

**КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ БАХРОМЧАТЫХ БЫЧКОВ РОДА
POROCOTTUS GILL, 1859 (COTTIDAE: MUOXOSERHALINAE)**

© 2019 г. И. Н. Морева¹*, О. А. Радченко², А. В. Петровская²

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток, 690041 Россия

²Институт биологических проблем Севера ДВО РАН,
Магадан, 685000 Россия

*e-mail: irruz@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.04.2018 г.

После доработки 31.05.2018 г.

Принята к публикации 31.05.2018 г.

Впервые проведено кариологическое и молекулярно-генетическое исследование бахромчатых бычков рода *Porocottus*. Изучены кариотипы *P. japonicus* ($2n = 42$, $NF = 42$), *P. allisi* и *P. minutus* ($2n = 40$, $NF = 42$). В результате анализа митохондриальной ДНК установлены высокие уровни дифференциации видов, выявлены существенные отличия *P. camtschaticus* от *P. minutus* и *P. japonicus*. На основе комплексного исследования обнаружены признаки, позволяющие проводить надежную идентификацию *P. japonicus*, *P. allisi*, *P. minutus* и *P. camtschaticus*.

Ключевые слова: *Porocottus japonicus*, *P. allisi*, *P. minutus*, *P. camtschaticus*, Японское море, Охотское море, митохондриальная ДНК (мтДНК), кариотип

DOI: 10.1134/S0134347519020086

Род *Porocottus* — один из самых многочисленных в группе морских бычков–керчаков подсемейства *Muoxoseralinae* (*Cottidae*) (*Fricke et al.*, 2018). Представители этого рода обитают на литорали и сублиторали Берингова, Охотского, Японского и Желтого морей, а также прилегающих вод северной части Тихого океана (*Yabe*, 1992; *Muto et al.*, 2002; *Парин и др.*, 2014, и др.).

Большинство видов рода *Porocottus* распространены в Японском, Охотском морях, у тихоокеанского побережья Камчатки, островов Курильского и Японского архипелагов. Ареал эндемичного вида охотоморского бахромчатого бычка *P. minutus* (*Pallas*, 1814) ограничен водами северной части Охотского моря (*Черешнев и др.*, 2001; *Парин и др.*, 2014). Камчатский бахромчатый бычок *P. camtschaticus* (*Schmidt*, 1916) встречается в Охотском море, у западного побережья Камчатки, у островов Парамушир и Симушир, а также в прибрежных водах Тихого океана, у юго-восточной Камчатки и о-ва Шикотан (*Неелов*, 1979; *Шейко, Федоров*, 2000; *Федоров и др.*, 2003).

Японский *P. japonicus* (*Schmidt*, 1935) и южный *P. tentaculatus* (*Кнер*, 1868) бахромчатые бычки распространены в северной части Японского моря и южной части Охотского моря, второй вид встречается и в северо-западной части Охотского моря — в Тауйской губе, у тихоокеанского побережья южных Курильских островов и Японии

(*Парин и др.*, 2014; *Савельев, Колпаков*, 2016). Бахромчатый бычок Эллиса *P. allisi* (*Jordan, Starks*, 1904) обитает в Японском море у берегов Приморья и в Татарском проливе, в Охотском море у островов Кунашир и Хоккайдо и в тихоокеанских водах у южных Курильских островов (*Линдберг, Красюкова*, 1987; *Соколовский и др.*, 2007; *Парин и др.*, 2014).

В Беринговом море встречаются чукотский *P. quadrifilis* (*Gill*, 1859) и белопятнистый *P. mednius* (*Bean*, 1898) бахромчатые бычки. В ареал *P. mednius* также входят прибрежные воды северных Курильских островов и южной части п-ва Камчатка (*Парин и др.*, 2014).

По мнению некоторых авторов, род *Porocottus* нуждается в более детальной ревизии (*Токранов, Шейко*, 2009). На основании исследования морфологических признаков и особенностей строения сейсмодатированной системы в роде *Porocottus* выделены два подрода. Чукотский бахромчатый бычок *P. quadrifilis*, американский бахромчатый бычок *P. bradfordi* (*Rutter*, 1898) и его подвид белопятнистый бахромчатый бычок *P. bradfordi albotamaculatus* (*Schmidt*, 1916) относятся к подроду *Porocottus*. Подрод *Crossias* включает пять видов: *P. allisi*, *P. minutus*, *P. tentaculatus*, *P. camtschaticus* и *P. japonicus* (*Неелов*, 1976, 1979).

В современных каталогах содержатся данные о девяти видах рода *Porocottus* (Парин и др., 2014; Fricke et al., 2018). Валидным видом признан *P. mednius*, ранее описанный как *Myoxocephalus mednius* (Bean, 1898). Вид *P. bradfordi* и его подвид *P. b. albomaculatus* сведены в синонимию *P. mednius* (Fricke et al., 2018). В литературе имеется описание новых для рода *Porocottus* видов. В водах тихоокеанского побережья восточного Хоккайдо (Япония) был выловлен вид *P. coronatus* (Yabe, 1992). Еще один новый вид *P. leptosomus* описан из вод западного побережья Кореи, Желтое море (Muto et al., 2002).

После ревизии семейства Cottidae (Неелов, 1979) сравнительные морфологические исследования видов рода *Porocottus* не проводились. Молекулярно-генетические данные ограничены нуклеотидными последовательностями фрагмента гена *COI* единичных экземпляров *P. allisi* и *P. leptosomus* в GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Кариотипы видов неизвестны. В настоящей работе впервые проведен комплексный молекулярно-генетический и кариологический анализ видов *P. japonicus*, *P. allisi*, *P. minutus* и *P. camtschaticus* из Японского, Охотского морей и прибрежных вод о-ва Шикотан с целью определения уровня изменчивости, степени дифференциации и уточнения родственных отношений этих видов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сведения об объеме изученного материала и районах его сбора приведены в таблице 1. Виды рода *Porocottus* пойманы на литорали: *P. japonicus* и *P. allisi* – с помощью сачка, *P. minutus* – руками под камнями, а *P. camtschaticus* – мальковым неводом. Рыб идентифицировали по внешним морфологическим признакам.

Молекулярно-генетический анализ

Проведен анализ изменчивости нуклеотидных последовательностей генов *COI*, цитохрома *b* и *16S* рРНК митохондриальной ДНК (мтДНК). Для сравнительного молекулярно-генетического анализа привлечены данные из GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) по нуклеотидным последовательностям участка гена *COI* видов *P. allisi* и *P. leptosomus* из прибрежных вод Корейского полуострова. Для укоренения филогенетических деревьев и тестирования монофилии *Porocottus* в качестве внешних групп использовали представителей семейства Cottidae: *Megalocottus platycephalus*, *Enophrys diceraus*, *Gymnocanthus pistilliger* и *Alicichthys elongatus*.

Геномную ДНК выделяли из мышечной ткани по стандартной методике, включающей лизис ткани 1% SDS в присутствии протеиназы К (0.2 мг/мл) и депротенинизацию фенолом (Maniatis et al., 1982). Для амплификации в полимеразной цепной реакции и секвенирования ДНК использовали универсальные олигонуклеотидные праймеры, описанные ранее (Радченко и др., 2009; Мо-

рева и др., 2017). Выравнивание нуклеотидных последовательностей и определение параметров изменчивости мтДНК (количество, тип, распределение замен) проводили в программе MEGA 6 (Tamura et al., 2013).

Для оценки генетических расстояний между участками мтДНК в программе PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002) вычисляли значения *p*-дистанций. Для филогенетического анализа нуклеотидные последовательности были сформированы в набор данных, включающий отдельно первую, вторую и третью нуклеотидные позиции кодонов генов *COI* и цитохрома *b*, ген *16S* рРНК. Для каждой части набора данных в программе Modeltest v3.7 (Posada, Crandall, 1998) с использованием критерия Akaike выбирали оптимальные модели нуклеотидных замещений (TrN+G, TIM+I, F81, GTR+I, TrNef+G, F81, TrN+G). Филогенетический анализ мтДНК выполнен с помощью метода байесовского анализа в программе MrBayes v.3.1.2 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003). Из 10001 полученных деревьев первые 1001, характеризующиеся нестабильными параметрами моделей нуклеотидных замещений и правдоподобия, отброшены; на основе остальных получены консенсусные деревья и апостериорные вероятности их ветвления. Узлы ветвления с оценками апостериорной вероятности ≥ 0.95 приняты как достоверные (Leaché, Reeder, 2002).

Кариологический анализ

Материалом для кариологической работы послужили хромосомные препараты, приготовленные по методу воздушного высушивания (Kligerman, Bloom, 1977) с небольшими модификациями. Из-за небольших размеров изучаемых рыб (от 5 до 7 см) для приготовления суспензии клеток использовали всю почку. Гипотонический раствор подогревали до температуры 37°C. Время гипотонирования суспензии увеличили до 50 мин. Хромосомы окрашивали рутинно 4% раствором красителя Гимза (Giemsa), их качество анализировали под микроскопом, затем готовили серии препаратов для подробного анализа.

В метафазных пластинках выделяли хромосомы нескольких морфологических типов. Равноплечие метацентрические (М) хромосомы относили к двуплечим, субтелоцентрические (СТ) с очень коротким вторым плечом и акроцентрические (А) с невидимым вторым плечом – к одноплечим хромосомам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Молекулярно-генетический анализ

Полученные последовательности генов мтДНК депонированы в базе данных GenBank/NCBI под номерами, указанными в табл. 1. Секвенированные участки генов *16S* рРНК, *COI* и цитохрома *b* длиной 613–614, 1009 и 841 пар нуклеотидов (пн) рас-

Таблица 1. Материал, использованный в работе

Вид (номер образца)	Район сбора	Гены (№ в GenBank)		
		<i>COI</i>	<i>16S</i> рРНК	Цитохром <i>b</i>
<i>Porocottus camtschaticus</i> (1750)	О-в Шикотан, б. Горобец	MH172265	MH167461	MH172283
<i>P. camtschaticus</i> (1751)	Там же	MH172266	MH167462	MH172284
<i>P. camtschaticus</i> (1752)	»	MH172267	MH167463	MH172285
<i>P. minutus</i> (1930)*	Охотское море, Тауйская губа, о-в Недоразумения	MH172268	MH167464	MH172286
<i>P. minutus</i> (1934)*	Там же	MH172269	MH167465	MH172287
<i>P. minutus</i> (1936)	»	MH172270	MH167466	MH172288
<i>P. minutus</i> (1938)	»	MH172271	MH167467	MH172289
<i>P. minutus</i> (1939)	»	MH172272	MH167468	MH172290
<i>P. minutus</i> (1996)	Охотское море, Тауйская губа, мыс Нюкля	MH172273	MH167469	MH172291
<i>P. minutus</i> *	Охотское море, Тауйская губа, зал. Одян	—	—	—
<i>P. minutus</i> *	Там же	—	—	—
<i>P. japonicus</i> (1993)*	Японское море, северное Приморье, б. Джигит	MH172274	MH167470	MH172292
<i>P. japonicus</i> (1997)*	Татарский пролив, зал. Чихачева	MH172275	MH167471	MH172293
<i>P. japonicus</i> (1998)*	Там же	MH172276	MH167472	MH172294
<i>P. japonicus</i> (2011)*	»	MH172277	MH167473	MH172295
<i>P. japonicus</i> (2012)	»	MH172278	MH167474	MH172296
<i>P. japonicus</i> (2013)	»	MH172279	MH167475	MH172297
<i>P. allisi</i> *	Японское море, северное Приморье, б. Джигит	—	—	—
<i>P. allisi</i> (KY305170)	Прибрежные воды Корейского полуострова	KY305170	—	—
<i>P. leptosomus</i> (KY305169)	Там же	KY305169	—	—
<i>P. leptosomus</i> (KY305156)	»	KY305156	—	—
<i>Megalocottus platycephalus</i>	Охотское море, Тауйская губа	MH016197	MH012123	MH016217
<i>Enophrys diceraus</i>	Там же	MH172280	MH167476	MH172298
<i>Gymnocanthus pistilliger</i>	Японское море, Татарский пролив, зал. Ситуан	MH172281	MH167477	MH172299
<i>Alcichthys elongatus</i>	Японское море, зал. Петра Великого, зал. Восток	MH172282	MH167478	MH172300

*Образцы изучены кариологически.

положены в пределах 2009–2621, 5578–6586 и 14609–15350 пн согласно нумерации нуклеотидных позиций митохондриального генома *Enophrys diceraus* (GenBank KF039715).

В нуклеотидных последовательностях участка гена *COI* мтДНК изученных видов рода *Porocottus* (без учета внешних групп) обнаружено 130 филогенетически информативных сайтов (12.9%). Для гена цитохрома *b* установлено 113 информативных нуклеотидных позиций (13.4%). Фрагмент гена *16S* рРНК характеризовался 19 информативными сайтами (3.1%).

В последовательностях мтДНК выявлены замены нуклеотидов, которые дифференцируют виды бахромчатых бычков. В последовательности гена *COI* установлено 25, 24 и 50 таких специфических мутаций, гена цитохрома *b* — 15, 21 и 45, гена *16S* рРНК — 2, 4 и 11 мутаций для *P. minutus*, *P. japonicus* и *P. camtschaticus* соответственно. В по-

следовательности гена *16S* рРНК *P. japonicus* обнаружена однонуклеотидная инсерция, отличающая этот вид не только от других бахромчатых бычков, но и от остальных представителей семейства Cottidae. Рассчитанные для объединенных последовательностей мтДНК р-дистанции приведены в табл. 2. Значения дивергенции между видами *P. minutus* и *P. japonicus* варьируют от 4.62 до 5.94 и в среднем составляют 5.25%. Виды *P. minutus* и *P. camtschaticus* различаются в среднем на 7.76% (с разбросом р-дистанций 7.32–8.27%). Представители *P. japonicus* и *P. camtschaticus* дифференцированы на 8.13% (с разбросом р-дистанций 7.47–8.99%).

Построены два филогенетических дерева: по данным об объединенных последовательностях генов *COI*, цитохрома *b*, *16S* рРНК мтДНК длиной 2463 пн (рис. 1) и по данным об участке гена *COI* длиной 582 пн с привлечением информации

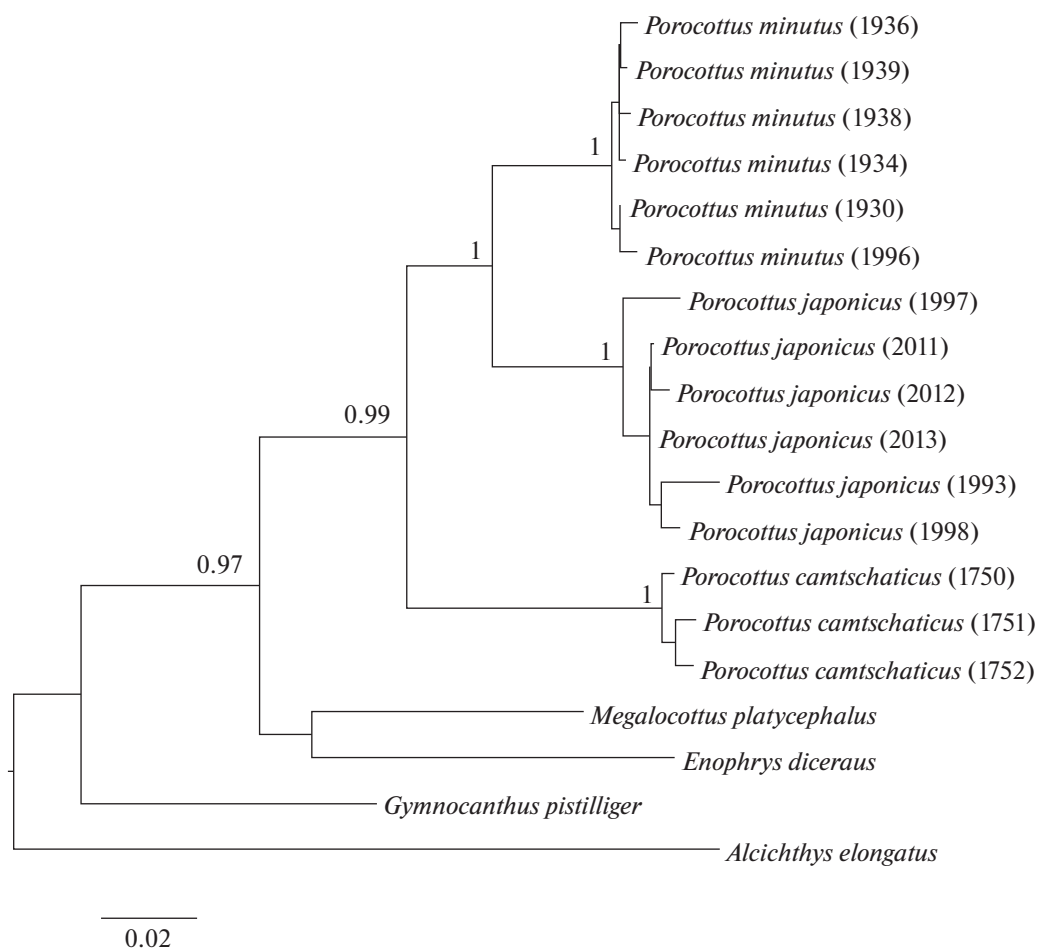


Рис. 1. Байесовское дерево, полученное на основе анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI*, цитохрома *b*, *16S* рРНК мтДНК. Числа в основаниях кластеров – достоверные оценки апостериорной вероятности. В скобках – номера образцов.

из GenBank (рис. 2). Положение в основании деревьев занимают ДНК-линии внешних групп: *M. platycephalus*, *E. diceraus*, *G. pistilliger* и *A. elongatus*. Типы мтДНК видов рода *Porocottus* формируют компактную группу, в которой *P. camtschaticus*, *P. minutus* и *P. japonicus* образуют собственные кластеры. В базальной части группы *Porocottus* находится ДНК-линия *P. leptosomus* (рис. 2). Основные оценки устойчивости основных узлов ветвления ($PP \geq 0.95$) подтверждают достоверность ассоциаций типов ДНК видов рода *Porocottus*.

Кариологический анализ

Описание кариотипа *P. japonicus* (2 самки, 2 самца) составлено по результатам анализа 44 рутинно окрашенных метафазных пластинок. Кариотип рыб состоит из 42 хромосом ($2n$), число хромосомных плеч (NF) 42, включая 36 СТ и 6 А хромосом (рис. 3а). Изменчивость по числу хромосом не обнаружена, различия по $2n$ и NF между кариотипами самцов и самок не выявлены.

Проанализированы 20 рутинно окрашенных метафазных пластинок самки *P. allisi*. Кариотип:

$2n = 40$, NF = 42, состоит из двух М, 32 СТ и шести А хромосом (рис. 3б).

Изучены 35 рутинно окрашенных метафазных пластинок *P. minutus* (2 самки, 1 самец и 1 неполовозрелая особь). Кариотип: $2n = 40$, NF = 42, состоит из двух М, 32 СТ и шести А хромосом (рис. 3в). Изменчивость по числу хромосом не обнаружена, различия по $2n$ и NF между кариотипами самок и самца не выявлены.

В кариотипах видов установлены маркерные хромосомы, хорошо идентифицируемые во всех исследованных метафазных пластинках. У *P. japonicus* это три пары крупных СТ хромосом (рис. 3а: пары 1–3), у *P. allisi* – пары крупных М и СТ хромосом (рис. 3б: пары 1, 2), у *P. minutus* – одна пара мелких М и три пары крупных СТ хромосом (рис. 3в: пары 1–4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ареалы видов *Porocottus japonicus*, *P. allisi*, *P. minutus* и *P. camtschaticus* мозаичны и в сравнении с ареалом рода имеют небольшую протяженность (Неелов, 1979; Шейко, Федоров, 2000; Фе-

Таблица 2. Значения р-дистанций (%) по данным о нуклеотидных последовательностях генов *COI*, цитохрома *b*, *IbS* рРНК (ниже диагонали) и участка гена *COI* (выше диагонали)

Вид (№ образца)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1. <i>Porocottus minutus</i> (1930)	—	1.20	1.00	1.00	1.20	0.20	7.37	7.37	7.37	7.37	7.37	7.41	7.41	9.78	9.58	9.62	9.16	11.35	11.75	13.75	11.16	14.20	13.15
2. <i>P. minutus</i> (1934)	0.45	—	0.20	0.20	0.40	1.40	7.39	7.39	7.39	7.39	7.23	7.43	10.40	10.60	10.64	9.58	12.18	12.18	13.77	11.18	14.43	13.37	13.15
3. <i>P. minutus</i> (1936)	0.65	0.45	—	0	0.20	1.20	7.17	7.17	7.17	7.17	7.01	7.21	10.18	10.38	10.42	9.36	11.95	12.35	13.55	10.96	14.20	13.15	13.15
4. <i>P. minutus</i> (1938)	0.53	0.37	0.57	—	0.20	1.20	7.17	7.17	7.17	7.17	7.01	7.21	10.18	10.38	10.42	9.36	11.95	12.35	13.55	10.96	14.20	13.15	13.15
5. <i>P. minutus</i> (1939)	0.49	0.29	0.41	0.37	—	1.39	6.97	6.97	6.97	6.97	6.81	7.01	9.98	10.58	10.62	9.16	11.75	12.15	13.35	10.76	14.40	12.95	12.95
6. <i>P. minutus</i> (1996)	0.33	0.77	1.02	0.94	0.86	—	7.57	7.57	7.57	7.57	7.62	7.62	9.78	9.58	9.62	9.16	11.35	11.75	13.94	11.35	14.40	12.95	12.95
7. <i>P. japonicus</i> (1993)	5.82	5.77	5.88	5.90	5.65	5.94	—	0	0	0	0	0	9.98	10.58	10.62	9.76	11.55	11.75	13.55	10.96	15.20	14.14	14.14
8. <i>P. japonicus</i> (1997)	4.95	4.91	5.00	4.99	4.78	5.07	2.44	—	0	0	0	0	9.98	10.58	10.62	9.76	11.55	11.75	13.55	10.96	15.20	14.14	14.14
9. <i>P. japonicus</i> (1998)	4.79	4.74	4.89	4.83	4.62	4.95	1.25	1.46	—	0	0	0	9.98	10.58	10.62	9.76	11.55	11.75	13.55	10.96	15.20	14.14	14.14
10. <i>P. japonicus</i> (2011)	5.14	5.10	5.25	5.27	5.02	5.31	1.36	1.58	0.58	—	0	0	9.98	10.58	10.62	9.76	11.55	11.75	13.55	10.96	15.20	14.14	14.14
11. <i>P. japonicus</i> (2012)	5.51	5.42	5.57	5.59	5.34	5.67	1.49	1.83	0.91	0.41	—	0	10.04	10.64	10.69	9.82	11.62	11.82	13.43	10.82	15.09	14.03	14.03
12. <i>P. japonicus</i> (2013)	5.15	5.15	5.30	5.27	5.02	5.32	1.32	1.50	0.50	0.08	0.41	—	10.04	10.64	10.66	9.82	11.62	11.82	13.63	10.62	15.09	14.03	14.03
13. <i>P. camtschaticus</i> (1750)	7.50	7.62	7.86	7.83	7.58	7.63	8.62	7.87	7.47	7.76	8.19	7.89	—	0.60	0.60	10.58	14.17	14.17	13.97	13.37	15.23	14.77	14.77
14. <i>P. camtschaticus</i> (1751)	7.79	8.02	8.27	8.11	8.07	7.91	8.99	8.28	7.89	8.16	8.61	8.30	0.94	—	0	10.98	13.97	13.97	14.57	13.97	15.03	14.97	14.97
15. <i>P. camtschaticus</i> (1752)	7.32	7.56	7.84	7.69	7.61	7.45	8.77	7.93	7.50	7.82	8.31	7.95	0.90	0.78	—	11.02	14.03	14.03	14.63	14.03	15.09	15.03	15.03
16. <i>P. allisi</i> (KY305170)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17. <i>P. leptosomus</i> (KY305169)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18. <i>P. leptosomus</i> (KY305156)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. <i>Megalocottus platycephalus</i>	9.00	9.16	9.33	9.21	9.04	9.13	9.85	9.23	9.03	9.42	9.66	9.56	9.74	10.14	9.98	—	—	—	—	—	14.60	14.14	14.14
20. <i>Enophrys diceratus</i>	9.98	10.06	10.15	10.18	9.93	10.03	10.55	10.39	9.98	10.44	10.72	10.50	10.55	11.25	10.96	—	—	—	—	—	13.00	14.34	14.34
21. <i>Gymnocanthus pistilliger</i>	10.80	10.83	11.13	11.00	10.80	11.13	11.26	10.61	10.19	10.69	10.97	10.71	10.92	11.29	11.12	—	—	—	—	—	10.59	—	14.00
22. <i>Alcichthys elongatus</i>	12.99	13.06	13.08	13.19	12.91	13.08	13.64	12.72	12.41	12.72	12.95	12.75	13.93	14.33	14.14	—	—	—	—	—	14.04	12.74	—

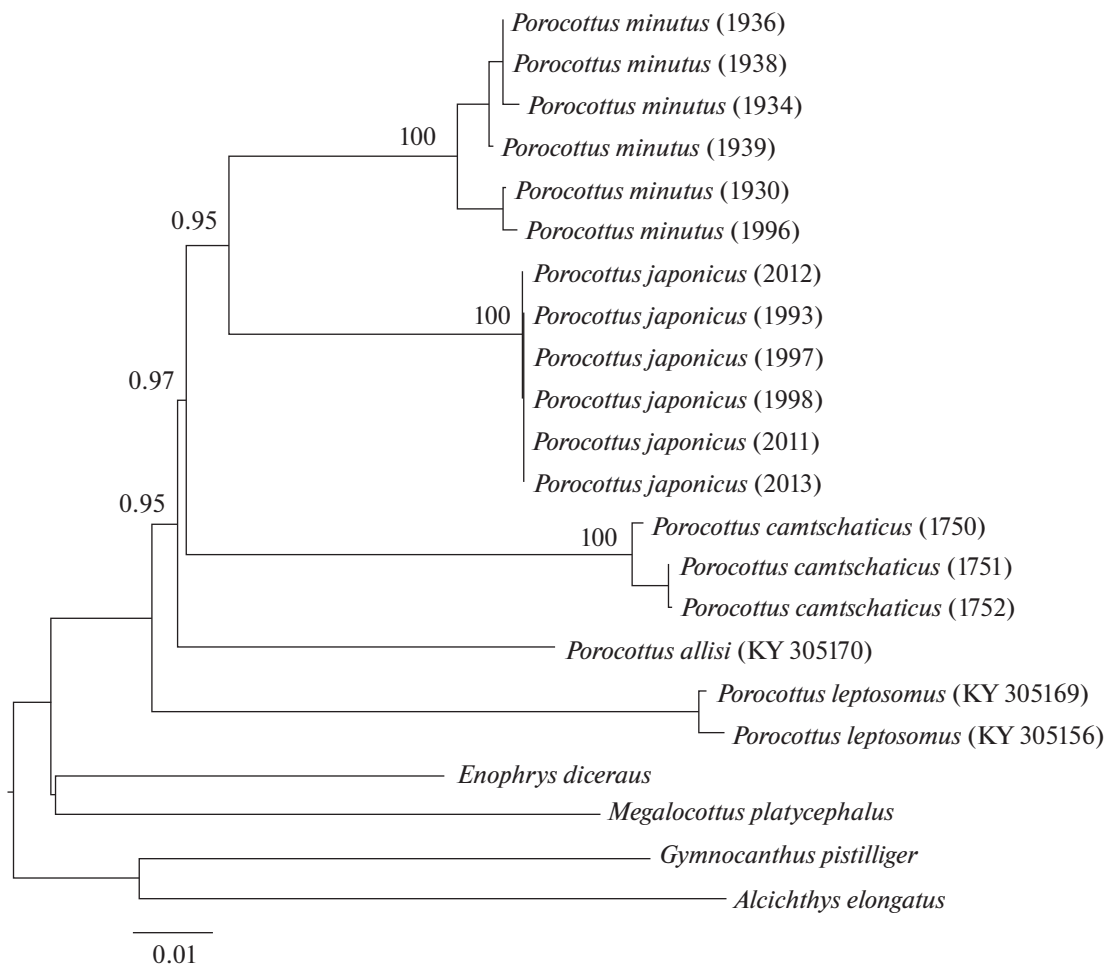


Рис. 2. Байесовское дерево, полученное на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *COI*, в том числе данных из GenBank/NCBI. Числа в основаниях кластеров – достоверные оценки апостериорной вероятности. В скобках – номера образцов.

доров и др., 2003; Соколовский и др., 2007). Биологические особенности бахромчатых бычков изучены крайне слабо. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о различиях по глубине обитания, предпочитаемым биотопам и спектру питания (Соколовский и др., 2011; Парин и др., 2014; Савельев, Колпаков, 2016; Поезжалова-Чегодаева, 2017).

На основании морфологических признаков, строения сейсмочувствительной системы *P. japonicus*, *P. allisi*, *P. camtschaticus* и *P. minutus* включены в подрод *Crossias* (Неелов, 1976, 1979). Изученные виды имеют на голове одну или две пары мочек. Строение мочек специфично, что позволяет дифференцировать бахромчатых бычков (Неелов, 1979). Японский бахромчатый бычок имеет лишь одну пару заглазничных мочек, состоящих из небольшого мясистого кожного тела, от которого беспорядочно отходят небольшие и разные по длине усики. Затылочные мочки отсутствуют или представлены маленьким кожным придатком (Неелов, 1979; Савельев, Колпаков, 2016). Бахромчатый бычок Эллиса и охотоморский бахромчатый бычок имеют две пары хорошо разви-

тых мочек. У *P. allisi* заглазничные мочки состоят из 5–6 длинных тонких усиков одинакового размера, затылочные – обычно из четырех усиков (Неелов, 1979; Линдберг, Красюкова, 1987). У *P. minutus* заглазничные мочки состоят из 2–8 усиков; меньшего размера затылочные – из 1–4 усиков (Неелов, 1979). Заглазничные мочки *P. camtschaticus* устроены иначе. Они состоят из 8–20 коротких усиков, сидящих на мясистом основании, и имеют вид петушиного гребня. Затылочные мочки образованы 1–4 короткими усиковидными придатками (Неелов, 1979).

Проведенный молекулярно-генетический анализ позволил обнаружить существенную изменчивость мтДНК и гетерогенность рода *Porocottus*. Установлено, что значения *p*-дистанций между видами изменяются в широких пределах – от 5.25% между *P. minutus* и *P. japonicus* до 8.13% между *P. japonicus* и *P. camtschaticus*. Полученные оценки дивергенции между *P. camtschaticus* и остальными видами высоки при сравнении в пределах одного рода; в некоторых случаях *p*-дистанции достигают почти 9%, приближаясь к уровню раз-

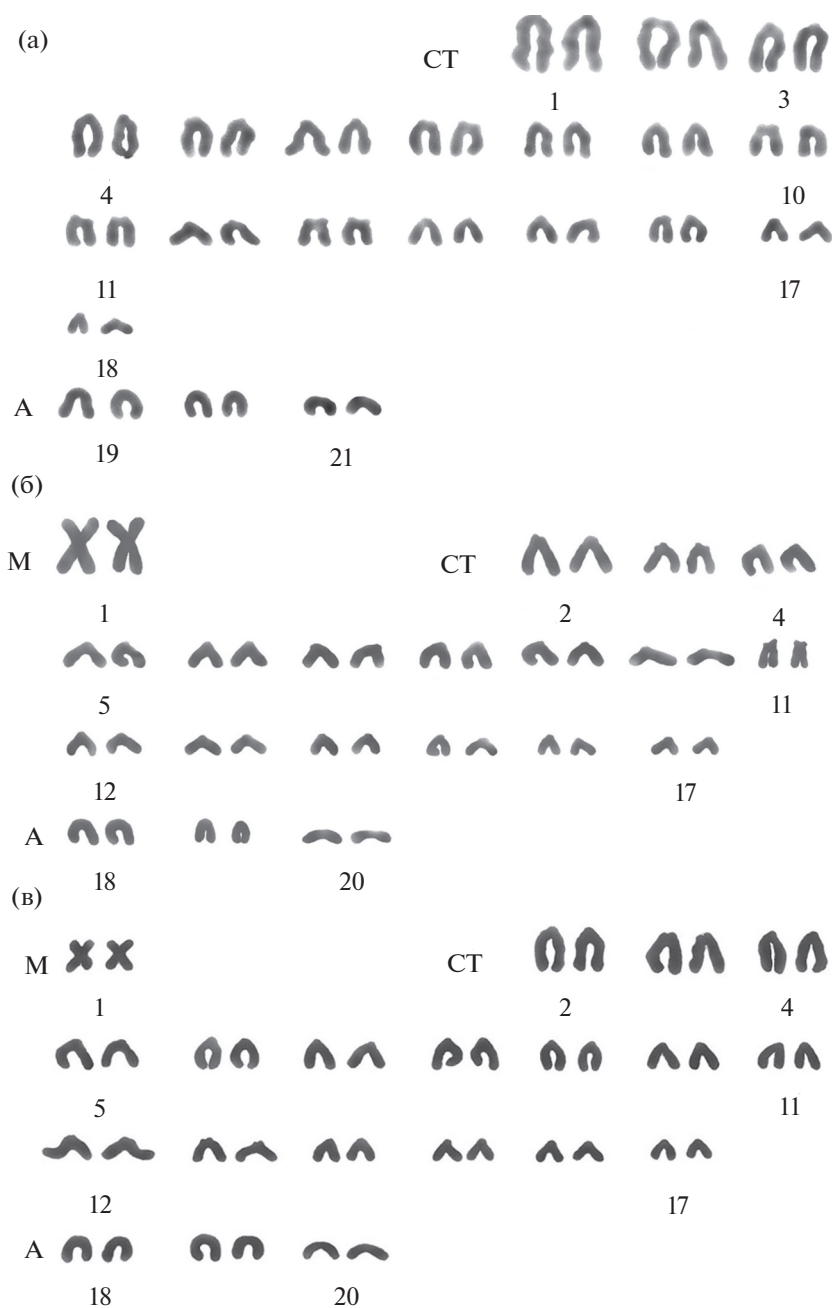


Рис. 3. Кариограммы *Porocottus japonicus*: $2n = 42$; $NF = 42$ (а); *P. allisi* и *P. minutus*: $2n = 40$, $NF = 42$ (б, в). Условные обозначения: М – мета-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы. Увеличение: 10×100 .

личий между близкими родами семейства Cottidae. Например, представители родов *Porocottus* и *Megalocottus* различаются в среднем на 9.43%, *Porocottus* и *Enophrys* – на 10.3%, *Megalocottus* и *Enophrys* – на 9.2% (табл. 2). Такая значительная генетическая дифференциация вида *P. camtschaticus* согласуется с его морфологическими отличиями – это единственный вид рода, имеющий на голове мощный гребень из многочисленных коротких усиков.

Несмотря на существенные различия, на филогенетическом дереве (рис. 1) кластеры изученных видов бахромчатых бычков образуют единую группу, в

которой первым обособляется *P. camtschaticus*, а затем обособляется *P. minutus* вместе с *P. japonicus*. Достоверность полученных данных о монофилии этой группы, последовательности дифференциации мтДНК видов, более тесной филогенетической связи охотоморского и японского бахромчатых бычков подтверждается высокими оценками вероятности узлов ветвления.

У бахромчатых бычков выявлен внутривидовой полиморфизм мтДНК, который обусловлен различиями между экземплярами, добытыми в разных точках ареала видов. Самый низкий уро-

вень различий обнаружен у *P. minutus* – 0.57% (варьирование – 0.29–1.02%). Внутривидовая дифференциация *P. camtschaticus* несколько выше и составляет 0.87 (0.87–0.94)%. Самая существенная изменчивость установлена для *P. japonicus* (среднее значение 1.14%); при этом максимально (на 1.6%) отличается экземпляр, пойманный в б. Джигит (северное Приморье), значительно удаленной от места вылова остальных представителей вида (зал. Чихачева, Татарский пролив). Этот вид, ранее известный только из северной части Татарского пролива и западного побережья о-ва Сахалин, недавно обнаружен в прибрежных водах северного Приморья (Савельев, Колпаков, 2016).

Для проведения сравнительного молекулярно-генетического анализа были использованы данные по нуклеотидным последовательностям участка гена *COI* мтДНК всех видов рода *Porocottus*, имеющиеся в GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Реконструированное филогенетическое дерево (рис. 2) свидетельствует, что *P. allisi* находится гораздо ближе к группе *P. minutus* – *P. japonicus* – *P. camtschaticus* (среднее значение r -дистанций составляет 9.78%, см. табл. 2), чем *P. leptosomus* (12.25%). Генетические отличия *P. allisi* и *P. camtschaticus* от *P. minutus* – *P. japonicus* имеют сходные значения – 9.54 и 10.27% соответственно.

Кариологический анализ *P. minutus* из двух точек ареала в Тауйской губе (зал. Одян и о-в Недо-разумения), а также *P. japonicus* из б. Джигит (северное Приморье) и зал. Чихачева (Татарский пролив) показал, что их хромосомные наборы стабильны по числу хромосом.

На основании сравнительного анализа *P. japonicus*, *P. allisi* и *P. minutus* выявлены общие признаки, указывающие на их таксономическую близость. *P. allisi* и *P. minutus* сходны по числу ($2n = 40$) и морфологии хромосом (рис. 3б, 3в). Все изученные бахромчатые бычки имеют одинаковое число хромосомных плеч – 42. В кариотипах видов можно выделить сходные маркерные хромосомы. У *P. allisi* и *P. minutus* присутствует пара М хромосом (рис. 3б, 3в: пара 1). У японского и охотоморского бахромчатых бычков имеются крупные СТ хромосомы, размеры которых значительно превышают размеры всех остальных хромосом в их кариотипах (рис. 3а: пары 1–3; рис. 3в: пары 2–4). Крупные СТ хромосомы пары 3 у *P. japonicus* и пары 4 у *P. minutus* (рис. 3а, 3в) по размерам соответствуют крупным СТ хромосомам у *P. allisi* (рис. 3б: пара 2). У всех трех видов одинаковое количество А хромосом (рис. 3а: пары 19–21; рис. 3б, 3в: пары 18–20). Кариотипы *P. japonicus*, *P. allisi* и *P. minutus* содержат большое число одноплечих СТ и А хромосом (рис. 3).

Однако при общем сходстве в хромосомных наборах наблюдаются различия, которые, как и морфологические признаки, позволяют дифференцировать изученные виды бахромчатых бычков. М хромосомы *P. allisi* и *P. minutus* различаются по размерам (рис. 3б, 3в: пара 1). У бахромчато-

го бычка Эллиса они более крупные, чем все остальные хромосомы в его кариотипе. По сравнению с М хромосомами у *P. allisi*, у охотоморского бахромчатого бычка М хромосомы мелькие. У *P. minutus* М хромосомы по размерам соответствуют средним СТ хромосомам (рис. 3в: пара 1, пары 5–11).

Кариотип *P. japonicus* ($2n = 42$) отличается от такового у *P. allisi* и *P. minutus* ($2n = 40$) по числу и морфологии хромосом и представлен только одноплечими хромосомами (рис. 3). В хромосомном наборе *P. japonicus* содержится 18 пар СТ хромосом, у *P. allisi* и *P. minutus* на две пары СТ хромосом меньше – 16 пар (рис. 3а: пары 1–18; рис. 3б, 3в: пары 2–17). В кариотипе *P. allisi* отсутствуют две пары крупных СТ хромосом, маркерных для *P. japonicus* и *P. minutus* (рис. 3а: пары 1, 2; рис. 3в: пары 2, 3).

Общее сходство структуры хромосомных наборов и NF (42) у изученных бахромчатых бычков позволяет предположить, что М хромосомы у *P. allisi* и *P. minutus* образовались вследствие робертсоновских транслокаций, произошедших в ходе эволюции их кариотипов. Выявленные различия размеров маркерных М хромосом у *P. allisi* и *P. minutus* можно объяснить участием в их образовании разных одноплечих хромосом. Крупные М хромосомы *P. allisi* могли образоваться в результате центромерного слияния двух пар крупных СТ хромосом, а мелкие М хромосомы *P. minutus* – двух пар мелких или средних одноплечих хромосом. Проведенные кариологические исследования керчаковых рыб показали, что ведущее место среди структурных перестроек хромосом в этой группе занимают робертсоновские транслокации (Васильев, 1985; Морева и др., 2017). Они являются основным механизмом эволюционного изменения кариотипов у видов рода *Myoxocephalus*, приведшим к их существенным различиям (Морева, Борисенко, 2017).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлены молекулярно-генетические и кариологические признаки, позволяющие проводить надежную идентификацию видов *P. japonicus*, *P. allisi*, *P. minutus* и *P. camtschaticus*. На основе молекулярно-генетического изучения обнаружена более тесная филогенетическая связь *P. minutus* с *P. japonicus* и выявлены существенные отличия *P. camtschaticus* от этих видов. Значительное сходство общей структуры кариотипов *P. japonicus*, *P. allisi* и *P. minutus* свидетельствует о их близком родстве. Обнаруженные различия видов соответствуют их дифференциации по морфологическим и биологическим признакам.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-29-02416_офи_м) и Программы “Дальний Восток” (проект № 18-4-002).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М.: Наука. 1985. 299 с.

- Линдберг Г.У., Красюкова З.В. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Л.: Наука. 1987. Ч. 5. 522 с.
- Морева И.Н., Борисенко С.А. Кариотип многоилгого керчака *Myoxocephalus polyacanthocephalus* (Pallas, 1814) (Pisces: Cottidae) из российской части ареала // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 1. С. 64–69.
- Морева И.Н., Радченко О.А., Петровская А.В. и др. Молекулярно-генетический и кариологический анализ двурогих бычков группы *Enophrys diceraus* (Cottidae) // Генетика. 2017. Т. 53. № 9. С. 1086–1097.
- Неелов А.В. Обзор бахромчатых бычков рода *Porocottus* Gill и близких к нему родов (Cottidae, Myoxocephalinae). Л.: Зоогеография и систематика рыб. 1976. С. 78–112.
- Неелов А.В. Сейсмодатированная система и классификация керчаковых рыб (Cottidae: Myoxocephalinae, Artediellinae). Л.: Наука. 1979. 208 с.
- Парин Н.В., Евсеев С.А., Васильева Е.Д. Рыбы морей России: аннотированный каталог. М.: Товарищество науч. изд. КМК. 2014. 733 с.
- Поезжалова-Чегодаева Е.А. Морфологическая характеристика охотоморского бахромчатого бычка *Porocottus minutus* (Cottidae) из Тайской губы Охотского моря // Чтения памяти академика К.В. Симакова: Материалы докл. Всероссийск. науч. конф. (Магадан, 22–24 ноября 2017 г.). Магадан: СВКНИИ ДВО РАН. 2017. 300 с.
- Радченко О.А., Черешнев И.А., Петровская А.В. Родственные отношения и дивергенция некоторых таксонов рыб подсемейства Lycodinae (Zoaridae, Pisces) по молекулярно-генетическим и морфологическим данным // Вопр. ихтиологии. 2009. Т. 49. № 5. С. 603–616.
- Савельев П.А., Коллаков Е.В. Распространение и первые данные по биологии япономорского бахромчатого бычка *Porocottus japonicus* Schmidt, 1935 (Scorpaeniformes: Cottidae) в северо-западной части Японского моря // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 1. С. 69–71.
- Соколовский А.С., Дударев В.А., Соколовская Т.Г., Соломатов С.Ф. Рыбы российских вод Японского моря (аннотированный и иллюстрированный каталог). Владивосток: Дальнаука. 2007. 199 с.
- Соколовский А.С., Соколовская Т.Г., Яковлев Ю.М. Рыбы залива Петра Великого. Владивосток: Дальнаука. 2011. 431 с.
- Токранов А.М., Шейко Б.А. К познанию ихтиофауны прибрежных вод острова Старичков // Биота острова Старичков и прилегающей к нему акватории Авачинского залива / Тр. Камчат. фил. Тихоокеанского института географии ДВО РАН. Вып. VIII. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 2009. 350 с.
- Федоров В.В., Черешнев И.А., Назаркин М.В. и др. Каталог морских и пресноводных рыб северной части Охотского моря. Владивосток: Дальнаука. 2003. 206 с.
- Черешнев И.А., Волобуев В.В., Хованский И.Е. и др. Прибрежные рыбы северной части Охотского моря. Владивосток: Дальнаука. 2001. 197 с.
- Шейко Б.А., Федоров В.В. Каталог позвоночных Камчатки и сопредельных морских акваторий. Петропавловск-Камчатский: Камчат. печат. двор. 2000. 166 с.
- Fricke R., Eschmeyer W.N., R. van der Laan (eds). Catalog of fishes: genera, species, references. 2018. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>).
- Kligerman A.D., Bloom S.E. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes // J. Fish. Res. Board Can. 1977. V. 34. P. 266–269.
- Leaché A.D., Reeder T.W. Molecular systematics of the eastern fence lizard (*Sceloporus undulatus*): a comparison of parsimony, likelihood, and Bayesian approaches // Syst. Biol. 2002. V. 51. № 1. P. 44–68.
- Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. 1982. 480 p.
- Muto F., Choi Y., Yabe M. *Porocottus leptosomus* sp. nov., from the west coast of Korea, Yellow Sea (Scorpaeniformes: Cottidae) // Ichthyol. Res. 2002. V. 49. № 3. P. 229–233.
- Posada D., Crandall K.A. Modeltest: testing the model of DNA substitution // Bioinformatics. 1998. V. 14. P. 817–818.
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // Bioinformatics. 2003. V. 19. P. 1572–1574.
- Swofford D.L. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other Methods). Version 4. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. 2002. 144 p.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. P. 2725–2729.
- Yabe M. A New cottid species, *Porocottus coronatus*, from the Pacific coast of Hokkaido, Japan // Jpn. J. Ichthyol. 1992. V. 38. № 4. P. 361–365.

Karyological and Molecular-Genetic Differentiation of Fringed Sculpins of the Genus *Porocottus* Gill, 1859 (Cottidae: Myoxocephalinae)

I. N. Moreva^a, O. A. Radchenko^b, and A. V. Petrovskaya^b

^aNational Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041 Russia

^bInstitute of Biological Problems of the North, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Magadan, 685000 Russia

Karyological and molecular-genetic research on fringed sculpins of genus *Porocottus* has been conducted for the first time. Karyotypes of *P. japonicus* ($2n = 42$, $NF = 42$), *P. allisi*, and *P. minutus* ($2n = 40$, $NF = 42$) have been studied. An analysis of mitochondrial DNA shows high levels of species differentiation, as well as significant distinctions of *P. camtschaticus* from *P. minutus* and *P. japonicus*. On the basis of a comprehensive study, the characters that allow reliable identification of *P. japonicus*, *P. allisi*, *P. minutus*, and *P. camtschaticus* have been found.

Keywords: *Porocottus japonicus*, *P. allisi*, *P. minutus*, *P. camtschaticus*, Sea of Japan, Sea of Okhotsk, mitochondrial DNA (mtDNA), karyotype