



УДК 57.06.592/599

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И ТРАДИЦИОННАЯ ФИЛОГЕНЕТИКА. НА ПУТИ К ВЗАИМОПОНИМАНИЮ

Н.И. Абрамсон

*Зоологический институт РАН, Университетская наб. 1, 199034 Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: Natalia_Abr@mail.ru*

РЕЗЮМЕ

Статья написана по следам дискуссий на совещании, посвященном современным проблемам биологической систематики, прошедшем в Санкт-Петербурге в апреле 2011 г. и адресована систематикам «классической» школы, испытывающим недоверие к молекулярным филогениям и трудности при сравнении с ними своих результатов. Рассматриваются этапы молекулярно-филогенетического анализа, показано, что предварительное знание о группе необходимо при любом подходе, и, вопреки распространенному мнению, значительная субъективность есть и в молекулярном анализе. Обсуждаются возможные причины, ведущие к ошибочным молекулярным реконструкциям. Показано, что при сопоставлении результатов, полученных на основе различных методов, сравнивать следует не филогенетические кладограммы, а качество исходных данных. Возникающие противоречия требуют скрупулезного анализа возможных причин и оценки надежности полученных результатов филогенетического анализа, как при работе с морфологическими, так и молекулярными данными и перекрестной проверке каждого.

Ключевые слова: молекулярно-филогенетический анализ, выравнивание, кладограмма, молекулярные маркеры, филогенетика, систематика

MOLECULAR AND CONVENTIONAL PHYLOGENETICS. TOWARDS THE COMMON GROUND

N.I. Abramson

Zoological Institute RAS, Universitetskaya emb. 1, 199034 Sankt-Petersburg, Russia; e-mail: Natalia_Abr@mail.ru

ABSTRACT

This paper is inspired by the discussions during the Conference on Modern Issues in Biological Systematics that took place in the Zoological Institute RAS in Sankt-Petersburg in April 2011 and is addressed to representatives of “classical” school that still experience distrust to molecular phylogenetics and difficulties while comparing their results with molecular cladograms. The steps of molecular-phylogenetic analysis are considered. It is shown that preliminary knowledge of the group is required in both approaches and opposite to widely distributed opinion significant portion of subjectivity is present and in molecular analysis. Possible causes leading to erroneous molecular phylogenetic reconstructions are discussed. It is shown that while comparing the results obtained by various techniques it is necessary to analyze the quality of initial data but not the pictures with cladograms. The discordances in molecular and morphological phylogenies require thorough analysis of possible causes and estimates of robustness of the results obtained in both analyses as a cross validation.

Key words: molecular phylogenetic analysis, alignment, cladogram, molecular markers, phylogenetics, systematics

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярные методы, включающие анализ нуклеотидных последовательностей, давно и прочно заняли лидирующие позиции в арсенале средств, используемых сегодня в филогенетике и систематике. Тем не менее, настороженное, а порой даже враждебное отношение к их результатам со стороны систематиков, использующих классические морфологические подходы к описанию биологического разнообразия, все еще очень распространено. Совещание, прошедшее весной 2011 г. в Зоологическом институте РАН в Петербурге, еще раз это подтвердило. В значительной степени по следам разгоревшихся во время него дискуссий и написана эта статья.

Примеров разительных перестроек систематики, произошедших в связи с появлением новых данных по филогении, полученных благодаря применению молекулярных методов, очень много. Им посвящено немало литературы, как в России, так и за рубежом. Интересно, при этом, что и противоположных примеров, когда молекулярные методы великолепно подтверждают высказанные на основании классических данных гипотезы, не только не меньше, но, пожалуй, едва ли не больше. К сожалению, в пылу горячих дискуссий на них реже обращают внимание.

Значительная часть российских систематиков все еще продолжает обсуждать молекулярные кладограммы и сравнивать их со своими построениями, не анализируя при этом, как сами эти кладограммы получены, а только с точки зрения того, насколько они совпадают с их ожиданиями. При анализе морфологических работ трудно представить себе систематика, серьезно обсуждающего разные филогенетические схемы для своей группы без анализа того, на основе каких морфологических признаков они построены, правильно ли установлена гомология и определена полярность признаков, какими синапоморфиями поддержана та или иная клада и т.д. В то же время, очень часто в случае обсуждения работ, выполненных молекулярными методами, систематики классической школы оставляют без внимания важнейшие методические вопросы. Не обсуждается то, какие собственно методики были использованы (секвенирование, рестрикционный анализ или другие), какой молекулярный маркер/маркеры анализировали, насколько на-

дежно выравнивание (гомология), каким методом строились кладограммы и многие другие принципиальные моменты в исследовании. Уделяется внимание только результату – рисунку с кладограммой. При этом рисунок рассматривается как окончательное филогенетическое дерево. Здесь хотелось бы отметить основное различие в подходах систематиков классической школы и, условно говоря, «молекулярных филогенетиков» к результату, изображаемому в виде дерева. В работах классической школы, филограммы (деревья), построенные, так называемым «филетическим» методом (Расницын 2002, 2006а, б), суммируют все представления автора о филогении группы на данный момент. То есть построение дерева – финальный этап исследования. В то же время кладограммы, приводимые в молекулярно-генетических схемах – это промежуточный этап работы. Такие кладограммы получаются в результате использования формализованных компьютерных алгоритмов и, как таковые, требуют содержательной интерпретации. Каждая ветвь такого дерева требует дальнейшего тщательного анализа, при этом гипотеза о монофилии каждого узла и даже о его существовании, может быть отброшена как статистически незначимая. Поэтому непосредственно сравнивать молекулярные кладограммы с филогенетическими деревьями, полученными в рамках этих разных методологий (Расницын, 2006а) некорректно. Но из своего опыта общения с коллегами и по следам дискуссий на прошедшем совещании я вижу, что именно так чаще всего и происходит.

Надо сказать, что вновь прозвучавшие в ходе дискуссии положения, близкие к тем, что уже изложены на страницах Российской периодики (Любарский 2006; Расницын 2006б;), вызывают немалое удивление и огорчение. На сегодняшний день уже и в отечественной литературе появилось немало хороших обзоров, раскрывающих особенности, возможности и ограничения применения молекулярных методов в филогенетике и систематике (Банникова 2004; Лухтанов и Кузнецова 2009, Лухтанов 2010) и связанные с ними возможные ошибки (Абрамсон 2007; 2009). Кроме того, существуют и острые полемические статьи со сравнительным анализом разных подходов (Scotland 2003; Wiens 2004; Springer et al, 2007; Asher et al. 2008; Лухтанов 2010 и др.). К сожалению, взаимопонимания не возникло. Одной из причин

этого, на мой взгляд, является то, что очень устойчивым остается представление о молекулярно-филогенетическом анализе как о черном ящике, в который закладываются данные и откуда, как черт из табакерки, выпрыгивает филогенетическое дерево (Hills and Moritz 1996)

Задачу данной статьи я вижу, прежде всего, в том, чтобы немного приоткрыть этот черный ящик для «традиционных» систематиков и заглянуть внутрь. Статья адресована, прежде всего, систематикам, которые пока еще плохо представляют технику работы с нуклеотидными последовательностями, и то, что кроется за построением «молекулярных» кладограмм. В то же время, сегодня практически каждому, так или иначе, необходимо сравнивать свои представления о филогении исследуемой группы, сформированные по результатам морфологических исследований с многочисленными молекулярными филогениями, а, следовательно, и уметь критически подходить к последним.

Этапы молекулярно-филогенетического анализа

Очень часто, обсуждая и сравнивая недостатки и достоинства морфологического и молекулярного подходов к анализу филогении, много говорят о роли интуиции, о субъективности первого и о якобы объективности второго, не зависящего от личностного опыта исследователя. В упрощенном виде эти противопоставления сводятся к следующему: только хорошо знакомый с группой систематик может найти и выделить надежные морфологические признаки, несущие филогенетический сигнал. В случае молекулярного подхода, мол, это неважно, любой, даже совсем незнакомый с группой исследователь может получать и анализировать сиквенсы и строить филогении. Такие аргументы равно используют как «за» так и «против» сторонники обоих подходов. На объективности и субъективности в молекулярно-филогенетическом анализе стоит остановиться особо именно из-за широко бытующего мнения, что он объективен и не зависит от опыта исследователя. Я хочу далее особо подчеркнуть, что это не совсем верно, и при молекулярно-филогенетическом анализе данных субъективность всегда существует. Этот подход также требует экспертного знания и не в меньшей степени, чем при анализе морфологических признаков. Для того чтоб это

проиллюстрировать, остановимся на этапах молекулярно-филогенетического анализа.

1. Первый этап – **постановка задачи и сбор данных**. Данный этап принципиально мало, чем отличается от такового при любом другом исследовании (ср. с шагами познания – Расницын, 2002). Очень важно подчеркнуть, что именно на этом этапе формулируется филогенетическая гипотеза, которую предполагается тестировать молекулярными данными, формулируется вопрос исследования. От того, насколько корректно и грамотно он сформулирован и как поставлена задача, в наибольшей степени, зависит и конечный результат исследования. И точно так же, как уже отмечалось А.П. Расницыным (2002), здесь нельзя обойтись без опоры на общий опыт и предыдущее знание о группе. Зависимость от личного опыта и интуиции очень сказывается на этом этапе и в молекулярно-генетических исследованиях. Именно на этом этапе определяется состав и размер выборки для анализа, подбираются молекулярный маркер/маркеры (задача, сопоставимая с отбором признаков в морфологическом анализе), подбираются таксоны внешней группы. От всех этих параметров очень зависит результат, но сам их выбор как раз и опирается на личный опыт и предыдущее знание. Поэтому на хороший результат рассчитывать можно только в случае, когда исследователь хорошо знаком с обсуждаемой группой.

2. Следующий этап – **работа в лаборатории**. Здесь происходит выделение ДНК из образцов, постановка ПЦР (полимеразная цепная реакция), секвенирование. Причем не все эти процессы могут проходить в одной лаборатории. Сегодня, как правило, большинство исследователей отправляют свои образцы с ПЦР-фрагментами (или клонированными продуктами) для секвенирования в специализированные центры. На этом этапе работа действительно очень регламентирована лабораторными протоколами и может выполняться высококвалифицированным техническим персоналом (которому часто и поручают такую работу). Только к этому этапу может относиться вышеприведенное заявление о том, что любой, даже совсем незнакомый с группой исследователь, может получать сиквенсы. Это высказывание справедливо еще и по той причине, что приобретение навыков лабораторной работы сегодня происходит очень быстро, тогда как все хорошо знают, что становление «хорошего» систематика, приобретение опыта морфологиче-

ского исследования, умение видеть и работать с морфологическими признаками – процесс очень длительный. Однако уже на следующем этапе анализа данных экспертное знание снова потребуется и если исследователь владеет только навыками лабораторной работы, то вряд ли можно будет рассчитывать на удовлетворительный результат.

3. Выравнивание. При работе с последовательностями ДНК в качестве отдельных признаков выступают конкретные нуклеотидные позиции (сайты) по всей длине изучаемого фрагмента, а нуклеотиды (А, Т, Ц, Г) соответствуют состояниям признака. А поскольку любой метод филогенетического анализа предполагает сравнение гомологичных признаков, то и в данном случае необходимо правильно установить гомологию признаков. Достигается это процедурой выравнивания (alignment). Иными словами, выравнивание нуклеотидных/аминокислотных последовательностей это – не что иное, как определение позиционной гомологии. И так же, как при анализе морфологических признаков, ошибка в гомологии приведет к неверному результату, а именно множественное выравнивание подается на вход филогенетическим компьютерным программам и от выравнивания напрямую зависит, какое в итоге будет получено дерево. Выравнивание может быть достаточно простой процедурой, если работа идет с близкими таксонами и к тому же известно априори, что делеции и вставки отсутствуют, как, например, в белок-кодирующих митохондриальных генах. Достаточно легкая процедура выравнивания – одна из причин большой популярности использования митохондриальных генов в качестве филогенетических маркеров. Фактически, на таком выравнивании мы видим только примеры точечных замен. Ситуация значительно усложняется, когда, наряду с точечными мутациями, встречаются вставки и делеции (ситуация более чем обычная при работе с ядерными генами и не кодирующими последовательностями). Поясним сказанное на примере. Предположим, у нас две последовательности одинаковой длины в 10 нуклеотидных оснований (Табл. 1).

Таблица 1.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
А	Т	Т	Ц	Г	Т	Г	А	А	Т
			*	*	*	*	*		
А	Т	Т	Г	Т	Г	А	Т	А	Т

Можем ли мы считать их выровненными относительно друг друга, то есть считать, что каждая позиция первой, верхней последовательности (обозначены цифрами верхнего ряда) гомологична таковой нижнего ряда? Если это так, то можно предположить, что в ходе эволюции этих последовательностей от неизвестного общего предка произошло, как минимум, 5 нуклеотидных замен (обозначены звездочками) и ни одной делеции или вставки. Однако можно также допустить, что вставки или делеции имели место, и тогда те же последовательности можно выровнять другими способами. В таблице 2 – разница между двумя последовательностями уже в 2-х заменах и в 2-х вставках/делециях в позициях № 4 второй последовательности и в 11 позиции первой последовательности.

Таблица 2.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
А	Т	Т	Ц	Г	Т	Г	А	А	Т	.
								*	*	
А	Т	Т	.	Г	Т	Г	А	Т	А	Т

Выравнивание можно продолжить и далее.

В третьем варианте (Табл. 3) уже не остается ни одной замены, нуклеотиды обеих последовательностей идентичны, но уже три вставки/делеции, одна из которых длиной в два нуклеотида. Таким образом, этот очень упрощенный пример, тем не менее, показывает, что чем больше пробелов вводится при выравнивании, тем меньше различий (замен) между последовательностями можно зафиксировать. Как правило, при выборе среди множества возможных выравниваний ориентируются на определенные значения (баллы), используя систему оценок, в которой сохранению нуклеотида присваивается определенное положительное значение, за несовпадение – отрицательное, а поскольку известно, что замены нуклеотидов происходят гораздо чаще, чем делеции и вставки, то за начало пробела присваивается больший штраф, чем за несовпадение нуклеотида и также устанавливают штраф за продолжение пробела. Подробнее о процедурах выравнивания, математических алгоритмах и программах можно прочитать в книге Лукашова (2009). В контексте данной статьи следует подчеркнуть: 1) выравнивание – алгоритмизированный вычислительный процесс, полностью не зависящий от биологической

Таблица 3.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
А	Т	Т	Ц	Г	Т	Г	А	А	Т	.	.
А	Т	Т	.	Г	Т	Г	А	.	Т	А	Т

реальности; 2) всегда остается вопрос, насколько математически оптимальное выравнивание является оптимальным биологически (гомология?); 3) выравнивание остается одной из наиболее трудоемких и спорных задач (инверсии, вставки чужеродного материала) в ходе молекулярно-филогенетического анализа; 4) к полученному при использовании любой компьютерной программы выравниванию необходимо подходить осторожно, критически – обязательна редакция «вручную», необходимо выделять надежные и ненадежные участки, использовать для филогенетической реконструкции только те позиции, гипотеза о гомологии которых не вызывает сомнения. Последовательности, сильно отличающиеся от всех остальных в общем массиве, выравнивать наиболее трудно. Иногда лучше отложить их выравнивание (пока не будут выровнены все более легкие случаи) или даже отказаться от них совсем. Главное, что я хочу подчеркнуть приведенным кратким обзором этого этапа исследования, заключается в следующем – несмотря на то, что выравнивание последовательностей всегда проводят с использованием компьютерных программ, экспертное знание на этом этапе совершенно необходимо и ответственность за принимаемую гомологию невозможно переложить на компьютер.

Останавливаясь на этапе выравнивания, нельзя не сказать несколько слов о молекулярном маркере (фрагмент ДНК, по которому ведется анализ). По поводу значения выбора молекулярного маркера/ов для филогенетического анализа написано уже достаточно (Банникова 2004; Абрамсон 2007; 2009). Очевидно, что при выборе маркеров, в значительной степени, присутствует та же проблема, что и при поиске надежных морфологических признаков. Довольно часто исследователей упрекают в интуитивности и субъективности выбора «надежных» признаков, на которых основываются филогенетические гипотезы (Cartmill 1994). Выбор молекулярных маркеров с сильным филогенетическим сигналом – задача не более легкая, чем при работе с морфологическими признаками

и решается столь же субъективно. Результаты, основанные на использовании различных маркеров, часто вступают в конфликт: Одно из возможных решений – увеличение числа анализируемых маркеров. Сегодня уже редко серьезно обсуждаются работы, выполненные только на одном маркере. Но просто увеличивать число случайно выбранных маркеров (а работа с геномом дает такую возможность) – не самый надежный и быстрый путь добиться хорошего результата (Алешин и др. 2007, Philippe and Roure 2011). Тщательный выбор маркеров помогает проводить полученное выравнивание. По матрице выровненных последовательностей уже можно увидеть и оценить такие важнейшие параметры, как вариабельность маркера (достаточно ли информативных замен), есть ли смещение в процентном содержании нуклеотидов, использовании кодонов, провести тесты на насыщение (наличие множественных замен в одном сайте) и, таким образом, оценить перспективы его использования в целях реконструкции филогении. Однако, чтобы проводить такой отбор маркеров, необходимо не только владеть навыками работы с последовательностями и программами, но и, безусловно, хорошо знать таксоны, филогению которых предполагается реконструировать, владеть всем арсеналом методов классической зоологии.

4. Построение деревьев. После того, как получено выравнивание, наступает следующий этап – проведение собственно филогенетического анализа: выбор моделей и реконструкция филогении по различным алгоритмам (максимальной экономии, максимального правдоподобия, Баесова анализа) в соответствующих программных пакетах. Я позволю себе здесь не останавливаться на деталях перечисленных методов, их преимуществах и недостатках, поскольку этот вопрос также не раз освещался специально (Алешин 2005; Лукашов 2009; Лухтанов и Кузнецова 2009; Лухтанов 2010; настоящий том сборник). Данный этап исследования заканчивается получением соответствующих деревьев, построенных разными методами и для разных маркеров, а также и при объединении всех маркеров в один массив (конкатенированная матрица). Еще раз подчеркну, что в работах эволюционных филогенетиков – полученное дерево – это последний этап филогенетического анализа, суммирующий представления исследователя об эволюции группы. В молекулярно-генетических

исследованиях вслед за этим этапом наступает следующий очень важный этап – оценка полученных деревьев.

5. Оценка достоверности полученных деревьев. Использование различных алгоритмов анализа (см. выше) в результате может привести к деревьям, различающимся по топологии, но вполне вероятна и ситуация, когда все использованные методы дадут дерево с одной топологией. В любом случае, возникает вопрос о том, насколько достоверна топология полученного дерева. Для оценки достоверности узлов дерева используются различные статистические подходы. Два самых распространенных: бутстреп-оценка (bootstrap) основан на методе повторных выборок (resampling) и апостериорная вероятность (posterior probabilities – PP) дерева или его узлов в рамках Баесова подхода. Эти цифровые значения всегда приводятся в работах с молекулярными деревьями над ветвями около соответствующих узлов. Чем выше эти значения – тем надежнее поддержана гипотеза о монофилии соответствующего узла. Как правило, считается бессмысленным обсуждать кластеры, поддержанные бутстреп-значением менее чем на 50% и с апостериорной вероятностью менее 0.9. Индексы ниже этого порога обычно не указываются на деревьях. Надо сказать, что в качестве порога «надежной» поддержки общего мнения не существует, и разные авторы выбирают разные значения. Но, высокие бутстреп-поддержки ни в коем случае не говорят о том, что полученное дерево обязательно отражает «истинные» филогенетические связи, доказывают монофилию группы. Бутстреп-оценки не исправят ошибки, допущенные в ходе исследования (выравнивания, неадекватный молекулярный маркер, алгоритм анализа, неверный выбор внешней группы и т.д.), поэтому доверять дереву, опираясь только на высокие бутстреп-оценки, без учета всех остальных данных – опасно. Приведу пример из опыта своих работ по изучению филогении грызунов подсемейства полевочьих. Когда мы начинали наши работы, наибольшее число данных в генбанке имелось по митохондриальному гену – цитохрому *b*. Свои работы по анализу молекулярной филогении скальных полевок (*Alticola*) (Lebedev et al. 2007) мы также проводили с использованием этого маркера. При использовании всех алгоритмов филогенетического анализа мы получили деревья с одной топологией

и высокими бутстреп-поддержками (Рис. 1а). Согласно полученному результату, род лесных полевок (*Myodes*=*Clethrionomys*) оказался парафилитическим относительно скальных полевок (*Alticola*), а сами скальные полевки полифилитической группой. Кроме того, один вид из рода скальных полевок – большеухая полевка (*A. macrotis*) оказалась очень близка к одному из видов лесных полевок (дистанции, сопоставимые с подвидовым уровнем). Проведенный позднее анализ нескольких ядерных генов (Бодров и Абрамсон 2011, неопубликованные данные) убедительно показал монофилию рода скальных полевок (Рис. 1б). Вероятнее всего, первый результат связан с давней гибридизацией большеухой и лесной полевок и последующей интрогрессией. Данный пример показывает, как опасно делать выводы о филогении группы и переводить их в таксономические схемы, опираясь только на один маркер, даже если получены высокие статистические поддержки узлов на дереве. В случаях, когда в результате молекулярно-филогенетического анализа полученное дерево резко противоречит всем остальным данным (морфологическим, палеонтологическим и др.) и при этом узлы имеют высокие статистические поддержки, не имеет смысла решать голосованием, какое лучше, или брать на веру одно из них. Сравнивать надо не филогенетические кладограммы, а качество исходных данных. Приведу два примера. Первый, касается исследований разных авторов, выполненных с использованием цитохром *b* для грызунов уже упомянутого подсемейства полевочьих. В этих работах надежно воспроизводилась монофилиетическая группа, объединяющая ондатру и водяную полевку. (Congroy and Cook 1999; Buzan et al. 2008; Yannic et al. 2012). Такое объединение противоречит всем данным и морфологии и палеонтологии (палеонтологическая летопись по обоим видам хорошо представлена). Первое появление ондатры в палеонтологической летописи известно с позднего плиоцена Северной Америки (Martin 2003), в хорошо изученных позднекайнозойских местонахождениях Евразии ондатра никогда не фиксировалась. Остатки водяной полевки в Европейских местонахождениях известны в не малом количестве. По ее появлению (начало среднего плейстоцена) проводят детальные корреляции континентальных отложений среднего плейстоцена и предковые формы водяной полевки, как и становление рода, хорошо про-

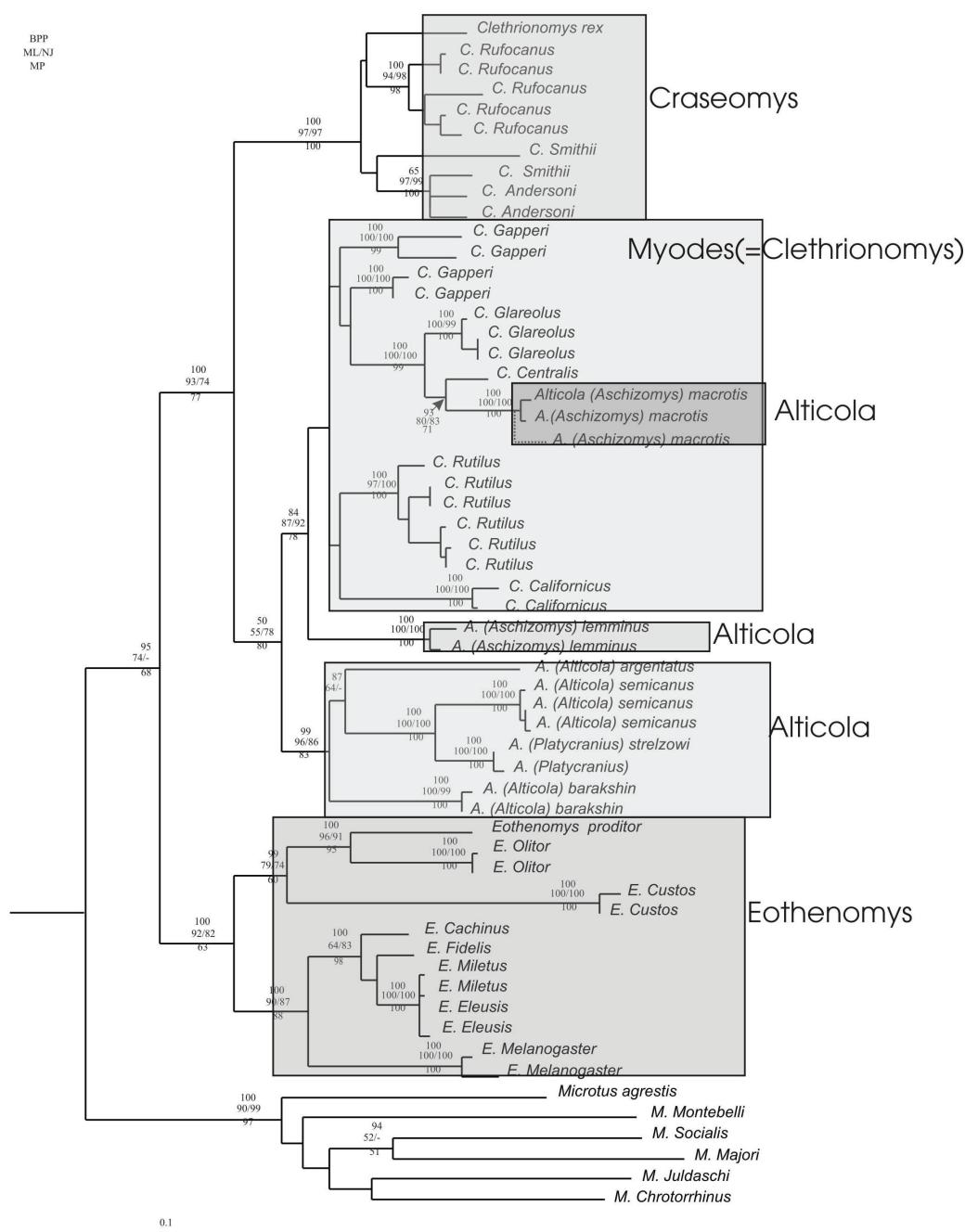


Рис. 1а. Филогенетические связи в трибе Myodini (=Clethrionomyini) по данным анализа митохондриального гена цитохрома *b* (из Lebedev et al., 2007, с изменениями). Цифры у ветвей: сверху апостериорные вероятности (BPP), ниже бутстреп-индексы при алгоритмах максимального правдоподобия/ближайшего связывания/максимальной экономии. Прямоугольниками выделены рода трибы. Виды рода серых полевок, трибы Arvicolini выбраны в качестве внешней группы. Масштаб длины ветвей указан внизу в процентах замен на сайт. Остальные пояснения в тексте.

Fig. 1a. Phylogenetic relationships within tribe Myodini (=Clethrionomyini) based on analysis of mitochondrial *cyt b* gene (from Lebedev et al., 2007 with amendments). Numbers above the branches – Bayesian posterior probabilities (BPP), below bootstrap indexes in maximum likelihood/neighbour joining/maximum parsimony analyses. Rectangles show the genera of the tribe. Species of the genus *Microtus*, tribe Arvicolini are chosen as an outgroup. The branch length scaled in percent to substitution per site.

превратилась в земляную синицу, оказавшись в одной группе с большими синицами. Теперь об этой таксономической ошибке напоминает новое латинское название – *Pseudopodoces humilus* (James et al. 2003). Когда авторы получили первый результат кластеризации по молекулярным данным, они не поверили (ошибка на уровне семейств не частый случай) и перепроверяли все возможные источники ошибок. Так как очевидные ошибки выявлены не были, дополнительно было проведено исследование фрагмента ядерного гена и тщательная ревизия остеологических признаков. Последние подтвердили правоту молекулярных реконструкций и выявили ошибочность долго господствовавших представлений, основанных на адаптивных морфологических признаках, свидетельствующих о конвергентном сходстве.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня все большее распространение получают исследования с включением в анализ большого количества генов (Алешин и др. 2007, Meredith et al. 2011 и др.). Конечно, надежность выводов, основанных на согласованных результатах по независимо эволюционирующим маркерам, значительно повышается (Wiens et al. 2010). При этом темпы развития методов секвенирования и аналитических инструментов дают надежду, что многие трудности, которые испытывает молекулярная филогенетика сегодня, будут преодолены уже в недалеком будущем. Вместе с тем, я с большим скепсисом отношусь к заявлениям о конце филогенетики, как науки (Алешин, устное сообщение, данный том сборник). Даже если оставить в стороне другие аргументы, существует проблема вымерших видов, а современное разнообразие лишь маленький осколок таксономического разнообразия организмов, существовавших в прошлые геологические эпохи и связанных родством с ныне существующими. Даже если отказаться от идеи построения единой филогении современных и вымерших организмов, а ограничиться только задачами реконструкции филогении для современных форм, то полученная филогения все равно останется только гипотезой. Кроме того, хорошо известно, к каким артефактам может приводить неполнота таксономической выборки при проведении молекулярно-генетического анализа. Но к палеонтологическому материалу неприменим

(кроме позднеплейстоценовых остатков), и вряд ли когда-либо будет, применим молекулярный подход. Это, кроме всего прочего, еще один аргумент в пользу того, что морфологический метод никогда не потеряет своей актуальности (Asher et al. 2008). Нельзя забывать и о хронологическом аспекте. Осмысленные датировки по нуклеотидным последовательностям возможны только при их калибровке по палеонтологической летописи.

Я не сомневаюсь в том, что время эмоциональных обсуждений на тему, какая филогения лучше – «морфологическая» или «молекулярная», – давно прошло. Подобные малопродуктивные дебаты должны смениться скрупулезным анализом возможных причин противоречий, технических и методических ограничений и возможностей каждого из подходов, непростых моделей, методов и вариантов статистической обработки и оценки надежности полученных результатов филогенетического анализа, как при работе с морфологическими, так и с молекулярными данными. Развитие методов филогенетики и систематики связывают все более с интегративным подходом (Wiens 2004, Dayrat 2005) с обязательным включением как морфологических (в самом широком плане), так и молекулярных данных с перекрестной проверкой результатов при тестировании и формулировке филогенетической гипотезы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 12-04-01310-а, а также Программ фундаментальных исследований Президиума РАН: «Инвентаризация биологического разнообразия России» и «Проблемы происхождения жизни и биосферы». Я очень признательна С.В. Афанасьеву (ИЭФБ РАН) за ценные замечания при знакомстве с черновым вариантом текста. Я благодарна моим коллегам в лаборатории молекулярной систематики Зоологическом институте А.Ю. Костыгову, С.Ю. Бодрову, Т.В. Петровой, М.В. Фокину, специалистам по систематике различных групп из разных лабораторий нашего института и других учреждений, перечисление имен которых заняло бы не один лист. Дискуссии с ними послужили стимулом к написанию этой статьи. Я очень благодарна А.Ф. Алимову и С.Д. Степаньянц за инициативу и проведение совещания по современным проблемам систематики в апреле прошлого года, за благожелательность и терпение, проявленное к автору в ходе подготовки материалов этого тома сборника.

ЛИТЕРАТУРА

- Абрамсон Н.И. 2007. Филогеография: итоги; проблемы, перспективы. *Вестник ВОГиС*, 11(2): 307–331.
- Абрамсон Н.И. 2009. Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов. *Труды Зоологического института РАН. Приложение* № 1: 185–198.
- Абрамсон Н.И., Лебедев В.С., Тесаков А.С., Банникова А.А. 2009. Надвидовые родственные связи в подсемействе полеvoчьи (Rodentia, Cricetidae, Arvicolinae): неожиданный результат анализа ядерных генов. *Молекулярная биология*, 43(5): 897–909.
- Алешин В.В. 2005. Синапоморфные признаки в РНК малой субъединицы рибосом беспозвоночных. *Дисс. На соискание ученой степени доктора биол. наук*. 2005.
- Алешин В.В., Константинова А.В., Михайлов К.В., Никитин М.А., Петров Н.В. 2007. Нужно ли много генов для филогенетического анализа? *Биохимия*, 72(12): 1610–1623.
- Банникова А.А. 2004. Молекулярные маркеры и современная система млекопитающих. *Журн. общ. биологии*, 65(4): 278–305.
- Бодров С.Ю. и Абрамсон Н.И. 2011. Родственные связи *Alticola olchonensis* (Rodentia, Cricetidae) на основе анализа последовательностей ядерных и митохондриальных генов. Предварительные результаты. *Терофауна России и сопредельных территорий. Материалы международного совещания*, Москва, с. 65.
- Громов И.М. и Поляков И.Я. 1977. *Полевки (Microtinae). Фауна СССР. Млекопитающие*. Том. 3. Вып. 8. Ленинград: Наука. 504 с.
- Лукашов В.В. 2009. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ. Учебное пособие. Москва. Бином. 256 с.
- Лухтанов В.А. и Кузнецова В.Г. 2009. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики. *Журн. общ. биологии*, 70(5): 415–437.
- Лухтанов В.А. 2010. От Геккелевской филогенетики и Генниговской кладистики к методу максимального правдоподобия: возможности и ограничения современных подходов к реконструкции филогенезов. *Энтомологическое обозрение*, 89: 133–149.
- Любарский Г.Ю. 2006. Классические систематики. *Журн. общ. биологии*, 67(5): 389–396.
- Расницын А.П. 2002. Процесс эволюции и методология систематики. *Труды Русского энтомологического общества*, 73. СПб. 107 с.
- Расницын А.П. 2006а. Классическая и неклассическая систематика: другой взгляд. *Журн. общ. биологии*, 67(5): 385–388.
- Расницын А.П. 2006б. Летопись и кладограмма. *Эволюция биосферы. 1. Современная палеонтология: теория и методология*. М. Палеонтол. ин-т РАН: 39–48.
- Asher R.J., Geisler J.H., and Anchez-Villagra M.R.S. 2008. Morphology, Paleontology, and Placental Mammal Phylogeny. *Systematic Biology*, 57 (2): 311–317.
- Buzan E.V., Krystufek B., Hänfling B. and Hutchinson W.F. 2008. Mitochondrial phylogeny of Arvicolinae using comprehensive taxonomic sampling yields new insights. *Biological Journal of the Linnean Society*, 94 (4): 825–835.
- Cartmill M. 1994. Anatomy, antinomies, and the problem of anthropoid origins. in *Anthropoid origins* (J.G. Fleagle and R. F. Kay, eds.). Plenum, New York.
- Conroy C.J. and Cook J.A. 1999. MtDNA evidence for repeated pulses of speciation within arvicoline and murid rodents. *Journal of Mammalian Evolution*, 6(3): 221–245.
- Hillis D.M., Moritz C. and B.K. Mable (eds.). 1996. *Molecular systematics*. Second edition.
- Dayrat B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of Linnean Society*, 85: 407–415.
- Galewski T., Tilak M.-k., Sanchez S., Chevret P., Paradis E. and Douzery E.J.P. 2006. The evolutionary radiation of Arvicolinae rodents (voles and lemmings): relative contribution of nuclear and mitochondrial DNA phylogenies. *BioMed Central Evolutionary Biology*, 6: 80.
- James H.F., Ericson P.G.P., Slikas B., Lei F.M., Gill F.B. and Olson S.L. 2003. *Pseudopodoces humilis*, a misclassified terrestrial tit (Paridae) of the Tibetan Plateau: evolutionary consequences of shifting adaptive zones. *Ibis*, 145: 185–202.
- Lebedev V.S., Bannikova A.A., Tesakov A.S. and Abramson N.I. 2007. Molecular phylogeny of the genus *Alticola* (Cricetidae, Rodentia) as inferred from the sequence of the cytochrome *b* gene. *Zoologica Scripta*, 36 (6): 547–563.
- Martin R.A. 2003. Biochronology of latest Miocene through Pleistocene arvicolid rodents from the Central Great Plains of North America. *Coloquios de Paleontologia*, 1: 373–383.
- Meredith R.W., Janecka Jan E., Gatesy J., Ryder O.A., C.A. Fisher, Teeling E.C., Goodbla A., Eizirik E., Simão T.L.L., Stadler T., Rabosky D.L., Honeycutt R.L., Flynn J.J., Ingram C.M., Steiner C., Williams T.L., Robinson T.J., Burk-Herrick A., Westerman M., Ayoub N.A., Springer M.S. and Murphy W.J. 2011. Impacts of the Cretaceous Terrestrial Revolution and KPg Extinction on Mammal Diversification. *Science*, 334: 521–524.
- Philippe H. and Roure B. 2011. Difficult phylogenetic questions: more data maybe; better methods, certainly. *BMC Biology*, 9: 91.
- Repenning C.A., Fejfar O. and Heinrich W.D. 1990. Arvicolid rodent biochronology of the Northern hemisphere. – Fejfar O., Heinrich W.D. (eds.). *International Symposium: Evolution, Phylogeny, and Biostratigraphy*

- of Arvicolids (Rodentia, Mammalia)*. Prague: Geological Survey: 385–418.
- Scotland, R.W., R.G. Olmstead, and J.R. Bennett. 2003.** Phylogeny reconstruction: The role of morphology. *Syst. Biol.* **52**: 539–548
- Springer MS, Murphy WJ, Eizirik E, Madsen O. and Scally M. 2007.** A molecular classification for the living orders of placental mammals and the phylogenetic classification of primates. *Primate Origins: Adaptation and Evolution*. New York: Springer Ravosa MJ, Dagosto M: 1–28.
- Wiens J.J. 2004.** The Role of Morphological Data in Phylogeny Reconstruction // *Systematic Biology*, **53**(4): 653–661.
- Wiens J.J., C.A. Kuczynski, T. Townsend, T.W. Reeder, D.G. Mulcahy, and J.W. Sites Jr. 2010.** Combining phylogenomics and fossils in higher level squamate reptile phylogeny: molecular data change the placement of fossil taxa. *Systematic Biology*, **59**: 674–688
- Yannic G., Burri R., Malikov V.G. and Vogel P. 2012.** Systematics of snow voles (*Chionomys*, Arvicolinae) revisited. – *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **62**(3): 806–815.