

SHORT COMMUNICATIONS

Phylogeny of Salmonids (Salmoniformes: Salmonidae) and its Molecular Dating: Analysis of Nuclear *RAG1* Gene

S. V. Shedko, I. L. Miroshnichenko, and G. A. Nemkova

Institute of Biology and Soil Science, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022, Russia

e-mail: shedko@biosoil.ru

Received November 3, 2011

Abstract—The phylogenetic relationships among 26 species of salmonid fishes (family Salmonidae) were studied using the *RAG1* gene as phylogenetic marker. No unambiguous relationships between thymallins, coregonins, and salmonins it was possible to establish. It seems likely, that divergence of these lineages took place during rather short time interval (about 3 to 4 million years). The thymallins are thought to be the first separated lineage. The genera of the subfamily Salmoninae form two distinct monophyletic groups, represented by (1) *Brachymystax* and *Hucho* and (2) *Salmo*, *Parahucho*, *Salvelinus*, *Parasalmo* and *Oncorhynchus*. Ancestral forms of these two evolutionary lineages could diverge at the Oligocene–Miocene boundary (about 24 million years ago). It is suggested that diversification of the main lineages within the second group was rather rapid, and took place in middle Miocene (about 19–16 million years ago). Moreover, the lineages of *Salvelinus*, *Parasalmo* and *Oncorhynchus* were the latest to diverge. It seems likely that divergence of the *Prosopium* and *Coregonus* ancestral lineages occurred during the same time interval.

DOI: 10.1134/S1022795412050201

Salmonid fishes (family Salmonidae) are used as a model group in studies in evolutionary biology, genomics, and other fields of modern biology [1, 2]. It is evident that the existence of well-grounded phylogenetic scheme is the requirement for proper design of comparative studies and interpretation of their results. Despite of the recent progress in understanding of the phylogenetic relationships within salmonids, some basic issues still remain unresolved. First, the divergence order of three main lineages of Salmonidae, thymallins (subfamily Thymallinae), coregonins (Coregoninae), and salmonins (Salmoninae) is unclear. Second, there is no consensus on phylogenetic relationships of the main lineages within Salmoninae: *Hucho* and *Brachymystax*; *Parahucho*; *Salmo*; *Salvelinus*; *Parasalmo* and *Oncorhynchus*.

In the present study, these issues are examined using a proven phylogenetic marker, single-copy nuclear gene *RAG1* (recombination activating gene 1) [3, 4], which was new for this fish group. As a result, quite acceptable phylogenetic scheme of Salmonidae was constructed. In addition, with some suppositions, molecular dating of this phylogenetic scheme was performed.

A total of 62 DNA samples were examined. The samples were extracted with the help of standard phenol–chloroform technique from muscle tissues of 26 salmonid species, including *Thymallus arcticus* (Katun River, $n = 1$), *Th. tugarinae* (Kievka River, $n = 2$), *Coregonus migratoris* (Baikal Lake, $n = 2$), *Hucho taimen* (Selenga River, $n = 2$), *Brachymystax lenok* (Markakol Lake, $n = 1$; Ingoda River, $n = 1$; Armu

River, $n = 1$), *B. tumensis* (Onon River, $n = 1$; Komisarovka River, $n = 1$; Anan'evka River, $n = 1$), *Salmo trutta* (Luga River, $n = 2$), *Parahucho perryi* (Kievka River, $n = 7$), *Salvelinus alpinus* (Luomus Lake, Finland; Kanes Laddu, Finland, $n = 3$; goggle-eyed char from Lama Lake, $n = 3$; davatchan from Frolikha Lake, $n = 3$; Kolyma River, $n = 2$), *S. leucomaensis* (Maksimovka River, $n = 2$), *S. levanidovi* (Yama River, $n = 1$), *S. elgyticus* (El'gygytgyn Lake, $n = 2$), *S. boganidae* (El'gygytgyn Lake, $n = 2$), *S. taranetzi* (Vykvynaivaam River, $n = 1$), *S. malma* (Kamchatka River, $n = 1$; Vilyuchinsky Brook, $n = 1$), *S. curilus* (Severny Bay, $n = 1$; Tym' River, $n = 1$; Rasshua Island, $n = 2$; Maksimovka River, $n = 1$), *Oncorhynchus masou* (Lyutoga River, $n = 1$; Serebryanka River, $n = 1$), *O. keta* (Narva River, $n = 1$; Kievka River, $n = 2$), as well as *O. gorbusha* ($n = 1$), *O. nerka* ($n = 2$), *O. kisutch* ($n = 1$), *O. tshawytscha* ($n = 1$), and *Parasalmo mykiss* ($n = 1$) from Kamchatka River.

The DNA fragment containing the larger part of the *RAG1* exon 2 was amplified with the help of polymerase chain reaction. The product obtained was purified and sequenced using the Big Dye Terminator 3.1 kit (Applied Biosystems, United States). The reaction products were fractionated using an ABI Prizm 3130 automated analyzer (Applied Biosystems, United States/Hitachi, Japan). All manipulations were carried out at the Institute of Biology and Soil Science, Russian Academy of Sciences, Russian Academy of Sciences, Vladivostok. Amplification and sequencing was performed using a set of primers described in [3], as well as personally designed primers

УДК 575.86:597.553.2

ФИЛОГЕНИЯ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ (Salmoniformes: Salmonidae) И ЕЕ МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДАТИРОВКА: АНАЛИЗ ЯДЕРНОГО ГЕНА *RAG1*

© 2012 г. С. В. Шедько, И. Л. Мирошниченко, Г. А. Немкова

Учреждение Российской академии наук Биолого-почвенный институт
Дальневосточного отделения, Владивосток 690022

e-mail: shedko@biosoil.ru

Поступила в редакцию 03.11.2011 г.

Исследованы филогенетические взаимоотношения 26 видов лососевых рыб (сем. Salmonidae) с использованием гена *RAG1* в качестве филогенетического маркера. Взаимоотношения хариусов, сига и лососей однозначно установить не удалось; дивергенция этих линий, по-видимому, произошла в сравнительно короткий (≈ 3 –4 млн. лет) промежуток времени. Первой, вероятно, обособилась линия хариусовых рыб. Роды подсемейства Salmoninae слагают две хорошо выраженные монофилетические группировки – (1) *Brachymystax* и *Hucho*, а также (2) *Salmo*, *Parahucho*, *Salvelinus*, *Parasalmo* и *Oncorhynchus*. Предковые формы этих двух эволюционных линий могли дивергировать на границе олигоцена и миоцена (≈ 24 млн. лет назад). Диверсификация основных линий внутри второй группировки происходила, по всей видимости, сравнительно быстро в среднем миоцене (≈ 19 –16 млн. лет назад). При этом линии *Salvelinus* и *Parasalmo* вместе с *Oncorhynchus* разделились в последнюю очередь. Вероятно, в этот же период времени разошлись предковые линии родов *Prosopium* и *Coregonus*.

Лососевые рыбы (сем. Salmonidae) – модельная группа для изучения ряда актуальных проблем эволюционной биологии, геномики и других разделов современной биологии [1, 2]. Очевидно, что наличие обоснованной филогенетической схемы является необходимым условием для корректного планирования сравнительных исследований и интерпретации их результатов. Несмотря на достигнутый в последнее время прогресс в понимании филогенетических связей внутри Salmonidae, некоторые принципиальные вопросы все еще остаются нерешенными. Во-первых, не ясен порядок дивергенции трех главных линий Salmonidae – хариусовых (подсем. Thymallinae), сиговых (Coregoninae) и лососевых (Salmoninae) рыб. Во-вторых, нет единого мнения относительно филогенетических взаимоотношений основных линий внутри Salmoninae – *Hucho* и *Brachymystax*; *Parahucho*; *Salmo*; *Salvelinus*; *Parasalmo* и *Oncorhynchus*.

Настоящее исследование направлено на решение указанных вопросов при использовании проверенного и хорошо себя зарекомендовавшего [3, 4] филогенетического маркера, нового для данной группы рыб – однокопийного ядерного гена *RAG1* (гена активирующего рекомбинацию 1). В результате получена вполне приемлемая схема филогении Salmonidae, а также, с некоторыми допущениями, проведена ее молекулярная датировка.

В работе использовали 62 образца ДНК, полученных стандартной фенольно-хлороформной экстракцией из мышечных тканей 23 видов лососевых рыб: *Thymallus arcticus* (р. Катунь, $n = 1$), *Th. tugarinae* (р. Киевка, $n = 2$), *Coregonus migratorius* (оз. Байкал, $n = 2$), *Hucho taimen* (р. Селенга, $n = 2$), *Brachymystax lenok* (оз. Маркаколь, $n = 1$; р. Ингода, $n = 1$; р. Арму, $n = 1$), *B. tumensis* (р. Онон, $n = 1$; р. Комиссаровка, $n = 1$; р. Ананьевка, $n = 1$), *Salmo trutta* (р. Луга, $n = 2$), *Parahucho perryi* (р. Киевка, $n = 7$), *Salvelinus alpinus* (оз. Luomus, Финляндия, $n = 3$; Kanes Laddu, Финляндия, $n = 3$; “пучеглазка” из оз. Лама, $n = 3$; даватчан из оз. Фролиха, $n = 3$; р. Колыма, $n = 2$), *S. leucomaenis* (р. Максимовка, $n = 2$), *S. levanidovi* (р. Яма, $n = 1$), *S. elgyticus* (оз. Эльгыгытгын, $n = 2$), *S. boganidae* (оз. Эльгыгытгын, $n = 2$), *S. taranetzi* (р. Выквынайваам, $n = 1$), *S. malma* (р. Камчатка, $n = 1$; руч. Вилючинский, $n = 1$), *S. curilus* (зал. Северный, $n = 1$; р. Тымь, $n = 1$; о-в Расшуа, $n = 2$; р. Максимовка, $n = 1$), *Oncorhynchus masou* (р. Лютога, $n = 1$; р. Серебрянка, $n = 1$), *O. keta* (р. Нарва, $n = 1$; р. Киевка, $n = 2$), а также *O. gorbuscha* ($n = 1$), *O. nerka* ($n = 2$), *O. kisutch* ($n = 1$), *O. tschawytscha* ($n = 1$) и *Parasalmo mykiss* ($n = 1$) из р. Камчатка.

Фрагмент, включающий большую часть второго (3') экзона гена *RAG1*, амплифицировали методом полимеразной цепной реакции; полученный продукт очищали, секвенировали с помо-

щью набора Big Dye Terminator 3.1 (“Applied Biosystems”, США) и разгоняли продукты реакции на автоматическом анализаторе ABI Prizm 3130 (“Applied Biosystems”, США/“Hitachi”, Япония) на базе Биолого-почвенного института ДВО РАН (г. Владивосток). Для амплификации и секвенирования использовали набор праймеров из работы [3], а также праймеры, разработанные нами: F2817 – GAAGCACAGCCGTCTCATCCTG и F3269 – TGGACAARCAGCTGAGGAAGAAGA.

В результате у каждого из 62 исследованных образцов было секвенировано по 1524 пн фрагмента гена *RAG1*. Для большинства образцов смешанный сигнал в ABI-хроматограммах выявлен не был. Однако у 13 образцов обнаружено наложение пиков по 1–2 (в среднем – 1.6) различным нуклеотидным позициям. Такие особи рассматривались как гетерозиготные по исследованному участку гена *RAG1*. Всего у 62 образцов было выявлено 23 варианта гена *RAG1*, различавшихся недвусмысленными нуклеотидными замещениями. Как правило, каждый из 23 видов Salmonidae характеризовался одним–двумя уникальными вариантами. Исключение составили представители *B. lenok* и *B. tumensis*, неотличимые по исследованному участку гена *RAG1*, а также образцы *S. alpinus*, *S. taranetzi* и одна из двух особей *S. elgyticus*, имевших один и тот же вариант гена *RAG1*. Кроме последовательностей, полученных нами (депонированы в Genbank/NCBI под номерами GQ871466–GQ871494), в анализ были включены данные по гену *RAG1* из базы Genbank/NCBI для следующих видов рыб: *Thymallus thymallus* (AY430214), *Prosopium williamsoni* (AY430213), *Salmo salar* (DW577969, EG768285), а также *Salvelinus leucomaenis* (AY380535) с Курил и *P. mykiss* (NM_001124737) из Северной Америки и видов Esociformes, взятых в качестве внешних групп – *Esox lucius* (AY380542) и *Umbra krameri* (AY380547). Таким образом, для построения филогении лососевых рыб было использовано 30 вариантов последовательностей гена *RAG1*, представлявших 26 видов Salmonidae и 2 внешние группы.

Реконструкцию филогении Salmonidae осуществляли различными методами: 1) байесовским (BA) на основе модели нуклеотидных замещений GTR + G, отобранной программой Modeltest 3.7 [5]; 2) наибольшего правдоподобия (ML) при использовании той же эволюционной модели; 3) максимальной экономии (MP); 4) дистанционным – по алгоритму ближайшего соседства (NJ) на основе LogDet генетических дистанций.

Анализ Монте-Карло с использованием цепей Маркова (байесовский анализ филогении) выполняли с помощью программы MrBayes 3.2 [6] путем одновременного запуска шести цепей (пяти “горячих” и одной “холодной”) в течение $3 \times$

$\times 10^6$ циклов с отбором каждого пятисотого из генерированных деревьев и исключением первых 1001 из 6001 полученных деревьев (burnin = 1001).

Эвристический поиск наиболее правдоподобных или максимально экономных деревьев (ML- и MP-деревьев) проводили с помощью программы RAUP 4.0b10 [7] в 40 повторностях со случайным характером включения последовательностей в анализ и перестановками по TBR-алгоритму. Та же программа использовалась и для построения NJ-дерева. Устойчивость порядка ветвлений ML-, MP- и NJ-деревьев оценивалась методом бутстрэпа в 1000 повторных псевдослучайных выборках.

Вне зависимости от использованного метода итоговые филогенетические деревья оказались практически одними и теми же. Топология BA-, ML- и MP-деревьев была идентичной (рис. 1), а NJ-дерево отличалось от них в двух моментах – сестринским положением *Thymallus* и *Coregonus*, а также объединением в одну группировку *Parahucho*, *Salvelinus* и *Oncorhynchus*, но бутстрэп-поддержка этих альтернативных вариантов кластеризации оказалась низкой (<50%). Принципиальное сходство результатов, полученных с помощью различных методов филогенетической реконструкции, а также высокая статистическая поддержка большинства из выявленных клад позволяют рассматривать филогенетическое дерево на рис. 1 как обоснованное.

Важно, что тест молекулярных часов, основанный на отношении оценок правдоподобия [8], показал, что скорость эволюции нуклеотидных последовательностей гена *RAG1* в разных частях этого дерева относительно однородна. Различие между оценками правдоподобия, полученными для аддитивного и ультраметрического ML-деревьев, оказалось статистически не значимо – $2\Delta = 2(-4963.02 - (-4976.32)) = 26.6$, $P = 0.54$ при $d.f. = 28$ (без внешних групп – $2\Delta = 2(-3740.08 - (-3753.01)) = 25.9$, $P = 0.47$ при $d.f. = 26$). Это свойство позволило построить ультраметрическое дерево Salmonidae, что было реализовано в рамках байесовского подхода с помощью пакета программ BEAST 1.4.8 [9] при следующих условиях: модель молекулярных часов – строгие часы; модель нуклеотидных замещений – GTR + G; протяженность байесовского анализа – 3×10^6 циклов с отбором каждого тысячного из генерированных деревьев; burnin – 601; внешние группы из рассмотрения были исключены. Для привязки ультраметрического дерева к абсолютной шкале времени было использовано два калибровочных интервала. Первый был основан на многочисленных ископаемых остатках лососевых рыб, проявляющих продвинутые черты тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* (см.: [10], а также литературу из этой работы), и ограничивал время разделения рецентных линий *Oncorhynchus* ин-

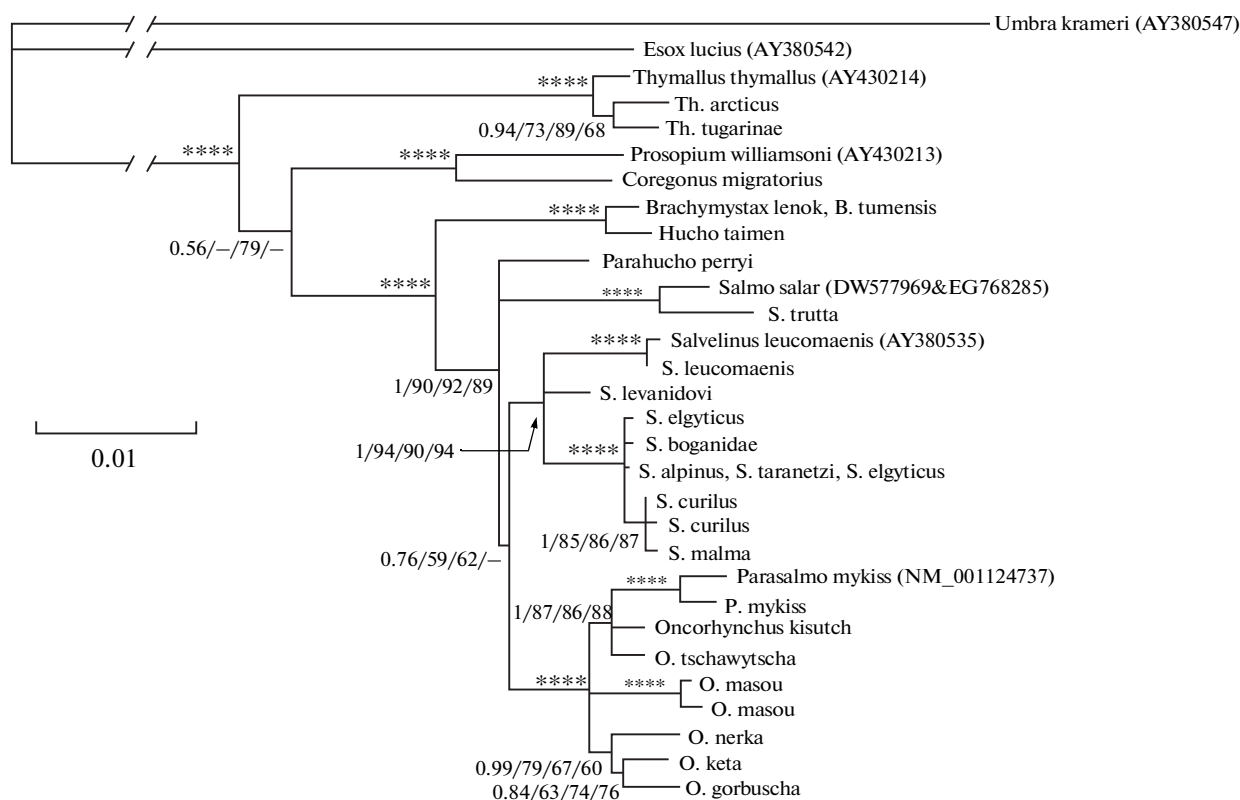


Рис. 1. Филогенетическое древо лососевых рыб (ML-дерево), полученная по результатам анализа фрагмента гена *RAG1*. Цифры в основаниях клад — значения апостериорной вероятности для байесовского дерева, а также бутстрэп-оценки (% от 1000 реплик бутстрэпа) для ML-, MP- и NJ-деревьев, соответственно. Прочерк означает воспроизводимость данной клады в менее чем 50% реплик бутстрэпа, **** — наивысший уровень поддержки (интервал значений для данной клады составлял 0.95–1.0 в случае байесовского дерева и 95–100 для ML-, MP- и NJ-деревьев). Шкала отражает число замен на нуклеотидную позицию.

тервалом позднего миоцена (5.3–11.6 млн. лет назад). Второй интервал ограничивал обособление линии Salmoninae пределами эоцена (33.9–55.8 млн. лет назад) и связан с обнаружением в среднем эоцене хорошо сохранившихся ископаемых лососей *Eosalmo*, имеющих несколько продвинутых характеристик, которые среди современных Salmonidae присущи исключительно представителям Salmoninae [11].

Полученное при указанных условиях ультраметрическое байесовское дерево (рис. 2) практически полностью повторило топологию дерева на рис. 1 и имело сходные с ординарным байесовским деревом оценки апостериорных вероятностей. Таким образом, суммируя полученные результаты (рис. 1, 2), можно прийти к следующим основным выводам:

1. Взаимоотношения линий хариусов, сигов и лососей однозначно установить не удалось. Их дивергенция, по-видимому, произошла в сравнительно короткий (≈ 3 –4 млн. лет) промежуток времени. Вероятно, что первой обособилась линия хариусовых рыб.

2. Роды подсемейства Salmoninae слагают две хорошо выраженные монофилетические группировки — (1) *Brachymystax* и *Hucho*, а также (2) *Salmo*, *Parahucho*, *Salvelinus*, *Parasalmo* и *Oncorhynchus*. Предковые формы этих двух эволюционных линий могли дивергировать на границе олигоцена и миоцена (≈ 24 млн. лет назад).

3. Диверсификация основных линий внутри второй группировки происходила, по всей видимости, сравнительно быстро в среднем миоцене (≈ 19 –16 млн. лет назад). При этом линии *Salvelinus* и *Parasalmo* вместе с *Oncorhynchus* разделились в последнюю очередь. Вероятно, в этот же период времени разошлись предковые линии родов *Prosopium* и *Coregonus*.

В целом секвенированный фрагмент гена *RAG1* показал свою пригодность для решения задач настоящего исследования. Данный маркер, имеющий, как и многие другие ядерные гены, низкую скорость эволюции (по нашим расчетам — 0.57×10^{-9} замен на сайт в год), проявил ясный, с минимальным количеством гомоплазии, филогенетический сигнал (индекс соответствия для MP-дерева без внешних групп — 0.79). Полученные

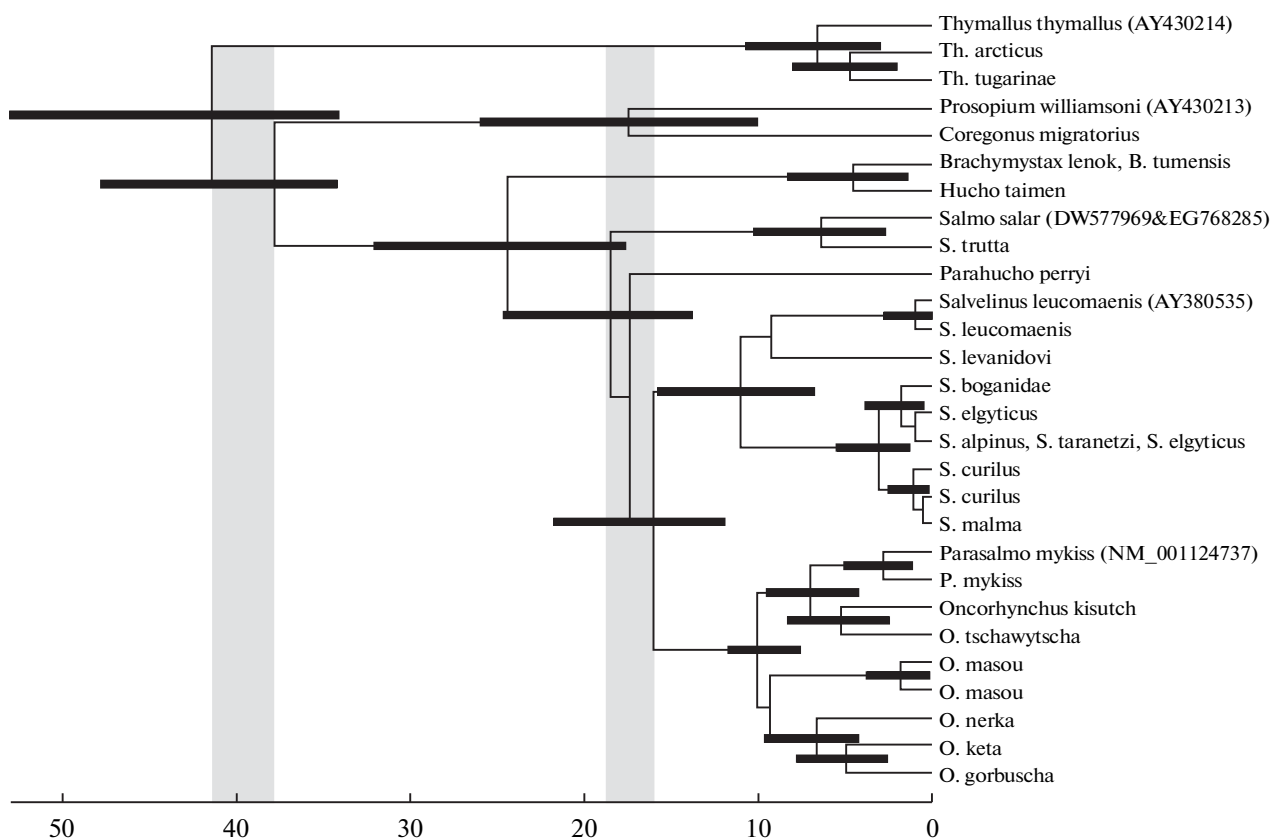


Рис. 2. Байесовская хронограмма кладогенеза лососевых рыб, выраженная в абсолютной временной шкале (млн. лет). Прямоугольники – 95%-ные интервалы наивысшей апостериорной плотности оценок времени существования клад, имевших апостериорные вероятности выше 0.5. Затемнены периоды, давшие основное морфо-экологическое разнообразие Salmonidae.

филогенетические деревья (рис. 1–2) находятся в соответствии с результатами недавних молекулярно-генетических исследований, основанных на анализе ядерной ДНК, в части взаимоотношений линий хариусов, сига и лососей [12], порядка дивергенции основных эволюционных линий внутри Salmoninae [13–15], филогенетических взаимоотношений *O. keta*, *O. gorbuscha* и *O. nerka* [14, 16] и других деталей. Результаты молекулярной датировки кладогенеза Salmonidae (рис. 2) также во многом сходны с оценками, полученными ранее, исходя из других данных и при использовании иных методических подходов [17, 18].

Однако филогенетические связи хариусов, сига и лососей по результатам других молекулярно-генетических работ выглядят иначе [15, 19, 20]. Положение *Brachymystax* и *Hucho* среди остальных эволюционных линий Salmoninae в работах, основанных на анализе мтДНК [14, 21] или интронов ядерного гена *GH1* [16], также выглядит по-другому. Кроме того, от работы к работе варьирует положение линии *Parasalmo* относительно видов *Oncorhynchus* (рис. 1, 2, [13, 14, 16, 18, 20–22]). В связи с этим дальнейшее уточнение и детализация схемы филогении Salmonidae видятся в уве-

личении числа используемых филогенетических маркеров и одновременном анализе многих не сцепленных локусов ядерного генома, а также мтДНК.

Авторы глубоко признательны О.А. Радченко, Д.С. Сендек и М.Б. Шедько за предоставленные образцы ряда видов лососевых рыб.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 09-04-00370-а) и ДВО РАН (проект № 09-III-A-06-185).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Evolution illuminated. Salmon and their relatives / Hendry A.P., Stearns S.C. N.Y.: Oxford Univ. Press, 2004. 510 p.
2. Davidson W.S., Koop B.F., Jones S.J.M. et al. Sequencing the genome of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Genome Biology. 2010. V. 11. № 9. P. 403.
3. Lopez J.A., Chen W.-J., Ort G. Esociform phylogeny // Copeia. 2004. № 3. P. 449–464.
4. Chiari Y., Meijden A. van der, Madsen O. et al. Base composition, selection, and phylogenetic significance

- of indels in the recombination activating gene-1 in vertebrates // *Front. Zoology*. 2009. V. 6. P. 32.
5. *Posada D., Crandall K.A.* MODELTEST: testing the model of DNA substitution // *Bioinformatics*. 1998. V. 14. № 9. P. 817–818.
 6. *Ronquist F., Huelsenbeck J.P.* MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*. 2003. V. 19. № 12. P. 1572–1574.
 7. *Swofford D.L.* PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.0b10. MA: Sinauer Associates, 2002.
 8. *Felsenstein J.* Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach // *J. Mol. Evol.* 1981. V. 17. № 6. P. 368–376.
 9. *Drummond A.J., Rambaut A.* BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees // *BMC Evol. Biol.* 2007. V. 7. № 1. P. 214.
 10. *Eiting T.P., Smith G.R.* Miocene salmon (*Oncorhynchus*) from Western North America: gill raker evolution correlated with plankton productivity in the Eastern Pacific // *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 2007. V. 249. № 3–4. P. 412–424.
 11. *Wilson M.V.H., Li G.-Q.* Osteology and systematic position of the Eocene salmonid †*Eosalmo driftwoodensis* Wilson from western North America // *Zool. J. Linn. Soc.* 1999. V. 125. № 3. P. 279–311.
 12. *Koop B.F., Schalburg K.R. von, Leong J. et al.* A salmonid EST genomic study: genes, duplications, phylogeny and microarrays // *BMC genomics*. 2008. V. 9. P. 545.
 13. *Oakley T.H., Phillips R.B.* Phylogeny of salmonine fishes based on growth hormone introns: Atlantic (*Salmo*) and Pacific (*Oncorhynchus*) salmon are not sister taxa // *Mol. Phylog. Evol.* 1999. V. 11. № 3. P. 381–393.
 14. *Crespi B.J., Fulton M.J.* Molecular systematics of Salmonidae: combined nuclear data yields a robust phylogeny // *Mol. Phylog. Evol.* 2004. V. 31. № 2. P. 658–679.
 15. *Matveev V., Okada N.* Retroposons of salmonoid fishes (Actinopterygii: Salmonoidei) and their evolution // *Gene*. 2009. V. 434. № 1–2. P. 16–28.
 16. *Phillips R.B., Matsuoka M.P., Konkol N.R., McKay S.* Molecular systematics and evolution of the Growth Hormone introns in the Salmoninae // *Env. Biol. Fishes*. 2004. V. 69. № 1–4. P. 433–440.
 17. *Осинов А.Г., Лебедев В.С.* Лососевые рыбы (Salmonidae, Salmoniformes): положение в надотряде Protacanthopterygii, основные этапы эволюционной истории, молекулярные датировки // *Вопр. ихтиологии*. 2004. Т. 44. № 6. С. 738–765.
 18. *Wilson W.D., Turner T.F.* Phylogenetic analysis of the Pacific cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki* ssp.: Salmonidae) based on partial mtDNA ND4 sequences: a closer look at the highly fragmented inland species // *Mol. Phylog. Evol.* 2009. V. 52. № 2. P. 406–415.
 19. *Li J., Xia R., McDowall R.M. et al.* Phylogenetic position of the enigmatic *Lepidogalaxias salamandroides* with comment on the orders of lower euteleostean fishes // *Mol. Phylog. Evol.* 2010. V. 57. № 2. P. 932–936.
 20. *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. V. 76. P. 395–400.
 21. *Шедько С.В.* Филогения митохондриальной ДНК лососевых рыб подсемейства Salmoninae: анализ последовательностей гена цитохрома b // *Генетика*. 2002. Т. 38. № 3. С. 357–367.
 22. *Osinov A., Lebedev V.S.* Genetic divergence and phylogeny of the Salmoninae based on allozyme data // *J. Fish Biol.* 2000. V. 57. № 2. P. 354–381.

ФИЛОГЕНИЯ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ (Salmoniformes: Salmonidae) И ЕЕ МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДАТИРОВКА: АНАЛИЗ ЯДЕРНОГО ГЕНА *RAG1*

© 2012 г. С. В. Шедько, И. Л. Мирошниченко, Г. А. Немкова

*Учреждение Российской академии наук Биолого-почвенный институт
Дальневосточного отделения, Владивосток 690022*

e-mail: shedko@biosoil.ru

Поступила в редакцию 03.11.2011 г.

Исследованы филогенетические взаимоотношения 26 видов лососевых рыб (сем. Salmonidae) с использованием гена *RAG1* в качестве филогенетического маркера. Взаимоотношения хариусов, сига и лососей однозначно установить не удалось; дивергенция этих линий, по-видимому, произошла в сравнительно короткий (≈3–4 млн. лет) промежуток времени. Первой, вероятно, обособилась линия хариусовых рыб. Роды подсемейства Salmoninae слагают две хорошо выраженные монофилетические группировки – (1) *Brachymystax* и *Hucho*, а также (2) *Salmo*, *Parahucho*, *Salvelinus*, *Parasalmo* и *Oncorhynchus*. Предковые формы этих двух эволюционных линий могли дивергировать на границе олигоцена и миоцена (≈24 млн. лет назад). Диверсификация основных линий внутри второй группировки происходила, по всей видимости, сравнительно быстро в среднем миоцене (≈19–16 млн. лет назад). При этом линии *Salvelinus* и *Parasalmo* вместе с *Oncorhynchus* разделились в последнюю очередь. Вероятно, в этот же период времени разошлись предковые линии родов *Prosopium* и *Coregonus*.