

УДК 597.553.2:575

А.А. Семенченко¹, Д.М. Атопкин^{1, 2*}¹ Дальневосточный федеральный университет,
690950, г. Владивосток, ул. Октябрьская, 27;² Биолого-почвенный институт ДВО РАН,
690022, г. Владивосток, просп. 100-летия Владивостока, 159

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ ХАРИУСОВ
THYMALLUS TUGARINAE И *THYMALLUS GRUBII*
ПО ДАННЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА ЦИТОХРОМА *b*
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК**

Получены нуклеотидные последовательности участка гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК для двух видов хариусов Дальнего Востока России, *Thymallus tugarinae* и *T. grubii* (подвид *T. grubii flavomaculatus*). По этим данным и последовательностям, взятым из генного банка (NCBI GenBank), проведен филогенетический анализ четырех видов хариусов, чьи родственные отношения в настоящее время считаются малоизученными. Уровень генетической дивергенции дальневосточных хариусов *T. tugarinae* и *T. g. flavomaculatus* по отношению друг к другу соответствовал уровню дивергенции между европейским (*T. thymallus*) и сибирским (*T. arcticus*) хариусами. Кроме того, между последовательностями гена цитохрома *b* дальневосточных видов хариусов выявлены точечные нуклеотидные замены, приводящие к изменению аминокислотного состава белковых продуктов (несинонимичные мутации). Топология деревьев, построенных с помощью байесовского анализа (БА) и метода максимальной парсимонии (МР), показала наличие четырех независимых филогенетических линий происхождения хариусов. Кроме того, статистически поддержаны филогенетические связи между *T. tugarinae* и *T. g. flavomaculatus*. Полученные данные свидетельствуют о видовом статусе дальневосточных хариусов *T. tugarinae* и *T. g. flavomaculatus* и подтверждают их принадлежность к разным филогенетическим линиям, выявленным ранее.

Ключевые слова: *Thymallus*, цитохром *b*, байесовский анализ, филогения, хариусы.

Semenchenko A.A., Atopkin D.M. Comparative analysis of the Far-Eastern graylings *Thymallus tugarinae* and *Thymallus grubii* by mitochondrial cytochrome *b* gene sequence data // Izv. TINRO. — 2012. — Vol. 168. — P. 59–69.

Partial sequences of the mitochondrial gene cytochrome *b* are obtained for two species of graylings from the Russian Far East: *Thymallus tugarinae* and *T. grubii flavomaculatus*. Phylogenetic analysis of four *Thymallus* species is performed by using these new data and several sequences taken in the GenBank (NCBI). Gene differences are represented by nucleotide substitutions both neutral and those that

* Семенченко Александр Анатольевич, аспирант, e-mail: semenchenko_alexander@mail.ru; Атопкин Дмитрий Матвеевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник, e-mail: atop82@gmail.com.

lead to the amino acid change. Rate of the genetic divergence between *Thymallus tugarinae* and *T. grubii flavomaculatus* corresponds with the divergence between the Siberian (*T. arcticus*) and European (*T. thymallus*) graylings. Topology of phylogenetic trees constructed by Bayesian approach and maximum parsimony shows the presence of four independent phylogenetic groups. *T. tugarinae* and *T. grubii flavomaculatus* are recognized as distinct species belonged to different phylogenetic lineages.

Key words: *Thymallus*, cytochrome *b*, Bayesian analysis, phylogeny, grayling.

Введение

Хариусы являются специфической группой рыб, обитающей в быстро текущих водах речных систем бореальной зоны. Зона их обитания в речном бассейне располагается от периферической части верховьев рек и ручьев до нижней части реки. Это типичная стенобионтная группа рыб, которая не способна обитать в слабопроточных и солоноватых водах и мигрировать морем в соседние речные бассейны. В последнее время изучение хариусов направлено на исследование их таксономии и реконструкции исторических путей миграции предковых форм.

В настоящее время существует множество работ, посвященных как морфологической изменчивости, так и систематике и филогении хариусов, основанных на генетических данных (Lynch, Vyse, 1979; Макоедов, 1982; Скурихина, 1984; Шубин, Захаров, 1984; Ломов, Скурихина, 1985; Скурихина и др., 1985, 1986; Нор, Gharrett, 1989; Bouvet et al., 1990; Шубин и др., 1999, 2000; Redenbach, Taylor, 1999; Susnik et al., 1999, 2001; Knizhin et al., 2000; Koskinen et al., 2000, 2002; Gross et al., 2001; Weiss et al., 2002, 2006, 2007; Книжин и др., 2004, 2008; Stamford, Taylor, 2004; Gum et al., 2005; Gum, 2006). В этих работах обсуждаются проблемы, касающиеся таксономии некоторых форм хариусов, их распространения и биогеографии. Одним из спорных вопросов систематики хариусов является таксономический статус дальневосточных форм, *Thymallus tugarinae* и *T. grubii* (включая оба подвида, верхнеамурский, *T. g. grubii* и желтопятнистый, *T. g. flavomaculatus*), обитающих в р. Амур, а также в некоторых реках, впадающих в Японское и Охотское моря. Ряд авторов считают амурских хариусов единым полифилетичным видом с множеством морфологических вариантов (Зиновьев, 2005). В одной из последних работ (Froufe et al., 2005), посвященной реконструкции филогенетических связей между всеми описанными видами хариусов, показаны отличия амурских видов рода *Thymallus* как друг от друга, так и относительно двух других линий происхождения хариусов (*T. thymallus* и остальных видов рода *Thymallus*). Однако выявленные различия между амурскими видами не поддержаны статистически, что не дает полных оснований считать их разными видами.

Для решения данной проблемы нами были реконструированы филогенетические связи двух представителей рода *Thymallus*: *T. tugarinae* и *T. g. flavomaculatus*. В качестве молекулярного маркера использованы нуклеотидные последовательности гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК. Данный молекулярный маркер широко используется для оценки внутри- и межвидовой изменчивости позвоночных животных и реконструкции их филогении (Susnik et al., 2001; Doiron et al., 2002; Абрамсон, 2007; Челомина и др., 2007; Челомина, Атопкин, 2010).

Материалы и методы

В настоящей работе получены нуклеотидные последовательности гена цитохрома *b* мтДНК двух видов хариусов, обитающих на Дальнем Востоке России: *Thymallus tugarinae* ($n = 13$) и *T. grubii flavomaculatus* ($n = 14$). Также для анализа были использованы данные из международного генного банка (NCBI) для видов *T. arcticus* и *T. thymallus* (табл. 1).

Таблица 1

Географическое положение популяций хариусов и соответствующие им
и внешней группе рыб номера в генном банке NCBI

Table 1

Geographic distribution of grayling populations included in the analysis.
Numbers correspond to NCBI GenBank sequence records

Популяция, вид	Бассейн	Координаты	п	Идентификац. номер в генном банке NCBI
Р. Лангры <i>Thymallus tugarinae</i>	Лангры → Татарский пролив → Тихий океан	52°78' с.ш. 142°60' в.д.	13	FR851931–FR851943
Р. Самарга <i>Thymallus grubii flavomaculatus</i>	Самарга → Японское море → Тихий океан	47°78' с.ш. 138°29' в.д.	14	FR851944–FR851957
Рыбоводный завод Рауталампи <i>Thymallus thymallus</i>	г. Турку → Балтийское море → Атлантический океан	60°47' с.ш. 22°27' в.д.	1	FJ853655
Юкон <i>Thymallus arcticus</i>	г. Уайтхорс → Юкон → Берингово море → Тихий океан	60°71' с.ш. 135°06' в.д.	1	FJ872559
<i>Thymallus arcticus</i>	Unpublished		1	GQ452036
<i>Oncorhynchus masou</i>			1	AF125210
<i>Salvelinus alpinus</i>			1	AF154851
<i>Coregonus baunti</i>			1	FJ589213
<i>Coregonus chadary</i>			1	FJ589214
<i>Osmerus mordax dentex</i>			1	HQ115272
<i>Clupea harengus</i>			1	EU552606
<i>Engraulis encrasicolus</i>			1	EU552563

Для молекулярно-генетического анализа использовали фрагменты сердца или туловищной мускулатуры рыб, собранных в реках Лангры (о. Сахалин) и Самарга (Приморский край) (табл. 1). Экстракцию ДНК проводили с помощью набора Genomic DNA Purification Kit фирмы Fermentas по прилагаемому протоколу. Ген цитохрома *b* был амплифицирован методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием прямого FishcytB-F (5'-ACC ACC GTT GTT ATT CAA CTA CAA GAA C-3') и обратного THR-Fish2-R (5'-AAC CTC CGA CAT CCG GCT TAC AAG ACC G-3') праймеров (Sevilla et al., 2007). Амплификацию проводили на приборе C1000, Bio-Rad в 25 мкл реакционной смеси, включающей 2,5 мкл 10-кратного буфера для Tag-полимеразы, 2,5 мкл 50 mM раствора MgCl₂, 2,5 мкл 2,5 mM раствора праймера, 20–50 нг ДНК, 0,3 мкл Tag-полимеразы 5000 ед./мл и 10,5 мкл дистиллированной деионизированной воды. ПЦР-реакцию осуществляли в следующих условиях: первичная денатурация — 3 мин/94 °С, 35 циклов, включающих денатурацию — 30 с/94 °С, отжиг праймера — 30 с/57 °С, элонгацию — 1,5 мин/72 °С. Программа завершалась дополнительной элонгацией — 5 мин/68 °С с последующим охлаждением до 4 °С. Количество ДНК и продуктов ПЦР определяли методом электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием с последующей визуализацией в УФ-свете (312 нм).

Реакцию секвенирования проводили в 10 мкл смеси, содержащей 0,5 mM праймера, 10–100 нг ПЦР-продукта и 1,5 мкл BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit V.3.1. Реакцию осуществляли в соответствии с протоколом к BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit. Продукты сиквенсовой реакции считывали на генетическом анализаторе ABI 3130xl на базе научной лаборатории кафедры клеточной биологии и генетики ДВФУ.

Сборку и выравнивание последовательностей проводили посредством программного модуля CLUSTAL-W, интегрированного в пакет MEGA 4.0 (Kumar et

al., 2004). Выбор оптимальной модели для расчета генетических дистанций осуществляли с помощью программы Modeltest v. 3.7 (Posada, Crandall, 1998). В качестве оптимальной была выбрана модель GTR (Tavaré, 1986). Реконструкцию филогенетических связей осуществляли с помощью пакета PAUP 4b10 (Swofford, 2003). Филогенетические связи реконструировали с помощью методов ближайшего соседа (Neighbor-Joining, NJ), максимальной парсимонии (Maximum Parsimony, MP), максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) и байесового моделирования (Bayesian Analysis, BA).

Результаты и их обсуждение

Аmplифицированный участок гена цитохрома *b* мтДНК составил примерно 1100 пар нуклеотидов (пн). После сборки и выравнивания доступная длина исследуемого фрагмента гена составила 1017 пн. У *Thymallus tugarinae* количество переменных сайтов составило 7, а парсимоний-информативных — 4. Аналогичные показатели для вида *Thymallus grubii flavomaculatus* составили 9 и 5 сайтов. Количество переменных и парсимоний-информативных сайтов исследуемого участка гена цитохрома *b* в объединенной выборке хариусов, включающей оба вида, значительно увеличилось — соответственно 86 и 80.

Нуклеотидный состав исследуемого участка гена цитохрома *b* мтДНК у разных видов хариусов практически не различался, составляя в среднем 29,8 %, 28,9, 25,3 и 16,0 % соответственно для А, Т, С и G-азотистых оснований. Нуклеотидный состав полученных последовательностей по первой, второй и третьей позиции кодонов в целом у различных видов хариусов был сходным. Частоты всех азотистых оснований в первой позиции кодона были примерно равными, вторая позиция характеризовалась повышенным содержанием тимина (40,9 %), в третьей позиции кодона преобладали цитозин и аденин (соответственно 35,5 и 33,6 %). Кроме того, в третьей позиции кодона отмечалось низкое содержание гуанина (6,8 %). Количество гуанина в этой позиции было наиболее изменчивым у разных видов рода *Thymallus* и изменялось в пределах 5,5–8,2 %. Такое соотношение содержания нуклеотидов типично как для хариусовых (Yasuike et al., 2010), так и для лососевых рыб (Doiron et al., 2002).

Также исследованные участки гена цитохрома *b* у разных видов хариусов различались по частоте использования кодонов. В ряде случаев наблюдались фиксированные различия в кодировании аминокислот. Например, триплеты CAG, GAG и UGG, кодирующие соответственно глютамин, глютаминовую кислоту и триптофан, были обнаружены у *T. tugarinae*, но отсутствовали у *T. g. flavomaculatus* (табл. 2).

Генетическая дивергенция между последовательностями гена цитохрома *b* мтДНК *T. tugarinae* и *T. g. flavomaculatus* составила 7,7 %, что соответствовало межвидовым значениям дивергенции для данной группы рыб. При сравнении этих видов с европейским и сибирским видами хариусов уровень дивергенции снижался незначительно ($d = 7,2\text{--}7,5\%$) (табл. 3).

Филогенетические связи исследованных видов хариусов были реконструированы по данным последовательностей участка гена цитохрома *b* длиной 1017 пн, включая данные генного банка. В качестве внешней группы были использованы последовательности участка гена цитохрома *b* из генного банка разных видов рыб (см. табл. 1).

Известно, что последовательности гена цитохрома *b* мтДНК при попарном сравнении у большинства видов животных характеризуются насыщением третьей позиции кодона и заменами типа транзиций (замены однотипных оснований), что создает так называемый филогенетический шум и искажает реальную картину филогенетических связей (Michaux et al., 2002; Абрамсон, 2007). Поэтому мы провели анализ полученных последовательностей гена цитохрома *b* на

Таблица 2

Частоты кодонов (%) гена цитохром *b* в мтДНК двух видов хариусов

Table 2

Codon frequencies (%) of the gene cytochrome *b* from two species of graylings

Кодон	Оба вида	<i>Thymallus tugarinae</i>	<i>Thymallus grubii flavomaculatus</i>	Кодон	Оба вида	<i>Thymallus tugarinae</i>	<i>Thymallus grubii flavomaculatus</i>
UUU(F)	11,5	12,0	11,0	UAU(Y)	4,6	5,0	4,2
UUC(F)	17,6	17,0	18,1	UAC(Y)	9,4	9,0	9,8
UUA(L)	4,6	3,0	6,0	UAA(*)	0,0	0,0	0,0
UUG(L)	2,8	2,6	3,0	UAG(*)	0,0	0,0	0,0
CUU(L)	10,5	11,0	10,0	CAU(H)	1,0	1,0	1,0
CUC(L)	6,0	6,0	6,0	CAC(H)	10,0	10,0	10,0
CUA(L)	23,6	22,0	25,0	CAA(Q)	5,2	4,4	5,9
CUG(L)	3,4	6,0	1,0	CAG(Q)	0,8	1,6	0,0
AUU(I)	12,6	11,0	14,0	AAU(N)	5,0	5,0	5,0
AUC(I)	13,9	14,9	13,0	AAC(N)	8,0	8,0	8,0
AUA(I)	7,0	8,1	6,0	AAA(K)	6,0	6,0	6,0
AUG(M)	2,0	1,0	3,0	AAG(K)	1,0	1,0	1,0
GUU(V)	6,4	6,0	6,9	GAU(D)	5,5	5,0	6,0
GUC(V)	5,0	5,0	5,0	GAC(D)	3,6	4,2	3,0
GUA(V)	10,0	10,0	10,0	GAA(E)	4,5	3,9	5,0
GUG(V)	2,0	3,0	1,0	GAG(E)	0,5	1,0	0,0
UCU(S)	6,4	7,0	5,9	UGU(C)	0,0	0,0	0,0
UCC(S)	5,0	5,0	5,0	UGC(C)	4,0	4,0	4,0
UCA(S)	5,5	6,0	5,0	UGA(*)	9,5	9,0	10,0
UCG(S)	1,2	0,4	2,0	UGG(W)	0,5	1,0	0,0
CCU(P)	5,4	3,8	9,0	CGU(R)	0,0	0,0	0,0
CCC(P)	5,6	6,2	5,0	CGC(R)	1,0	1,0	1,0
CCA(P)	6,3	7,0	5,6	CGA(R)	5,9	6,0	5,7
CCG(P)	0,7	1,0	0,4	CGG(R)	0,1	0,0	0,3
ACU(T)	2,6	2,0	3,1	AGU(S)	1,0	1,0	1,0
ACC(T)	10,0	11,0	9,0	AGC(S)	0,0	0,0	0,0
ACA(T)	8,9	7,7	10,0	AGA(R)	0,0	0,0	0,0
ACG(T)	0,6	1,3	0,0	AGG(R)	0,0	0,0	0,0
GCU(A)	6,4	8,0	4,9	GGU(G)	2,6	2,0	3,1
GCC(A)	16,5	16,0	17,0	GGC(G)	5,0	4,9	5,0
GCA(A)	6,0	5,0	7,0	GGA(G)	11,0	11,0	11,1
GCG(A)	1,0	1,0	1,0	GGG(G)	6,4	7,0	5,9

Таблица 3

Значения *p*-расстояний между разными видами хариусов, %

Table 3

The *p*-distances between certain species of graylings, %

Вид	1	2	3
1. <i>Thymallus tugarinae</i>	—	—	—
2. <i>Thymallus grubii flavomaculatus</i>	7,7	—	—
3. <i>Thymallus thymallus</i>	7,7	7,5	—
4. <i>Thymallus arcticus</i>	7,6	7,2	6,0

насыщение транзициями в третьей позиции кодона на разных таксономических уровнях. В результате обнаружено, что насыщение наступает при попарном сравнении таксонов высокого ранга (например, при сравнении разных семейств), на уровне дивергенции последовательностей 25 % (рис. 1). Поскольку величина дивергенции между исследованными нами видами меньше, для филогенетического анализа мы учитывали все типы замен по всем позициям кодонов.

Филогенетические реконструкции для четырех исследованных видов в целом имели сходную топологию деревьев при использовании разных методов и демонстрировали высокую степень различий между разными видами хариусов. На всех реконструкциях сформировалось четыре кластера, соответствующих четырем видам хариусов. На филогенетическом древе, реконструированном с

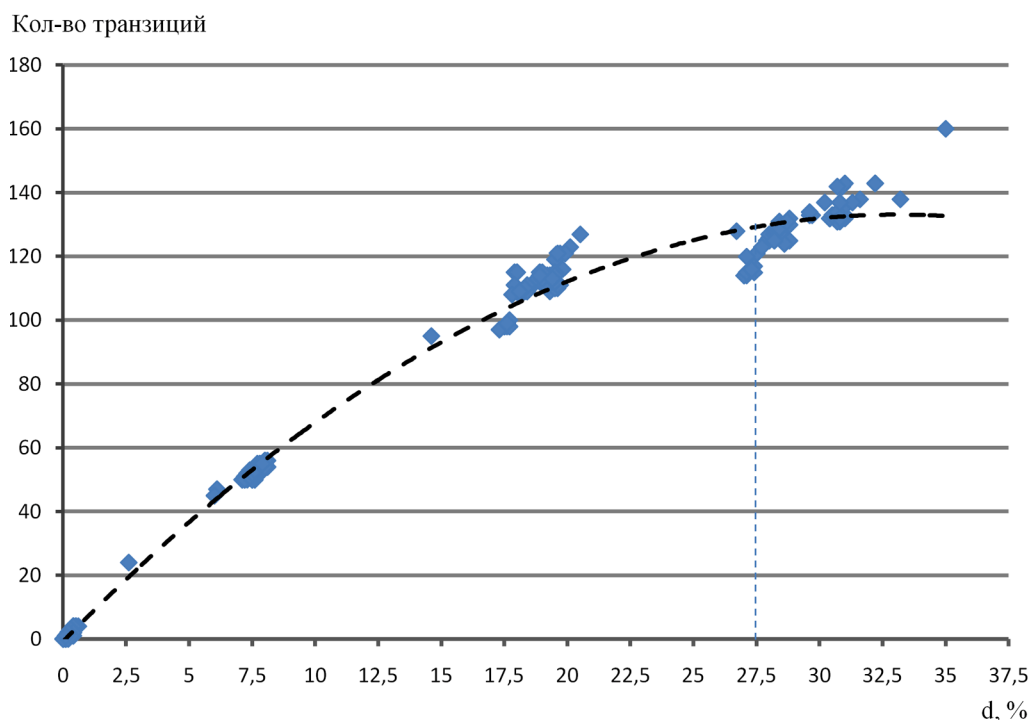


Рис. 1. Результаты анализа последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК рыб на насыщение транзициями

Fig. 1. Effect of transition mutations on sequences of cytochrome *b* mitochondrial gene

помощью алгоритма максимального правдоподобия, сестринскими по отношению друг к другу оказались виды *T. tugarinae* и *T. g. flavomaculatus* с достаточной бутстреп-поддержкой (74 %). *T. arcticus* оказался наиболее близким к группе *T. tugarinae* / *T. g. flavomaculatus*, а *T. thymallus* формировал отдельную базальную ветвь. Аналогичная топология была получена с помощью байесового моделирования (рис. 2). Вероятностная поддержка группы *T. tugarinae* / *T. g. flavomaculatus* при этом была выше (86 %).

Методом максимальной парсимонии было получено одно древо длиной 1031 шаг, характеризующееся следующими значениями основных индексов: CI = 0,64, RI = 0,80, RC = 0,52 и HI = 0,41 (рис. 3). Топология полученного древа также выявила наличие четырех видовых кластеров. Однако, в отличие от топологии ML, в данном случае *T. g. flavomaculatus* не имел общего узла с *T. tugarinae* и формировал отдельную ветвь. Виды *T. arcticus* и *T. thymallus* также формировали две независимые ветви, причем базальным оказался *T. arcticus*. Сходная с МР топология была получена методом ближайшего связывания, однако, в отличие от МР, здесь виды *T. arcticus* и *T. thymallus* были сестринскими по отношению друг к другу и формировали базальную ветвь.

Полученные результаты свидетельствуют о значительной дивергенции хариусов *T. tugarinae* и *T. g. flavomaculatus* Дальнего Востока России, сопоставимой с межвидовым уровнем. Это выражается как в высоком уровне дивергенции, так и в наличии фиксированных аминокислотных замен при попарном сравнении последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК разных видов друг с другом.

В работе Фруфе с соавторами (Froufe et al., 2005) на основании совместного анализа контролирующего региона и гена АТФ6 мтДНК показана взаимосвязь всех известных в настоящее время видов и подвидов хариусов. По данным этих авторов, существует четыре основные филетические линии хариусов, которые дивергировали приблизительно одновременно и впоследствии их эволюция протекала изолированно, в промежутке 1,6–4,8 млн лет назад. В частности, по этим

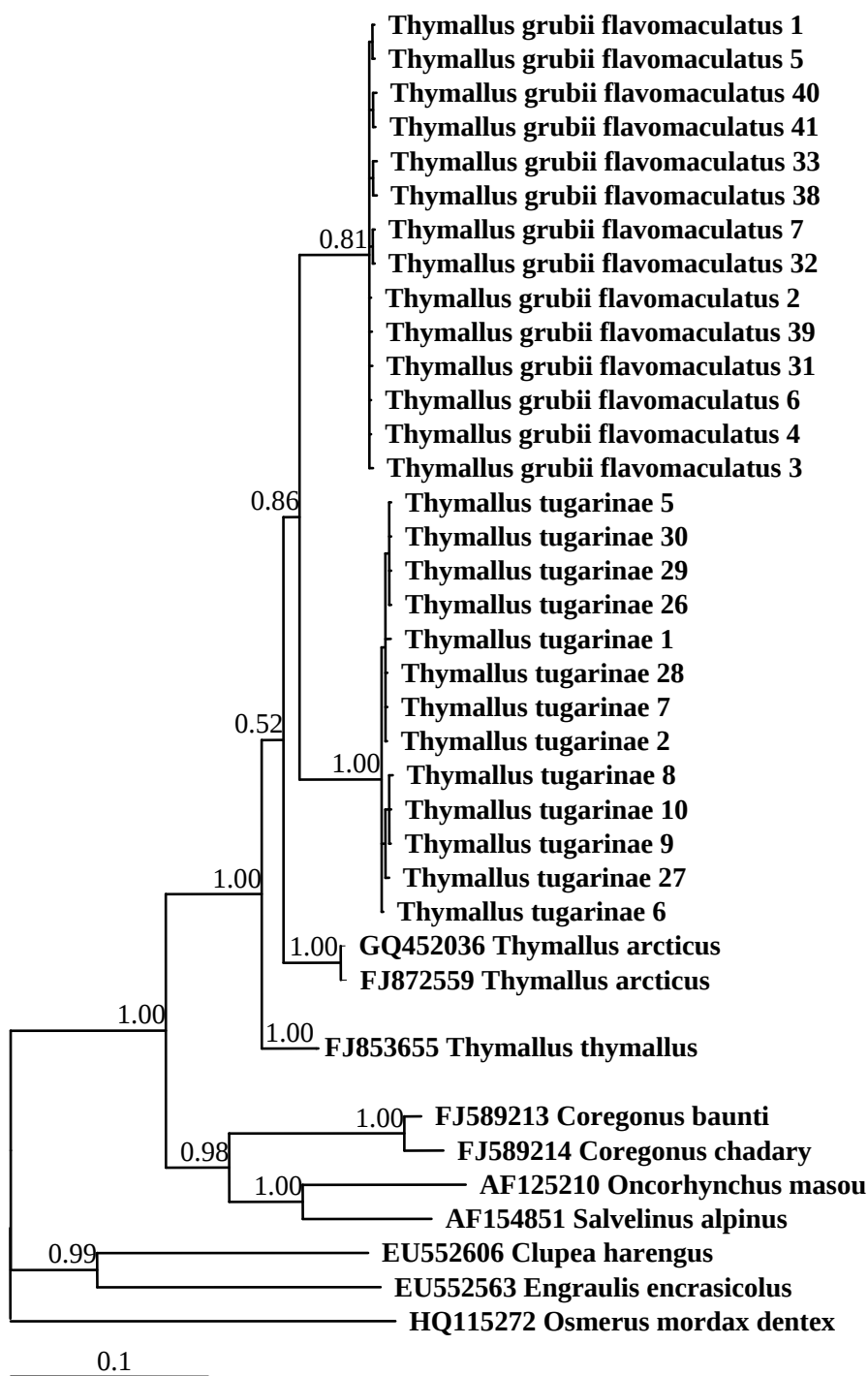


Рис. 2. Филогенетическое древо, реконструированное по данным секвенирования гена цитохрома *b* мтДНК с помощью байесового моделирования (БА)

Fig. 2. Bayesian tree restored from the data on cytochrome *b* mitochondrial gene sequences

данным дальневосточные виды *T. grubii* и *T. tugarinae* были сестринскими по отношению друг к другу, однако эта связь имела низкую бутстреп-поддержку (менее 50 %). Между тем известно, что достоверно установленными узлами считают те, для которых значение бутстреп-анализа превышает 70, а лучше — 90 (Лукашов, 2009).

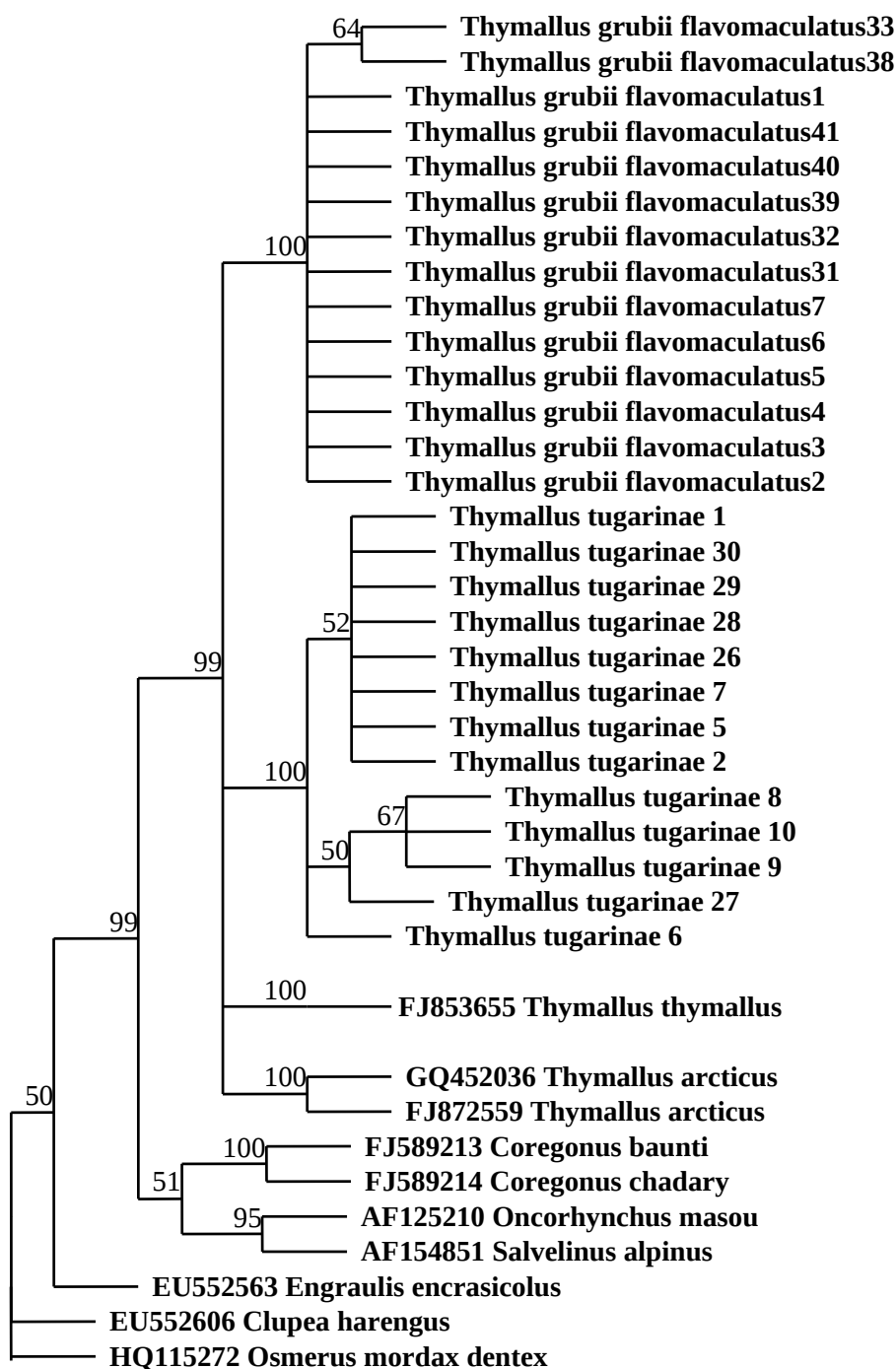


Рис. 3. Филогенетическое дерево, реконструированное по данным секвенирования гена цитохрома *b* мтДНК с помощью метода максимальной парсимонии (МР)

Fig. 3. Maximum parsimony tree restored from the data on cytochrome *b* mitochondrial gene sequences

Филогенетические связи, реконструированные нами с помощью МР и ВА-методов, наиболее полно соответствовали данным, полученным ранее на основе совместного анализа последовательностей контрольной области (D-петли) и гена АТФ6 мтДНК (Froufe et al., 2005). В нашей работе поддержка филогенетических связей дальневосточных видов хариусов составила 86 % при использовании байесового моделирования, что статистически подтверждает точку зрения Froufe с

соавторами (2005). Топология филогенетических реконструкций, полученная методами максимальной парсимонии и ближайшего связывания, предполагала независимую эволюционную историю *T. g. flavomaculatus* и *T. tugarinae* с бутстрэп-поддержкой 99 % (рис. 3). Уровень генетической дивергенции кластеров, включающих *T. g. flavomaculatus* и *T. tugarinae*, по данным Фруфе с соавторами (2005) составлял 4,8 и 5,3 % (соответственно по данным секвенирования участков гена АТФ6 и D-петли), что превышало значения дивергенции между другими кластерами в 2–3 раза. По нашим данным, значение *p*-расстояний между *T. g. flavomaculatus* и *T. tugarinae*, также включенными в разные кластеры, незначительно превышало уровень дивергенции, выявленный при сравнении последовательностей этих двух видов с европейским и сибирским хариусами (см. табл. 3). Согласно мнению Е.А. Зиновьева (2005), основанному на морфологических данных других авторов, нет четких диагностических признаков, различающих амурские виды хариусов (*T. g. flavomaculatus*, *T. g. grubii*, *T. tugarinae* и *T. burejensis*), а вариации их морфотипа находятся на внутривидовом уровне. На основании собственных и литературных генетических данных считаем, что дивергенция между амурскими видами хариусов находится на уровне, сопоставимом с видами, различающимися по морфологическим признакам (например, *T. thymallus* и *T. arcticus complex*). Значение *p*-расстояния, равное 7,7 % (табл. 3), несомненно, указывает на их видовую самостоятельность.

Результаты филогенетического анализа по данным секвенирования гена цитохрома *b* мтДНК согласуются с данными Фруфе с соавторами (2005) о существовании четырех основных филогенетических линий хариусов. При этом дивергенция *T. g. flavomaculatus* и *T. tugarinae*, возможно, произошла несколько позже относительно представителей остальных филогенетических линий. Для решения данной проблемы необходимо применение молекулярных маркеров ядерной ДНК, что является предметом нашего дальнейшего исследования.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг., Государственный контракт П273 от 29 апреля 2010 г.

Список литературы

- Абрамсон Н.И.** Филогеография: итоги, проблемы, перспективы // Вестн. ВОГиС. — 2007. — Т. 11, № 2. — С. 307–331.
- Зиновьев Е.А.** Экотипы у хариусовых рыб (Thymallidae Salmoniformes) // Экология. — 2005. — № 5. — С. 385–389.
- Книжин И.Б., Вайс С.Дж., Антонов А.Л., Фруфе Э.** Морфологическое и генетическое разнообразие амурских хариусов (*Thymallus*, Thymallidae) // Вопр. ихтиол. — 2004. — Т. 44, вып. 1. — С. 59–76.
- Книжин И.Б., Вайс С.Дж., Богданов Б.Э. и др.** Хариусы (Thymallidae) водоемов Западной Монголии: морфологическое и генетическое разнообразие // Вопр. ихтиол. — 2008. — Т. 48, вып. 6. — С. 745–766.
- Ломов А.А., Скурихина Л.А.** Организация генома обыкновенного хариуса (*Thymallus thymallus*) // Науч. докл. высш. шк. Биол. науки. — 1985. — Т. 6. — С. 22–26.
- Лукашов В.В.** Молекулярная эволюция и филогенетический анализ : монография. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. — 256 с.
- Макоедов А.Н.** Хромосомный полиморфизм восточносибирского хариуса и некоторые вопросы эволюции кариотипа в подсемействе хариусовых // Цитология и генетика. — 1982. — Вып. 5. — С. 53–56.
- Скурихина Л.А.** Генетическая дивергенция хариусов (род *Thymallus* Cuvier, 1829) Евразии в свете данных молекулярной гибридизации ДНК х ДНК : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М. : МГУ, 1984. — 23 с.
- Скурихина Л.А., Медников Б.М., Тугарина П.Я.** Генетическая дивергенция хариусов (*Thymallus*) Евразии и «сети видов» // Зоол. журн. — 1985. — Т. 64, вып. 2. — С. 245–251.

Скурихина Л.А., Тугарина П.Я., Медников Б.М. К положению в системе Thymallidae (Salmoniformes) в свете данных молекулярной гибридизации ДНКхДНК // Вопр. ихтиол. — 1986. — Т. 26, вып. 1. — С. 56–60.

Челомина Г.Н., Атопкин Д.М. Молекулярно-генетические свидетельства глубокого филогенетического разрыва между европейской и азиатской расами малой лесной рыбы по данным изменчивости гена цитохрома *b* мтДНК // Молекулярная биология. — 2010. — Т. 44, № 5. — С. 792–803.

Челомина Г.Н., Атопкин Д.М., Богданов А.С. Филогенетические связи видов и внутривидовых форм лесных рыб рода *Sulvaemus* по данным частичного секвенирования гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК // Докл. РАН. — 2007. — Т. 416, № 2. — С. 282–285.

Шубин П.Н., Ефимцева Э.А., Челпанова Т.И., Шубин Ю.П. Аллозимная изменчивость лососевидных рыб европейского севера : монография. — Сыктывкар : Коми науч. центр УрО РАН, 2000. — 100 с.

Шубин П.Н., Захаров А.Б. Гибридизация европейского *Thymallus thymallus* (L.) и сибирского *Thymallus arcticus* (Pallas) хариусов (Thymallidae) в зоне вторичного контакта видов // Вопр. ихтиол. — 1984. — Т. 24, вып. 3. — С. 502–504.

Шубин П.Н., Захаров А.Б., Шубин Ю.П. Генетическая изменчивость супероксиддисмутазы в популяциях сибирского (*Thymallus arcticus* Pall.) и европейского (*Thymallus thymallus* L.) хариуса // Генетика. — 1999. — Т. 35, № 3. — С. 405–408.

Bouvet Y., Soewardi K., Patte E. Genetic divergence within natural population of grayling (*Thymallus thymallus*) from two French river systems // Arch. Hydrobiol. — 1990. — Bd 119, H. 1. — P. 89–101.

Doiron S., Blier P.U., Bernatchez L. A comparative mitogenomic analysis of the potential adaptive value of Arctic charr mtDNA introgression in brook charr populations (*Salvelinus fontinalis* Mitchell) // Mol. Biol. Evol. — 2002. — Vol. 19. — P. 1902–1909.

Froufe E., Knizhin I., Weiss S. Phylogenetic analysis of the genus *Thymallus* (grayling) based on mtDNA control region and ATPase 6 genes, with inferences on control region constraints and broad-scale Eurasian phylogeography // Mol. Phylog. Evol. — 2005. — Vol. 34. — P. 106–117.

Gross R., Kühn R., Baars R. et al. Genetic differentiation of European grayling populations across the Main, Danube and Elbe drainages in Bavaria // J. Fish. Biol. — 2001. — Vol. 58. — P. 264–280.

Gum B. Genetic characterization of European grayling populations (*Thymallus thymallus* L.): Implications for conservation and management : Dissertation. — Tech. Univ. München, 2006. — 175 p.

Gum B., Gross R., Kuehn R. Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of European grayling (*Thymallus thymallus*): evidence for secondary contact zones in central Europe // Mol. Ecol. — 2005. — V. 14. — P. 1707–1725.

Hop H., Gharrett A.J. Genetic relationships of Arctic grayling in the Koyukuk and Tanana Rivers, Alaska // Trans. Amer. Fish. Soc. — 1989. — Vol. 118. — P. 290–295.

Knizhin I.B., Weiss S.J., Kirilchik S.V. mtDNA sequence diversity across the genus *Thymallus* both within and surrounding the Lake Baikal basin // Biodiversity and Dynamics of Ecosystems in North Eurasia. — 2000. — Vol. 5. — P. 180–182.

Koskinen M.T., Knizhin I., Primmer C.R. et al. Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of *Thymallus* spp. (grayling) provides evidence of ice-age mediated environmental perturbations in the world's oldest body of freshwater, Lake Baikal // Mol. Ecol. — 2002. — Vol. 11. — P. 2599–2611.

Koskinen M.T., Ranta E., Piironen J. et al. Genetic lineages and postglacial colonization of grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae) in Europe, as revealed by mitochondrial DNA analyses // Mol. Ecol. — 2000. — Vol. 9. — P. 1609–1624.

Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA 3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment // Brief. in Bioinformatics. — 2004. — Vol. 5, № 2. — P. 150–163.

Lynch J.C., Vyse E.R. Genetic variability and divergence in grayling, *Thymallus arcticus* // Genetics. — 1979. — Vol. 92. — P. 263–278.

Michaux J.R., Chevret P., Filipucci M.-G., Macholan M. Phylogeny of the genus *Apodemus* with a special emphasis on the subgenus *Sulvaemus* using the nuclear IRBP gene and two mitochondrial markers: cytochrome *b* and 12S rRNA // Mol. Phylog. Evol. — 2002. — Vol. 23. — P. 123–136.

- Posada D., Crandall K.A.** Modeltest: testing the model of DNA substitution // Bioinformatic. — 1998. — Vol. 14, № 9. — P. 817–818.
- Redenbach Z., Taylor E.B.** Zoogeographical implications of variation in mitochondrial DNA of Arctic grayling (*Thymallus arcticus*) // Mol. Ecol. — 1999. — Vol. 8. — P. 23–25.
- Sevilla R.G., Diez A., Norén M. et al.** Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial cytochrome b and nuclear rhodopsin genes // Molecular Ecology Notes. — 2007. — Vol. 7. — P. 730–734.
- Stamford M.D., Taylor E.B.** Phylogeographical lineages of Arctic grayling (*Thymallus arcticus*) in North America: divergence, origins and affinities with Eurasian Thymallus // Mol. Ecol. — 2004. — Vol. 13. — P. 1533–1549.
- Susnik S., Snoj A., Dovč P.** Evolutionary distinctness of grayling (*Thymallus thymallus*) inhabiting the Adriatic river system, as based on mtDNA variation // Biol. J. Linn. Soc. — 2001. — Vol. 74. — P. 375–385.
- Susnik S., Snoj A., Dovč P.** Microsatellites in grayling (*Thymallus thymallus*): Comparison of two geographically remote populations from the Danubian and Adriatic river basin in Slovenia // Mol. Ecol. — 1999. — Vol. 8. — P. 1753–1768.
- Swofford D.L.** PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. — Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 2003.
- Tavaré S.** Some probabilistic and statistical problems on the analysis of DNA sequences // Lect. Math. Life Sci. — 1986. — Vol. 17. — P. 57–86.
- Weiss S., Knizhin I., Kirillov A., Froufe E.** Phenotypic and genetic differentiation of two major phylogeographic lineages of arctic grayling *Thymallus arcticus* in the Lena River, and surrounding Arctic drainages // Biol. J. Linn. Soc. — 2006. — Vol. 88. — P. 511–525.
- Weiss S., Knizhin I., Romanov V., Kopun T.** Secondary contact between two divergent lineages of grayling *Thymallus* in the lower Enisey basin and its taxonomic implications // J. Fish. Biol. — 2007. — Vol. 71, Supl. C. — P. 371–386.
- Weiss S., Persat H., Eppe R. et al.** Complex patterns of colonization and refugia revealed for European grayling *Thymallus thymallus*, based on complete sequencing of the mitochondrial DNA control region // Mol. Ecol. — 2002. — Vol. 11. — P. 1393–1407.
- Yasuike M., Jantzen S., Cooper G.A. et al.** Grayling (Thymallinae) phylogeny within salmonids: complete mitochondrial DNA sequences of *Thymallus arcticus* and *Thymallus thymallus* // J. Fish. Biol. — 2010. — Vol. 76. — P. 395–400.

Поступила в редакцию 2.11.11 г.