

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ДАТИРОВАНИЕ ФИЛОГЕНИИ ОСЕТРОВЫХ (Acipenseridae) НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА СОВОКУПНЫХ ДАННЫХ

© 2022 г. С. В. Шедько*

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Владивосток, 690022 Россия

*e-mail: shedko@biosoil.ru

Поступила в редакцию 05.12.2021 г.

После доработки 15.12.2021 г.

Принята к публикации 24.01.2022 г.

На основе комбинированной матрицы молекулярных (митогеномы) и морфологических признаков, составленной для современных и ископаемых видов Acipenseriformes, проведено байесовское датирование филогении Acipenseridae. Установлено, что предковые линии Polyodontidae и Acipenseridae разошлись примерно 162 (195–137) млн лет назад. Дивергенция линий в кронах рецентных Polyodontidae и Acipenseridae началась практически одновременно при переходе от мела к палеогену – 72 млн лет (95–55) и 68 млн лет (93–47) назад соответственно. Основные группы линий современных Acipenseridae сформировались в олигоцене–миоцене. Медианный возраст современных видов Acipenseridae составил 5.2 млн лет. Полногеномные дубликации у Acipenseridae произошли в разные периоды времени. У общего предка тихоокеанских видов осетров это случилось примерно 65–36 млн лет назад, а у общего предка *Acipenser fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii* и *A. baerii* – примерно 29–15 млн лет назад. Переход от 4n к 6n состоянию генома в линии *A. brevirostrum* произошел во второй половине миоцена или позднее. Скорость дивергенции для всего митогенома, митогенома без D-петли, последовательностей белковых генов и D-петли составила 0.282 ± 0.071 , 0.151 ± 0.004 , 0.186 ± 0.014 и 2.656 ± 1.192 процента замещенных нуклеотидов на млн лет соответственно. Показана ограниченная применимость термина “живое ископаемое” к видам Acipenseridae.

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, морфология, ископаемые, молекулярные часы.

DOI: 10.31857/S001667582206008X

Среди семидесяти двух отрядов современных лучеперых рыб Actinopterygii [1], обнимающих более чем 32000 видов [2], четыре отряда стоят особняком по сочетанию исключительно древнего возраста и контрастирующего с этим малого числа их ныне живущих представителей: Polypteriformes (~383 млн лет – 14 видов), Acipenseriformes (~350 млн лет – 27 видов), Amiiformes (~268 млн лет – 1 вид) и Lepisosteiformes (~268 млн лет – 7 видов) [1, 2]. Отряд Acipenseriformes, в отличие от остальных трех отрядов, слагает не одно, а два современных семейства: веслоносые Polyodontidae (два вида) и собственно осетровые Acipenseridae (25 видов).

Каждый из перечисленных отрядов представляет собой отдельную эволюционную линию с особым типом морфологической и геномной организации. Сравнительные исследования геномов представителей этих эволюционных линий могут многое дать для понимания того, как формировалось разнообразие не только лучеперых рыб, но и позвоночных в целом.

Осетрообразные интересны тем, что их эволюция сопровождалась многими раундами полногеномных дубликаций [3, 4]. В настоящее время в GenBank имеется восемь сборок полных геномов одного вида веслоносых и трех видов осетровых. Их полноценный анализ, особенно в части исследований феномена полиплоидизации, требует знания временной шкалы диверсификации современных Acipenseriformes.

Молекулярному датированию филогении Acipenseriformes были специально посвящены три исследования [5–7]. И все три работы, на наш взгляд, имеют существенные недостатки, которые не позволяют полностью довериться их результатам.

В двух работах [5, 6] отсутствовали необходимые внешние группы. Использованные в этих работах методы молекулярного датирования требуют фиксации возраста корня филогенетического дерева. Как правило, когда в расчетах задействовано несколько внешних групп, заданный заранее возраст корня дерева (он нужен для первоначальной настройки хода “молекулярных часов”)

практически не сказывается на оценках возраста в той части филогении, которая является объектом исследования. Тем более, когда в последней имеются надежные реперные датировки. Здесь же, в отсутствие внешних групп, *a priori* принятый возраст корня дерева по сути предопределил временные рамки хронограммы (т.е. составил искомый результат). В итоге в одном случае заданный максимальный возраст кроны рецентных *Acipenseriformes* в 200 млн лет превратился в оценку 184.4 млн лет (95%-ный интервал наивысшей апостериорной плотности, или HPD:150.0–199.5) (Fig. 1, Table 3 – [5]). В другом случае тот же возраст в 200 млн лет, принятый как максимальный, привел к оценке в 204.1 млн лет (HPD:180.3–233.6) (Fig. 3, Table S8 – [6]). Датировка возраста кроны дерева рецентных *Acipenseriformes* в этих работах базировалась на находке ископаемого представителя *Polyodontidae* из Готеривского (Hauterivian) яруса Нижнего мела. Однако возраст этой формации ограничен пределами 129.4–132.9 млн лет [8], а не простирается до начала юры (200 млн лет). В других работах, в которых датирование филогении осетровых не было основной целью, а являлось лишь частью большого исследования и проводилось попутно на данных по единичным видам, рассчитанный возраст кроны дерева рецентных *Acipenseriformes* оказался намного моложе – около 131 ([9]: Fig. 2) или 139 ([1]: Fig. 2, Supplement 2) млн лет. Представляется, что все датировки в работах [5, 6] искусственно завышенные.

Кроме датировок, вызывают вопросы и данные, положенные в основу работ. По крайней мере часть из использованных в работе [5] данных очень низкого качества. К примеру, задействованные в расчетах последовательности митохондриального гена цитохрома *b* амурского осетра *Acipenser schrenckii* (GenBank: AJ251451) и сестринского к нему белого осетра *A. transmontanus* (GenBank: AV042837) различались по 28 нуклеотидным позициям. Две трети из этих замен в последующих работах подтверждены не были – депонированная в 1999 г. последовательность AJ251451 отличается примерно по 1.5% нуклеотидных позиций (наблюдается несколько замен со сдвигом рамок считывания) от множества других “свежих” последовательностей гена цитохрома *b* амурского осетра, размещенных в депозитории GenBank. Отсюда можно понять, что время дивергенции этих видов, определенное в работе [5], многократно завышено. В этой работе, кроме дерева-хронограммы, построенного на основе последовательностей гена цитохрома *b*, была также получена хронограмма, базировавшаяся на анализе полных митогеномов. Эти две датировки в деталях довольно существенно различались. За основной результат авторами была принята первая хронограмма (ген цитохрома *b*), а вторая была размещена в приложении к статье [5].

Результаты еще одной работы, посвященной молекулярному датированию филогении *Acipenseriformes* [7], также вызывают вопросы. Так, митогеномы в парах сравнения *A. medirostris* и *A. mikadoi*, *Scaphirhynchus albus* и *S. platyrhynchus* мало отличаются друг от друга – соответственно 0.003 и 0.001 замещенных нуклеотидов на позицию (контролирующий участок мтДНК исключен; расчет произведен на последовательностях, загруженных из GenBank согласно номерам доступа, указанным в работе [7]). Однако время дивергенции этих видов в первом случае составило 3 млн лет, а во втором – 25.4 млн лет (Fig. 3 в [7]). Отличия митогеномов *A. sturio* и *A. oxyrinchus*, напротив, заметно (на порядок) выше – 0.032 замещенных нуклеотидов на позицию. Однако оценка времени дивергенции *A. sturio* и *A. oxyrinchus* оказалась неожиданно мала – 0.9 млн лет (Fig. 3 в [7]). Чем обусловлены эти странности, не ясно. Возможно, авторы что-то напутали в матрице данных. Время дивергенции предковых линий *Polyodontidae* и *Acipenseridae* авторами было фиксировано в виде интервала в 120.8–201.5 млн лет. Другие калибровки для кроны дерева рецентных *Acipenseriformes* отсутствовали, что также снижает ценность этой работы.

В последние годы успешно развивается подход к датированию филогении путем совместного анализа ископаемых (используются морфологические данные) и рецентных (используются как морфологические, так и молекулярные данные) видов [10]. Гомологичные морфологические характеристики ископаемых и рецентных таксонов объединяются в одну матрицу, которая анализируется вместе с молекулярными данными по рецентным таксонам. Это дает возможность, базируясь на известном возрасте ископаемых таксонов и моделируя процесс видообразования, вымирания, сохранения и обнаружения ископаемых окаменелостей, провести датирование ветвлений суммарного филогенетического дерева. При этом байесовский анализ позволяет учитывать как неопределенность в расположении ископаемых и рецентных видов на дереве, так и неопределенность в оценках времени их дивергенции. Показано, что данный подход оправдан даже при использовании матриц с большим количеством незаполненных позиций, что является обычным для данных, характеризующих ископаемые таксоны [11, 12].

Цель настоящей работы состояла в проведении молекулярного датирования филогении *Acipenseridae* на основе совокупного анализа морфологических и молекулярных данных, с вовлечением в него всех подробно исследованных ископаемых видов *Acipenseriformes*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили уже опубликованные генетические и морфологические данные. Первые состояли из последовательностей 23 полных и двух фрагментарных митохондриальных геномов осетрообразных, взятых из базы GenBank/NCBI (часть из них была секвенирована нами ранее [13, 14]) и представляющих все основное разнообразие современных *Acipenseriformes*: два вида веслоносных и 21 из 25 современных видов осетровых (табл. 1). Атлантический осетр был представлен двумя подвидами, а амурский осетр – митогеномами из двух его мтДНК-гаплогрупп [14, 15]. При построении филогенетического дерева по мтДНК-данным, с целью стабилизировать положение корня *Acipenseriformes* (путем перелома длинной ветви, связывающей веслоносных и осетровых) в анализ в качестве внешних групп вводились данные по митогеномам одного вида амиевых *Amiidae* (*Amiiformes*) и двух видов панцирниковых щук *Lepisosteidae* (*Lepisosteiformes*) (табл. 1).

Последовательности митогеномов были выравнены с помощью программы MAFFT v6 [16]. Затем с помощью программы RDP v3 [17] они были протестированы на предмет присутствия в них участков с признаками рекомбинации. Последняя иногда идентифицируется как артефакт, при сборке митогеномов по результатам секвенирования коротких фрагментов ДНК, амплифицированных с помощью полимеразной цепной реакции для разных видов в одно время в одной лаборатории. Такие подозрительные участки были найдены в нескольких депонированных в GenBank митогеномах: KJ402277 (район гена *COI*), KJ174513 (районы генов *ND4L*, *ND4*) и AJ585050 (районы генов *COI*, *ND4*, *ND5*, *ND6*). В этих митогеномах нуклеотидные позиции с подозрением на рекомбинацию были замещены знаком вопроса. Далее последовательности были разбиты на отдельные гены и с помощью программы MAFFT окончательно выравнены. После этого было произведено объединение индивидуальных выравниваний. Суммарная матрица генетических данных была просмотрена и участки с двусмысленным выравниванием, а также все стоп-кодоны в белоккодирующих генах были исключены. Контролирующий участок (*D*-петля) в филогенетический анализ включен не был по причине его высокой скорости эволюции у осетровых рыб, на порядок отличающейся от остальной части митохондриального генома [13, 14].

Генетическая составляющая суммарной матрицы данных была подразделена на шесть, предположительно структурно однородных, блоков нуклеотидов: (1) первая, (2) вторая и (3) третья позиции кодонов 12 белок-кодирующих генов; (4) ген *ND6*, кодируемый в отличие от других ге-

нов белков легкой цепью мтДНК и имеющий по этой причине иной частотный спектр нуклеотидов; гены (5) рибосомальной и (6) транспортной РНК. Для каждого из этих блоков с помощью программы RAUP v4a (сборка 167) [18] на основе ВИС-критерия была подобрана оптимальная модель нуклеотидных замещений: GTR + I + G₄, TrN + I, TrN + I + G₄, HKY + G₄, TrN + I + G₄, HKY + I + G₄ соответственно. Использование модели нуклеотидных замещений TrN в программе MrBayes [19] не предусмотрено. Поэтому при расчетах в этой программе модель TrN была заменена на близкую к ней модель – HKY.

Морфологическая часть суммарной матрицы данных (седьмое ее подразделение) состояла из комбинации двух матриц, характеризовавших 11 ископаемых и 12 современных видов осетрообразных (табл. 1). Эти данные были взяты из двух работ [20, 21], в которых исследовались филогенетические связи ископаемых представителей *Acipenseriformes* на разном, частью перекрывающемся, наборе видов. Некоторые из признаков присутствовали в обеих матрицах, но имели неодинаковую формулировку их состояний. Матрицы были объединены как есть, без попыток их ревизии. Таким образом, морфологические признаки, встречающиеся в обеих матрицах, получили больший вес, отражающий, как думается, большую надежность интерпретации состояний признаков у ископаемых остатков осетрообразных. После исключения из оригинальных матриц инвариантных морфологических признаков в седьмом подразделении объединенной матрицы данных оказалось 100 позиций. Филогенетический анализ морфологических признаков базировался на эволюционной модели Mk [22] с четырьмя категориями гамма-распределения скоростей их “мутирования” (Mk + G₄). При этом для признаков с состояниями более двух было наложено ограничение – переходы допускались только между смежными состояниями (“*State = ordered*”).

Байесовский филогенетический анализ итоговой суммарной матрицы данных, размерностью 39 × 15728 (39 объектов исследования, 15628 нуклеотидных позиций, подразделенных на шесть блоков, плюс 100 морфологических признаков в седьмом блоке), выполняли с помощью программы MrBayes v3.2.7a. Для каждого из семи подразделений матрицы параметры моделей эволюции оценивались по отдельности. Анализ включал в себя запуск четырех цепей Маркова с протяженностью в 80 × 10⁶ шагов с отбором каждого тысячного из генерированных деревьев. Первые 25% полученных деревьев отбрасывались, а оставшиеся использовались для построения консенсусного филогенетического дерева и получения оценок апостериорной вероятности его ветвлений. Эффективный размер выборок (Effective Sample Size,

Таблица 1. Использованный материал по Acipenseriformes и двум внешним группам – Amiiformes и Lepisosteiformes: митогеномы (номера доступа в GenBank/NCBI) и морфологические признаки (дано суммарное число признаков и число информативных признаков, характеризовавших тот или иной вид)

Вид	Митогеном	Морфология	
		<i>n</i> = 43 [20]	<i>n</i> = 57 [21]
Acipenseriformes			
†Chondrosteidae			
† <i>Chondrosteus acipenseroides</i> Agassiz, 1844		41	45
† <i>Strongylosteus hindenburgi</i> (Hennig, 1925)		36	
†Peipiaosteidae			
† <i>Peipiaosteus pani</i> Liu and Zhou, 1965		42	40
† <i>Peipiaosteus fengningensis</i> Bai, 1983		43	
† <i>Yanosteus longidorsalis</i> Jin et al., 1995		43	
† <i>Liaosteus hongii</i> Lu, 1995		32	
Polyodontidae			
† <i>Protopsephurus liui</i> Lu, 1994		41	43
† <i>Paleopsephurus wilsoni</i> MacAlpin, 1941		35	
† <i>Crossopholis magnicaudatus</i> Cope, 1883		41	
<i>Psephurus gladius</i> (Martens, 1862)	AY571339	43	
<i>Polyodon spathula</i> (Walbaum, 1792)	KU985086	42	52
Acipenseridae			
† <i>Priscosturion longipinnis</i> Grande et Hilton, 2006			40
† <i>Anchiacipenser acanthaspis</i> Sato, Murray, Vernygora et Currie, 2018			36
<i>Acipenser oxyrinchus oxyrinchus</i> Mitchill, 1814	KP997217	43	57
<i>Acipenser oxyrinchus desotoi</i> Vladykov, 1955	KP997218		
<i>Acipenser sturio</i> Linnaeus, 1758	KP997216		
<i>Acipenser dauricus</i> Georgi, 1775	KJ402277		
<i>Acipenser medirostris</i> Ayres, 1854	KM591217		
<i>Acipenser mikadoi</i> Hilgendorf, 1892	KX276658		
<i>Acipenser dabryanus</i> Duméril, 1869	KP981414		
<i>Acipenser sinensis</i> Gray, 1835	KJ174513		
<i>Acipenser schrenckii</i> Brandt, 1869	KX276659, KX276660*		
<i>Acipenser transmontanus</i> Richardson, 1836	AB042837	43	57
<i>Huso huso</i> (Linnaeus, 1758)	AY442351	43	56
<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	KF153104		56
<i>Acipenser stellatus</i> Pallas, 1771	AJ585050		57
<i>Acipenser nudiventris</i> Lovetsky, 1828	KU321569		
<i>Acipenser fulvescens</i> Rafinesque, 1817	KU985070		57
<i>Acipenser brevirostrum</i> LeSueur, 1818	KX817311	43	57
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i> Brandt et Ratzeburg, 1833	FJ392605		
<i>Acipenser baerii</i> Brandt, 1869	JQ045341		57
<i>Scaphirhynchus albus</i> (Forbes et Richardson, 1905)	AP004354		
<i>Scaphirhynchus platyrhynchus</i> (Rafinesque, 1820)	KU985071	43	57
<i>Pseudoscaphirhynchus hermanni</i> (Kessler, 1877)	EF484342**		57
<i>Pseudoscaphirhynchus kaufmanni</i> (Kessler, 1877)	EF484343, DQ202326, DQ202325***	43	57

Таблица 1. Окончание

Вид	Митогеном	Морфология	
		<i>n</i> = 43 [20]	<i>n</i> = 57 [21]
Amiiformes			
<i>Amia calva</i> Linnaeus, 1766	AB042952		
Lepisosteiformes			
<i>Lepisosteus oculatus</i> Winchell, 1864	AB042861		
<i>Atractosteus tropicus</i> Gill, 1863	KJ531198		

Примечание. † – таксон, известный только в ископаемом состоянии; * – мтДНК-гаплогруппа BG и SM соответственно [15]; ** – частичный митогеном (ген цитохрома *b*); *** – частичный митогеном (ген цитохрома *b*, фрагмент субъединицы II цитохром с оксидазы и фрагмент 12S рРНК соответственно).

ESS) для всех контролируемых параметров байесовского анализа был 1000 и более. С целью проверки воспроизводимости результатов анализ проводился в нескольких повторностях.

Байесовское датирование проводилось при следующих условиях. Филогенетическое дерево, полученное на предыдущем этапе, фиксировано не было, а строилось заново. Параметры эволюционных моделей эволюции признаков повторяли предыдущий вариант анализа. Для априорной вероятности (приор в дальнейшем) возраста дерева было взято смещенное экспоненциальное распределение: минимальный возраст – 200 млн лет, средний – 244.7 млн лет [“prset treeagepr = offset-exponential(200, 244.7)”]. Что в результате давало 5%-ный и 95%-ный квантили возраста кроны дерева Acipenseriformes в 202.3 (примерный возраст ископаемого *Chondrosteus*) и 333.9 (возраст ископаемого *Platysomus* – возможной ближайшей к осетробразным линии лучеперых [23]) млн лет соответственно. Возраст 11 ископаемых представителей Acipenseriformes был взят как фиксированный, отражающий максимальный возраст эпохи слоев с окаменелостями либо точный возраст породы, содержащей их (табл. 2). Ископаемым видам разрешалось не только находиться в виде самостоятельной ветви на дереве, но и оказываться в виде промежуточной стадии на ветви, ведущей к другим видам: “prset samplestrat = random”. Доля современных видов, представленных в анализе: “prset sampleprob = 0.84”. Включение датированных ископаемых остатков в анализ осуществлялось через выбор приора процесса рождения-гибели для ископаемых видов [10]: “prset brlenspr = clock:fossilization”. Приор для нетто-скорости диверсификации в указанной модели был принят как “prset speciationpr = exp(0.05)”, что давало 5%-ный и 95%-ный квантили видообразовательных событий на млн лет, равные 0.003 и 0.15. Приор скорости мутирования следовал логнормальному распределению: “prset clockratepr = lognorm(-6.64, 1)”. Это соответствовало средней скорости 0.00215 замен на млн лет на позицию (5%-ный и 95%-ный квантили – 0.00025 и 0.00700). Поскольку длины смеж-

ных конечных ветвей и смежных клад в байесовском филогенетическом дереве Acipenseriformes варьировали в широких пределах, что свидетельствовало о резких изменениях скорости эволюции в соседних ветвях дерева, то модель “молекулярных часов” IGR [36], где каждая ветвь имеет собственную скорость, взятую из гамма-распределения, была принята как адекватная для данной ситуации. Протяженность анализа составляла те же 80×10^6 шагов с отбором каждого тысячного. Из отобранных первая четверть шагов отбрасывалась, а оставшиеся использовались для датирования филогенетического дерева и оценки сопутствующих параметров. Для всех контролируемых параметров байесовского анализа, кроме clockrate, ESS составил 1000 и более (для clockrate – 820). Анализ проводился в нескольких повторностях с проверкой результатов на сходимость.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно проведенной филогенетической реконструкции (рис. 1) семейства Polyodontidae и Acipenseridae монофилетичны. Рецентные виды Acipenseridae сформировали три основных подразделения: две линии осетров, распространенных в бассейне Атлантического океана (первая – *A. oxyrinchus* и *A. sturio*; вторая – *H. huso*, *A. ruthenus*, *A. stellatus*, *A. nudiventris*, *A. fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii*, *A. baerii*, *S. albus*, *S. platyrinchus*, *P. hermanni* и *P. kaufmanni*), а также линия тихоокеанских видов (*A. medirostris*, *A. mikadoi*, *A. dauricus*, *A. dabryanus*, *A. sinensis*, *A. schrenckii* и *A. transmontanus*). Ископаемый *Priscosturion* занял внешнюю, относительно других линий Acipenseridae, позицию. Расположение *Anchiacipenser* внутри клады современных Acipenseridae получило слабую поддержку. Неустойчивое позиционирование ископаемых таксонов внутри клады Acipenseridae, вызванное, вероятно, малым числом доступных для анализа филогенетически значимых морфологических признаков, привело к низким (менее 0.95)

Таблица 2. Ископаемые остатки осетрообразных, использованные для датировки филогении Acipenseridae

Таксон	Стратиграфическая характеристика	Абсолютный возраст ископаемых (млн лет)
Chondrosteidae		
<i>Chondrosteus acipenseroides</i> Agassiz, 1844	Нижняя юра, нижний Лейас Дорсета, Англия [24, 25]	201.3 (максимальный возраст эпохи [8])
<i>Strongylosteus hindenburgi</i> (Hennig, 1925)	Нижняя юра, верхний Лейас юго-запада Германии [24, 26]	182.7 (максимальный возраст эпохи [8])
Peipiaosteidae		
<i>Liaosteus hongii</i> Lu, 1995	Ранняя средняя юра, формация Haifanggou запада Ляонин, Китай [20]	174.1 (максимальный возраст эпохи [8])
<i>Peipiaosteus fengningensis</i> Bai, 1983	Нижний мел, формация Dabeigou севера Хэбей, Китай [20]	133.9 (максимальный возраст пород с ископаемым [27])
<i>Peipiaosteus pani</i> Liu and Zhou, 1965	Нижний мел, формация Yixian запада Ляонин, Китай [20]	125 (возраст пород с ископаемым [27, 28])
<i>Yanosteus longidorsalis</i> Jin et al., 1995	Нижний мел, формация Yixian запада Ляонин, Китай [20]	125 (возраст пород с ископаемым [27, 28])
Polyodontidae		
<i>Protopsephurus liui</i> Lu, 1994	Нижний мел, формация Yixian запада Ляонин, Китай [20]	125 (возраст пород с ископаемым [27, 28])
<i>Paleopsephurus wilsoni</i> MacAlpin, 1941	Переход от верхнего мела к палеоцену, формация Hell Creek Монтаны, США [29]	66 (мел-палеогеновая граница [8])
<i>Crossopholis magnicaudatus</i> Cope, 1883	Ранний эоцен, формация Green River юго-запада Вайоминг, США [29]	52.2 (возраст пород с ископаемым [30, 31])
Acipenseridae		
<i>Priscosturion longipinnis</i> Grande et Hilton, 2006	Верхний мел, формация Judith River Монтаны, США [32, 33]	79.6 (максимальный возраст пород с ископаемым [34])
<i>Anchiacipenser acanthaspis</i> Sato, Murray, Vernygora et Currie, 2018	Верхний мел, формация Dinosaur Park Альберты, Канада [35]	75.5 (максимальный возраст пород с ископаемым [35])

оценкам поддержки ветвлений в основании клады Acipenseridae, а также порядка объединения ее трех основных подразделений. При исключении ископаемых таксонов, а также блока морфологических признаков, поддержка практически всех ветвлений внутри Acipenseridae становится равной 0.99–1.0 (рис. 1). Исключение составляет клада, объединяющая тихоокеанскую линию осетров с одной из двух линий атлантических осетров. Поддержка данного объединения осталась сравнительно низкой – 0.77. Ее величина определяется присутствием в данном варианте анализа (основанном исключительно на митохондриальных данных) внешних для Acipenseriformes групп (*Amia*, *Lepisosteus* и *Atractosteus*; на рисунке не показаны), с которыми их связывают длинные ветви. При исключении этих внешних групп поддержка указанного объединения становится существенной – 0.94.

Топология байесовской хронограммы (рис. 2) повторяла таковую байесовского дерева (рис. 1) и отличалась лишь позицией *Anchiacipenser* – внешней относительно современных видов Acipenseridae, а не в одной кладе с атлантическими осетрами *A. sturio* и *A. oxyrinchus*. Причиной тому, по всей видимости, является возраст ископаемого таксона, который “перевесил” его морфологическое сходство с *A. oxyrinchus* в состоянии единичных филогенетически значимых признаков. Расположение *Anchiacipenser* на дереве-хронограмме в целом было неустойчивое, что привело к сравнительно низкой (0.66) поддержке монофилии современных представителей Acipenseridae. Остальные ветвления в внутри клады Acipenseridae получили существенную (0.9 и выше) поддержку (рис. 2).

Согласно результатам датирования (рис. 2) предковые линии веслоносовых и осетровых разошлись примерно 161.5 (95%-ный интервал наивысшей

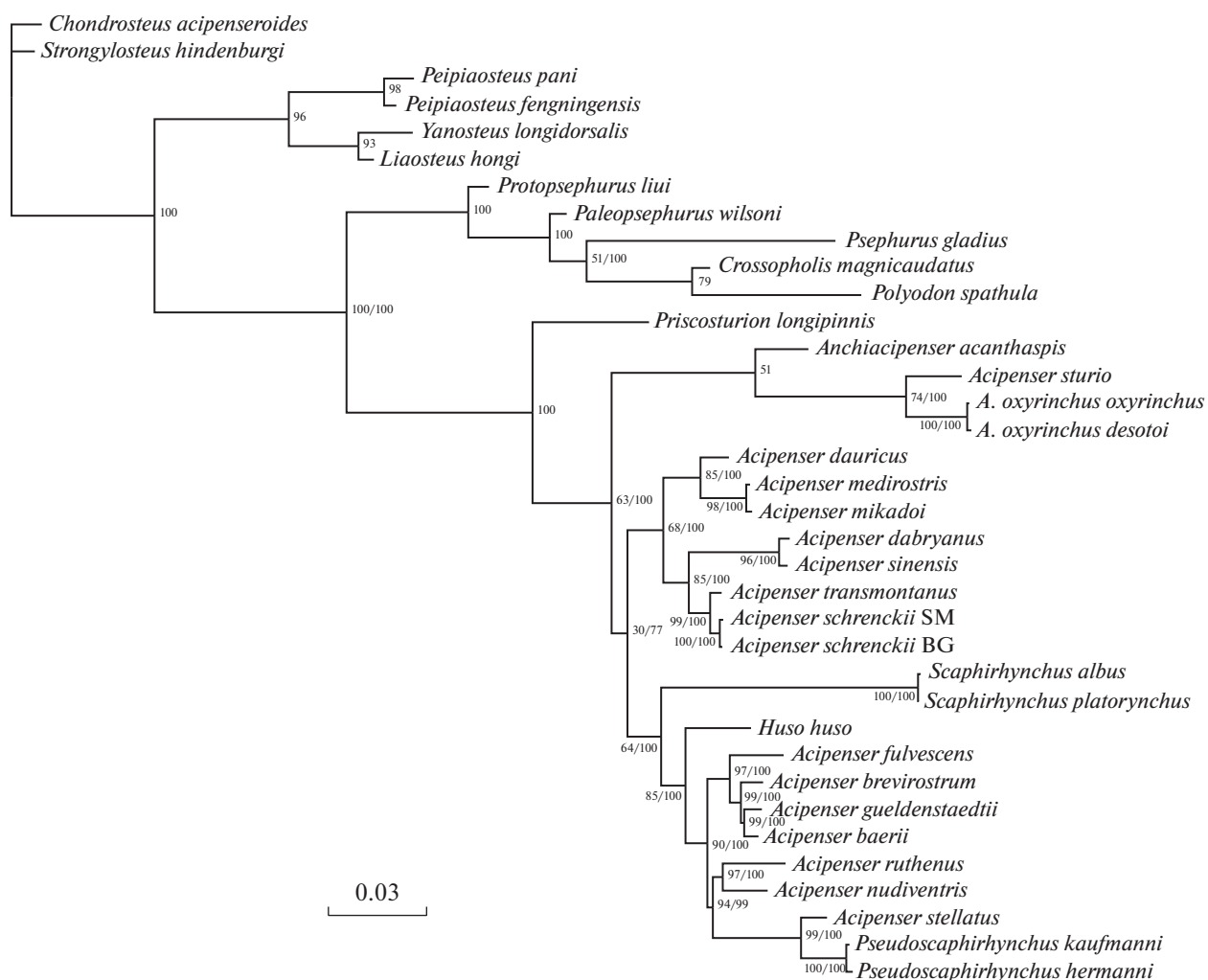


Рис. 1. Байесовская схема филогенетических взаимоотношений ископаемых и рецентных Acipenseriformes, построенная по совокупным (мтДНК, морфологические признаки – табл. 1) данным. Цифры – оценки байесовской поддержки ($\times 100$), полученные при использовании полного набора данных или (отделены косой чертой) в том случае, когда анализировались только последовательности мтДНК (ископаемые таксоны и морфологические признаки были исключены).

апостериорной плотности, HPD:195.1–136.5) млн лет назад – т.е. в юрском периоде. Дивергенция линий современных видов внутри веслоносых и осетровых началась примерно в один и тот же период при переходе от мела к палеогену – 72 млн лет (HPD:95.11–54.8) и 67.6 млн лет (HPD:92.9–47.3) назад соответственно. Основные группы линий современных Acipenseridae сформировались в олигоцене–миоцене. Возраст конечных ветвей (или листьев) дерева Acipenseridae в сравнении с его общим возрастом оказался сравнительно мал – медианный возраст современных видов составил, по нашим расчетам, 5.2 млн лет.

Чистая (нетто) скорость диверсификации [37] в кроне Acipenseridae, рассчитанная с помощью пакета geiger [38] на основе полученной хроно-

граммы, составила 0.0384 вида на млн лет без учета вымирания видов. При допущении 90%-ной доли вымерших видов – 0.0182 линий на млн лет. Для всего дерева Acipenseriformes, включая ископаемые таксоны, согласно результатам байесовского датирования она оказалась равной 0.0110 (HPD:0.0016–0.0208).

Что касается датирования событий полиплоидизации геномов осетровых, то исходя из данных хронограммы на рис. 2, можно заключить, что полногеномные дубликации в линиях Acipenseridae произошли в разные периоды времени. В линии общего предка тихоокеанских видов осетров это случилось примерно 65–36 млн лет назад (в палеогеновом периоде), а в линии общего предка *A. fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii* и

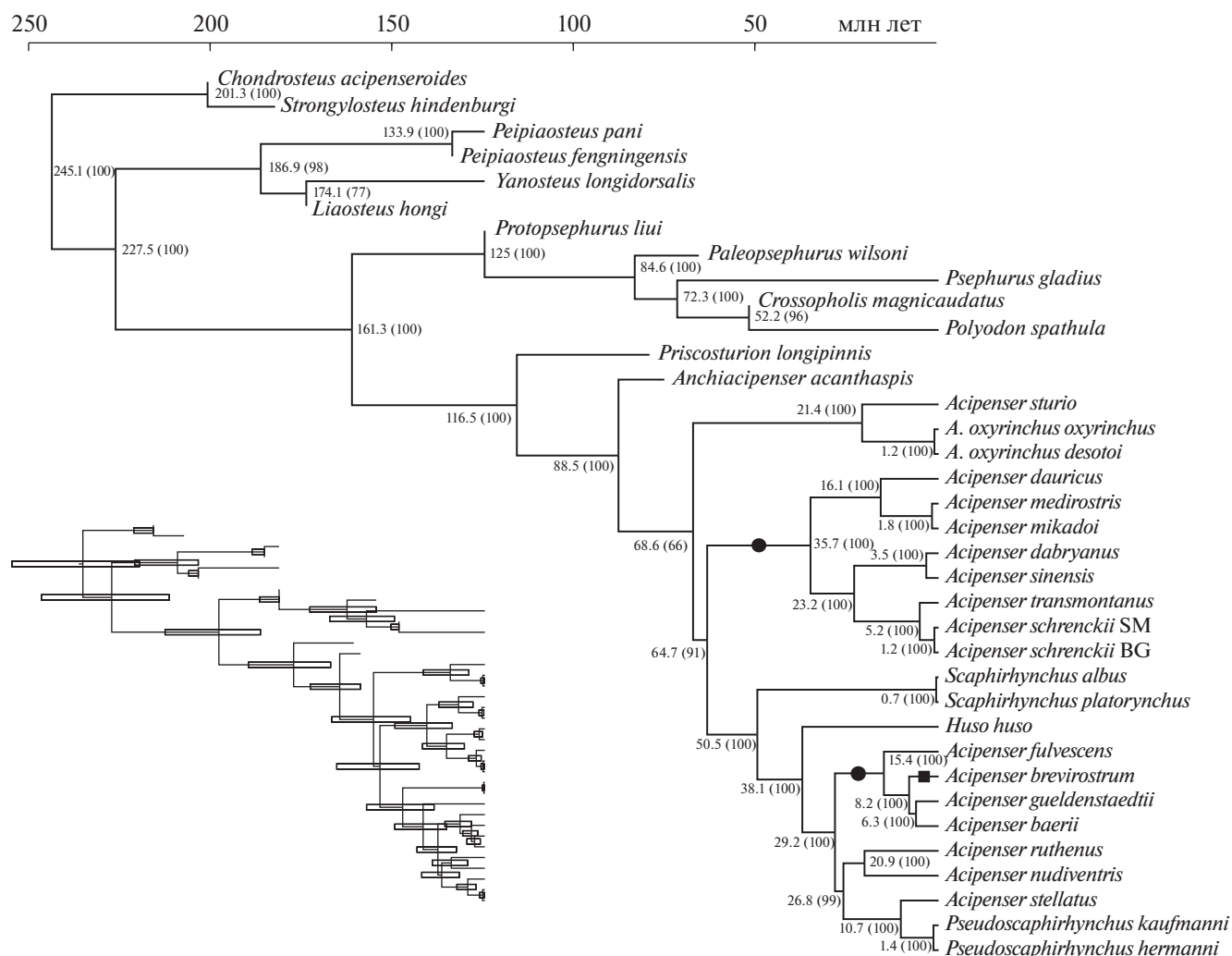


Рис. 2. Байесовская хронограмма кладогенеза ископаемых и рецентных *Acipenseriformes*, построенная по совокупным (мтДНК, морфологические признаки) данным. Цифры — эволюционный возраст в млн лет, в скобках — оценки байесовской поддержки ($\times 100$). Помечены ветви, когда у осетров произошли изменения в плоидности геномов [4]: $2n \rightarrow 4n$ (●), $4n \rightarrow 6n$ (■). В левом нижнем углу дан вариант той же хронограммы, иллюстрирующий 95%-ные интервалы наивысшей апостериорной плотности оценок возраста ее ветвей.

A. baerii — примерно 29–15 млн лет назад (в олигоцене—миоцене). Переход от $4n$ к $6n$ состоянию генома в линии *A. brevirostrum* произошел во второй половине миоцена или позднее.

Используя данные хронограммы, относящиеся к возрасту подвидов *A. oxyrinchus*, гаплогрупп *A. schrenckii*, двух пар видов *A. medirostris* — *A. mikadoi* и *S. albus* — *S. platyrhynchus*, была оценена скорость дивергенции полного митогенома, митогенома без D-петли, последовательностей белковых генов и контролирующего участка. При использовании расстояния JC (выбор обусловлен малыми различиями в выбранных парах сравнения, подобранных так, чтобы минимизировать эффект повторных мутаций) она составила 0.282 ± 0.071

(среднее \pm стандартное отклонение), 0.15 ± 0.004 , 0.186 ± 0.014 и 2.656 ± 1.192 процента замещенных нуклеотидов на млн лет соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты недавних исследований филогении *Acipenseridae*, проведенных при использовании митогеномных данных [7, 39, 40] или данных по последовательностям ядерных генов [6], принципиально сходны в том, что филогенетическая линия, включающая *A. oxyrinchus* и *A. sturio*, является базальной (ответвившейся от общего ствола первой) по отношению к остальным линиям *Acipenseridae*. В одной из работ, основанной на анализе

митогеномных данных, получен иной вариант филогении — базальное положение заняла линия *Scaphirhynchus* [41]. Во всех указанных случаях митогеномные данные анализировались без разбиения на функциональные блоки (по позициям в кодонах или типу кодируемых макромолекул). Результаты подразделенного анализа данных (рис. 1) свидетельствуют в пользу первого варианта филогении *Acipenseridae*. Во всех исследованиях выделяется клада тихоокеанских видов осетровых и клада остальных (без *A. oxyrinchus* и *A. sturio*) атлантических видов. Линия *Scaphirhynchus* по митогеномным данным чаще всего [7, 39, 40; настоящая работа] объединяется с последней кладой. Во всех схемах молекулярных филогений род *Acipenser* не является монофилетическим, что свидетельствует о необходимости ревизии его таксономической структуры.

Проведенное датирование кладогенеза *Acipenseridae* не противоречит палеонтологической летописи, собранной для этой группы. Присутствие осетров *Acipenser* уже в позднем Мелу следует из находок их фрагментарных¹ ископаемых остатков в виде отдельных жучек, жестких (колючих) плавниковых лучей, других фрагментов скелета и кожных покровов [32, 42]. Результаты молекулярного датирования (рис. 2), демонстрирующие разделение общего предка современных *Acipenseridae* на три эволюционные линии именно в этот период, вполне с этим согласуются. Ископаемые остатки осетровых из палеогена сравнительно редки (из Северной Америки и вовсе не известны), появляясь в заметно большем количестве и разнообразии (но все в таком же фрагментарном виде, делающем невозможным их определение до вида) в неогене по всему ареалу современных *Acipenseridae* [32, 42]. Сравнительно малый медианный возраст современных видов осетровых (около 5 млн лет), вычисленный в настоящей работе, находится в полном согласии с распределением ископаемых находок *Acipenseridae* во времени. Интересно, что по этой характеристике осетровые сходны с представителями двух других древнейших линий лучеперых: медианный возраст терминальных ветвей (листьев) на древе-хронограмме для *Polypteridae* составил около 3 млн лет ([9]: Fig. 1), а для *Lepisosteidae* — около 5 млн лет ([1]: Fig. 2, Supplement 2).

¹ Из-за особенностей строения (хрящевой скелет со слабым окостенением) и реофильного образа жизни (что обуславливает малую вероятность захоронения в отложениях) нахождение более или менее крупных частей тела ископаемых представителей *Acipenser* или близких к нему родов является крайне редким событием.

Полученные нами данные позволяют высветить также другие стороны эволюции *Acipenseridae*.

Осетровых нередко (см., к примеру, [5–7]) относят к так называемым живым ископаемым — группам, характеризующимся архаичными чертами, низким разнообразием, низкими темпами диверсификации, морфологической и молекулярной эволюции [43]. Действительно, рассчитанные нами темпы видообразования современных осетровых (0.038) примерно в 2 раза ниже таковых, наблюдающихся в семействах других лучеперых рыб — обычно в промежутке от 0.078 до 0.14 линий на млн лет с модой в районе 0.07 [44]. Но это различие вряд ли можно признать критичным, поскольку согласно результатам другого варианта анализа диверсификации [9] по скорости видообразования *Acipenseridae* оказываются все равно ближе к большинству линий лучеперых рыб, чем к представителям двух других древних линий — *Polypteriformes* или *Lepisosteiformes* плюс *Amiiformes*.

Сходство во внешнем облике осетров, объединяемых в один род *Acipenser*, чьи предки разошлись в позднем мелу, демонстрирует консервацию их морфологической организации (архетипа). Однако, с другой стороны, скорость морфологической эволюции, оцениваемая по разнообразию предельных размеров тела, у осетровых оказывается в 5 раз выше, чем в среднем по семействам лучеперых рыб [44].

Ранее с помощью теста на относительную скорость было показано, что осетровые имеют низкие, в сравнении с другими группами лучеперых рыб (*Salmonidae*, *Supriniformes*, *Percomorpha* и *Elopomorpha*), скорости молекулярной эволюции как митохондриальных, так и ядерных генов, а также последовательностей повторяющейся ДНК [45, 46].

Однако если внимательно рассмотреть темпы нуклеотидных замещений, к примеру в мтДНК, то можно увидеть, что они различны для различных частей митогенома. Митогеном осетровых в целом, действительно, эволюционирует с низкой скоростью, которая в 3 раза меньше, чем, к примеру, полученная для митогенома лососевых рыб (0.28 против 0.88 процента замещенных нуклеотидов на млн лет [47]). Но это вызвано, в первую очередь, крайне низкой скоростью эволюции кодирующей части митогенома. В контролирующем же участке мтДНК осетровых скорость нуклеотидных замещений примерно в 20 раз выше скорости нуклеотидных замещений в кодирующей части митогенома. Это следует как из сравнительного анализа нуклеотидного разнообразия

на популяционном уровне [14], так и расчетов, основанных на оценках филогенетической скорости, приведенных выше.

Скорость мутирования в контролирующем участке мтДНК осетровых сравнима или даже выше таковой, к примеру, у лососевых рыб. Косвенно об этом можно судить по числу гаплотипов, выявляемых внутри популяций. Так, при популяционном анализе кеты *Oncorhynchus keta* у 2154 образцов было идентифицировано 30 различных гаплотипов в наиболее вариабельном фрагменте D-петли длиной около 500 пн [48]. Аналогичное исследование кижуча *O. kisutch* выявило 18 гаплотипов у 769 особей [49, 50]. Примерно такое же или большее число уникальных гаплотипов, но при значительно меньших размерах проанализированных выборок, было найдено у китайского осетра *A. sinensis* из р. Янцзы (у 106 образцов – 35 гаплотипов для фрагмента D-петли длиной 419 пн) [51] или калуги *A. dauricus* (у 120 образцов – 27 гаплотипов для 819 пн D-петли) [52]. У амурского осетра *A. schrenckii* разнообразие гаплотипов оказалось еще выше – выявлено 74 гаплотипа у 112 проанализированных особей (длина секвенированного участка составил 796–812 пн) [15]. Соответственно заключение о низкой скорости эволюции мтДНК осетровых [46] справедливо лишь в части, относящейся к кодирующей области митогенома.

Причина низкой скорости эволюции области митогенома вне пределов D-петли у осетров не ясна. Возможно, что она диктуется необходимостью выравнивания скоростей эволюции митохондриальных генов и ядерных генов, кодирующих основную порцию белков, необходимых для функционирования митохондрий. Низкая скорость эволюции ядерных генов здесь может быть определяющим фактором. Сыграли ли в этом какую-либо роль неоднократные акты полиплоидизации, происходившие в ходе эволюции Acipenseridae и Polyodontidae [3, 4], также не ясно.

Следует добавить, что скорость мутирования микросателлитных последовательностей в ядерной ДНК у осетров оказывается сходной с таковой в других группах рыб [53]. То есть можно полагать, что некодирующая часть ядерного генома осетровых, в отличие от кодирующей [46], эволюционирует с обычной для лучеперых рыб скоростью.

Таким образом, по сумме изложенных фактов можно утверждать, что так же, как и в случае с Polypteridae [9], осетровых нельзя безоговорочно относить к разряду “живых ископаемых”. Применение этого термина к осетровым требует конкретизации свойств, которые имеются в виду.

В заключение стоит указать на то, что разновременность событий полиплоидизаций, произошедших у осетровых в разных ветвях их филогенетического дерева (рис. 2), представляет собой уникальную модель для изучения механизмов процесса диплоидизации и его динамики.

Результаты получены с использованием оборудования ЦКП “Дальневосточный вычислительный ресурс” ИАПУ ДВО РАН, <https://www.cc.dvo.ru>.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Betancur-R R., Wiley E.O., Arratia G. et al.* Phylogenetic classification of bony fishes // BMC Evol. Biol. 2017. V. 17. № 162. P. 1–40. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0958-3>
2. *Nelson J.S., Grande T.C., Wilson M.V.H.* Fishes of the World. 5th ed. Hoboken: John Wiley and Sons, 2016. 752 p.
3. *Vasil'ev V.P.* Mechanisms of polyploid evolution in Fish: Polyploidy in sturgeons // Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons / Eds Carmona R., Domezain A., García-Gallego M., et al. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009. P. 97–117. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8437-9_6
4. *Vasil'ev V.P., Vasil'eva E.D., Shedko S.V., Novomodny G.V.* How many times has polyploidization occurred during acipenserid evolution? New data on the karyotypes of sturgeons (Acipenseridae, Actinopterygii) from the Russian Far East // J. Ichthyol. 2010. V. 50. № 10. P. 950–959. <https://doi.org/10.1134/S0032945210100048>
5. *Peng Z., Ludwig A., Wang D. et al.* Age and biogeography of major clades in sturgeons and paddlefishes (Pisces: Acipenseriformes) // Mol. Phylogenet. Evol. 2007. V. 42. № 3. P. 854–862. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.09.008>
6. *Luo D., Li Y., Zhao Q. et al.* Highly resolved phylogenetic relationships within order Acipenseriformes according to novel nuclear markers // Genes (Basel). 2019. V. 10. № 38. P. 1–15. <https://doi.org/10.3390/genes10010038>
7. *Shen Y., Yang N., Liu Z. et al.* Genomics phylogenetic perspective on the relationships and evolutionary history of the Acipenseriformes // Genomics. 2020. V. 112. № 5. P. 3511–3517. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.02.017>
8. *Cohen K.M., Finney S.C., Gibbard P.L., Fan J.-X.* The ICS international Chronostratigraphic chart // Episodes. 2013. V. 36. № 3. P. 199–204. <https://doi.org/10.18814/epiiugs/2013/v36i3/002>
9. *Near T.J., Dornburg A., Tokita M. et al.* Boom and bust: Ancient and recent diversification in bichirs (Polypteridae):

- Actinopterygii), a relictual lineage of ray-finned fishes // *Evolution* (N. Y). 2014. V. 68. № 4. P. 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/evo.12323>
10. Zhang C., Stadler T., Klopffstein S. et al. Total-evidence dating under the fossilized birth–death process // *Syst. Biol.* 2016. V. 65. № 2. P. 228–249. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syv080>
 11. Arcila D., Alexander Pyron R., Tyler J.C. et al. An evaluation of fossil tip-dating versus node-age calibrations in tetraodontiform fishes (Teleostei: Percomorphaceae) // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2015. V. 82. P. 131–145. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.10.011>
 12. Arcila D., Tyler J.C. Mass extinction in tetraodontiform fishes linked to the Palaeocene-Eocene thermal maximum // *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 2017. V. 284. № 1866. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1771>
 13. Шедько С.В. Низкий уровень различий митогеномов сахалинского осетра *Acipenser mikadoi* Hilgendorf, 1892 и зеленого осетра *A. medirostris* Ayerres, 1854 (Acipenseridae) свидетельствует об их недавней дивергенции // *Биология моря*. 2017. Т. 43. № 2. С. 144–147.
 14. Шедько С.В. Причины эксцесса частоты митотипа SCH34 в популяции амурского осетра, *Acipenser schrenckii* (Acipenseridae), согласно анализу полных митохондриальных геномов // *Генетика*. 2019. Т. 55. № 7. С. 854–858. <https://doi.org/10.1134/S0016675819060171>
 15. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А. и др. Изменчивость митохондриальной ДНК, историческая демография и популяционная структура амурского осетра, *Acipenser schrenckii* Brandt, 1869 // *Генетика*. 2015. Т. 51. № 2. С. 200–216. <https://doi.org/10.7868/S0016675815020125>
 16. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. № 14. P. 3059–3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
 17. Martin D.P., Lemey P., Lott M. et al. RDP3: A flexible and fast computer program for analyzing recombination // *Bioinformatics*. 2010. V. 26. № 19. P. 2462–2463. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq467>
 18. Swofford D.L. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Version 4.0. Sunderland, Mass.: Sinauer Assoc., 2002.
 19. Ronquist F., Huelsenbeck J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*. 2003. V. 19. № 12. P. 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
 20. Jin F. Middle and Late Mesozoic Acipenseriformes from northern Hebei and western Liaoning, China // *Palaeoworld* No. 11. Jehol Biota / Eds Chen P.-J., Jin F. Hefei: Press Univ. Sci. and Technology of China, 1999. P. 188–260.
 21. Hilton E.J., Grande L., Bemis W.E. Skeletal anatomy of the Shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesueur, 1818, and the systematics of sturgeons (Acipenseriformes, Acipenseridae) // *Fieldiana Life Earth Sci.* 2011. V. 3. P. 1–168. <https://doi.org/10.3158/2158-5520-3.1.1>
 22. Lewis P.O. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data // *Syst. Biol.* 2001. V. 50. № 6. P. 913–925. <https://doi.org/10.1080/106351501753462876>
 23. Giles S., Xu G.H., Near T.J., Friedman M. Early members of “living fossil” lineage imply later origin of modern ray-finned fishes // *Nature*. 2017. V. 549. № 7671. P. 265–268. <https://doi.org/10.1038/nature23654>
 24. Обручев Д.В., Казанцева А.А. Надотряд Chondrostei. Хрящевые ганоиды // *Основы палеонтологии. Том 11. Бесчелюстные, рыбы*. М.: Наука, 1964. С. 371–375.
 25. Hilton E.J., Forey P.L. Redescription of *Chondrosteus acipenseroides* Egerton, 1858 (Acipenseriformes, Chondrosteidae) from the Lower Lias of Lyme Regis (Dorset, England), with comments on the early evolution of sturgeons and paddlefishes // *J. Syst. Palaeontol.* 2009. V. 7. № 4. P. 427–453. <https://doi.org/10.1017/S147201909002740>
 26. Hennig E. *Chondrosteus Hindenburgi* Pomp., ein “Stör” des württember. Oelschiefers (Lias) // *Palaeontographica*. 1925. V. 67. P. 115–133.
 27. Chang S., Zhang H., Renne P.R., Fang Y. High-precision Ar/39Ar age for the Jehol Biota // *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 2009. V. 280. № 1–2. P. 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2009.06.021>
 28. Wang X., Zhou Z. Mesozoic Pompeii // *The Jehol Fossils* / Ed. Chang M. San Diego: Acad. Press, 2008. P. 18–35. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012374173-8.50003-X>
 29. Grande L., Bemis W.E. Osteology and phylogenetic relationships of fossil and recent paddlefishes (Polyodontidae) with comments on the interrelationships of Acipenseriformes // *Mem. Society Vertebr. Paleontol.* 1991. V. 1. P. 1–121. <https://doi.org/https://doi.org/10.2307/3889328>
 30. Grande L., Jin F., Yabumoto Y., Bemis W.E. *Protopsephurus liui*, a well-preserved primitive paddlefish (Acipenseriformes: Polyodontidae) from the lower cretaceous of China // *J. Vertebr. Paleontol.* 2002. V. 22. № 2. P. 209–237. [https://doi.org/10.1671/0272-4634\(2002\)022\[0209:PL-AWPP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1671/0272-4634(2002)022[0209:PL-AWPP]2.0.CO;2)
 31. Buchheim H.P., Biaggi R.E., Cushman R.A. Stratigraphy and interbasinal correlations between fossil and the Green River Basin, Wyoming // *Stratigraphy and Paleolimnology of the Green River Formation, Western USA* / Eds Smith M.E., Carroll A.R. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. P. 127–151. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9906-5_6
 32. Grande L., Hilton E.J. An exquisitely preserved skeleton representing a primitive sturgeon from the Upper Cretaceous Judith River formation of Montana (Acipens-

- eriformes: Acipenseridae: n. gen. and sp.) // J. Paleontol. 2006. V. 80. № S65. P. 1–39.
<https://doi.org/10.1666/05032.1>
33. Grande L., Hilton E.J. A replacement name for †*Psam-morhynchus* Grande & Hilton, 2006 (Actinopterygii, Acipenseriformes, Acipenseridae) // J. Paleontol. 2009. V. 83. № 2. P. 317–318.
<https://doi.org/10.1666/08-137.1>
34. Rogers R.R., Swisher C.C., Horner J.R. 40Ar/39Ar age and correlation of the nonmarine Two Medicine formation (Upper Cretaceous), northwestern Montana, USA // Can. J. Earth Sci. 1993. V. 30. № 5. P. 1066–1075.
<https://doi.org/10.1139/e93-090>
35. Sato H., Murray A.M., Vernygora O., Currie P.J. A rare, articulated sturgeon (Chondrostei: Acipenseriformes) from the Upper Cretaceous of Dinosaur Provincial Park, Alberta, Canada // J. Vertebr. Paleontol. 2018. V. 38. № e1488137. P. 1–15.
<https://doi.org/10.1080/02724634.2018.1488137>
36. Lepage T., Bryant D., Philippe H., Lartillot N. A general comparison of relaxed molecular clock models // Mol. Biol. Evol. 2007. V. 24. № 12. P. 2669–2680.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msm193>
37. Magallon S., Sanderson M.J. Absolute diversification rates in Angiosperm clade // Evolution (N. Y). 2001. V. 55. № 9. P. 1762–1780.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00826.x>
38. Pennell M.W., Eastman J.M., Slater G.J. et al. Geiger v2.0: an expanded suite of methods for fitting macro-evolutionary models to phylogenetic trees // Bioinformatics. 2014. V. 30. P. 2216–2218.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu181>
39. Popović D., Baca M., Panagiotopoulou H. Complete mitochondrial genome sequences of Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*, Gulf sturgeon, *A. o. desotoi* and European sturgeon *A. sturio* (Acipenseriformes: Acipenseridae) obtained through next generation sequencing // Mitochondrial DNA. 2015. V. 27. № 4. P. 2549–2551.
<https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1038799>
40. Sheraliev B., Peng Z. Complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic position of the Amu Darya sturgeon, *Pseudoscaphirhynchus kaufmanni* (Acipenseriformes: Acipenseridae) // J. Appl. Ichthyol. 2020. V. 36. № 4. P. 389–392.
<https://doi.org/10.1111/jai.14043>
41. Mugue N., Barmintseva A., Schepetov D. et al. Complete mitochondrial genomes of the critically endangered Ship sturgeon *Acipenser nudiventris* from two seas // Mitochondrial DNA Part B. 2016. V. 1. № 1. P. 195–197.
<https://doi.org/10.1080/23802359.2016.1144103>
42. Hilton E.J., Grande L. Review of the fossil record of sturgeons, family Acipenseridae (Actinopterygii: Acipenseriformes), from North America // J. Paleontol. 2006. V. 80. № 4. P. 672–683.
[https://doi.org/10.1666/0022-3360\(2006\)80\[672:RO-TFRO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1666/0022-3360(2006)80[672:RO-TFRO]2.0.CO;2)
43. Lidgard S., Love A.C. Rethinking living fossils // Bioscience. 2018. V. 68. № 10. P. 760–770.
<https://doi.org/10.1093/biosci/biy084>
44. Rabosky D.L., Santini F., Eastman J. et al. Rates of speciation and morphological evolution are correlated across the largest vertebrate radiation // Nat. Commun. 2013. V. 4. P. 1–8.
<https://doi.org/10.1038/ncomms2958>
45. Herrán de la R., Fontana F., Lanfredi M. et al. Slow rates of evolution and sequence homogenization in an ancient satellite DNA family of sturgeons // Mol. Biol. Evol. 2001. V. 18. № 3. P. 432–436.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003820>
46. Krieger J., Fuerst P.A. Evidence for a slowed rate of molecular evolution in the order Acipenseriformes // Mol. Biol. Evol. 2002. V. 19. № 6. P. 891–897.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004146>
47. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А. Филогения лососевых рыб (Salmoniformes: Salmonidae) и ее молекулярная датировка: анализ мтДНК-данных // Генетика. 2013. Т. 49. № 6. С. 718–734.
<https://doi.org/10.7868/S0016675813060118>
48. Sato S., Kojima H., Ando J. et al. Genetic population structure of Chum salmon in the Pacific Rim inferred from mitochondrial DNA sequence variation // Environ. Biol. Fishes. 2004. V. 69. № 1. P. 37–50.
<https://doi.org/10.1023/B:EBFI.0000022881.90237.aa>
49. Smith C.T., Nelson R.J., Wood C.C., Koop B.F. Glacial biogeography of North American Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // Mol. Ecol. 2001. V. 10. № 12. P. 2775–2785.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2001.t01-1-01405.x>
50. Zelenina D.A., Soshnina V.A., Sergeev A.A. Phylogeography and mitochondrial polymorphism of Asian Coho salmon // Mol. Biol. (Mosk). 2020. V. 54. № 6. P. 997–1005.
<https://doi.org/10.31857/S0026898420060166>
51. Zhang S.M., Wang D.Q., Zhang Y.P. Mitochondrial DNA variation, effective female population size and population history of the endangered Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* // Conserv. Genet. 2003. V. 4. № 6. P. 673–683.
<https://doi.org/10.1023/B:COGE.0000006107.46111.bc>
52. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А., Шедько М.Б. К популяционно-генетическому портрету калуги, *Acipenser dauricus* Georgi, 1775: анализ изменчивости контролирующего региона митохондриальной ДНК // Генетика. 2015. Т. 51. № 9. С. 1025–1034.
<https://doi.org/10.7868/S0016675815080093>
53. Panagiotopoulou H., Austin J.D., Zalewska K. et al. Microsatellite mutation rate in Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus*) // J. Hered. 2017. V. 108. № 6. P. 686–692.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esx057>

Molecular Dating of Sturgeons (Acipenseridae) Phylogeny Based on Total Evidence Analysis

S. V. Shedko*

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far East Branch
of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia*

**e-mail: shedko@biosoil.ru*

Bayesian dating of the phylogeny of Acipenseridae was carried out on the basis of a combined matrix of molecular (mitogenome) and morphological characters compiled for modern and fossil Acipenseriformes species. It has been estimated that the ancestral lineages of Polyodontidae and Acipenseridae diverged approximately 162 (195–137) Mya. The divergence of lineages in the crowns of recent Polyodontidae and Acipenseridae began almost simultaneously during the transition from Cretaceous to Paleogene – 72 Mya (95–55) and 68 Mya (93–47), respectively. The main groups of lineages of recent Acipenseridae were formed in the Oligocene–Miocene. The median age of extant Acipenseridae species was 5.2 Mya. Genome-wide duplications in Acipenseridae occurred at different time periods. In the common ancestor of the Pacific sturgeon species, this happened about 65–36 million years ago, and in the common ancestor *Acipenser fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii*, and *A. baerii* – about 29–15 million years ago. The transition from the 4n to 6n genome state in the *A. brevirostrum* lineage occurred in the second half of the Miocene or later. The rate of divergence for the entire mitogenome, a mitogenome without a D-loop, sequences of protein genes and a D-loop was 0.282 ± 0.071 , 0.151 ± 0.004 , 0.186 ± 0.014 , and 2.656 ± 1.192 percent nucleotide substitutions per million years, respectively. The limited applicability of the term “living fossil” to the Acipenseridae species is shown.

Keywords: mitochondrial DNA, morphology, fossils, molecular clock.