета по защите кандидатских и докторских диссертаций Д 002.213.02 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, 33. тел./факс: 8(495)952-73-24, e-mail: [admin@sevin.ru](mailto:admin@sevin.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, 33.

Автореферат и объявление о защите размещены на сайте ВАК Минобрнауки РФ по адресу: [www.vak2.ed.gov.ru](http://www.vak2.ed.gov.ru) и на сайте ФГБУН ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН по адресу: [www.sevin.ru](http://www.sevin.ru)  
\_\_\_\_\_ 2015 г.

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, к.б.н.



Кацман  
Елена Александровна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Современные представления о классификации и филогении рыб постоянно меняются, поскольку филогенетические связи и состав основных групп спорны или не определены. Значительная часть наших знаний о взаимоотношениях рыб является результатом долгой истории морфологического исследования. В то же время это не единственный ресурс, который можно использовать для получения всеобъемлющей картины биологического разнообразия таксонов рыб. В последние годы необходимым и все более важным источником информации о систематическом положении и родственных отношениях живых организмов становятся молекулярно-генетические данные.

Бельдюговидные рыбы подотряда Zoarcoidei (Pisces, Perciformes) – большая группа донных и придонных морских рыб, населяющих прибрежные, шельфовые и абиссальные пространства от Антарктики до Северного Ледовитого океана. К настоящему времени в подотряд включено 9 семейств, более 100 родов и 400 видов (Eschmeyer, 2014). Систематика некоторых видов и родов недостаточно разработана, а фауна в целом изучена слабо, о чем свидетельствуют регулярные находки новых для науки родов и видов (Назаркин, Чернова, 2003; Черешнев и др., 2007; Shinohara et al., 2004; Matallanas, Corbella, 2012 и др.).

Максимальное таксономическое разнообразие бельдюговидных рыб наблюдается в северной Пацифике. В этом регионе встречаются представители всех семейств подотряда, а семейства батимастеровых Bathymasteridae, птилихтовых Ptilichthyidae, запроровых Zaproridae и сциталиновых Scytalinidae относятся к его эндемикам. Происхождение подотряда связывают с северной частью Тихого океана, откуда бельдюговидные рыбы расселились в другие моря и океаны Северного и Южного полушарий, и где возникли вторичные центры видообразования, отличающиеся довольно высоким уровнем эндемизма родов и видов (Шмидт, 1950; Anderson, 1994; Briggs, 1974). В дальневосточных морях России обитают представители 8 семейств, 70 родов и 240 видов, в том числе 1 подсемейство, 40 родов и 160 видов, эндемичные для этих акваторий (Шмидт, 1950; Fedorov, 2004).

Существующие системы подотряда Zoarcoidei получены на основе морфологических признаков с применением как классического сравнительно-морфологического (Шмидт, 1950; Макушок 1958), так и кладистического подходов (Yatsu, 1985, 1986; Anderson, 1994). Мнения разных авторов о систематике и родственных отношениях Zoarcoidei часто различаются (Макушок, 1958; Шмидт, 1950; Anderson, 1994; Mecklenburg, 2003 a-g; Nelson, 2006). Трудности сравнительно-морфологического анализа объясняются широкой параллельной изменчивостью и конвергенцией морфологических признаков, которые маскируют истинные родственные и систематические отношения таксонов бельдюговидных рыб. Система подотряда нуждается в дальнейшей разработке и уточнении, и вполне своевременным представляется исследование, посвященное систематической и филогенетической ревизии подотряда на молекулярно-генетическом уровне.

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящей работы состоит в определении родственных отношений и разработке системы бельдюговидных рыб подотряда Zoarcoidei на основании молекулярно-генетических данных. В работе решались следующие задачи.

1. Оценить уровни дифференциации видов, родов, подсемейств, семейств подотряда Zoarcoidei.

2. Установить систематическую принадлежность неясных или спорных таксонов, уточнить таксономический состав подсемейств и семейств подотряда бельдюговидных рыб на основе молекулярно-генетического анализа.

3. Определить родственные отношения видов, родов и подсемейств в семействах подотряда Zoarcoidei.

4. Реконструировать систему подотряда Zoarcoidei по данным об изменчивости генов митохондриальной и ядерной ДНК.

5. Оценить соответствие молекулярно-генетических систем семейств и всего подотряда Zoarcoidei и существующих систем, полученных на основе морфологических признаков.

6. Установить временные рамки дивергенции ДНК таксонов подотряда Zoarcoidei.

7. Определить разрешающую способность и соответствие использованных молекулярных маркеров таксономическим уровням изучаемой группы рыб.

**Научная новизна.** Предложена новая система подотряда Zoarcoidei, основанная на молекулярно-генетических данных. Она включает 14 семейств, в том числе новые Neozoarcidae, Eulophiidae, Lumpenidae, Opisthocentridae, Cebidichthyidae.

Впервые проведено молекулярно-генетическое исследование подотряда Zoarcoidei с таким обширным охватом таксонов – 8 семейств, 57 родов и 107 видов. Впервые для построения системы бельдюговидных рыб в качестве филогенетических маркеров использованы гены, относящиеся к разным генетическим системам – митохондриальной (гены COI, цитохрома b, 16S рРНК) и ядерной ДНК (гены RNF213, RAG1, родопсина), а также применен комбинированный анализ этих маркеров. Для решения задач, связанных с уточнением состава и статуса некоторых таксонов подотряда Zoarcoidei, впервые использован комплексный подход, включающий анализ молекулярно-генетических и морфологических признаков.

На молекулярно-генетическом уровне подтверждена валидность нового, узкоареального вида и рода *Magadanichthys skopets* и его принадлежность к подсемейству Gymnelinae. Впервые на основе молекулярно-генетических данных реконструирована филогения подсемейства Gymnelinae. Подтверждена видовая самостоятельность таксонов *Zoarces fedorovi* и *Z. andriashevi*. Для *Z. fedorovi*, описанного из Тауйской губы Охотского моря, и *Z. andriashevi*, известного ранее только с шельфа западной Камчатки, расширены границы ареалов. Впервые на молекулярно-генетическом уровне предложена схема родственных отношений бельдюг рода *Zoarces* мировой фауны. Подтверждена самостоятельность нового вида стихеевых рыб *Xenolumpenus longipterus*, а также его принадлежность к семейству Lumpeninae и высокая специализация, установленная по морфологическим признакам.

Впервые на основе данных о нуклеотидных последовательностях генов митохондриальной и ядерной ДНК определено положение родов *Lycodapus* и *Lycenchelys*. Выявлены родственные отношения рода *Lycodapus* с родами Bothrocaragroup (*Bothrocarax*, *Allolepis*, *Bothrocarichthys*, *Lycogrammoides*). Роды *Lycenchelys* и *Petroschmidtia* образуют общую группу, которая занимает базальную позицию в подсемействе Lycodinae. Впервые показана генетическая обособленность *Petroschmidtia* как самостоятельного рода подсемейства Lycodinae и восстановлен его родовой статус.

Впервые проведен анализ нуклеотидных последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК нового для ихтиофауны России рода и вида *Leptostichaeus pumilus* и показана его ге-

нетическая близость к «зоаркоидным» рыбам, включающим семейства Zoarcidae, Neozoarcidae, Anarhichadidae. Впервые проведен молекулярно-генетический анализ рода *Azygopterus*, установлено родство *Azygopterus*, *Leptostichaeus* и *Eulophias*, а также удаленность этих родов от семейства Stichaeidae, к которому их отнесли ранее. Предложено придать этой группе статус семейства Eulophiidae.

Впервые проведен молекулярно-генетический анализ вида *Neozoarces pulcher* (Neozoarcinae), установлено его близкое родство с семействами Zoarcidae, Anarhichadidae и Eulophiidae. Предложено вывести подсемейство Neozoarcinae из состава семейства Stichaeidae и повысить его таксономический ранг до семейства Neozoarcidae.

Впервые показана генетическая неоднородность подсемейства Xiphisterinae, входящего в состав семейства Stichaeidae, и правомерность его разделения на два подсемейства – Xiphisterinae и Cebidichthyinae; предложено повысить таксономический ранг последнего до семейства Cebidichthyidae.

Впервые проведен анализ митохондриальных и ядерных генов группы семейства Pholidae, состоящей из четырех родов *Pholis*, *Rhodymenichthys*, *Apodichthys* и *Xererpes*. Впервые обосновано включение отдельных родов *Enedrias* и *Allopholis* в синонимию рода *Pholis*; показана самостоятельность рода *Rhodymenichthys* и необоснованность его включения в синонимию рода *Pholis*, а также самостоятельность родов *Apodichthys* и *Xererpes*, ранее относимых к одному роду *Apodichthys*.

Впервые на основе анализа нуклеотидных последовательностей генов митохондриальной и ядерной ДНК показано, что семейство Stichaeidae представляет собой искусственную группу и имеет полифилетическое происхождение; семейство Zoarcidae, напротив, является хорошо обособленным и филогенетически однородным.

Впервые проведено молекулярно-генетическое исследование семейства Cryptacanthodidae; родство с семейством Zaprugidae и подсемейством стихеевых рыб Lumpeninae не подтверждает его филогенетическую обособленность от семейств подотряда Zoarcoidei до уровня отдельного надсемейства.

**Научно-практическое значение.** Научная значимость обусловлена тем, что представленное исследование направлено на решение одной из фундаментальных научных проблем – изучение биологического разнообразия. Результаты работы являются важным вкладом в систему знаний о биологическом разнообразии рыб. В более узком смысле, это исследование сконцентрировано на разработке систематики и филогенетических отношений подотряда Zoarcoidei с использованием молекулярно-генетических подходов. Реконструированная филогения подотряда поможет разобраться во многих неясных вопросах, касающихся состава и положения родов, подсемейств и семейств, систематической принадлежности спорных таксонов, родственных связей и происхождения бельдюговидных рыб. Ценность данной работы состоит еще и в том, что определен и протестирован набор адекватных молекулярных маркеров, позволяющих дифференцировать бельдюговидных рыб на разных таксономических уровнях. Возможно, эти маркеры окажутся универсальными, и с их помощью будет оцениваться биологическое разнообразие других рыб. Практически представленное исследование оправдано тем, что группа бельдюговидных вместе с камбаловыми и керчаковыми рыбами составляют ядро ихтиофауны морских вод Северного полушария. Количество бельдюговидных рыб в региональных фаунах

дальневосточных морей России достигает 30-40% от общего количества видов. Полученные данные по молекулярной систематике и филогении подотряда Zoarcoidei могут быть использованы в специальных курсах высшего образования и полезны для подготовки специалистов – биологов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. В системе подотряда Zoarcoidei наиболее близки к общему гипотетическому предку семейства Bathymasteridae и Cebidichthyidae. Самое молодое семейство Zoarcidae имеет монофилетическое происхождение; в его системе подсемейство Gymnelinae – эволюционно древнее, а Lycodinae – продвинутое и близкое к Lycozoarcinae. Семейства Zoarcidae, Anarhichadidae, Neozoarcidae и Eulophiidae составляют родственную группу. Семейство Stichaeidae представляет полифилетическую группу; в его системе сестринскими подсемействами являются Stichaeinae, Xiphisterinae, Alectriinae, Chirolophinae, а подсемейства Opisthocentrinae и Lumpeninae обособлены и заслуживают статуса самостоятельных семейств. Система семейства Pholidae включает два подсемейства – Pholinae и Apodichthyinae. Семейства Pholidae и Ptilichthyidae, так же, как Zaproridae и Cryptacanthodidae представляют собой сестринские таксоны.

2. Филогенетические схемы подотряда Zoarcoidei, полученные по генетическим признакам, отличаются от гипотез, основанных на морфологических признаках. Молекулярно-генетическая система бельдюговидных рыб не подтверждает основные позиции морфологических систем семейств Zoarcidae и Stichaeidae, а также систему надсемейства Stichaeoidea в составе семейств Stichaeidae, Pholidae, Ptilichthyidae, Anarhichadidae. Соответствие молекулярно-генетической и морфологических филогений подотряда Zoarcoidei заключается в положении примитивного семейства Bathymasteridae у основания дерева, эволюционной древности и близости семейства Cebidichthyidae к общему гипотетическому предку, одинаковом расстоянии между предковым стволом подотряда и всеми семействами, кроме Bathymasteridae и Cebidichthyidae.

3. Дивергенция ДНК подотряда Zoarcoidei началась в конце олигоцена – начале миоцена, в среднем около 22 млн. лет назад, и продолжалась до середины позднего миоцена. Семейства Bathymasteridae и Cebidichthyidae отделились от общего предкового ствола первыми, 14.7-22.5 и 13.1-19.1 млн. лет назад. Дифференциация остальных семейств датируется средним – поздним миоценом, около 10-15 млн. лет назад. Период позднего миоцена – середины плиоцена, 3.6-7.8 млн. лет назад, можно считать наиболее вероятным временем появления и расселения современных видов подотряда Zoarcoidei.

4. Комбинированный анализ митохондриальных и ядерных генов является результативным молекулярно-генетическим подходом для установления родственных отношений и реконструкции системы подотряда Zoarcoidei. Комбинированная последовательность ДНК, имеющая длину 4730 пар нуклеотидов и включающая как полиморфные, так и консервативные гены, содержит достаточный объем филогенетической информации для получения достоверных данных о генетической изменчивости в разных таксономических группах бельдюговидных рыб.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы представлены на X Съезде Гидробиологического общества РАН (Владивосток, 2009), VII-XIII Международных научных конференциях «Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей» (Петропавловск-Камчатский, 2006-2012), Всероссийской научной конференции «Чтения памяти ака-

демике К.В. Симакова» (Магадан, 2007, 2009), Дальневосточной научной конференции, посвященной памяти А.П. Васьяковского и в честь его 100-летия «Геология, география, биологическое разнообразие и ресурсы Северо-Востока России» (Магадан, 2011), рабочем совещании «Штрих-кодирование видов рыб в России на основе ДНК. Интеграция в глобальную программу Fish-BOL» (Владивосток, 2007), Международной конференции «DNA Barcoding and Molecular Phylogenetics» (Vladivostok, 2008), Международной конференции «Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб», посвященной 100-летию со дня рождения выдающегося генетика и селекционера В.С. Кирпичникова (Санкт-Петербург, 2008), 3rd Moscow International Conference «Molecular Phylogenetics MolPhy-3» (Moscow, 2012), VIII Международном симпозиуме «Фундаментальные и прикладные проблемы науки» (Непряхино, 2013).

**Декларация личного участия автора.** Автор принимал непосредственное участие в сборе образцов биологических тканей, определении таксономической принадлежности рыб во время научных экспедиций – на научно-исследовательском судне ДВО РАН «Профессор Гагаринский» в район Шантарских о-вов (2010), залив Шелихова и на западное побережье Камчатки (2011), на южные Курильские о-ва (2013); в залив Восток (2009) и Дальневосточный Морской биологический заповедник (2012). Экспериментальная часть работы, включающая выделение ДНК, амплификацию, определение нуклеотидных последовательностей, проведена совместно с А.В. Петровской (ИБПС ДВО РАН). Филогенетический анализ и обобщение данных выполнены лично автором. В целом участие автора в работе над диссертацией составило не менее 80% .

**Благодарности.** Автор искренне признателен своему учителю, доктору биологических наук, профессору Игорю Александровичу Черешневу, без которого эта работа не смогла бы состояться.

Автор благодарен за помощь в сборе и таксономическом определении биологического материала П.К. Гудкову (ИМГиГ ДВО РАН), М.В. Назаркину (ЗИН РАН), А.А. Баланову (ИБМ ДВО РАН), К.В. Регель (ИБПС ДВО РАН), А.М. Токранову (Кф ТИГ ДВО РАН), В.В. Земнухову (ИБМ ДВО РАН), И.Н. Моревой (ИБМ ДВО РАН), С.В. Туранову (ИБМ ДВО РАН), А.И. Пинчуку (University of Alaska, USA), Е.Р. Потапову (Philadelphia University, USA), Т.В. Pietsch (Университет штата Вашингтон, США), Н. Sakai (National Fisheries University, Japan). Автор выражает признательность сотрудникам лаборатории генетики ИБПС ДВО РАН: заведующему лабораторией Б.А. Малярчуку за ценные замечания, М.В. Деренко и А.В. Петровской за большую помощь при проведении молекулярно-генетического анализа. Автор благодарен за сотрудничество М.В. Назаркину (ЗИН РАН), А.А. Баланову (ИБМ ДВО РАН), С.В. Шедько (БПИ ДВО РАН), В.В. Земнухову (ИБМ ДВО РАН), И.Н. Моревой (ИБМ ДВО РАН), Е.А. Поезжаловой-Чегодаевой (ИБПС ДВО РАН).

Работа была поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (гранты 06-04-96005, 08-04-00013, 09-04-98500, 11-04-98504, 11-04-00004), Дальневосточным отделением РАН (гранты 06-1 П11-036, 12-III-A-06-103).

**Публикации.** По теме диссертации опубликована 41 научная работа, в том числе 23 статьи в рецензируемых журналах.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 435 страницах печатного текста, включает 62 основные таблицы и 20 таблиц приложения А, иллюстрирована 38 основными ри-

сунками и 26 рисунками приложения Б. Диссертация состоит из введения, девяти глав, заключения, выводов, списка литературы, содержащего 358 источников, приложений А и Б.

### **ГЛАВА I. Подотряд бельдюговидных рыб *Zoarcoidei***

Приводятся сведения о составе мировой фауны подотряда *Zoarcoidei* включающей 9 семейств, более 100 родов и 400 видов (Eschmeyer, 2014). Дается краткая информация о диагностических признаках, образе жизни, распространении бельдюговидных рыб. Проводится обзор систем подотряда, разработанных на основе морфологических подходов.

### **ГЛАВА II. Молекулярно-генетический подход к решению проблем систематики и филогении**

Приводятся ключевые этапы филогенетического анализа, а также основные трудности применения молекулярно-генетических методов.

### **ГЛАВА III. Материалы и методы**

Использован биологический материал по видам подотряда *Zoarcoidei*, обитающим в северо-западной части Тихого океана (Охотском, Японском, Беринговом морях), а также в северо-восточной Пацифике и северной Атлантике. Для сравнительного молекулярно-генетического анализа привлечены данные из Genbank/NCBI. Проанализировано 392 экземпляра рыб, представляющих 107 видов из 8 семейств подотряда. В качестве внешних групп использованы виды *Trachurus trachurus* (Perciformes, Percoidei) и *Eleginops maclovinus* (Perciformes, Notothenioidei).

Молекулярно-генетический анализ проведен с использованием митохондриальных генов субъединицы I цитохромоксидазы, цитохрома b, субъединицы 16S рРНК, и ядерных генов RNF213, родопсина, RAG1. Маркеры мтДНК и яДНК анализировались как отдельно, так и в комплексе, когда независимо выровненные последовательности генов объединяются в один набор данных. Для определения конгруэнтности наборов данных по мтДНК и яДНК и возможности их использования в филогенетическом анализе в виде объединенных последовательностей ДНК проведено сравнение альтернативных топологий филогенетических деревьев с помощью статистических тестов ELW, BP, KH, SH, WSH, AU реализованных в пакете программ Tree-Finder (Jobb, 2011).

Геномная ДНК выделена из мышечной ткани и плавников по стандартной методике (Maniatis et al., 1982). Для амплификации ДНК в полимеразной цепной реакции и секвенирования использованы наборы универсальных олигонуклеотидных праймеров и условия, описанные в работах (Радченко, 2005; Chen et al., 2003; Lopes et al., 2004; Meyer, 1993), а также специфические праймеры, разработанные нами с помощью программы Primer-BLAST (NCBI) на основе полных нуклеотидных последовательностей мтДНК *Lycodes toyamensis*, *Enedrias crassispina* (Miya et al., 2003), *Anarhichas lupus* (Johnstone et al., 2007) и гена RNF213 *A. lupus* (Li et al., 2009). Секвенирование амплифицированных фрагментов ДНК проведено на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA).

Параметры изменчивости последовательностей ДНК получены с использованием пакета программ MEGA 6 (Tamura et al., 2011). Для характеристики состава оснований ДНК рассчитаны стандартное отклонение, среднее стандартное отклонение, смещение частот нуклеотидов (Irwin et al., 1991). Гомогенность состава оснований в переменных нуклеотидных сайтах каждого гена оценивалась с помощью теста хи-квадрат (PAUP 4.0b10). Для определения видов от-

бора, действующего на гены мтДНК и яДНК, проведен селективный Z-тест (MEGA 6), в ходе которого вычислены разницы значений несинонимичной ( $d_N$ ) и синонимичной ( $d_S$ ) дистанций (дифференциации дистанций,  $Dd$ ). Для оценки генетических расстояний между последовательностями ДНК с помощью программы RAUP 4.0b10 вычислены p-дистанции.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей ДНК выполнен методами максимальной экономии (MP), максимального правдоподобия (ML), байесовского анализа (BA). Для построения ML- и BA-деревьев в программе Modeltest v3.7 (Posada, Crandall, 1998) на платформе RAUP 4.0b10 с использованием критерия Akaike (AIC) выбраны модели нуклеотидных замещений, оптимальные для различных частей наборов данных. В комбинированном анализе маркеров мтДНК и яДНК максимальное количество частей наборов данных составило 16 (первые, вторые, третьи позиции кодонов белоккодирующих генов мтДНК, ген 16S рРНК; первые, вторые, третьи позиции кодонов генов яДНК). Поиск наиболее экономных деревьев (MP) проведен по невзвешенной матрице данных с включением инсерций/делений в 100 повторностях со случайным характером включения последовательностей в анализ и перестановками по TBR-алгоритму (RAUP 4.0b10). Поиск максимально правдоподобных деревьев (ML) выполнен на основе оптимальных моделей нуклеотидных замещений, в 100 повторностях со случайным включением последовательностей и перестановками по TBR-алгоритму (TreeFinder). Для оценки устойчивости топологии MP- и ML-деревьев использован бутстрэп-анализ в 1000 повторных псевдослучайных выборок. Байесовский анализ филогении (MrBayes v.3.1.2: Ronquist, Huelsenbeck, 2003) проведен на основе оптимальных моделей замен с помощью запуска трех «горячих» и одной «холодной» цепей в течение  $10^6$  циклов с отбором каждого сотого генерированного дерева. Из 10001 полученных деревьев первые 1001 отброшены; на основе остальных деревьев, имеющих стабильные оценки параметров моделей нуклеотидных замещений и правдоподобия (LnL), получены 50-процентные консенсусные деревья и оценки апостериорной вероятности их ветвления. Узлы ветвления, имеющие бутстрэп-оценки  $\geq 70\%$  и оценки апостериорной вероятности  $\geq 0.95$ , приняты, как достоверные (Leache, Reeder, 2002).

Определение времени дивергенции таксонов подотряда Zoarcoidei на основе данных об объединенных ДНК проведено в рамках байесовского подхода с помощью пакета программ BEAST 1.7 (Drummond et al., 2012). Применены следующие параметры анализа: варьирующие (нестрогие) часы с некоррелированным логнормальным распределением скоростей нуклеотидных замен по ветвям дерева и этапами видообразования, подчиняющимся распределению Юла; фиксированная топология дерева (ML дерево); модель нуклеотидных замен GTR + G; протяженность анализа  $10^7$  циклов с отбором каждого тысячного из генерированных деревьев. Для привязки ультраметрического дерева к абсолютной шкале времени использованы три калибровочных интервала: первый – 38 млн. лет, представлен ископаемыми остатками нототениоидной рыбы *Proeleginops grandeastmanorum* из позднеэоценовых отложений о. Симор (Антарктика) (Балушкин, 1994); второй – 11.6-12.25 млн. лет, основан на остатках бельдюговидных рыб семейств Stichaeidae и Pholidae из миоценовых отложений агневской свиты о. Сахалин (Назаркин, 2000); третий – 1.9-3.2 млн. лет, связан с остатками *Lycodes pacificus* (Zoarcidae) из плио-плейстоценовых отложений южной Калифорнии (Fitch, 1967). Для контроля за динамикой байесовского анализа применена программа Tracer v1.5 (Rambaut et al., 2009). Для визуализации деревьев использована программа FigTree v1.4 (Rambaut, 2012).

Для отдельных таксономических групп приведены результаты сравнительного морфологического анализа. С использованием данных, включающих матрицы морфологических признаков (0, 1 – состояние признаков) из работ (Черешнев, Поезжалова-Чегодаева, 2011; Anderson, 1994; Møller, Gravlund, 2003; Shinohara et al., 2004) и последовательности генов мтДНК и яДНК, в программе MrBayes v.3.1.2 для некоторых таксонов построены комплексные ВА-деревья.

#### **ГЛАВА IV. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей молекулярных маркеров бельдюговидных рыб подотряда *Zoarcoidei***

Сравнительный анализ молекулярных маркеров показал, что гены яДНК и ген 16S рРНК мтДНК более консервативны. Самая высокая степень изменчивости характерна для участков генов COI и цитохрома b митохондриального генома – количество замен на нуклеотидный сайт составило 0.43 и 0.48, соответственно. Уровень полиморфизма генов RNF213, родопсина, RAG1 ядерной ДНК, а также митохондриального гена 16S рРНК оказался практически одинаковым и значительно (почти в 2 раза) ниже, чем у кодирующих белки митохондриальных генов – число мутаций на сайт оценено в 0.26, 0.24, 0.23 и 0.23, соответственно.

Для генов, кодирующих белки, самыми частыми заменами были транзиции в третьих позициях кодонов, затем – трансверсии в третьих позициях. У генов мтДНК следующие по частоте – молчание транзиции в первых позициях; транзиции вторых позиций, а также трансверсии первых и вторых позиций в основном приводили к заменам аминокислотных остатков. В генах яДНК частота транзиций и трансверсий в первом положении практически одинакова; приблизительно равное распределение разных типов замен и во втором положении кодонов; большинство замен в первых и вторых позициях – несинонимичные мутации.

Установлено, что несинонимичные мутации в нуклеотидных последовательностях изученных участков генов рыб подотряда *Zoarcoidei* происходили с разной интенсивностью. Для митохондриальных маркеров доля несинонимичных замен в общем количестве мутаций была гораздо меньше, она составила 7.5 и 19.9% для генов COI и цитохрома b, соответственно. Для маркеров ядерного генома этот параметр изменчивости оказался существенно больше – 34.9, 35.4 и 41.8% для генов родопсина, RNF213 и RAG1, соответственно. Z-тест показал, что на исследованные молекулярные маркеры действует отрицательный отбор; для всех генов мтДНК и яДНК статистически достоверна ( $P < 0.05$ ) вероятность отклонения нулевой гипотезы о нейтральности в пользу гипотезы об отрицательном отборе.

На основе оценки распределения нуклеотидных замен, маркирующих группы родственных таксонов бельдюговидных рыб, определялось соответствие использованных молекулярных маркеров таксономическим уровням изучаемой группы рыб (таблица 1). Больше всего мутаций, объединяющих близкие таксоны, зафиксировано в последовательностях митохондриального гена 16S рРНК (8.9%) и ядерного гена RAG1 (8.3%); затем следуют гены родопсина (6.3%), RNF213 и цитохрома b (4.3%), COI (4%). Самый полиморфный ген цитохрома b хорошо отражает сходство лишь на низких таксономических уровнях – группа видов-род. Митохондриальные гены COI и 16S рРНК работают не только на этом уровне, но и на уровне семейств. Ген RNF213 яДНК характеризуется значительным количеством маркирующих мутаций только в пределах семейств, но для него не выявлены замены, ассоциированные с группами видов-родами. Последовательности генов родопсина и RAG1 имеют большое количество мутаций, объединяющих виды, но второй ген, в отличие от первого, является определяющим и для

Таблица 1. Распределение мутаций митохондриальных и ядерных генов, маркирующих систематические группы бельдюговидных рыб разного уровня

Таксоны	Ген (длина участка)					
	COI (869 пн)	Цитохром b (584 пн)	16S рРНК (594 пн)	RNF213 (628 пн)	Родопсин (735 пн)	RAG1 (1295 пн)
Вид	4	4	11	-	22	30
Группа видов	-	-	5	-	-	-
Род	11	14	13	-	5	5
Группа родов	1	1	4	6	4	4
Подсемейство	2	-	3	6	6	23
Группа подсемейств	4	-	3	3	-	-
Семейство	12	5	13	11	7	41
Группа семейств	1	1	1	1	2	4
Всего маркирующих мутаций	35 (4%)	25 (4.3%)	53 (8.9%)	27 (4.3%)	46 (6.3%)	107 (8.3%)

более высоких иерархических групп – подсемейство-семейство-группа семейств.

Выбранные для анализа ДНК-маркеры информативны на разных таксономических уровнях – от вида-группы видов до семейства-группы семейств. Если высоко полиморфные гены мтДНК можно применять для определения генетического сходства и различия видов и родов, то более консервативные гены ядерной ДНК лучше подходят для подсемейств и семейств. Однако, оптимальный молекулярно-генетический подход для реконструкции системы всего подотряда *Zoarcoidei* – это комплексный анализ митохондриальных и ядерных генов, поскольку он позволит получить более полную информацию о генетической изменчивости в группах бельдюговидных рыб разного уровня. Статистические тесты показали, что отличия топологий деревьев, полученных по генам мтДНК и яДНК, статистически не значимы, эти наборы данных конгруэнтны и могут анализироваться в виде объединенных ДНК-последовательностей.

## ГЛАВА V. Молекулярная систематика и родственные отношения в семействе

### *Zoarcidae*

**1. Подсемейство *Lycodinae*.** Сравнительный анализ генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и генов RNF213, родопсина, RAG1 яДНК показал наличие трех мутационных замен, маркирующих все изученные таксоны подсемейства *Lycodinae*. Генетические расстояния между объединенными последовательностями ДНК составили: от 0.1 до 0.4% в пределах видов, от 0.6 до 2.8% между видами одного рода, от 2.6 до 5.3% между родами подсемейства. Близкое генетическое родство характерно для группы *Bothrocara* – от 2.6% между родами *Bothrocara* и *Allolepis* до 3.8% между *Bothrocara* и *Lycogrammoides*. Род *Lycodapus* сходен с группой *Bothrocara* (3.4%) и родом *Lycodes* (3.8%). Самый значительный вклад в дивергенцию типов ДНК подсемейства *Lycodinae* вносит род *Petroschmidtia*, который дифференцирован от других таксонов на 4-5.6%. Из-за отсутствия данных по генам яДНК рода *Lycenchelys* его родственные связи обсуждаются только на основе анализа генов мтДНК. Ближайшим родственником *Lycenchelys* является *Petroschmidtia* (4.8%). Максимальный уровень дивергенции (7.4%) наблюдается между *Lycenchelys* и родами группы *Bothrocara*.

Топология консенсусных деревьев, реконструированных на основе митохондриальных и объединенных нуклеотидных последовательностей, с высокой достоверностью отражает монофилию каждого из изученных родов (кроме *Lycenchelis*) и группы *Bothrocara* подсемейства *Lycodinae*. На деревьях четко дифференцированы три группы. Положение в основании деревьев занимает кластер родов *Petroschmidtia* и *Lycenchelys*, существенно дивергировавший от осталь-

ных групп. Следующим обособляется макрокластер, объединяющий более молодые кластеры рода *Lycodes* и группы *Bothrocara* – *Lycodapus*. Разделение таксонов подсемейства на три филогенетические линии согласуется с морфологическими различиями между ними. Полученные результаты соответствуют морфологическим схемам в части выделения особой группы родов *Bothrocara* и родственных отношений *Lycodapus* с этой группой (Anderson, 1994; Matallanas, 2010). Главное отличие основано на том, что валидность рода *Petroschmidia* не признавалась – его считали синонимом рода *Lycodes*, а последний определяли как примитивный по отношению к остальным родам подсемейства (Anderson, 1994).

**2. Подсемейство Zoarcinae.** Показано наличие шести гомологичных мутаций, объединяющих все виды подсемейства *Zoarcinae*. Выявлено существенное варьирование р-дистанций от 0.5 до 5.1% между объединенными ДНК, подтверждающее данные морфологического анализа о нескольких уровнях дивергенции *Zoarces* – от минимальных между политетическими видами, различающимися комплексами перекрывающихся признаков, до максимальных между далеко уклонившимися по отдельным признакам видами (Черешнев, Поезжалова-Чегодаева, 2011).

На основании анализа нуклеотидных последовательностей митохондриальных и ядерных генов, данных внешней морфологии, окраски, остеологических особенностей, проведена идентификация бельдюг неясной видовой принадлежности, пойманных у северного побережья Охотского моря. Первая находка вида *Zoarces fedorovi* у мыса Хайрюзова и о. Феклистова расширяет его ареал в Охотском море до крайней юго-восточной точки на западной Камчатке и крайней юго-западной точки у Шантарских о-вов. Первое обнаружение *Z. andriashevi* у побережья о. Большой Шантар свидетельствует о распространении этого охотоморского вида не только на шельфе западной Камчатки, как считалось ранее, но и в районе Шантарских о-вов.

Сравнительный анализ объединенных ДНК-последовательностей показал, что для *Z. elongatus* характерна высокая внутривидовая изменчивость, которая связана с присутствием в выборке вида значительно отличающейся группы рыб от южно-курильского о. Шикотан. На филогенетических деревьях кластер этой группы хорошо обособлен от остальных линий *Z. elongatus*: на 0.8-1.1% по мтДНК и на 0.5-0.7% по объединенной ДНК. Такие уровни различий в роде *Zoarces* скорее соответствуют генетическим дистанциям между близкородственными видами, например, между *Z. fedorovi* и *Z. viviparus*. Из известных на сегодняшний день бельдюг в районе южных Курил обитает только *Z. elongatus* (Черешнев, Поезжалова-Чегодаева, 2011). Но этот вид населяет биотопы с нормальной соленостью и не встречается в опресненных водах приустьевых участков рек. Бельдюги о. Шикотан были отловлены в верхней части устья р. Горобец во время отлива, в почти пресной воде. Похожие экологические предпочтения свойственны только *Z. fedorovi*, однако, бельдюга о. Шикотан не обладала внешними морфологическими признаками данного вида. Вероятно, на о. Шикотан обитает далеко дивергировавшая форма *Z. elongatus*, которая, заслуживает подвидового или видового статуса.

Топология филогенетических деревьев достоверно свидетельствует (99/95/1) о монофилетическом происхождении рода *Zoarces*. Филогенетическая линия *Z. gillii* занимает базальную позицию и максимально дифференцирована от других бельдюг – на 4.8% по объединенной ДНК. Удаленное положение характерно и для ДНК-линии *Z. americanus*, отличающейся от остальных четырех видов на 3.2%. *Z. andriashevi*, *Z. elongatus*, *Z. fedorovi* и *Z. viviparus* образуют

общую группу, в которой последние два вида – самые молодые. Сходство молекулярно-генетической и морфологической филогений рода *Zoarces* состоит в обособленном положении *Z. gillii* и *Z. americanus*, родстве охотоморских бельдюг, монофилии подсемейства Zoarcinae.

**3. Подсемейство Gymnelinae.** Сравнительный анализ генов яДНК показал присутствие четырех нуклеотидных замен, специфичных только для представителей подсемейства Gymnelinae. Уровень дивергенции между объединенными ДНК-последовательностями таксонов Gymnelinae разного ранга изменялся от 0.1 до 0.3% в пределах видов, от 0.6 до 2.8% между видами одного рода и от 2.3 до 6.2% между родами.

*Magadanichthys skopetsi* – недавно описанный охотоморский эндемичный род и вид подсемейства Gymnelinae (Shinohara et al., 2004, 2006). С помощью морфологического анализа положение *Magadanichthys* выявить не удалось – роды *Magadanichthys*, *Bilabria*, *Davidijordania*, *Hadropareia* оказались равноудаленными друг от друга (Shinohara et al., 2004). На основе данных молекулярно-генетического анализа установлено родство *Magadanichthys* с *Hadropareia*.

В соответствии со схемами родственных отношений, полученными по морфологическим признакам, подсемейство Gymnelinae разделяется на две группы: примитивные роды, обладающие брюшными плавниками (*Magadanichthys*, *Bilabria*, *Davidijordania*, *Hadropareia*), и эволюционно продвинутые роды без брюшных плавников (*Krusensterniella*, *Gymnelopsis*, *Gymnelus* и др.) (Anderson, 1994; Shinohara et al., 2004; Shinohara, Sakurai, 2006). Молекулярно-генетический анализ дает похожую картину. Структура филогенетических деревьев на хорошем уровне достоверности подтверждает монофилетическое происхождение родов (исключая *Gymnelus*) и всего подсемейства Gymnelinae, которое разделяется на две далеко дивергировавшие филогенетические линии: группу родов *Hadropareia*, *Magadanichthys*, *Bilabria*, *Davidijordania* и группу *Krusensterniella*, *Gymnelopsis*. Дифференциация между этими группами существенная и составляет 5.9% по объединенной ДНК, что сопоставимо с генетическими расстояниями между отдельными видами из разных подсемейств бельдюговых рыб.

**4. Система семейства Zoarcidae.** В последовательностях ДНК представителей семейства бельдюговых рыб обнаружено по две специфичные мутации, общие для подсемейств Lycodinae, Gymnelinae, Lycozoarcinae, а также для Lycodinae, Zoarcinae, и по одной – для Lycodinae, Zoarcinae, Lycozoarcinae и Zoarcinae, Lycozoarcinae. Ни в одном из генов не выявлено изменений нуклеотидов, маркирующих все таксоны семейства Zoarcidae.

Топология консенсусных деревьев, реконструированных на основе митохондриальных и комбинированных (рисунок 1) последовательностей, с высокой достоверностью указывает на монофилетическое происхождение подсемейств семейства Zoarcidae. На деревьях выделяются три кластера. Базальное положение занимает кластер подсемейства Gymnelinae, дивергировавший от остальных групп в среднем на 5.1% по объединенной ДНК. Следующим отделяется кластер подсемейства Zoarcinae, который на том же уровне, что и Gymnelinae, отличается от других кластеров – на 5.2%. Затем обособляется филогенетическая линия Lycozoarcinae, в наименьшей степени дифференцированная от остальных подсемейств: от Lycodinae – на 4.7%, от Zoarcinae и Gymnelinae – на 4.8%. Терминальное положение занимает кластер подсемейства Lycodinae, который находится на генетическом расстоянии в 5.1% от прочих подсемейств. Узлы ветвления филогенетических деревьев, построенных по генам яДНК, главным образом, имеют

высокую поддержку (98/95/0.98-100/100/1). Их топология отличается расположением подсемейства *Lycosoarcinae* у основания дерева, не подкрепленным статистически (60/55/0.73).

Реконструкция системы бельдюговых рыб на основании молекулярно-генетических данных отличается от морфологической системы (Anderson, 1994) по нескольким позициям: во-первых, подсемейство *Lycodinae* – наиболее молодое, во-вторых, *Lycodinae* и *Lycosoarcinae* – близкородственные подсемейства, в-третьих, группа *Lycodinae* + *Lycosoarcinae* – сестринская с подсемейством *Zoarcinae*, в-четвертых, филогенетическая линия *Gymnelinae* – самая эволюционно древняя в семействе *Zoarcidae*. Напротив, в системе Андерсона (Anderson, 1994) *Lycosoarcinae* представляет примитивное подсемейство, а *Gymnelinae* и *Zoarcinae* объединены в общую кладу и занимают продвинутую позицию.

## ГЛАВА VI. Молекулярная систематика и родственные отношения в семействе *Stichaeidae*

**1. Подсемейство *Stichaeinae*.** Сравнительный анализ последовательностей генов мтДНК и яДНК не выявил ни одной мутации, общей для всех таксонов подсемейства *Stichaeinae*. Уровень дивергенции ДНК в подсемействе варьирует очень существенно – от 0.4% между видами *Stichaeus nozawae* и *S. grigorjewi* до 8% между *S. punctatus* и *Ernogrammus hexagrammus*. Средние оценки дистанций между объединенными ДНК изменялись от 0.1 до 0.7% в пределах видов, от 0.4 до 7.6% между видами рода, от 6.4 до 7.5% между родами подсемейства.

Очень низкий для видовых сравнений уровень различий обнаружен между *S. nozawae* и *S. grigorjewi* – 0.41%. Однако, на филогенетических деревьях эти виды расположены в собственных кластерах. Предполагается, что *S. grigorjewi* и *S. nozawae* – недавно дивергировавшие виды, которые морфологически хорошо обособились, но не накопили еще достаточного количества изменений ДНК для генетической видовой идентификации. Существенные различия (7.4%) установлены между ДНК двух групп рода *Stichaeus* – *S. punctatus*, *S. ochriamkini* и *S. grigorjewi*, *S. nozawae*. На филогенетических деревьях кластеры *S. punctatus* + *S. ochriamkini* и *S. grigorjewi* + *S. nozawae* общей группы не образуют. Высокая гетерогенность показана и для рода *Stichaeopsis* – ДНК-линии *S. nevelskoi* и *S. nana* занимают обособленные позиции и дифференцированы на 6.7%. Генетические дистанции в пределах родов *Stichaeus* и *Stichaeopsis* соответствуют различиям между подсемействами бельдюговидных рыб.

В качестве достоверной схемы родственных связей *Stichaeinae* принято филогенетическое дерево по объединенным ДНК, имеющее, в основном, хорошую статистическую поддержку. Его топология отражает полифилию родов *Stichaeus* и *Stichaeopsis*, а также всего подсемейства *Stichaeinae*. Типы ДНК видов *Stichaeinae* разделяются на две группы, одна из которых состоит только из представителей подсемейства, а вторая содержит еще и таксоны других подсемейств стихеевых рыб. В первой группе обособляется кластер, включающий виды рода *Stichaeus* (*S. nozawae* + *S. grigorjewi*) и *Stichaeopsis nevelskoi*, а также кластер *Eumesogrammus* и *Ernogrammus*. Вторая, «смешанная», группа также содержит два кластера: 1 – виды *Stichaeus* (*S. punctatus* + *S. ochriamkini*) и *A. alectrolophus* из подсемейства *Alectriinae*; 2 – *Stichaeopsis nana* и *C. japonicus* из подсемейства *Chirolophinae*. Ассоциация (*S. punctatus* + *S. ochriamkini*) + *A. alectrolophus* и *S. nana* + *C. japonicus* имеет невысокую поддержку (65/60/0.82).

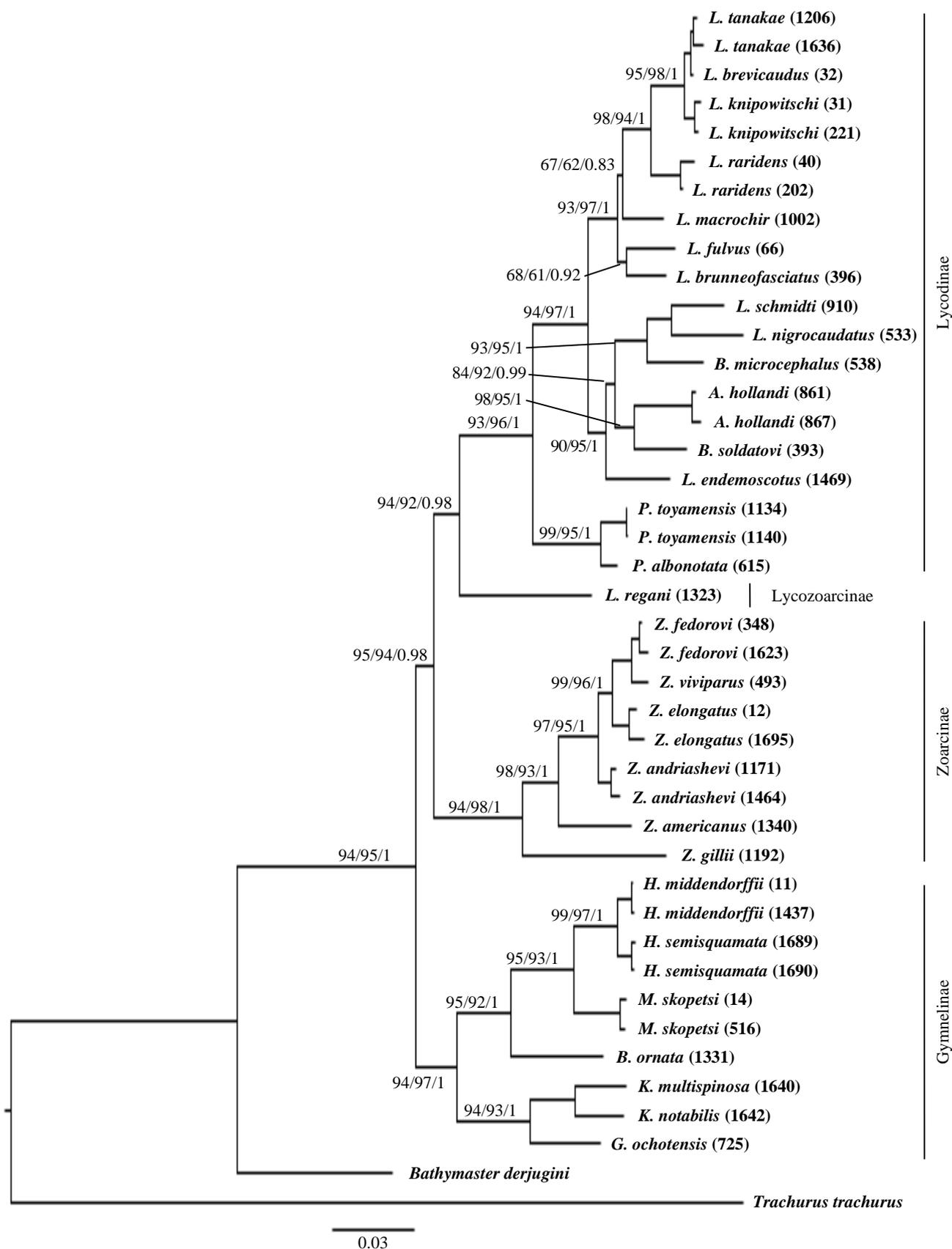


Рисунок 1. Филогенетическое дерево таксонов семейства Zoarcidae по данным об объединенных последовательностях генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и RNF213, родопсина, RAG1 ядерной ДНК. Цифры над и под ветвями – бутстрэп-поддержки (% от 1000 реплик) для MP- и ML-деревьев, а также значения апостериорной вероятности для BA-дерева (MP/ML/BA). В основе реконструкции – BA-дерево

Сходство морфологической (Макушок, 1958) и молекулярно-генетической филогений подсемейства Stichaeinae заключается в разделении рода *Stichaeus* на группы *S. nozawae* + *S. grigorjewi* и *S. punctatus* + *S. ochriamkini*, а также в существенной разобщенности *S. nana* и *E. hexagrammus* с остальными Stichaeinae. Однако, в отличие от наших данных, на филогенетической схеме Макушка (1958) подсемейство Stichaeinae представляет собой однородную, монофилетическую группу.

**2. Подсемейство Opisthocentrinae.** В последовательностях генов 16S рРНК, родопсина и RAG1 зафиксировано по одной мутации, общей для всех таксонов подсемейства Opisthocentrinae и отличающей их от других бельдюговидных рыб. Оценки дивергенции между объединенными последовательностями ДНК менялись от 0.1 до 0.5% в пределах видов, от 1.6 до 3.7% между видами одного рода и от 4.3 до 5.6% между родами Opisthocentrinae.

Топология консенсусных деревьев, полученных по данным о митохондриальных, ядерных и комбинированных ДНК-последовательностях, с высокой достоверностью свидетельствует об однородности родов *Opisthocentrus*, *Pholidapus* и *Askoldia*, а также о монофилии подсемейства Opisthocentrinae. Показано генетическое сходство *Opisthocentrus ocellatus* с *O. tenuis* и существенное обособление от них *O. zonope*. Уровень внутривидовой генетической дифференциации *Askoldia variegata* предполагает существование географических форм – южной *A. v. variegata* (Японское море) и северной *A. v. knipowitchii* (Охотское море). Установлено, что роды *Askoldia* и *Pholidapus* гораздо ближе друг к другу, чем каждый из них – к роду *Opisthocentrus*. Генетические и морфологические отличия не позволяют рассматривать *Pholidapus* в составе рода *Opisthocentrus*, как было предложено ранее (Макушок, 1958; Рутенко, Иванков, 2009; The Fishes..., 1984); *Pholidapus* является самостоятельным родом подсемейства Opisthocentrinae. Молекулярно-генетические результаты хорошо согласуются с данными сравнительно-морфологического анализа (Черешнев и др., 2011).

**3. Подсемейство Lumpeninae.** В последовательностях генов яДНК выявлены общие для видов подсемейства Lumpeninae мутации, отличающие их от других представителей подотряда: в гене родопсина – три, в гене RAG1 – два нуклеотидных изменения. Значения дивергенции ДНК в подсемействе варьируют несущественно – от 4% между *Anisarchus medius* и *Lumpenella longirostris* до 5.5% между *Acantholumpenus mackayi* и *Leptoclinus maculatus*. Расстояния между объединенными последовательностями ДНК таксонов разного уровня составили: от 0.1 до 0.3% в пределах видов и от 4 до 5.3% между родами.

Топология филогенетических деревьев, полученных на основе митохондриальных и комбинированных последовательностей ДНК, с высокой достоверностью указывает на монофилетическое происхождение подсемейства Lumpeninae. Молекулярно-генетическая схема согласуется с морфологической гипотезой родственных отношений Lumpeninae (Макушок, 1958) в части значительной дифференциации рода *Xenolumpenus*, который всегда занимает обособленную позицию у основания кластера подсемейства. Сходство с морфологическими данными заключается также в околобазальном положении рода *Leptoclinus*, близком к общей предковой форме. Генетические расстояния родов *Xenolumpenus* и *Leptoclinus* от других представителей Lumpeninae одинаково высокие – 5.1% по объединенным ДНК. Роды *Lumpenella*, *Anisarchus*, *Lumpenus* и *Acantholumpenus* образуют общую группу, в пределах которой уровень различий ДНК достигает 4.7%, а сестринскими являются *Lumpenella* – *Anisarchus* и *Lumpenus* –

*Acantholumpenus*. Еще одно важное совпадение морфологической и молекулярно-генетической филогений – эволюционно продвинутая позиция рода *Acantholumpenus*, который Макушок (1958) отнес к высоко специализированным таксонам подсемейства Lumpeninae.

Реконструированная по молекулярно-генетическим данным филогения подсемейства Lumpeninae расходится с морфологической схемой (Макушок, 1958) в нескольких пунктах: во-первых, отсутствует разделение родов на две филогенетические группы *Lumpenus* – *Leptoclinus* – *Anisarchus* (древняя) и *Lumpenella* – *Poroclinus* – *Acantholumpenus* (молодая); во-вторых, выделяются две другие группы – *Lumpenella* + *Anisarchus* и *Lumpenus* + *Acantholumpenus*, которые занимают продвинутую и равноудаленную от предкового ствола позицию; в-третьих, вместе с родом *Acantholumpenus*, одну из молодых филогенетических линий составляет род *Lumpenus*, тогда как по морфологическим данным он определен как самый близкий к предковой форме.

**4. Подсемейство Alectriinae.** Показано наличие в ядерных генах RNF213 и RAG1 по одной мутации, общей для видов подсемейства Alectriinae и отличающей их от других бельдюго-видных рыб. Установлено, что уровень дивергенции между объединенными ДНК-последовательностями изменяется от 0.1 до 0.4% в пределах видов, от 4.6 до 4.8% между видами одного рода, от 4.4 до 6.8% между родами подсемейства.

Выявлены существенные отличия видов рода *Alectrias*, дифференцированных в среднем на 4.7% по объединенным ДНК. Топология филогенетических деревьев, полученных по данным о генах яДНК и объединенных ДНК, с высокой достоверностью свидетельствует о родстве видов *Alectrias alectrolophus* и *A. gallinus*, а так же о монофилии рода *Alectrias*. На дереве по генам мтДНК виды *Alectrias* не группируются – *A. alectrolophus* обособлен, а *A. gallinus* объединяется с видом рода *Anoplarchus*; однако, последняя ассоциация статистически не надежна. Молекулярно-генетические данные о дивергенции видов *Alectrias* согласуются с морфологическими данными, разделяющими этот род на две естественные группы – сублиторальную с видами *A. gallinus*, *A. cirratus*, *A. mutsuensis* и литоральную с *A. alectrolophus* и *A. benjamini* (Шейко, 2012).

Роды *Alectrias* и *Anoplarchus* различаются в среднем на 5.1%, в то время как *Pseudalectrias* обособлен от них на 6.7 и 6.6%, соответственно. Структура филогенетических деревьев с высокой надежностью подтверждает генетическое сходство родов *Alectrias* и *Anoplarchus*, существенную обособленность от них рода *Pseudalectrias* и монофилию подсемейства Alectriinae. ДНК-линия *Pseudalectrias* занимает базальное положение, роды *Alectrias* и *Anoplarchus* образуют более молодую общую группу. Морфологическая гипотеза родственных связей подсемейства (Макушок, 1958), согласно которой *Alectrias* и *Anoplarchus* объединены в одну кладу, а *Pseudalectrias* удален от них и находится ближе к предковому стволу, совпадает с нашей гипотезой филогенетических отношений подсемейства Alectriinae.

**5. Подсемейство Chirolophinae.** Подсемейство Chirolophinae представлено в исследовании 3 экземплярами от 3 видов из 2 родов. Анализ генов мтДНК и яДНК такого ограниченного количества таксонов не позволил установить родственные связи в подсемействе, но выявил некоторые особенности генетической изменчивости Chirolophinae. В позиции 320-325 пн ядерного гена RAG1 у всех изученных представителей Chirolophinae выявлена 6-нуклеотидная делеция – исчез мотив ACAAGG. Такое уникальное мутационное изменение не обнаружено больше ни в одном из таксонов подотряда Zoarcoidei. У рыб известны только единичные случаи делеций / инсерций в гене RAG1 (Lopes et al., 2004). Показано, что роды *Chirolophis* и *Bryozoichthys* раз-

делены довольно большими генетическими расстояниями, не превышающими, тем не менее, среднего уровня различий между родами в пределах подсемейств бельдюговых и стихеевых рыб. На филогенетических деревьях *Chirolophis* и *Bryozoichthys* с максимальной достоверностью образуют один кластер. ДНК-линии *Chirolophis* и *Bryozoichthys* одинаково удалены от предкового ствола, что противоречит морфологической гипотезе родственных связей *Chirolophinae* (Макушок, 1958), согласно которой род *Bryozoichthys* занимает предковое положение, а *Chirolophis* – эволюционно продвинутое.

**6. Подсемейство Xiphisterinae.** У *Dictyosoma burgeri* обнаружено большое количество специфичных мутаций, отличающих этот вид не только от других таксонов семейства Stichaeidae, но и от всех бельдюговидных рыб. В генах мтДНК *D. burgeri* зафиксировано тринадцать таких замен, в генах яДНК – девять. *Xiphister atropurpureus* характеризуется лишь четырьмя маркирующими мутациями в гене RAG1. Ни одного мутационного изменения, общего для видов *D. burgeri* и *X. atropurpureus*, не выявлено. Между *D. burgeri* и *X. atropurpureus* установлены значительные для сравнения видов одного подсемейства генетические расстояния – 5.8% по объединенным ДНК, что превышает различия между подсемействами бельдюговидных рыб.

На филогенетическом дереве (рисунок 2) ДНК-линия *D. burgeri* удалена не только от *X. atropurpureus*, но и от остальных стихеевых рыб, и занимает базальную позицию. Обособление филогенетической линии *Dictyosoma* имеет высокую поддержку (92/93/0.99). Существенная генетическая дифференциация родов *Xiphister* и *Dictyosoma* свидетельствует в пользу мнения о неоднородности подсемейства Xiphisterinae и выделении из него подсемейства Cebidichthyinae с родами *Cebidichthys* и *Dictyosoma* (Yatsu, 1986). Дивергенция подсемейства Xiphisterinae по молекулярно-генетическим данным на две группы подтверждается значительными морфологическими различиями (таблица 2).

Таблица 2. Морфологические отличия подсемейств Xiphisterinae и Cebidichthyinae

Признаки	Xiphisterinae	Cebidichthyinae
Колючие лучи в спинном плавнике	67-77	16-59
Последующие за колючими мягкие лучи в спинном плавнике	Нет	6-43
Мягкие лучи в анальном плавнике	46-55	36-49
Лучи в грудном плавнике	11-15	9-13
Лучи в брюшном плавнике	Нет	1 колючий луч у <i>Dictyosoma</i> , <i>Essele- nichthys</i> , <i>Nivchia</i>
Позвонки	75-81	53-74
Основные лучи хвостового плавника	12-13	12-15
Зубы на небных костях и сошнике	Нет	Есть
Заднеключичная кость postcleithrum	Нет	Есть
Форма позвонков	Асимметричная	Симметричная (кроме <i>Essele- nichthys</i> )
Рыльно-затылочный гребень на голове	Нет	Хорошо развит у <i>Cebidichthys</i> , слабо – у <i>Dictyosoma</i>
Смыкание жевательных мышц на затылке	Есть	Нет
Щечные ветви подглазничного канала сейсмодатчика системы головы	Есть; 3-4 ветви	Нет

О самостоятельности Cebidichthyinae свидетельствует и топология дерева, построенного по гену COI мтДНК с привлечением данных из GenBank, на котором группа родов этого подсемейства (*Dictyosoma*, *Cebidichthys*, *Essele-  
nichthys*) хорошо обособлена, а виды рода *Xiphister* образуют собственный кластер. Морфологическая гипотеза родственных связей Xiphisterinae (Макушок, 1958), разделяющая подсемейство на древнюю группу *Dictyosoma* – *Cebidichthys* и

молодую *Phitichthys* – *Xiphister*, совпадает с молекулярно-генетическими данными, дифференцирующими роды *Xiphister* и *Dictyosoma*, с положением последнего у основания ствола филогенетических деревьев.

**7. Положение родов *Leptostichaeus* и *Azygopterus* в системе семейства *Stichaeidae*.** Род *Leptostichaeus* относят либо к подсемейству Lumpeninae (Mecklenburg, Sheiko, 2004), либо к *Azygopterinae* (Eschmeyer, 2014). Род *Azygopterus* сначала был определен в подсемейство *Azygopterinae* (Макушок, 1958), а затем перемещен в подсемейство *Neozoarcinae* (Mecklenburg, Sheiko, 2004). В настоящей работе данные роды представлены видами *Leptostichaeus pumilus* и *Azygopterus corallinus*. В последовательностях генов COI и RNF213 обнаружены общие для этих видов мутации, отличающие их от остальных бельдюговидных рыб. У вида *L. pumilus* не выявлено ни одного мутационного изменения, объединяющего его с видами Lumpeninae. Установлено, что *L. pumilus* и *A. corallinus* гораздо ближе друг к другу, чем каждый из них – к остальным таксонам стихеевых рыб: величина *p*-дистанции между их ДНК составляет 5.7%. От подсемейств *Stichaeidae* эти виды отличаются в значительно большей степени: *L. pumilus* в среднем на 6.8%, *A. corallinus* – на 7.1%; примерно на таком же генетическом расстоянии они расположены от *B. derjugini* – таксона внешней группы (*Bathymasteridae*).

На филогенетическом дереве (рисунок 2) *A. corallinus* и *L. pumilus* образуют общую, удаленную от кластеров стихеевых рыб, устойчивую группу (95/93/1), которая занимает базальное положение по отношению к семейству *Stichaeidae*. Эти виды характеризуются определенным сходством по морфологическим признакам – несимметричным позвонкам, сидящим на теле позвонков массивным ребрам, частичной (*L. pumilus*) или полной редукции (*A. corallinus*) грудных плавников, редукции хвостового плавника (из 9-10 лучей у *L. pumilus* и 6 у *A. corallinus*), слиянию спинного, хвостового и анального плавников, полной редукции брюшных плавников, присутствию в спинном плавнике только коротких шипов и одного луча на его последнем птеригофоре, наличию в начале анального плавника одной колючки и неветвящихся мягких лучей, отсутствию канала боковой линии (Андрияшев, Макушок, 1955; Макушок, 1958; Земнухов, 2012; Miki, 1985). На дереве, построенном по данным о последовательностях гена COI мтДНК для проверки предположения о родстве *Azygopterus*, *Leptostichaeus* и *Eulophias*, *A. corallinus* сначала объединяется с близкородственным *E. koreanus*, и вместе они кластеризуются с *L. pumilus*. При этом группа родов *Azygopterus*, *Leptostichaeus*, *Eulophias* четко дифференцирована от подсемейств семейства *Stichaeidae*. Полученные результаты подтверждают точку зрения Андерсона (Anderson, 1994) о близости *Azygopterus* и *Eulophias*, а также вывод Земнухова (2012) о родственных связях *Azygopterus* и *Leptostichaeus* и объединении их в самостоятельное подсемейство. Название этого подсемейства, согласно приоритету описания, следует обозначить как *Eulophiinae*. Однако, уровень генетической дивергенции группы родов *Azygopterus*, *Leptostichaeus* и *Eulophias* свидетельствует о более значительной удаленности от стихеевых рыб и, возможно, более высоком таксономическом статусе.

**8. Система семейства *Stichaeidae*.** Ни в одном из генов мтДНК и яДНК не выявлены мутации, маркирующие все таксоны семейства, однако имеются специфичные замены, общие для тех или иных подсемейств. В гене COI зафиксирована мутация, объединяющая *Stichaeinae*, *Chirolophinae* и *Xiphisterinae* (*X. atropurpureus*), и замена, общая для *Chirolophinae*, *Alectriinae* и *Xi-*

phisterinae (*X. atropurpureus*); в гене 16S рПНК – мутационное изменение у Stichaeinae, Chirolophinae, Alectriinae, Xiphisterinae (*X. atropurpureus*).

У основания всех филогенетических деревьев традиционно находится линия представителя семейства Bathymasteridae, наиболее примитивного в подотряде Zoarcoidei (рисунок 2). Удаленную позицию с высоким уровнем надежности (92/93/0.99) занимает филогенетическая линия *D. burgeri*, значительно дивергировавшая и от подсемейства Xiphisterinae, и от семейства Stichaeidae. Филогенетическая линия группы *A. corallinus* и *L. pumilus* располагается в базальном положении к семейству Stichaeidae; ее обособление также хорошо поддержано (91/88/0.98). Порядок кластеризации типов ДНК остальных стихеевых рыб на разных филогенетических схемах не совпадает. «Ядерное» дерево имеет низкие оценки достоверности и политомичную структуру основных группировок. Вероятно, такая неразрешенность топологии обусловлена широким диапазоном дивергенции подсемейств Stichaeidae, разной скоростью эволюции их видов и, как следствие, существенной морфологической и генетической гетерогенностью всего семейства в сочетании с недостаточной информационной емкостью генов медленно эволюционирующего ядерного генома.

На деревьях по мтДНК и объединенным последовательностям (рисунок 2) следующим отделяется подсемейство Opisthocentrinae, дифференцированное от других больше всего (6.26% по объединенным ДНК); затем – Lumpreninae (6.04%). Отделение этих филогенетических линий имеет высокие оценки достоверности (89/91/0.98 и 93/94/0.98). Подсемейства Stichaeinae, Xiphisterinae, Alectriinae и Chirolophinae образуют устойчивый (87/90/0.98) макрокластер, топология которого отличается на разных деревьях. На «митохондриальном» дереве ветвление в пределах данного макрокластера политомичное, выявляются только ассоциации Alectriinae + Xiphisterinae и Chirolophinae + *S. nana* (Stichaeinae), а также разделение Stichaeinae на три группы – *S. nozawae* + *S. grigorjewi* + *E. praecisus* + *S. nevelskoi* + *E. hexagrammus*, *S. punctatus* + *S. ochriamkini* и *S. nana*. На «комбинированном» дереве (рисунок 2) макрокластер подсемейств Stichaeinae, Xiphisterinae, Alectriinae и Chirolophinae имеет четкую дихотомичную структуру, но неустойчивые ассоциации типов ДНК, что позволяет лишь предполагать их взаимосвязи. Этот макрокластер распадается на два кластера, равноудаленные от общего ствола дерева и дифференцированные друг от друга на 5.9%. В состав одного входят типы ДНК видов Stichaeinae и Xiphisterinae (статистическая поддержка 52/56/0.63). Виды подсемейства Stichaeinae общей группы не образует – *S. nana* объединяется с *X. atropurpureus* (Xiphisterinae) (-/56/0.68), а *S. nozawae*, *S. grigorjewi*, *E. praecisus*, *S. nevelskoi* и *E. hexagrammus* формируют отдельный микрокластер (56/52/0.76); эти микрокластеры разобщены на 5.4%. В составе второго кластера оставшиеся виды Stichaeinae (*S. punctatus* и *S. ochriamkini*) группируется с подсемейством Chirolophinae (65/60/0.89), и вместе они интегрируются с Alectriinae (-/61/0.94); оценка р-дистанций в пределах данного кластера – 5.7%.

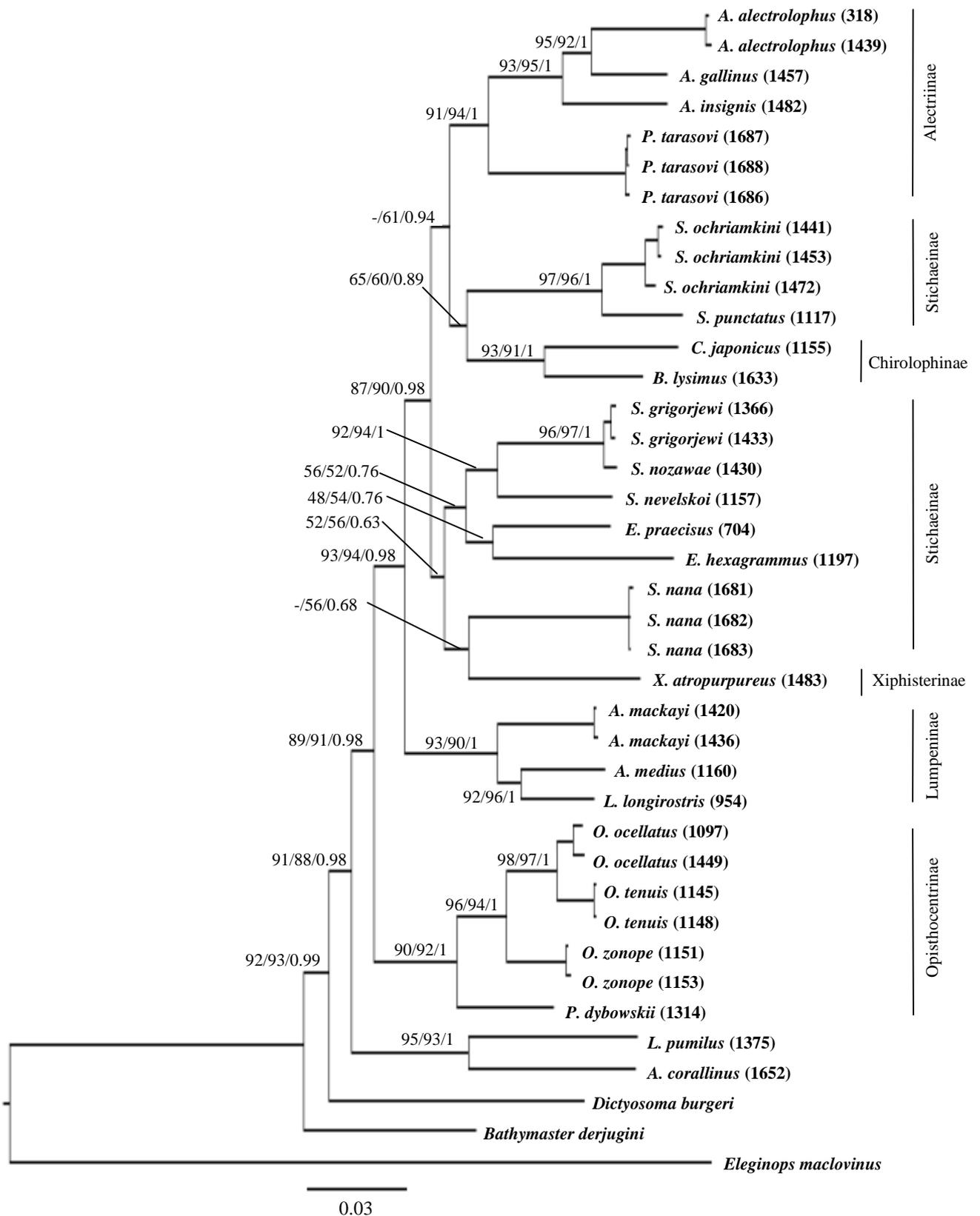


Рисунок 2. Филогенетическое дерево таксонов семейства Stichaeidae по данным об объединенных нуклеотидных последовательностях генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и RNF213, родопсина, RAG1 ядерной ДНК. Цифры на ветвях – бутстрэп-поддержки (% от 1000 реплик) для MP- и ML-деревьев, а также значения апостериорной вероятности для BA-дерева (MP/ML/BA). В основе реконструкции – BA-дерево. Прочерки обозначают иной порядок ветвления

Построенные на основе молекулярно-генетического анализа дерева сходны с морфологической системой Макушка (1958) лишь в деталях. Так, на «митохондриальном» дереве общий кластер образуют виды подсемейств Alectriinae и Xiphisterinae, на «ядерном» дереве – Lumpeninae и Opisthocentrinae, на «комбинированном» дереве (рисунок 2) – Chirolophinae и Stichaeinae (*S. punctatus* и *S. ochriamkini*); но эти ассоциации имеют невысокую статистическую поддержку. В части обособленности *A. corallinus* наши деревья совпадают с гипотезой родственных отношений семейства Stichaeidae (Макушок, 1958), в соответствии с которой подсемейство Azygopterinae занимает удаленное положение. Молекулярно-генетическая система не соответствует морфологической системе Stichaeidae (Макушок, 1958) в следующих позициях: во-первых, ДНК-линии подсемейств Opisthocentrinae и Lumpeninae не связаны родством и расположены в базальном положении отдельно от остальных стихеевых рыб; во-вторых, Stichaeinae, Xiphisterinae, Alectriinae и Chirolophinae объединяются в сестринскую группу; в-третьих, подсемейство Stichaeinae полифилетично и дифференцируется на три группы, одна из которых тяготеет к Alectriinae и Chirolophinae, а две другие – к Xiphisterinae.

## ГЛАВА VII. Молекулярная систематика и родственные отношения в семействе Pholidae

У видов семейства Pholidae выявлены маркирующие мутации, отсутствующие у других таксонов подотряда Zoarcoidei, – по одной в генах COI и 16S рРНК. Род *Xererpes* значительно всего удален от остальных масляковых рыб: на 7.7% от *Rhodymenichthys*, 8.3% от *Pholis*, 8.8% от *Apodichthys*. Наименьшее генетическое расстояние обнаружено между *Pholis* и *Rhodymenichthys* – 5.9%. Род *Apodichthys* одинаково удален от *Pholis* и *Rhodymenichthys* – на 6.6 и 6.7%, соответственно.

**1. Род *Pholis*.** В исследовании род *Pholis* представлен видами *P. picta*, *P. crassispina* и *P. laeta*. У *P. picta* обнаружена внутривидовая изменчивость – типы объединенной ДНК *P. picta* из Охотского моря отличаются от образцов из Японского моря на 0.5%, в то время как дивергенция охотоморских экземпляров составляет всего 0.12%, а япономорских – 0.13%. Топология филогенетических деревьев (рисунок 3) с высоким уровнем достоверности (100/100/1) подтверждает генетическую неоднородность *P. picta* – ДНК-линии экземпляров из Охотского (№1360-1363) и Японского (№1675, 1677, 1678, 1679) морей образуют отдельные группы.

По данным о нуклеотидных последовательностях генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК показано, что самыми близкими видами *Pholis* являются *P. picta* и *P. crassispina*, отличающиеся всего на 1.6%. Гораздо существеннее от них дифференцирован *P. laeta* – на 5.8 и 5.6%, соответственно. Для более точного установления родственных отношений в роде *Pholis* использованы данные из GenBank по гену COI других видов; показано, что, кроме *P. crassispina* и *P. picta*, относительно невысокие генетические расстояния характеризуют *P. fangi* и *P. nebulosa* – 3%. Эти виды вместе с *P. crassispina* были выделены по наличию чешуи на голове в самостоятельный род *Enedrias* (Yatsu, 1981). По генетическим данным чешуеголовые масляки общей группы не образуют – *P. crassispina* дифференцирован от *P. fangi* и *P. nebulosa* на 5.9 и 5.6%. Вид *P. laeta*, определенный вместе с *P. clemensi* и *P. schultzi* в отдельный род *Allopholis* по наличию в сейсмочувствительной системе головы межглазничной поры (Yatsu, 1981, 1985), значительно дифференцирован от остальных масляков – на 6%. С другой стороны, дистанции между *P. laeta* и *P. picta* (5.3-5.6%) того же уровня, что и между «типичными» представителями рода

*Pholis*, *P. picta* и *P. ornata* (6.1%), а последний вид гораздо больше удален от других фолисов – на 6.4%. На филогенетическом дереве, построенном по гену COI мтДНК, род *Pholis* формирует единую группу, в которой наблюдается различный уровень дивергенции, а взаимное расположение филогенетических линий не связано с морфологическими признаками отдельных видов: первым отделяется линия *P. ornata*, следом – *P. laeta*, и последним – микрокластер, объединяющий *P. fangi* с *P. nebulosa* и *P. crassispina* с *P. picta*. На дереве, полученном по генам COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК, филогенетическая линия *P. laeta* занимает в внешнюю позицию, за ней дивергирует линия *P. crassispina*; терминальное положение имеет линия *P. picta*. Молекулярно-генетические данные свидетельствуют о единстве рода *Pholis* и отсутствии в нем каких-либо группировок, соответствующих морфологическим особенностям. Подтверждены выводы Макушка (1958), который рассматривал *Enedrias* и *Allopholis* в рамках одного рода *Pholis*, и считал наличие чешуи на голове и межглазничной поры в сеймосенсорной системе недостаточным основанием для обособления каждой из этих групп в самостоятельные роды.

**2. Система семейства Pholidae.** Высокие оценки бутстрэп-анализа и апостериорной вероятности основных узлов ветвления консенсусного дерева (рисунок 3) определяют ассоциации типов ДНК видов и родов семейства Pholidae как достоверные.

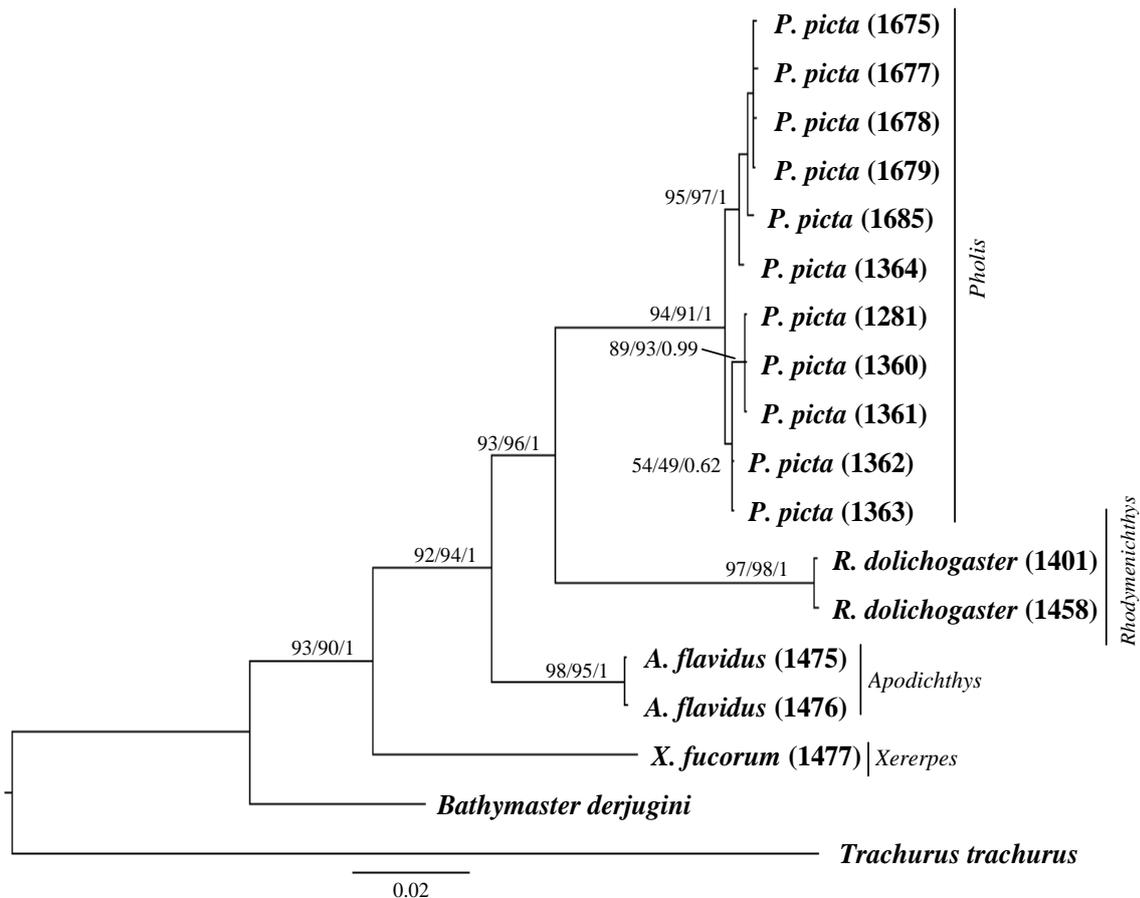


Рисунок 3. Филогенетическое дерево таксонов семейства Pholidae по данным об объединенных нуклеотидных последовательностях генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и RNF213, родопсина ядерной ДНК. Цифры на ветвях – бутстрэп-поддержки (% от 1000 реплик) для MP- и ML-деревьев, а также значения апостериорной вероятности для BA-дерева (MP/ML/BA). В основе реконструкции – ВА-дерево

Филогенетическая линия рода *Rhodymenichthys* занимает обособленное положение по отношению к линии рода *Pholis*; уровень дивергенции от фолисов, 5.8-6% по объединенной ДНК, свидетельствует о самостоятельности рода *Rhodymenichthys* и необоснованности его включения в синонимию рода *Pholis*. Выявлено отсутствие генетических различий между *R. dolichogaster* из Охотского и Японского морей, что не подтверждает точку зрения о выделении южного подвида и тем более – отдельного вида этого рода (Шмидт, 1950; Новиков и др., 2002). Роды *Pholis* и *Rhodymenichthys* более сходны друг с другом (5.9%) и обособлены от остальных родов семейства. Филогенетическая линия рода *Apodichthys* занимает внешнюю позицию к кластеру *Pholis* и *Rhodymenichthys*, и дифференцирована от него в среднем на 6.7%, что соответствует значительным отличиям этого рода по морфологическим признакам. В отношении обособленного расположения *Apodichthys* представленное филогенетическое дерево согласуется со схемой Макушка (1958), но не со схемой Ятсу (Yatsu, 1985), включающей род *Rhodymenichthys* в одну группу с видами рода *Apodichthys*. Род *Xererpes* не образует общий кластер с родом *Apodichthys*, отличаясь от него на самом высоком для исследованных масляковых рыб уровне – на 8.8%, что подтверждает самостоятельность этих таксонов, относимых ранее к одному роду *Apodichthys* (Yatsu, 1981; Mecklenburg, 2003 a).

На филогенетических деревьях линия рода *Xererpes* занимает базальное положение и находится от всех таксонов Pholidae на значительном расстоянии (8.3%), соответствующем уровню отличий между семействами подотряда Zoarcoidei. Молекулярно-генетические данные не подтверждают существование подсемейства Apodichthyinae в составе *Apodichthys*, *Xererpes* и *Ulvicola* (Макушок, 1958) и дают основание для исключения из него рода *Xererpes*. Полученные результаты согласуются с морфологической схемой родственных связей семейства Pholidae (Макушок, 1958) в части выделения двух подсемейств – Pholinae и Apodichthyinae. Несоответствие заключается в последовательности обособления филогенетических линий: на морфологической схеме ближе к гипотетическому предку расположен род *Pholis*, линии *Apodichthys* и *Xererpes* объединены; на нашей схеме, напротив, от общего ствола сначала отделяются линии *Xererpes* и *Apodichthys*, а более молодую группу образуют роды *Pholis* и *Rhodymenichthys*.

## ГЛАВА VIII. Система подотряда Zoarcoidei по молекулярно-генетическим данным и оценка ее конгруэнтности морфологическим системам

**1. Положение подсемейства Neozoarcinae в системе подотряда Zoarcoidei.** У *Neozoarces pulcher* выявлены мутации, объединяющие его с другими таксонами подотряда Zoarcoidei: родами *Leptostichaeus* и *Azygopterus*, подсемейством Lycodinae, семействами Anarhichadidae и Zoarcidae. Установлено, что *N. pulcher* ближе всего к семейству Anarhichadidae: их ДНК-линии отличает 5.4% дивергенции. Немного выше генетические расстояния между *N. pulcher* и видами семейства Zoarcidae – 5.9%; расстояния от подсемейств Gymnelinae и Zoarcinae составляют 5.8%, а от Lycodinae и Lycozoarcinae – 6 и 6.1%, соответственно. Отметим, что величины р-дистанций в пределах семейства Zoarcidae меньше – от 4.7% между Lycodinae и Lycozoarcinae до 5.3% между Lycodinae и Zoarcinae. Дивергенция филогенетической линии *N. pulcher* от семейства Stichaeidae гораздо больше, в среднем 6.6%: с подсемействами Lumpeninae и Opisthocentrinae - 6.4%, со Stichaeinae - 6.6%, с Aletriinae и Xiphisterinae (без *Dictyosoma*) - 6.8%, с Chirolophinae - 7%. Отличия *N. pulcher* от других семейств подотряда находятся при-

мерно на том же уровне, что и от разных подсемейств стихеевых рыб: от Zaproridae – 6%, CRYPTACANTHODIDAE – 6.4%, PHOLIDAE и PTILICHTHYIDAE – 6.9%, BATHYMASTERIDAE – 7.4% (таблица 3).

Топология консенсусных деревьев (рисунки 4-6) указывает на близкородственные связи подсемейства Neozoarcinae с семействами Zoarcidae и Anarhichadidae. Филогенетическая линия *N. pulcher* попадает в макрокластер этой группы: сначала объединяются линии семейств Zoarcidae и Anarhichadidae (90/97/1), затем с ними группируется линия Neozoarcinae (82/94/0.99). Скорее всего, обособленная от кластера семейства Zoarcidae позиция *N. pulcher*, а также расположение между ними ДНК-линии Anarhichadidae говорят о том, что подсемейство Neozoarcinae не может входить в состав Zoarcidae, а представляет самостоятельный таксон уровня семейства. Об этом свидетельствуют и генетические расстояния между подсемействами Gymnelinae, Zoarcinae, Lycodinae, Lycozoarcinae бельдюговых рыб, которые имеют более низкие оценки, чем отличия между Neozoarcinae и этими подсемействами.

Полученные результаты подтверждают выводы о родстве подсемейства Neozoarcinae с семейством Zoarcidae, сделанные на основе общих признаков в строении спинного плавника (колючеperость), ротового аппарата, пищеварительного тракта, жаберного комплекса, сейсмо-сенсорной системы, позвоночника, хвоста и его опорного скелета, отдельных структур черепа (Макушок, 1961 а). Морфологические особенности Neozoarcinae, которые встречаются у литоральных видов семейств Stichaeidae и Pholidae, имеют конвергентный характер; они обусловлены независимым возникновением сходных специализаций в разных группах бельдюговидных рыб при адаптации к обитанию в прибрежье на осушаемой литорали (Макушок, 1961 а). По молекулярно-генетическим данным род *Neozoarces* обособлен от семейства Stichaeidae, к которому относили Neozoarcinae (Anderson, 1994; Mecklenburg, Sheiko, 2004; и др.), так же существенно, как и от остальных семейств Zoarcoidei. Генетическая дивергенция подсемейства Neozoarcinae от семейств подотряда находится на уровне различий между семействами, что предполагает более высокий таксономический ранг – ранг семейства Neozoarcidae.

**2. Положение родов *Leptostichaeus* и *Azygopterus* в системе подотряда Zoarcoidei.** В последовательностях гена COI мтДНК видов *L. pumilus* и *A. corallinus* выявлены маркирующие мутации, объединяющие их с семействами Zoarcidae и Neozoarcidae. Ни одного мутационного изменения, общего с другими бельдюговидными рыбами, у *L. pumilus* и *A. corallinus* не обнаружено. Установлено, что эти виды ближе всего к семейству Anarhichadidae – по объединенной ДНК их отличает всего 5.5 и 5.9% дивергенции, соответственно. Немного выше генетические расстояния от семейства Zoarcidae: *L. pumilus* обособлен от бельдюговых рыб на 6.2%. *A. corallinus* – на 6.7%. От семейства Neozoarcidae *L. pumilus* и *A. corallinus* дифференцированы на 6.1 и 6.6%. Генетическая дивергенция *L. pumilus* и *A. corallinus* от видов семейства Stichaeidae существеннее – 6.8 и 7.1%. Отличия *L. pumilus* и *A. corallinus* от других семейств подотряда находятся примерно на том же уровне, что и от семейства Stichaeidae.

Структура филогенетических деревьев (рисунки 4-6) указывает на родственные связи *L. pumilus* и *A. corallinus* с группой «зоаркоидных» рыб: типы ДНК этих видов формируют общий кластер, который занимает устойчивую внешнюю позицию в макрокластере Zoarcidae + Neozoarcidae + Anarhichadidae. Образование этого макрокластера имеет достоверную статистическую поддержку (92/97/1) и, следовательно, является надежным. Средний уровень дивергенции кластера *L. pumilus* и *A. corallinus* составляет: от семейства Zoarcidae – 6.5%, от

Neozoarcidae – 6.4%, от Anarhichadidae – 5.7%. Генетические расстояния *Leptostichaeus* и *Azygopterus* от остальных таксонов, в том числе и от стихеевых рыб, к которым они были отнесены ранее, соответствуют различиям между семействами подотряда Zoarcoidei, что свидетельствует о значительной их обособленности и необходимости придать этой группе (вместе с родом *Eulophias*) статус семейства. Такое семейство следует рассматривать как близкородственное «зоаркоидным» рыбам (группе Zoarcidae, Neozoarcidae, Anarhichadidae), а его название, согласно приоритету описания, обозначить как Eulophiidae.

**3. Положение подсемейств Xiphisterinae и Cebidichthyinae в системе подотряда Zoarcoidei.** В последовательностях генов COI и 16S рРНК вида *X. atropurpureus* из подсемейства Xiphisterinae выявлены маркирующие замены, объединяющие его с подсемействами стихеевых рыб Stichaeinae, Chirolophinae, Aletriinae. У *D. burgeri* из подсемейства Cebidichthyinae обнаружено большое количество (22) специфичных мутаций, отличающих его от видов подотряда Zoarcoidei; ни одного мутационного изменения, общего с подсемейством Xiphisterinae, семейством Stichaeidae или другими семействами бельдюговидных рыб, у него не зафиксировано. Дифференциация последовательностей ДНК *D. burgeri* – максимальная в подотряде, меняется от 6.6% с семейством Сруптасантоидidae до 7.5% с Eulophiidae, составляя в среднем – 6.9% (таблица 3). Отличия *D. burgeri* от семейства Stichaeidae, к которому отнесен этот вид (Макушок, 1958), находятся на уровне расстояний между семействами Zoarcoidei (6.8%). Например, такая же степень дивергенции характерна для семейства Bathymasteridae, которое считается самым эволюционно древним в подотряде (Anderson, 1984, 1994). Средняя дистанция *X. atropurpureus* от семейств бельдюговидных рыб оценена в 6.5%, с диапазоном от 5.8% с семейством Anarhichadidae до 7.1% с Eulophiidae. В сравнении с *D. burgeri*, *X. atropurpureus* меньше обособлен от семейства Stichaeidae – их разделяют 5.9% дивергенции. Степень родства подсемейства Xiphisterinae со стихеевыми рыбами неодинаковая: генетически ближе к нему подсемейства Stichaeinae (5.7%), Aletriinae и Chirolophinae (5.9%). Такие оценки несколько выше расстояний между подсемействами бельдюговых рыб (4.7-5.4%), но соответствуют дифференциации между подсемействами семейства Stichaeidae (5.7-6.5%).

На филогенетических деревьях *X. atropurpureus* и *D. burgeri* не образуют одну группу. Филогенетическая линия *D. burgeri* одной из первых отделяется от предкового ствола Zoarcoidei и занимает устойчивое (96/90/1) положение в основании деревьев, удаленное как от *X. atropurpureus* и стихеевых рыб, так и от остальных семейств подотряда. ДНК-линия *X. atropurpureus* размещается в кластере семейства Stichaeidae: на МР-дереве (рисунок 4) – в микрокластере основной части подсемейства Stichaeinae, на ML- и ВА-деревьях (рисунки 5-6) – в микрокластере Aletriinae + Chirolophinae + Stichaeinae (*S. punctatus* и *S. ochriamkini*). Центральный узел кластера Stichaeidae имеет высокую поддержку (93/94/1), подтверждая родство *X. atropurpureus* со стихеевыми рыбами.

Обособленность *X. atropurpureus* и *D. burgeri*, а также удаленность Cebidichthyinae от остальных таксонов подотряда подтверждается морфологическими особенностями. Род *Dictyosoma* имеет сложную сеймосенсорную систему туловища с сетью анастомозов (Макушок, 1961 в; Yatsu, 1986); такое строение считается предковым состоянием, поскольку сходным образом устроены туловищные каналы у близкородственного ископаемого рода *Nivchia* (Назаркин, 1998). Еще один синапоморфный признак Cebidichthyinae – комбинированное строение

спинного плавника, а также особая связь спинного и анального плавников с хвостовым в виде «наплывания» лучей с сохранением глубоких вырезок (Назаркин (1998). У родов *Xiphister* и *Phytichthys* подсемейства Xiphisterinae перепонки спинного и анального плавников без вырезок сливаются с основанием хвостового плавника – признак, характерный для некоторых Stichaeinae, Alectriinae и большинства Pholidae (Макушок, 1958). Подсемейство Xiphisterinae также обладает рядом синапоморфий, в частности, разветвленной структурой сейсмочувствительной системы головы и сильно развитыми жевательными мышцами, смыкающимися на крыше черепа (Макушок, 1958; Yatsu, 1986). На основе полученных данных подсемейство Cebidichthyinae предлагается вывести из семейства Stichaeidae и повысить его статус до семейства Cebidichthyidae; подсемейство Xiphisterinae должно быть оставлено в составе семейства Stichaeidae.

**4. Положение семейства Cryptacanthodidae в системе подотряда Zoarcoidei.** В последовательности гена цитохрома *b* мтДНК выявлена одна общая мутация, объединяющая представителей семейства Cryptacanthodidae с видами из семейства Zaproridae и подсемейства стихеевых рыб Lumpeninae. Показано, что *C. bergi* генетически ближе всего к *Zaprora silenus* (Zaproridae) – по объединенным ДНК значение дивергенции составляет 4.8%, и к видам подсемейства Lumpeninae – 5.2% (таблица 3). На филогенетических деревьях (рисунки 4-6) ДНК-линия семейства Cryptacanthodidae объединяется сначала с семейством Zaproridae, а затем с подсемейством Lumpeninae семейства Stichaeidae. Образование кластера Cryptacanthodidae – Zaproridae – Lumpeninae поддержано высокими оценками статистической достоверности (86/90/0.98) и является надежным. Мнение Макушка (1958) о филогенетической обособленности Cryptacanthodidae от надсемейства Stichaeoidea до уровня отдельного надсемейства не подтвердилось, поскольку величины генетической дивергенции Cryptacanthodidae от остальных таксонов не превышают уровня отличий между семействами в подотряде Zoarcoidei.

**5. Система подотряда Zoarcoidei.** В последовательностях ДНК бельдюговидных рыб выявлены специфичные изменения, общие для тех или иных семейств и подсемейств. Объединяющие мутации обнаружены для групп: Pholidae – Ptilichthyidae – Opistocentrinae, Pholidae – Ptilichthyidae, Stichaeinae – Chirolophinae – Alectriinae – Xiphisterinae, Cryptacanthodidae – Zaproridae – Lumpeninae, Zoarcidae – Anarhichadidae, Anarhichadidae – Lycodinae – Gymnelinae – Lycozoarcinae, Eulophiidae – Lycodinae – Gymnelinae – Lycozoarcinae, Neozoarcidae – Eulophiidae, Neozoarcidae – Lycodinae, Neozoarcidae – Zoarcidae, Neozoarcidae – Anarhichadidae – Zoarcidae.

Анализ объединенных ДНК показывает самый низкий уровень дивергенции между филогенетическими линиями семейств Cryptacanthodidae и Zaproridae (4.8%), самый высокий – между Cebidichthyidae и Eulophiidae (7.5%), а также между Bathymasteridae и Zoarcidae (7.5%). Наименьшими генетическими расстояниями в подотряде характеризуется филогенетическая

Таблица 3. Средние значения р-дистанций (в %) между комбинированными нуклеотидными последовательностями генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и RNF213, родопсина, RAG1 яДНК таксонов подотряда Zoarcoidei

Семейство		Zoarcidae	Neozoarcidae	Anarhichadidae	Eulophiidae	Stichaeidae	Pholidae	Ptilichthyidae	Zaproridae	Cryptacanthodidae	Cebidichthyidae	Bathymasteridae
Zoarcidae												
Neozoarcidae	MIN	5.6										
	MAX	6.6										
	Среднее	5.9										
Anarhichadidae	MIN	4.5	5.4									
	MAX	5.8	5.4									
	Среднее	5.1	5.4									
Eulophiidae	MIN	5.8	6.1	5.5								
	MAX	7.3	6.6	5.9								
	Среднее	6.5	6.4	5.7								
Stichaeidae	MIN	5.5	6.0	5.1	6.1							
	MAX	8.2	7.3	6.4	7.6							
	Среднее	6.8	6.6	5.9	6.8							
Pholidae	MIN	6.2	6.8	6.2	6.9	5.4						
	MAX	8.1	6.9	6.6	7.6	7.4						
	Среднее	7.1	6.9	6.4	7.2	6.6						
Ptilichthyidae	MIN	5.9	6.8	5.7	6.6	5.6	5.3					
	MAX	7.1	6.9	5.7	6.6	7.1	6.3					
	Среднее	6.4	6.9	5.7	6.6	6.3	5.8					
Zaproridae	MIN	6.1	5.9	5.5	6.4	5.0	6.0	6.2				
	MAX	7.2	6.0	5.5	6.7	6.3	6.4	6.2				
	Среднее	6.5	6.0	5.5	6.6	5.7	6.2	6.2				
Cryptacanthodidae	MIN	6.0	6.3	5.5	6.4	4.9	6.0	5.8	4.7			
	MAX	7.4	6.4	5.5	6.8	6.5	6.6	5.9	4.8			
	Среднее	6.5	6.4	5.5	6.6	5.7	6.3	5.9	4.8			
Cebidichthyidae	MIN	6.9	7.0	6.7	7.3	6.3	6.9	7.1	6.8	6.6		
	MAX	7.9	7.1	6.7	7.7	7.3	7.0	7.1	6.8	6.7		
	Среднее	7.4	7.1	6.7	7.5	6.8	7.0	7.1	6.8	6.6		
Bathymasteridae	MIN	6.9	7.3	6.3	7.1	6.0	6.9	6.8	6.3	5.9	7.1	
	MAX	8.3	7.5	6.6	7.4	7.1	7.4	6.9	6.4	6.0	7.2	
	Среднее	7.5	7.4	6.5	7.2	6.5	7.1	6.9	6.4	6.0	7.2	
<i>T. trachurus</i>	MIN	14.7	14.4	15.1	15.0	14.2	14.7	15.3	14.6	14.5	14.9	14.4
	MAX	15.8	14.4	15.1	15.3	15.2	15.2	15.3	14.6	14.6	14.9	14.5
	Среднее	15.1	14.4	15.1	15.2	14.8	15	15.3	14.6	14.6	14.9	14.5
<i>E. maclovinus</i>	MIN	13.9	14.1	14.1	14.1	13.2	14.4	14.1	14.1	13.6	14.1	13.4
	MAX	14.7	14.1	14.1	14.2	14.2	14.6	14.1	14.1	13.6	14.1	13.6
	Среднее	14.3	14.1	14.1	14.2	13.8	14.5	14.1	14.1	13.6	14.1	13.5

линия семейства Anarhichadidae (5.8%). Семейства Zaproridae и Cryptacanthodidae разобщены с другими бельдюговидными рыбами чуть больше – на 6.1%. Дифференциация между Stichaeidae и остальными семействами, а также между Ptilichthyidae и другими таксонами подотряда оценивается в 6.4%. На существенном расстоянии находится семейство Zoarcidae – 6.6%. Достаточно высокая степень дифференциации от прочих семейств характерна для ДНК-линий Eulophiidae и Pholidae (6.7%). Максимальные значения дивергенции обнаружены для филогенетических линий Sebichthyidae и Bathymasteridae – 6.9% в обоих случаях (таблица 3).

Филогенетические деревья (рисунки 4-6), построенные с помощью разных алгоритмов, оказались практически идентичными по структуре, количеству и распределению ветвей с высокой поддержкой. У основания деревьев, наиболее близко к общему гипотетическому предку бельдюговидных рыб, находится филогенетическая линия семейства Bathymasteridae, самого примитивного в подотряде (Anderson, 1994), а также линия семейства Sebichthyidae.

Линии семейств Stichaeidae, Pholidae, Cryptacanthodidae, Zaproridae, Ptilichthyidae образуют три равноудаленных кластера. Сначала уверенно (95/91/1) обособляется кластер семейства Stichaeidae, который разделяется на группу видов подсемейства Stichaeinae и группу (*S. punctatus* + *S. ochriamkini*) – Chirolophinae – Alectriinae. Филогенетическая линия подсемейства Xiphisterinae также расположена в кластере семейства Stichaeidae: в структуре MP дерева (рисунок 4) она находится в первой группе, в структуре ML и BA деревьев (рисунки 5-6) – во второй группе. В пределах этих групп основные узлы ветвления поддержаны слабо и точно установить взаимосвязи линий таксонов не удастся, за исключением *S. punctatus* + *S. ochriamkini* + Chirolophinae на BA дереве (0.98). Следом (с вероятностью 90/91/0.97) отделяется кластер, в котором линия подсемейства стихеевых рыб Opisthocentrinae объединяется с группой семейств Pholidae и Ptilichthyidae. Затем дивергирует кластер (89/92/0.97), включающий филогенетические линии подсемейства стихеевых рыб Lumpeninae и группы семейств Cryptacanthodidae и Zaproridae. В целом семейство Stichaeidae представляет полифилетическую группу, линии его подсемейств объединяются с филогенетическими линиями других семейств подотряда. Выводы о неоднородности семейства Stichaeidae были сделаны ранее на основе морфологических данных. Так, Макушок (1958) утверждал, что подсемейства этого семейства не имеют ни одной общей морфологической особенности, которая объединяла бы всех его представителей. Нельсон (Nelson, 1994, 2006) считал монофилию большинства семейств подотряда Zoarcoidei, в первую очередь семейства Stichaeidae, неопределенной и отказался от выделения подсемейств стихеевых рыб. По мнению Назаркина (2000), семейство Stichaeidae в составе, предложенном Макушком (1958), не является естественным, поскольку монофилетическую группу (собственно Stichaeidae) образуют лишь подсемейства Stichaeinae и Chirolophinae, а таксономический ранг остальных подсемейств, вероятно, нужно повысить до семейств.

На филогенетических деревьях (рисунки 4-6) виды семейства Zoarcidae образуют монофилетическую группу (90/94/1), которая занимает внешнюю, продвинутую позицию; первым в кластере отделяется филогенетическая линия подсемейства Gymnelinae, следом – подсемейства Zoarcinae, и в последнюю очередь – Lycozoarcinae и Lycodinae. Сестринские связи с этой группой характерны для семейств Anarhichadidae, Neozoarcidae и Eulophiidae. Их филогенетические линии формируют обособленный макрокластер (92/97/1), внутренние связи которого имеют достоверные оценки бутстрэп-анализа и апостериорной вероятности.

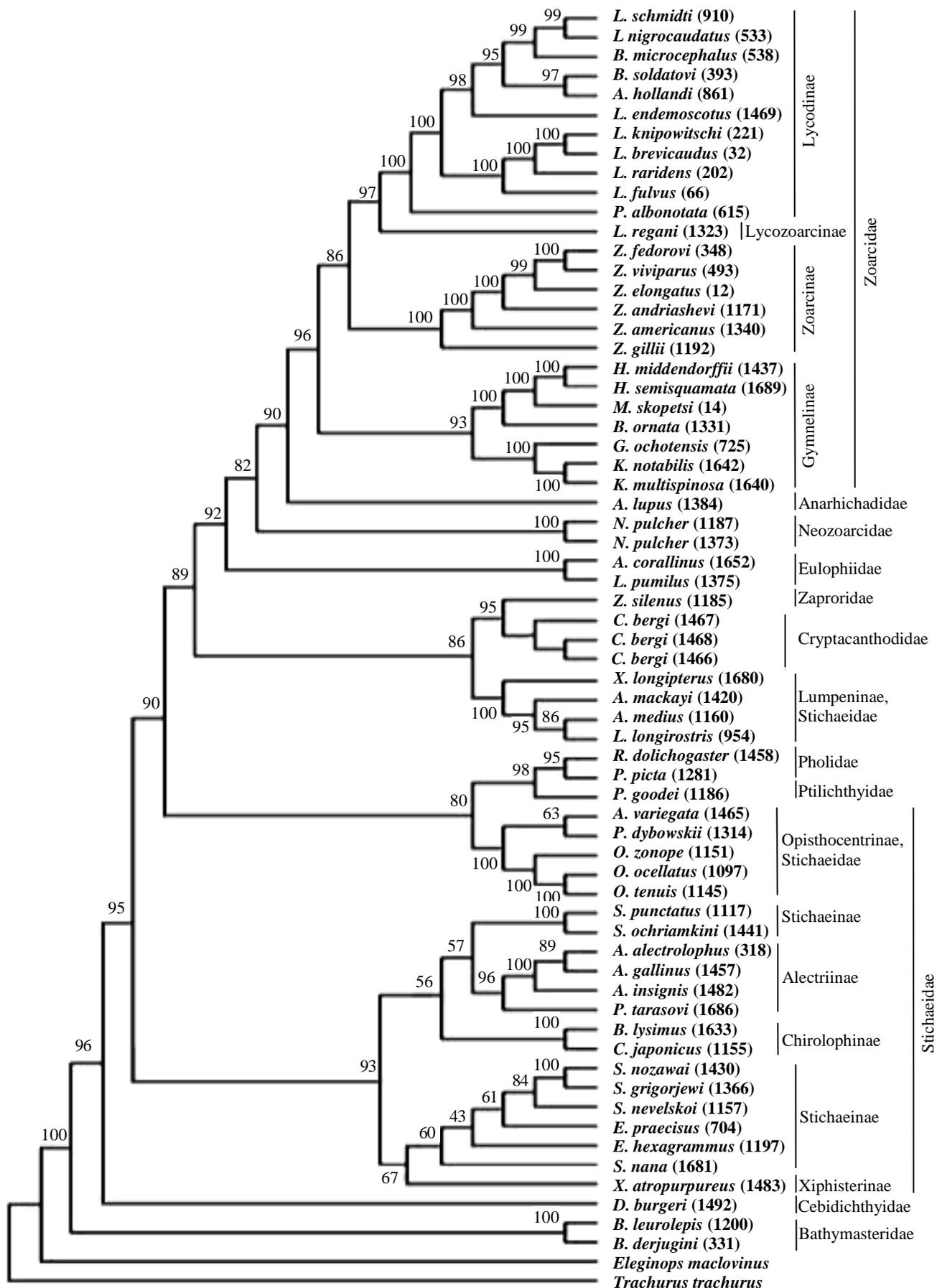


Рисунок 4. Максимально экономное дерево (MP) таксонов подотряда Zoarcoidei, полученное на основе анализа данных об объединенных нуклеотидных последовательностях генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и RNF213, родопсина, RAG1 яДНК. Цифры над и под ветвями – бутстрэп-поддержки (% от 1000 реплик бутстрэпа)

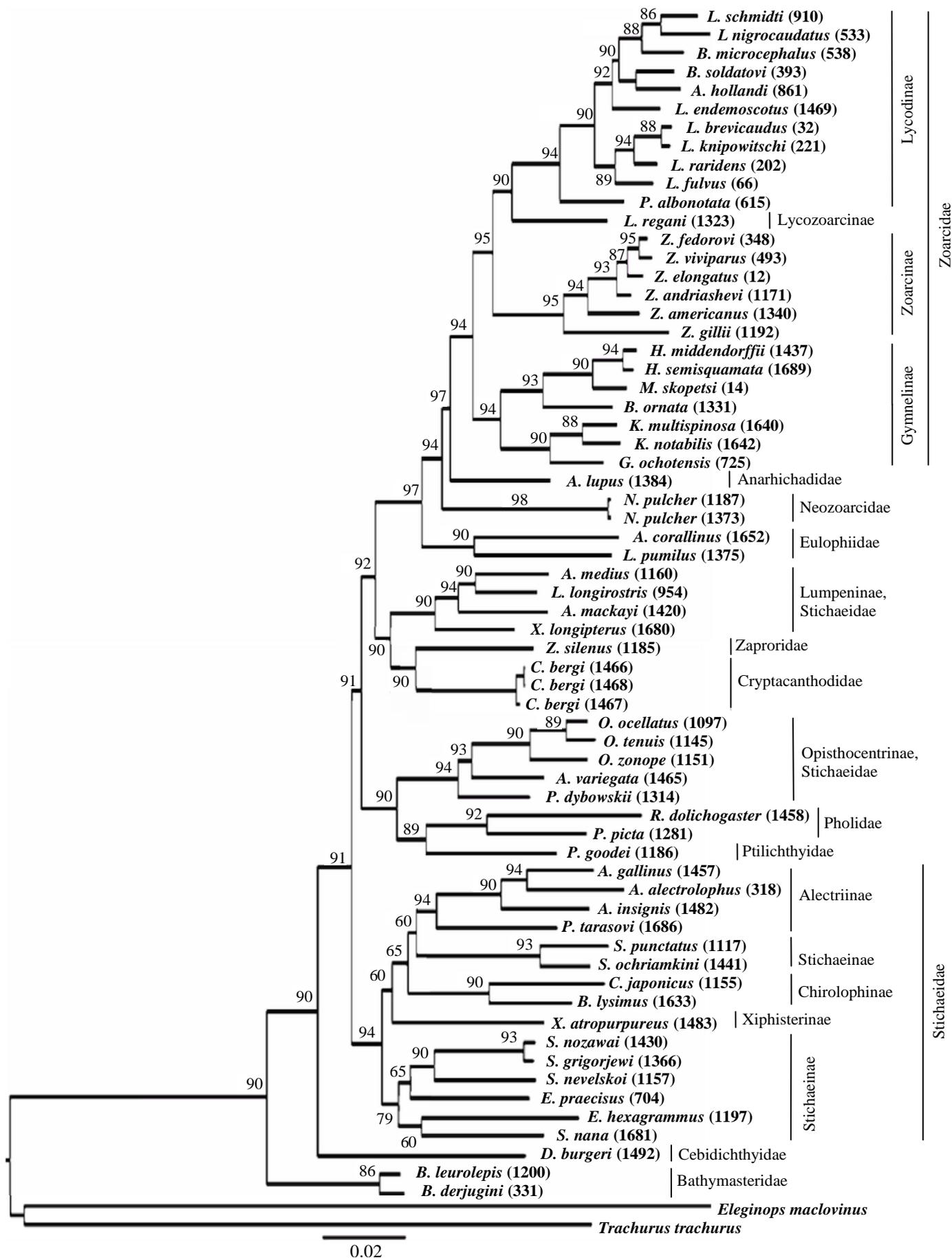


Рисунок 5. Максимально правдоподобное дерево (ML) таксонов подотряда Zoarcoidei, полученное на основе подразделенного анализа данных об объединенных нуклеотидных последовательностях генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и RNF213, родопсина, RAG1 яДНК. Цифры над и под ветвями – бутстрэп-поддержки (% от 1000 реплик бутстрэпа)

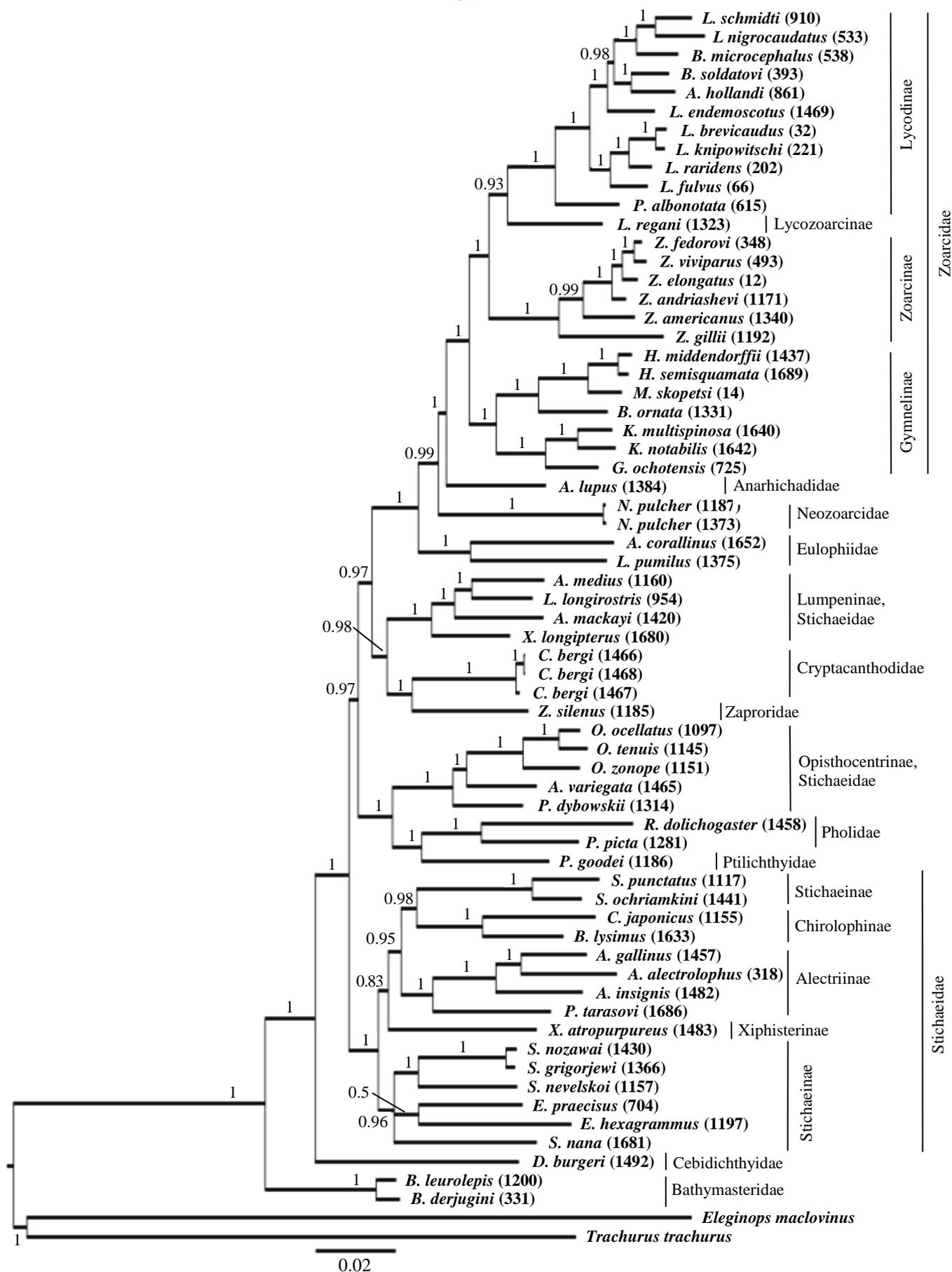


Рисунок 6. Байесовское дерево (BA) таксонов подотряда Zoarcoidei, полученное по данным об объединенных нуклеотидных последовательностях генов COI, цитохрома b, 16S рРНК мтДНК и RNF213, родопсина, RAG1 яДНК. Цифры над и под ветвями – значения апостериорной вероятности

В качестве достоверной системы подотряда принято филогенетическое ВА дерево, полученное по данным об объединенных последовательностях ДНК (рисунок б), поскольку для его топологии характерна статистическая поддержка на самом высоком уровне значимости (97% достоверных узлов ветвления). Большая разрешающая способность «комбинированного» дерева объясняется высоким объемом филогенетической информации, заложенным в объединенной из шести генов последовательности ДНК длиной 4730 пн, а также использованием в анализе маркеров, имеющих разный уровень полиморфизма и относящихся к независимым генетическим системам – митохондриальному и ядерному геномам.

**6. Оценка конгруэнтности молекулярно-генетической системы подотряда Zoarcoidei морфологическим системам.** Молекулярно-генетическая система бельдюговидных рыб согласуется с морфологическими реконструкциями (Макушок, 1958; Anderson, 1994, 2003) в следующих позициях: во-первых, в расположении линии примитивного семейства Bathymasteridae у основания дерева (Anderson, 1994); во-вторых, в эволюционной древности и близости рода *Dictyosoma* (Cebidichthyidae) к общему гипотетическому предку (Макушок, 1958, 1961 а); в-третьих, в приблизительно одинаковом генетическом расстоянии от предкового ствола подотряда до всех семейств, кроме Bathymasteridae и Cebidichthyidae (Anderson, 1994).

Отличия молекулярно-генетической и морфологических филогений существенны. В нашей системе самые продвинутые подсемейства бельдюговых рыб Lycozoarcinae и Lycodinae – сестринские, а Zoarcinae близок к этой группе; у Андерсона (Anderson, 1994) Lycozoarcinae – примитивная группа, а Zoarcinae образует кладу с Gymnelinae. Состав семейства Eulophiidae и его родство с Zoarcidae, Anarhichadidae, Neozoarcidae противоречат морфологической системе (Макушок, 1958), в которой роды *Azygopterus*, *Leptostichaeus* и *Eulophias* принадлежат к обособленным подсемействам стихеевых рыб Azygopterinae, Lumpeninae и Eulophiinae. В нашей системе семейство Stichaeidae разделяется на три удаленные филогенетические линии: Lumpeninae, Opisthocentrinae, Stichaeinae – Chirolophinae – Alectriinae – Xiphisterinae; в морфологической системе (Макушок, 1958) семейство Stichaeidae монофилетично, Lumpeninae и Opisthocentrinae, Stichaeinae и Chirolophinae являются сестринскими подсемействами, а Alectriinae, Xiphisterinae, Azygopterinae, Eulophiinae – высоко специализированными. Вероятно, несоответствия генетической и морфологической филогений семейства Stichaeidae говорят об искусственности его состава и необходимости повышения ранга удаленных групп (в подсемействе Stichaeinae) и подсемейств (Lumpeninae и Opisthocentrinae). В системе надсемейства Stichaeoidea (Макушок, 1958) семейства Pholidae, Ptilichthyidae и Stichaeidae обособлены; это не подтверждается нашей системой, где Pholidae и Ptilichthyidae образуют общий кластер, а подсемейство Opisthocentrinae является их сестринской группой.

Некоторые позиции молекулярно-генетической системы подотряда противоречат морфологическим данным одних авторов и свидетельствуют в пользу выводов других. Например, размещение линии семейства Neozoarcidae в кластере с Zoarcidae опровергает мнение о его принадлежности к семейству Stichaeidae (Anderson, 1994; Meclenburg, Sheiko, 2004; Nelson, 2006), но подтверждает точку зрения о положении родов *Neozoarces* и *Zoarchias* в семействе Zoarcidae (Макушок, 1961 а). Положение семейства Zaproridae подтверждает мнение о родственных связях со Stichaeidae (в нашем случае – с подсемейством Lumpeninae) (McAllister, Krejsa, 1961), но его удаленность от семейства Anarhichadidae противоречит выводу о близком родстве этих семейств (Anderson, 2003). Генетическое сходство семейств Zaproridae и Crypta-

canthodidae не соответствует данным о филогенетической обособленности Cryptacanthodidae до уровня надсемейства (Макушок, 1961 б). Однако, ряд морфологических признаков семейства Cryptacanthodidae свидетельствует о его сходстве с представителями Stichaeidae (Hilton, Kley, 2005; Hilton, 2009), что согласуется с молекулярно-генетической филогенией, объединяющей Cryptacanthodidae в группу со стихеевыми рыбами Lumpeninae.

#### ГЛАВА IX. Время дивергенции ДНК и возможные пути расселения подотряда Zoarcoidei

Для определения времени дивергенции проведен анализ объединенных ДНК-последовательностей 61 представителя подотряда Zoarcoidei. Байесовская хронограмма (рисунок 7) почти полностью повторяет топологию филогенетических деревьев на рисунках 4-6. В таблице 4 для каждого узла ветвления приведены средние величины и 95-процентные интервалы времени дивергенции в млн. лет, а также оценки апостериорной вероятности.

Дифференциация подотряда началась в конце олигоцена – начале миоцена, в среднем около 22 млн. лет назад; сначала отделилась филогенетическая линия семейства Bathymasteridae (14.7-22.5 млн. лет), затем – Sebichthyidae (13.1-19.1 млн. лет). Остальные семейства разошлись примерно 10-15 млн. лет назад. В среднем 14.9 млн. лет назад (узел 3 в таблице 4) обособилась монофилетическая группа семейства Stichaeidae, дифференциация которой на подсемейства Stichaeinae, Chirolophinae, Alectriinae и Xiphisterinae (узлы 46-49, 55) происходила 9.8-12.2 млн. лет назад. Подсемейство Stichaeinae разделилось на группировки *S. punctatus* + *S. ochriamkini*, *S. nozawae* + *S. grigorjewi* + *S. nevelskoi* + *S. nana* и *E. praecisus* + *E. hexagrammus* в период 11.8-12.2 млн. лет назад. В это же время (11.9 млн. лет, узел 55) обособилась линия Alectriinae + Xiphisterinae, которая разделилась 10.3 млн. лет назад (узел 56).

Opisthocentrinae и Lumpeninae отделись от общего предка в другое время: первое подсемейство вместе с семействами Pholidae и Ptilichthyidae – в интервале 11.8-16.5 (среднее 14.4) млн. лет (узел 4); второе подсемейство вместе с Zaproridae и Cryptacanthodidae – 11.1-15.7 (13.2) млн. лет (узел 5). Время обособления семейств Pholidae и Ptilichthyidae составляет 9.5-11.2 (узлы 39 и 44), а Zaproridae и Cryptacanthodidae – 9.1-10.2 млн. лет назад (узлы 34 и 38). Узлы 6, 7 и 8 характеризуют отделение «зоаркоидных» рыб: Eulophiidae – 11.8, Neozoarcidae – 10.5, Zoarcidae и Anarhichadidae – 10.2 млн. лет назад. Дифференциация семейства Zoarcidae датируется 7.5-9.4 млн. лет: филогенетическая линия Gymnelinae (узел 9) обособилась в интервале 7.6-11.3 млн. лет; следом, в диапазоне 6.7-10.2 млн. лет – Zoarcinae (узел 10); последними разделились подсемейства Lycodinae и Lycozoarcinae – 6.1-9.2 млн. лет назад (узел 11).

Диверсификация подотряда на родовом и видовом уровнях началась в позднем миоцене, около 10.3-11.5 млн. лет назад (узлы 56 и 52). Пик этого процесса, когда формировалось основное видовое разнообразие, пришелся на период позднего миоцена – плиоцена, 3.6 (узел 18) – 7.8 (узел 53) млн. лет назад. В последнюю очередь диверсификация затронула семейство Zoarcidae: виды подсемейства Gymnelinae дифференцировали 2.1-7.3, Zoarcinae – 1.2-4.8, Lycodinae – 2.1-4.7 млн. лет назад. Терминальные узлы (16, 26, 30, 43, 54) указывают на плейстоценовое время дивергенции ДНК самых молодых бельдюговидных рыб – видов родов *Lycodes*, *Zoarces*, *Hadropareia*, *Opisthocentrus*, *Stichaeus*.

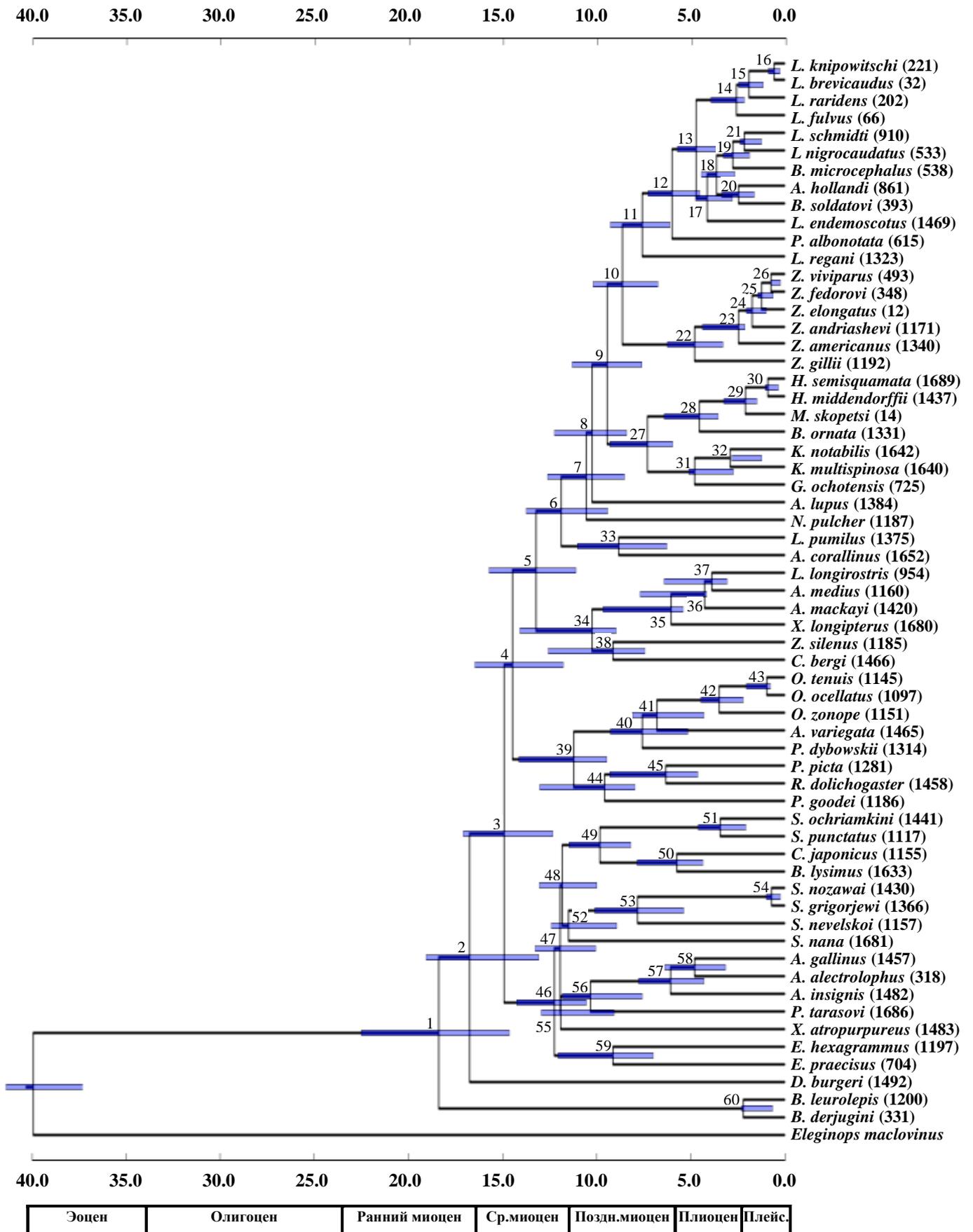


Рисунок 7. Байесовская хронограмма филогении подотряда Zoarcoidei, выраженная в абсолютной временной шкале (млн. лет). Прямоугольники – 95% интервалы наивысшей апостериорной плотности (95% HPD) оценок времени дивергенции. Числа на дереве соответствуют нумерации узлов ветвления, приведенной в таблице 4

Таблица 4. Оценки времени дивергенции таксонов подотряда Zoarcoidei

Узел	Среднее (95% HPD)	PP	Таксон	Узел	Среднее (95% HPD)	PP	Таксон
корень	39.6 (36.2-43.5)	1	<i>E. maclovinus</i>	31	4.8 (2.7-5.1)	1	Gymnelinae
1	18.4 (14.7-22.5)	1	Bathymasteridae	32	2.9 (1.4-3.2)	1	
2	16.8 (13.1-19.1)	1	Cebidichthyidae	33	8.8 (6.3-11.0)	1	Eulophiidae
3	14.9 (12.3-17.1)	0.99	Stichaeinae + Chirolophinae + Alectriinae + Xiphisterinae	34	10.2 (8.9-14.0)	0.99	Zaproridae + Cryptacanthodidae
4	14.4 (11.8-16.5)	0.99	Opisthocentrinae + Pholidae + Ptilichthyidae	35	6.0 (5.4-9.6)	1	Lumpeninae
5	13.2 (11.1-15.7)	0.98	Lumpeninae + Zaproridae + Cryptacanthodidae	36	4.2 (4.0-7.3)	1	
6	11.8 (9.4-13.7)	1	Eulophiidae	37	3.8 (3.0-6.3)	1	
7	10.5 (8.5-12.6)	0.98	Neozoarcidae	38	9.1 (7.4-12.5)	0.96	Zaproridae / Cryptacanthodidae
8	10.2 (8.4-12.3)	0.95	Anarhichadidae	39	11.2 (9.4-14.0)	1	Pholidae + Ptilichthyidae
9	9.4 (7.6-11.3)	1	Zoarcidae / Gymnelinae	40	7.5 (5.1-9.2)	1	Opisthocentrinae
10	8.6 (6.7-10.2)	1	Zoarcinae	41	6.8 (4.3-8.1)	0.99	
11	7.5 (6.1-9.2)	0.95	Lycozoarcinae	42	3.4 (2.2-4.4)	1	
12	6.0 (4.5-7.2)	1	Lycodinae	43	0.9 (0.7-2.0)	1	
13	4.7 (3.5-5.7)	1		44	9.5 (7.9-13.0)	0.99	Pholidae / Ptilichthyidae
14	2.5 (2.1-3.9)	1		45	6.3 (4.6-9.3)	1	Pholidae
15	1.9 (1.2-2.4)	1		46	12.2 (10.5-14.2)	1	Stichaeinae / Chirolophinae / Alectriinae / Xiphisterinae
16	0.5 (0.3-0.8)	1		47	11.9 (10.0-13.2)	0.82	
17	4.1 (2.8-4.7)	1		48	11.8 (9.9-13.0)	0.86	
18	3.6 (2.6-4.4)	0.99		49	9.8 (8.2-11.4)	0.98	
19	2.7 (1.8-3.2)	1		50	5.7 (4.3-7.8)	1	
20	2.4 (1.6-3.3)	1		51	3.4 (2.0-4.6)	1	
21	2.1 (1.2-2.3)	1		Zoarcinae	52	11.5 (8.9-12.4)	0.78
22	4.8 (3.2-6.2)	1	53		7.8 (5.3-10.1)	1	
23	2.4 (2.1-4.3)	0.99	54		0.7 (0.2-0.9)	1	
24	1.7 (1.0-2.1)	1	55		11.9 (9.0-12.9)	0.87	
25	1.2 (0.6-1.4)	1	56		10.3 (7.5-11.8)	1	
26	0.7 (0.2-0.7)	1	57	6.0 (4.3-7.7)	1		
27	7.3 (5.9-9.3)	1	Gymnelinae	58	4.8 (3.1-6.3)	0.99	
28	4.5 (3.5-6.4)	1		59	9.1 (7.0-12.0)	0.75	
29	2.1 (1.5-3.2)	1		60	2.2 (0.6-2.4)	1	
30	0.9 (0.3-1.0)	1					

Примечание. Средние значения и 95% интервалы наивысшей апостериорной плотности (HPD) даны в млн. лет. Нумерация узлов ветвления соответствует таковой на рисунке 7. «+» - таксоны образуют общий кластер. «/» - таксоны обособляются от общего кластера. PP – апостериорная вероятность узлов ветвления

Андерсон (Anderson, 1994) выделяет в Мировом океане шесть регионов эндемизма бельдюговидных рыб – Тихоокеанский северо-западный, Тихоокеанский северо-восточный, Атлантический северо-западный, Арктический, Магеллановый, Антарктический. Северо-западный район Пацифики, характеризующийся высоким уровнем видового разнообразия и эндемизма подотряда Zoarcoidei, определен как крупнейший центр происхождения этой группы (Шмидт, 1950; Anderson, 1994; Briggs, 1974). Предковые формы представителей подотряда Zoarcoidei и других доминирующих в тихоокеанской фауне рыб расселялись из Тихого океана в Арктику, Атлантику, Южный океан в несколько этапов.

Один из вероятных путей миграции бельдюговидных рыб в Атлантику пролегал через Панамский перешеек. Поскольку в среднем – позднем миоцене Берингов пролив еще не был открыт, и на шельфах Берингова и Чукотского морей существовала обширная Берингийская суша (Бискэ, 1975; Кафанов, 1982; Безверхний и др., 2002; Плетнев, 2004), единственно возможный путь распространения в северо-западную Атлантику мог лежать только через пролив, отделявший Северную и Южную Америку в районе затопленного Панамского перешейка. Его формирование началось в среднем миоцене примерно 16 млн. лет назад (Кафанов, Кудряшов, 2000). Около 7 млн. лет назад пролив между океанами стал мелководным и недоступным для миграций глубоководных рыб, а в позднем плиоцене окончательно установилась сухопутная связь между континентами (Anderson, 1994; Briggs, 2003). Вероятно, таким образом происходило расселение из Пацифики более 7-8 млн. лет назад предка атлантического вида *Cryptacanthodes maculatus* из семейства Cryptacanthodidae. Остальные криворотовые рыбы распространились в северо-западной (*C. bergi*), центральной и северо-восточной (*C. aleutensis* и *C. giganteus*) частях Тихого океана примерно в это же время или чуть позднее – 6.1-7.6 млн. лет назад (Радченко и др., 2011).

Однако «панамский» путь расселения был существенно менее значимым для эволюции бельдюговидных рыб Северного полушария, чем возникший позднее путь расселения из Тихого океана в Арктику и северную Атлантику через Берингов пролив (Anderson, 1994). Открытие Берингова пролива в позднем миоцене (5.5-6 млн. лет), в середине плиоцена (3-3.5 млн. лет), в раннем и среднем плейстоцене соединяло дальневосточные моря с морями Полярного бассейна. Тогда и появлялась возможность распространения представителей подотряда Zoarcoidei в Арктику и северную Атлантику. Основное направление миграции лежало на восток вдоль арктического побережья Аляски и Канады (Бискэ, 1975; Кафанов, Кузнецов, 2000; Линдберг, 1972). Расселение в западном направлении, по крайней мере, в миоценовый и плиоценовый периоды, видимо, было невозможно, поскольку тогда Полярный бассейн являлся цепью из частично или полностью изолированных котловин (Пушаровский, 1976). От тихоокеанских мигрантов в северной части Атлантического океана благодаря длительной пространственной изоляции (из-за сухопутных мостов между континентами в районах Берингова пролива и Атлантики) обособились эндемичные виды, относящиеся к родам *Lycodes*, *Lycenchelis*, *Gymnelus*, *Melanostigma*, *Lycodonus*, *Exechodontes*, *Zoarcetes* семейства Zoarcidae; *Ulvaria*, *Lumpenus*, *Leptoclinus*, *Chirolophis* семейства Stichaeidae; *Anarhichas* семейства Anarhichadidae; *Pholis* семейства Pholidae. Так сформировался Атлантический северо-западный район эндемизма бельдюговидных рыб (Андрияшев, Чернова, 1994, 2010; Anderson, 1994; Mecklenburg, Sheiko, 2004; Fedorov, 2004).

Распространение подотряда Zoarcoidei из Тихого океана в Южное полушарие происходило в миоценовый период, миграции были направлены вдоль западного побережья Америки через Южно-Антильский хребет. Предполагают, что в Южном океане находился второй центр эволюции бельдюговидных рыб, поскольку в этом районе обитают виды из 5 эндемичных родов семейства Zoarcidae – *Lycodichthys*, *Gosztonyia*, *Bellingshausenia*, *Bentartia*, *Santelmoa*. Эти виды и роды образовали Антарктический регион эндемизма (Anderson, 1994). В южную часть Атлантического океана предки современных бельдюговидных рыб проникли из южной Пацифики через открывшийся 20-22 млн. лет назад пролив Дрейка. Здесь расположен еще один регион эндемизма, Магеллановый, в котором представлено 12 эндемичных родов – *Aiakas*, *Austrolycus*, *Crossostomus*, *Dadyanos*, *Iluocoetes*, *Letholycus*, *Maynea*, *Notolycodes*, *Phucocoetes*, *Piedrabuenia*, *Plesienchelys*, *Pogonolycus*. Основу ихтиофауны этих двух районов эндемизма подотряда в Южном полушарии составляют представители подсемейства Lycodinae (Anderson, 1994; Briggs, 1974, 2003; Matallanas, 2009 a-b, 2010; Matallanas, Corbella, 2012; Matallanas et al., 2012).

## ГЛАВА X. Заключение

К настоящему времени на основе морфологических признаков реконструированы филогении двух групп подотряда – надсемейства Stichaeoidea (Макушок, 1958) и семейства Zoarcidae (Anderson, 1994). Выводы разных авторов о составе и родственных связях Zoarcoidei часто противоположны (Линдберг, Красюкова, 1975; Макушок, 1958; Шмидт, 1950; Anderson, 1994; Eschmeyer, 2014; Mecklenburg, 2003; Mecklenburg, Sheiko, 2004; Nelson, 2006), а целостная система бельдюговидных рыб пока не получена. Представленное исследование, в котором таксоны подотряда рассматриваются с точки зрения изменчивости ДНК, вносит существенный вклад в формирование представлений о биологическом разнообразии и системе этой группы рыб.

В работе изучен полиморфизм нуклеотидных последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК 107 видов из 57 родов и 8 семейств бельдюговидных рыб, представляющих ихтиофауну северо-западной и северо-восточной частей Тихого океана, северной Атлантики, Антарктики, Арктики. В анализе использованы шесть ДНК-маркеров общей длиной 4730 пн: митохондриальные гены COI, цитохрома b, 16S рРНК и ядерные гены RNF213, родопсина, RAG1. Для уточнения состава и статуса некоторых таксонов впервые использован комплексный подход, включающий молекулярно-генетические и морфологические методы.

Выбранные молекулярные маркеры оказались информативны для филогенетического анализа на разных таксономических уровнях – от вида-группы видов до семейства-группы семейств. Высоко полиморфные гены COI и цитохрома b мтДНК хорошо зарекомендовали себя в установлении генетического сходства – различия видов и родов. Более консервативные гены RNF213, родопсина, RAG1 яДНК, а также митохондриальный ген 16S рРНК лучше работали на уровне подсемейств и семейств. Комбинированный подход, при котором независимо выровненные последовательности генов мтДНК и яДНК объединялись в общий набор данных, показал свою эффективность для установления родственных отношений и реконструкции системы подотряда Zoarcoidei.

Анализ нуклеотидных последовательностей митохондриальных и ядерных маркеров семейства Zoarcidae показал монофилетическое происхождение его подсемейств. Основная морфологическая гипотеза родственных связей семейства Zoarcidae (Anderson, 1994), согласно ко-

торой Lycosoarcinae представляет примитивное подсемейство, а Gymnelinae и Zoarcinae объединены в общую кладу и занимают продвинутое положение, не соответствует нашей гипотезе филогенетических отношений, определяющей подсемейство Gymnelinae как эволюционно древнее, а подсемейство Lycodinae как наиболее молодое и близкое к подсемейству Lycosoarcinae. Подсемейство Lycodinae разделяется на три группы: первая, ближайшая к гипотетическому предку, включает роды *Petroschmidtia* и *Lycenchelys*, вторая и третья – более молодые, состоящие из видов рода *Lycodes* и родов Bothrocara-group вместе с родом *Lycodapus*. Род *Zoarces*, единственный род подсемейства Zoarcinae, дифференцирован на три филогенетические линии: первая, эволюционно древняя линия *Z. gillii*; вторая, также близкая к предковому стволу линия *Z. americanus*; третья, молодая группа, включающая *Z. fedorovi*, *Z. viviparus*, *Z. elongatus* и *Z. andriashevi*. Для видов *Z. fedorovi* и *Z. andriashevi* расширены границы ареалов от крайней юго-восточной точки на западной Камчатке до крайней юго-западной точки у Шантарских о-вов. Показано существование далеко дивергировавшей формы *Z. elongatus*, которая, возможно, заслуживает более высокого таксономического статуса. Подтверждены морфологические гипотезы, разделяющие подсемейство Gymnelinae на две обособленные линии: роды *Hadropareia*, *Magadanichthys*, *Bilabria*, *Davidijordania* составляют группу с брюшными плавниками, а *Krusenterniella* и *Gymnelopsis* – без брюшных плавников.

На основе молекулярно-генетических данных установлено, что в семействе Stichaeidae подсемейства Aletriinae, Opisthocentrinae, Chirolophinae, Lumpeninae являются монофилетическими, а подсемейство Stichaeinae имеет полифилетическое происхождение. Молекулярно-генетическая система Stichaeidae противоречит морфологической (Макушок, 1958) в том, что филогенетические линии подсемейств Opisthocentrinae и Lumpeninae значительно обособлены и первыми отделяются от предкового ствола, а Stichaeinae, Xiphisterinae, Aletriinae, Chirolophinae представляют более молодую группу сестринских подсемейств. Подтверждена точка зрения о неоднородности подсемейства Stichaeinae (Шмидт, 1950) и обоснованности выделения из него самостоятельного подсемейства, включающего виды *Stichaeus punctatus* и *S. ochriamkini*. В подсемействе Opisthocentrinae виды родов *Pholidapus* и *Askoldia* ближе друг к другу, чем к видам рода *Opisthocentrus*. Подсемейство Lumpeninae разделяется на базальные филогенетические линии родов *Xenolumpenus* и *Leptoclinus*, и производную линию, состоящую из двух групп близкородственных родов *Lumpenella* – *Anisarchus* и *Lumpenus* – *Acantholumpenus*. Таксоны подсемейства Aletriinae дифференцируются на обособленную филогенетическую линию рода *Pseudaletrias* и более молодой кластер родственных родов *Aletrias* и *Anoplarchus*.

Показана высокая гетерогенность подсемейства Xiphisterinae (в составе, предложенном Макушом, 1958). Подтверждена обоснованность выделения из подсемейства Xiphisterinae самостоятельного подсемейства Cebidichthyinae с родами *Cebidichthys* и *Dictyosoma* (Yatsu, 1986). На основании существенной обособленности Cebidichthyinae предложено вывести это подсемейство из состава Stichaeidae и повысить его статус до семейства Cebidichthyidae.

Молекулярно-генетическая система семейства Pholidae согласуется с морфологической (Макушок, 1958) в части выделения подсемейств Pholinae и Apodichthyinae. Показана близость видов родов *Rhodymenichthys* и *Pholis* и их обособление от *Apodichthys* и *Xererpes*. В свою очередь, *Apodichthys* и *Xererpes* значительно дифференцированы и не могут принадлежать к одному роду *Apodichthys*, как считалось ранее (Yatsu, 1981, 1985). Генетические расстояния между

родом *Xererpes* и остальными таксонами Pholidae находятся на уровне отличий между семействами и ставят под сомнение существование подсемейства Apodichthyinae в составе *Apodichthys*, *Xererpes* и *Ulvicola*.

Молекулярно-генетические данные свидетельствуют о родстве подсемейства Neozoarcinae с семействами Zoarcidae и Anarhichadidae. Генетическая дивергенция подсемейства Neozoarcinae от семейств подотряда соответствует дифференциации между семействами, что предполагает более высокий таксономический ранг – ранг семейства Neozoarcidae.

Подтверждены мнения о родственных отношениях родов *Azygopterus* и *Leptostichaeus* (Земнухов, 2012) и взаимосвязи *Azygopterus* с семейством Zoarcidae (Eschmeyer, 2014). Определена обособленность родов *Azygopterus*, *Leptostichaeus*, *Eulophias* от остальных бельдюговидных рыб до уровня семейства. Название этого семейства, согласно приоритету описания, предлагается обозначить как Eulophiidae, и рассматривать его как родственное группе семейств Zoarcidae, Neozoarcidae, Anarhichadidae.

По данным о нуклеотидных последовательностях генов мтДНК и яДНК получена система подотряда Zoarcoidei. Наиболее близки к общему гипотетическому предку филогенетические линии семейств Bathymasteridae и Sebidiichthyidae – самых древних из известных, ныне живущих бельдюговидных рыб. Самой молодой в эволюционном плане является филогенетическая линия семейства Zoarcidae, характеризующаяся родственными связями с линиями семейств Anarhichadidae, Neozoarcidae и Eulophiidae. Подтверждаются мнения о гетерогенности и искусственности семейства стихеевых рыб, основанные на анализе морфологических признаков (Макушок, 1958; Назаркин, 2000; Mecklenburg, Sheiko, 2004; Nelson, 1994, 2006). Семейство Stichaeidae имеет полифилетическое происхождение, филогенетические линии его подсемейств объединяются с линиями других семейств подотряда. Филогенетическая линия подсемейства Opisthocentrinae связана с линиями семейств Pholidae и Ptilichthyidae, а Lumpeninae – с семействами Zaproridae и Cryptacanthodidae.

Оценка времени дивергенции таксонов подотряда Zoarcoidei по данным о нуклеотидных последовательностях мтДНК и яДНК с использованием дат ископаемых находок для калибровки «молекулярных часов» показала следующее. Дифференциация подотряда началась в конце олигоцена – начале миоцена, в среднем около 22 млн. лет назад; сначала отделилась филогенетическая линия семейства Bathymasteridae (14.7-22.5 млн. лет), затем – Sebidiichthyidae (13.1-19.1 млн. лет). Остальные семейства разошлись примерно 10-15 млн. лет назад, в период среднего миоцена. Пик диверсификации бельдюговидных рыб на родовом и видовом уровнях пришелся на период позднего миоцена – плиоцена, 3.6-7.8 млн. лет назад. Оценки времени дивергенции ДНК бельдюговидных рыб в большинстве совпадают с существующими эволюционными гипотезами. С точки зрения Шмидта (1950), семейства Zoarcidae, Stichaeidae и Pholidae возникли в миоценовое время в северной части Охотского моря, примерно в это же время началась дифференциация семейств на роды, а в плиоцен – плейстоцене появились современные виды. По мнению Назаркина (2000), к миоценовому времени доминирующие в ихтиофауне северной части Тихого океана подотряды Cottoidei и Zoarcoidei уже включали современные семейства рыб, а миоцен был эпохой формирования нынешней ихтиофауны Пацифики на родовом уровне.

В систему подотряда Zoarcoidei, полученную по результатам анализа нуклеотидных последовательностей генов мтДНК и яДНК, предлагается включить пять новых семейств – Нео-

zoarcidae, Eulophiidae, Lumpenidae, Opisthocentridae, Cebidichthyidae. Важно отметить, что предложения об изменении таксономического статуса этих групп бельдюговидных рыб основаны, главным образом, на молекулярно-генетических данных. Для их подтверждения требуется обстоятельная ревизия подотряда на основе глубокого морфологического анализа.

### Выводы

1. Определена степень дифференциации на разных таксономических уровнях подотряда Zoarcoidei. Генетические дистанции в пределах вида имеют близкие значения для разных семейств, составляя 0.2-0.3%. Дистанции между видами одного рода изменяются в широком диапазоне от 1.3 до 4.6%. Величины дивергенции между родами одного подсемейства находятся в интервале от 3.1% в семействе Zoarcidae до 5.5% в семействе Stichaeidae. Отличия на уровне подсемейств одного семейства также неодинаковы – от 5% в семействе Zoarcidae до 6% в семействе Stichaeidae. Степень дифференциации семейств составляет 6.5%, изменяясь от 4.8% между Zaproridae и Cryptacanthodidae до 7.5% между Zoarcidae и Bathymasteridae. Колебания значений р-дистанций на одном таксономическом уровне связаны с генетической неоднородностью отдельных групп подотряда Zoarcoidei.

2. Уточнен состав и статус некоторых таксонов видового и родового ранга подотряда Zoarcoidei. Виды *Lycodes brevicaudus* и *L. tanakae* (Zoarcidae) не являются самостоятельными и принадлежат к одному виду *L. tanakae*; виды *L. schmidti* и *L. nigrocaudatus* относятся к роду *Lycogrammoides*. Восстановлен статус рода *Bothrocarichthys* с видом *B. microcephalus* и рода *Allolepis* с видом *A. hollandi*. Подтверждена самостоятельность всех 6 видов рода *Zoarces* (Zoarcidae). Восстановлен самостоятельный статус рода *Pholidapus* (Stichaeidae). Обосновано включение родов *Enedrias* и *Allopholis* в синонимию рода *Pholis*, самостоятельность рода *Rhodymenichthys* и неправомерность его включения в синонимию рода *Pholis*; *Apodichthys* и *Xererpes*, определенные ранее в один род *Apodichthys*, представляют обособленные роды (Pholidae).

3. Определена систематическая принадлежность таксонов подотряда Zoarcoidei с неясным или спорным положением. Подсемейство Neozoarcinae предложено вывести из состава семейства Stichaeidae и повысить его ранг до семейства Neozoarcidae. Генетическое сходство родов *Leptostichaeus*, *Azygopterus*, *Eulophias* и их обособленность от всех семейств подотряда позволяют придать этой группе статус семейства Eulophiidae. Неоднородность подсемейства Xiphisterinae, правомерность его разделения на два подсемейства Xiphisterinae и Cebidichthyinae, а также существенные отличия Cebidichthyinae являются основанием для выведения последнего подсемейства из состава Stichaeidae и повышения его статуса до семейства Cebidichthyidae.

4. Подсемейства Lycodinae, Zoarcinae, Gymnelinae семейства Zoarcidae имеют монофилетическое происхождение. Молекулярно-генетическая система семейства Zoarcidae, определяющая подсемейство Gymnelinae как эволюционно древнее, а Lycodinae как наиболее молодое и близкое к Lycosoarcinae, не в полной мере согласуется с основной морфологической гипотезой, на основании которой Lycosoarcinae представляет примитивное подсемейство, а общая клада Gymnelinae и Zoarcinae занимает продвинутою позицию.

5. В семействе Stichaeidae подсемейства Alectriinae, Opisthocentrinae, Chirolophinae, Lumpeninae образуют собственные монофилетические группы. Подсемейство Stichaeinae и его роды *Stichaeus* и *Stichaeopsis* полифилетичны. Подсемейства Stichaeinae, Xiphisterinae,

Alectriinae, Chirolophinae являются сестринскими. Подсемейства Opisthocentrinae и Lumpeninae значительно обособлены. Молекулярно-генетическая система семейства Stichaeidae не соответствует основным позициям морфологической системы, согласно которой подсемейство Stichaeinae считается сестринским с Chirolophinae, подсемейство Lumpeninae – с Opisthocentrinae, а подсемейства Alectriinae, Xiphisterinae, Azygopterinae и Eulophiinae представляют дифференцированные линии.

6. В семействе Pholidae роды *Pholis* и *Rhodymenichthys* являются сестринскими родами, род *Apodichthys* занимает внешнюю позицию. Значительное генетическое расстояние от рода *Xererpes* до остальных представителей Pholidae подвергает сомнению существование подсемейства Apodichthyinae в составе *Apodichthys*, *Xererpes* и *Ulvicola*. Род *Xererpes* следует исключить из подсемейства Apodichthyinae. Молекулярно-генетическая и морфологическая системы согласуются в части выделения в семействе Pholidae двух подсемейств – Pholinae с родами *Pholis* и *Rhodymenichthys*, и Apodichthyinae с родом *Apodichthys*.

7. В молекулярно-генетической системе подотряда Zoarcoidei ближе всех к гипотетическому предку находятся семейства Bathymasteridae и Cebidichthyidae. Семейство Zoarcidae представляет монофилетическую группу, самую молодую в эволюционном плане. Семейства Zoarcidae, Anarhichadidae, Neozoarcidae и Eulophiidae составляют родственную группу. Семейство Stichaeidae имеет полифилетическое происхождение. Подсемейство Opisthocentrinae тесно связано с семействами Pholidae и Ptilichthyidae, а Lumpeninae – с Zaproridae и Cryptacanthodidae. Ранг подсемейств Opisthocentrinae и Lumpeninae предложено повысить. Соответствие молекулярно-генетической и морфологических систем подотряда заключается в расположении семейств Bathymasteridae и Cebidichthyidae у основания предкового ствола, а также в примерно одинаковом удалении остальных семейств от общего гипотетического предка.

8. Временные рамки дивергенции ДНК таксонов подотряда Zoarcoidei ограничиваются концом олигоцена – серединой позднего миоцена и укладываются в диапазон около 12 млн. лет. Наиболее примитивные семейства Bathymasteridae и Cebidichthyidae отделились от общего предка 14.7-22.5 и 13.1-19.1 млн. лет назад. Дифференциация остальных семейств датируется средним – поздним миоценом, около 10-15 млн. лет назад. Период позднего миоцена – середины плиоцена, 3.6-7.8 млн. лет назад, можно считать наиболее вероятным временем появления и расселения современных видов подотряда. Оценки темпов дивергенции ДНК бельдюговидных рыб совпадают с существующими эволюционными гипотезами, согласуются с палеонтологическими данными и основными этапами геологического развития Мирового океана.

9. Степень генетической изменчивости молекулярных маркеров бельдюговидных рыб подотряда Zoarcoidei достоверно различается: темпы эволюции в два раза выше у кодирующих белки генов митохондриальной ДНК (COI, цитохром b), чем у генов ядерной ДНК (RNF213, родопсин, RAG1) и митохондриального гена 16S рРНК. Доля несинонимичных мутаций, меняющих аминокислотную последовательность, значимо меньше для митохондриальных маркеров (7.5 и 19.9%), чем для маркеров ядерного генома (34.9, 35.4 и 41.8%). Изученные митохондриальные и ядерные гены находятся под действием отрицательного отбора.

10. Молекулярно-генетические признаки позволяют идентифицировать таксоны бельдюговидных рыб и их группы (таксон-специфичные мутации). Молекулярные маркеры ранжируются в порядке увеличения количества мутаций, маркирующих родственные таксоны: гены

COI, цитохрома b, RNF213, родопсина, RAG1, 16S рРНК. Полиморфные гены COI и цитохрома b мтДНК хорошо подходят для определения родства видов и родов. Консервативные гены RNF213, родопсина, RAG1 яДНК, а также митохондриальный ген 16S рРНК лучше работают на уровне подсемейств и семейств.

11. Гены митохондриального и ядерного геномов содержат разные филогенетические данные, которые дополняют друг друга при совместном анализе. Комбинированный анализ маркеров мтДНК и яДНК имеет высокую разрешающую способность и эффективен для получения информации о генетической изменчивости в группах бельдюговидных рыб подотряда Zoarcoidei разного таксономического уровня.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

#### Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК МОН РФ

1. **Радченко, О. А.** Рестрикционная изменчивость гена цитохрома b митохондриальной ДНК в некоторых таксонах бельдюговых рыб семейства Zoarcidae (Pisces, Perciformes) северной части Охотского моря / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, М. В. Назаркин, А. В. Петровская, Е. А. Чегодаева // Генетика. – 2008. – Т. 44. – № 1. – С. 112-119.

2. **Радченко, О. А.** Изменчивость нуклеотидных последовательностей гена COI митохондриальной ДНК у некоторых видов бельдюг рода *Zoarces* (Zoarcidae, Pisces) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская, М. В. Назаркин, Е. А. Чегодаева // Генетика. – 2008. – Т. 44. – № 7. – С. 920-928.

3. **Радченко, О. А.** О таксономическом статусе рода *Petroschmidtia* (Perciformes: Zoarcidae, Lycodinae) по результатам молекулярно-генетического анализа / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, М. В. Назаркин, А. В. Петровская // Вестник СВНЦ ДВО РАН. – 2008. – № 2. – С. 68-73.

4. **Радченко, О. А.** Родственные отношения некоторых таксонов гимнеловых рыб подсемейства Gymnelinae (Zoarcidae, Pisces) по данным о нуклеотидных последовательностях митохондриальной ДНК / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, М. В. Назаркин, А. В. Петровская, Е. А. Чегодаева // Биология моря. – 2008. – Т. 34. – № 2. – С. 139-143.

5. **Радченко, О. А.** Молекулярная систематика и филогения бельдюговидных рыб подотряда Zoarcoidei / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская, А. А. Баланов // Вестник ДВО РАН. – 2009. – № 3. – С. 40-47.

6. Черешнев, И. А. Систематика и родственные отношения бельдюг рода *Zoarces* (Zoarcidae) из северной части Охотского моря / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко**, А. В. Петровская, Е. А. Чегодаева // Вестник СВНЦ ДВО РАН. – 2009. – № 4. – С. 65-76.

7. **Радченко, О. А.** Родственные отношения и дивергенция некоторых таксонов рыб подсемейства Lycodinae (Zoarcidae, Pisces) по молекулярно-генетическим и морфологическим данным / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Вопросы ихтиологии. – 2009. – Т. 49. – № 5. – С. 603-616.

8. **Радченко, О. А.** Родственные связи и положение рода *Neozarces* подсемейства Neozaricinae в системе подотряда Zoarcoidei (Pisces, Perciformes) по молекулярно-генетическим данным / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Вопросы ихтиологии. – 2010. – Т. 50. – № 2. – С. 174-178.

9. **Радченко, О. А.** Новые данные о филогенетических отношениях таксонов подсемейства *Gymnelinae* (*Zoarcidae*) по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Вестник СВНЦ ДВО РАН. – 2010. – № 4. – С. 80-85.
10. **Радченко, О. А.** Родственные отношения бельдюг рода *Zoarces* (*Zoarcidae*, *Pisces*) по молекулярно-генетическим и морфологическим данным / О.А. Радченко, А.В. Петровская, М.В. Назаркин, И.А. Черешнев, Е.А. Чегодаева // Генетика. – 2010. – Т. 46. – № 11. – С. 1525-1532.
11. **Радченко, О. А.** Филогенетические отношения в семействе маслюковых рыб *Pholidae* (*Perciformes*: *Zoarcoidei*) по молекулярно-генетическим и морфологическим данным / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Вопросы ихтиологии. – 2010. – Т. 50. – № 6. – С. 760-771.
12. **Радченко, О. А.** Родственные связи и положение криворотовых рыб семейства *Cryptacanthodidae* в системе подотряда *Zoarcoidei* (*Pisces*, *Perciformes*) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская, Д. В. Антоненко // Вопросы ихтиологии. – 2011. – Т. 51. – № 4. – С. 446-458.
13. Черешнев, И. А. Таксономический статус и родственные связи стихеевых рыб родов *Opisthocentrus*, *Pholidapus* и *Askoldia* (*Perciformes*: *Stichaeidae*) / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко**, А. В. Петровская // Биология моря. – 2011. – Т. 37. – № 6. – С. 430-441.
14. **Радченко, О. А.** Молекулярно-генетический анализ положения родов *Lycenchelys* Gill и *Lycodapus* Gilbert в системе семейства *Zoarcidae* (*Perciformes*: *Zoarcoidei*) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Генетика. – 2012. – Т. 48. – № 3. – С. 361-371.
15. **Радченко, О. А.** Положение карликового стихея *Leptostichaeus pumilus* Miki, 1985 (*Perciformes*: *Zoarcoidei*) в системе подотряда *Zoarcoidei* (по молекулярно-генетическим данным) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Вопросы ихтиологии. – 2012. – Т. 52. – № 6. – С. 651-657.
16. **Радченко, О. А.** Филогенетические отношения маслюковых рыб *Pholidae* (*Perciformes*: *Zoarcoidei*) по данным молекулярно-генетического анализа / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Вопросы ихтиологии. – 2012. – Т. 52. – № 6. – С. 708-712.
17. Черешнев, И. А. Таксономическая структура подсемейства *Xiphisterinae* и его положение в системе стихеевых рыб (*Stichaeidae*, *Zoarcoidei*) / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко**, А. В. Петровская // Вестник СВНЦ ДВО РАН. – 2012. – № 3. – С. 90-99.
18. Черешнев, И. А. О родственных связях и положении таксонов подсемейства *Xiphisterinae* (sensu Макушок, 1958) в системе подотряда бельдюговидных рыб (*Zoarcoidei*, *Perciformes*) / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко**, А. В. Петровская // Биология моря. – 2013. – Т. 39. – № 2. – С. 115-125.
19. **Радченко, О. А.** Положение рода *Azygopterus* (*Stichaeidae*, *Perciformes*) в системе подотряда бельдюговидных рыб *Zoarcoidei* по данным изменчивости генов митохондриальной и ядерной ДНК / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская, А. А. Баланов, С. В. Туранов // Генетика. – 2014. – Т. 50. – № 3. – С. 321-329.
20. Черешнев, И.А. Новые данные о распространении и систематике бельдюг рода *Zoarces* (*Zoarcidae*) в северной части Охотского моря / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко**, А. В. Петровская, Е. А. Поезжалова-Чегодаева // Вестник СВНЦ ДВО РАН. – 2013. – № 4. – С. 5-12.

21. Черешнев, И. А. О находке бельдюги Федорова *Zoarces fedorovi* (Zoarcidae) у побережья Западной Камчатки / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко**, А. В. Петровская, В. В. Земнухов, И. Н. Морева, С. В. Туранов // Вопросы ихтиологии. – 2014. – Т. 53. – № 3. – С. 359-362.

22. **Радченко, О. А.** Генетическая дифференциация видов и таксономическая структура надсемейства Stichaeoidea (Perciformes, Zoarcoidei) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Биология моря. – 2014. – Т. 40. – № 6. – С. 481-492.

23. **Радченко, О. А.** Положение рода *Krusensterniella* (Gymnelinae, Zoarcidae) в системе семейства бельдюговых рыб Zoarcidae по молекулярно-генетическим данным / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. А. Баланов, А. В. Петровская // Вопросы ихтиологии. – 2015. – Т. 55. – № 1. – С. 3-10.

### Статьи в сборниках трудов и материалов конференций

1. **Радченко, О. А.** Первые результаты изучения генетической изменчивости в некоторых таксонах бельдюговых рыб (Zoarcidae, Perciformes) северной части Охотского моря / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, М. В. Назаркин, А. В. Петровская, Е. А. Чегодаева // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : материалы VII междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2006. – С. 419-425.

2. **Радченко, О. А.** Изменчивость митохондриальной ДНК в некоторых таксонах бельдюговых рыб семейства Zoarcidae (Pisces, Perciformes) северной части Охотского моря / О. А. Радченко // Чтения памяти академика К.В. Симакова : материалы Всерос. науч. конф. – Магадан, 2007. – С. 150-151.

3. **Радченко, О. А.** Изменчивость нуклеотидных последовательностей гена CO I митохондриальной ДНК бельдюг рода *Zoarces* / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Штрих-кодирование видов рыб в России на основе ДНК. Интеграция в глобальную программу Fish-BOL : тез. докл. раб. совещ. – Владивосток, 2007. – С. 16.

4. **Радченко, О. А.** Изменчивость нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК у некоторых видов подсемейства Gymnelinae (Zoarcidae, Pisces) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, М. В. Назаркин, А. В. Петровская, Е. А. Чегодаева // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : материалы VIII междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2007. – С. 383-385.

5. **Радченко, О. А.** Некоторые итоги изучения родственных отношений бельдюговых рыб семейства Zoarcidae Охотского моря с помощью молекулярно-генетического анализа / О. А. Радченко, И. А. Черешнев // Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб : тез. докл. междунар. конф. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 68.

6. **Радченко, О. А.** Молекулярно-генетическое и морфологическое изучение некоторых таксонов рыб подсемейства Lycodinae (Zoarcidae, Pisces) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская, М. В. Назаркин // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : материалы IX междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2008. – С. 335-343.

7. **Radchenko, O. A.** Determination of taxonomic rank of genus *Petroschmidtia* (Perciformes: Zoarcidae, Lycodinae) by molecular-genetic analysis / O. A. Radchenko, I. A. Chereshevnev // DNA Barcoding and Molecular Phylogenetics : The Internat. Workshop. – Vladivostok, 2008. – P. 11-12.

8. **Радченко, О. А.** Родственные отношения бельдюг рода *Zoarces* (Zoarcidae, Pisces) по молекулярно-генетическим данным / О. А. Радченко, А. В. Петровская, М. В. Назаркин, И. А.

Черешнев, Е. А. Чегодаева // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : материалы X междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2009. – С. 374-378.

9. **Радченко, О. А.** Молекулярная систематика и филогения подотряда Zoarcoidei (Pisces, Perciformes) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская, М. В. Назаркин, А. А. Баланов // X Съезд Гидробиологического общества при РАН. – Владивосток, 2009. – С. 329-331.

10. **Радченко, О. А.** Новые данные по молекулярной систематике и родственным отношениям бельдюговидных рыб подотряда Zoarcoidei (Pisces, Perciformes) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Чтения памяти академика К.В. Симакова : материалы Всерос. науч. конф. – Магадан, 2009. – С. 197-198.

11. **Радченко, О. А.** Родственные отношения и дивергенция таксонов семейства Pholidae / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : материалы XI междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2010. – С. 120-126.

12. Черешнев, И. А. О таксономическом статусе фolidапуса Дыбовского *Pholidapus dybowskii* (Stichaeidae, Opisthocentrinae) / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко** // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : материалы XII междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2011. – С. 135-140.

13. **Радченко, О. А.** О положении родов *Lycenchelys* Gill и *Lycodapus* Gilbert в системе семейства Zoarcidae (Perciformes: Zoarcoidei) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : материалы XII междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2011. – С. 122-129.

14. **Радченко, О. А.** Систематическое положение криворотых рыб в составе подотряда Zoarcoidei (Pisces, Perciformes) / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Геология, география, биологическое разнообразие и ресурсы Северо-Востока России : материалы Всерос. конф. – Магадан, 2011. – С. 154-156.

15. Черешнев, И. А. Таксономический статус и положение подсемейства Xiphisterinae в системе подотряда Zoarcoidei (Perciformes) / И. А. Черешнев, **О. А. Радченко**, А. В. Петровская // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : тез. докл. XIII междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2012. – С. 165-172.

16. **Радченко, О. А.** Положение родов *Apodichthys* и *Xererpes* в семействе масляковых рыб Pholidae (Perciformes: Zoarcoidei) по молекулярно-генетическим данным / О. А. Радченко, И. А. Черешнев, А. В. Петровская // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : тез. докл. XIII междунар. науч. конф. – Петропавловск-Камчатский, 2012. – С. 151-154.

17. **Radchenko, O. A.** DNA phylogeny of Zoarcoids fishes (Pisces, Perciformes) / O. A. Radchenko, I. A. Chereshev, A. V. Petrovskaya // 3rd Moscow International Conference «Molecular Phylogenetics» (MolPhy-3). – Moscow, 2012. – P. 96-97.

18. **Радченко, О. А.** Применение молекулярно-генетического подхода для решения спорных вопросов систематики и филогении бельдюговидных рыб подотряда Zoarcoidei / О. А. Радченко, И. А. Черешнев // Материалы VIII междунар. симпоз. по фундаментальным и прикладным проблемам науки. – М.: РАН, 2013. – Т. 5. – С. 53-64.