



**СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ
КАМЧАТКИ И ПРИЛЕГАЮЩИХ МОРЕЙ**

Камчатский филиал
Тихоокеанского института географии ДВО РАН

Камчатский филиал
Всероссийского научно-исследовательского
института рыбного хозяйства и океанографии»
(КамчатНИРО)

Камчатское краевое отделение
Русского географического общества

Камчатская краевая научная библиотека
имени С.П. Крашенинникова

СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ КАМЧАТКИ И ПРИЛЕГАЮЩИХ МОРЕЙ

Сборник научных статей

**Conservation of biodiversity
of Kamchatka and coastal waters**
Collection of scientific articles

Петропавловск-Камчатский – Москва
Издательство Центра охраны дикой природы
2025

Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : Сборник научных статей. — Петропавловск-Камчатский; М.: Изд-во Центра охраны дикой природы, 2025. — 356 с.

ISBN 978-5-93699-123-3

Сборник включает статьи по материалам состоявшейся 12–13 ноября 2025 г. в Петропавловске-Камчатском XXVI Всероссийской научной конференции по проблемам сохранения биоразнообразия Камчатки и прилегающих к ней морских акваторий, посвященной 75-летию со дня рождения известного российского ихтиолога, д.б.н., почетного гражданина города Петропавловска-Камчатского В.Ф. Бугаева. Рассматривается история изучения и современное биоразнообразие полуострова и прикамчатских вод. Обсуждаются теоретические и методологические аспекты сохранения биоразнообразия в условиях возрастающего антропогенного воздействия.

ББК 28.088:28.68:28.58

Conservation of biodiversity of Kamchatka and coastal waters: Collection of scientific articles — Petropavlovsk-Kamchatsky; Moscow: BCC Press, 2025. — 356 p.

The proceedings include articles based on the materials of the XXVI All-Russian scientific conference on the problems of biodiversity conservation in Kamchatka and adjacent seas held on 12–13 November, 2025 in Petropavlovsk-Kamchatsky. The conference is dedicated to the 75th anniversary of the birth of the famous Russian ichthyologist, doctor of biological sciences, Honorary Citizen of the city of Petropavlovsk-Kamchatsky V.F. Bugaev. The history of study and the present-day biodiversity of Kamchatka flora and fauna are analyzed. Theoretical and methodological aspects of biodiversity conservation under increasing anthropogenic impact are discussed.

Редакционная коллегия:

Д.Д. Данилин, к.б.н., М.Ю. Дьяков, к.э.н., С.Г. Коростелев, д.б.н.,
А.М. Токранов, д.б.н. (отв. редактор), О.А. Чернягина

*Издано по решению секции Учёного совета при Камчатском филиале
Тихоокеанского института географии ДВО РАН
«Биоразнообразие и устойчивое природопользование»*

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ: ПРОБЛЕМЫ С ИСХОДНЫМИ ДАННЫМИ

К.Э. Санамян, Н.П. Санамян

Камчатский филиал Тихоокеанского института географии (КФ ТИГ) ДВО РАН,
Петропавловск-Камчатский

Phylogenetic analysis: issues with input data

K.E. Sanamyan, N.P. Sanamyan

Kamchatka Branch of Pacific Geographical Institute (KB PGI) FEB RAS,
Petropavlovsk-Kamchatsky

В современной таксономии молекулярный филогенетический анализ играет ключевую роль, позволяя уточнять родственные связи между таксонами и выстраивать естественную систему организмов. Сегодня включение молекулярных данных в таксономические исследования стало стандартом, филогенетические реконструкции на основе таких данных помогают решать спорные вопросы классификации, выявлять криптическое разнообразие и обосновывать выделение новых таксонов. Однако, как и в любой работе с данными, проведение молекулярного анализа требует внимания к деталям. К сожалению, этим часто пренебрегают из-за кажущейся простоты процесса: исследователи загружают данные в программу, которая автоматически генерирует филогенетическое дерево, а результаты воспринимаются как безусловно достоверные. При этом выводам, основанным на молекулярном анализе, нередко автоматически отдается приоритет, даже если они противоречат морфологическим или иным данным. Такие противоречия встречаются довольно часто (по крайней мере, в таксономических группах, изучаемых авторами). Их причины могут быть как биологическими (эволюция отдельного гена может не отражать эволюцию вида в целом, могут быть проблемы, связанные с особенностями генома и др. [см., например, Grebelny, 2017], так и техническими, связанными с ошибками в исходных последовательностях (сиквенсах). В данной статье мы сосредоточимся именно на технических аспектах, рассматривая их на примере морских анемонов (отряд Actiniaria). По нашим наблюдениям, значительная часть аномалий в опубликованных филогенетических реконструкциях (далее — «деревья») обусловлена некорректными исходными данными. В то же время, по сложившейся практике, исследователи редко склонны объяснять неожиданные результаты молеку-

лярного анализа ошибками в сиквенсах, и часто принимают любой полученный результат как достоверный.

Особенность морских анемон заключается в том, что стандартные маркеры (например, COI) для них малоинформативны и непригодны для видовой идентификации и построения филогенетических деревьев. Поэтому обычно используют комбинацию из пяти маркеров: 12S, 16S, 18S, 28S и COIII. Типичный алгоритм анализа включает следующие этапы: получение сиквенсов исследуемого материала, загрузка публично доступных сиквенсов из GenBank, выравнивание последовательностей для каждого маркера отдельно, объединение данных в единый набор для построения дерева (например, в программах IQ-TREE 2 или MrBayes). Использование в качестве исходного выравнивания набора, состоящего из нескольких объединенных маркеров, создает необходимость дополнительного контроля — помимо качества самих исходных сиквенсов, надо убедиться, что все маркеры в одном наборе действительно принадлежат одному организму (подробности ниже).

Можно выделить следующие типы потенциальных ошибок и некорректных исходных данных:

1. Неверные определения видов в GenBank. Несмотря на то, что каждый сиквенс в GenBank сопровождается информацией об авторах и публикации, в подавляющем большинстве случаев проверить правильность идентификации вида невозможно. В таких статьях (если это не описание нового таксона или ревизия группы) обычно указывается лишь название вида, иногда с музейным номером или регионом сбора, но редко приводятся морфологические данные, которые могли бы подтвердить определение. Ошибочные определения относительно мало влияют на филогенетические реконструкции: неверно определенный таксон займет на дереве положение, соответствующее реальному (а не указанному в GenBank) таксону, но не исказит топологию остального дерева. Для морских анемон примеров неверных идентификаций не так много. Пример: сиквенсы двух экземпляров «*Urticina coriacea*», из работ Daly et al. [2008] и Larson, Daly [2016], на филогенетическом дереве оказались среди представителей рода *Urtibrina*. Как было показано нами [Sanatmyan et al., 2025], эти образцы являются неверно определенными представителями этого рода. В данном конкретном случае ошибка вполне объяснима морфологическим сходством и путаницей, существовавшей раньше в систематике этой группы.

2. Перепутанный материал для секвенирования. Подобные случаи встречаются часто и связаны с методикой подготовки проб: для секвенирования берется очень небольшой фрагмент ткани в пробирку со спиртом, а основной экземпляр (если речь об актиниях) фиксируется формалином. При этом,

если видовую принадлежность целого экземпляра в формалине всегда можно подтвердить по его морфологии при возникновении сомнений, то принадлежность ДНК-образца, определяется, условно говоря, лишь меткой (номером) на пробирке, и в случае странных результатов секвенирования нет возможности убедиться, действительно ли образец взят от указанного вида. Иногда такие ошибки достаточно легко выявляются при анализе полученных сиквенсов, особенно если каждый вид представлен несколькими экземплярами. Так, в нашей практике были случаи, когда секвенирование двух морфологически различающихся видов (назовем их А и В), ожидаемо показывает наличие двух видов, но один-два экземпляра, морфологически относимых к виду А, по результатам секвенирования попали в вид В, и наоборот.

Сложнее ситуация с данными из GenBank. Пример: *Anthopleura thallia*, вид, известный только из Северной Европы, представлен в Генбанке единственным экземпляром. Его сиквенсы 12S, 16S и COIII (KY789333, KY789366 и KY789300) на 100 % совпадают с сиквенсами тропических актиний *Thalassianthus aster* (KC812146, KC812169 и KC812241) и *Heterodactyla hemprichii* (KC812145, KC812168 и KC812239). Для 28S у этих видов секвенированы разные участки, но пересекающиеся участки также на 100 % идентичны. Авторы сиквенсов [Daly et al., 2017] отмечают «неожиданное», но «стабильное», положение *Anthopleura thallia* на полученном ими дереве, и, хотя и называют его «подозрительным», избегают прямых предположений о возможной ошибке и в целом, обсуждая деление рода *Anthopleura* на клады, принимают этот результат как валидный. Между тем, полное совпадение по всем полученным молекулярным данным между видами, имеющими разное географическое распространение и разную морфологию, проще всего объяснить тем, что по ошибке был отсеквенирован не тот экземпляр.

Еще один пример: *Metedwardsia akkeshi*, очень интересная роющая актиния, известная из вод Японии, морфологически отличающаяся от остальных представителей семейства Edwardsiidae. Ее единственный отсеквенированный экземпляр попал в кладу с актинидами (группа, морфологически далекая от эдвардсиид). Авторы сиквенсов [Rodriguez, Daly, 2010] отметили, что «это положение противоречит текущей таксономии», но оставили этот факт без анализа и, традиционно, не поставили под сомнение корректность исходных данных. С очень высокой вероятностью, в данном случае был просто перепутан материал для секвенирования, и отсеквенирована была актиния рода *Anthopleura* (сем. Actiniidae): все пять сиквенсов *Metedwardsia akkeshi*, 12S, 16S, 18S, 28S и COIII, показывают 100 % или почти 100 % сходство с *Anthopleura anjunae* (Индия) и *A. midori* (Япония).

3. Химерные наборы данных. Одной из наиболее серьезных проблем в филогенетических исследованиях актиний являются случаи, когда объеди-

ненный набор последовательностей (12S+16S+18S+28S+COIII), приписываемый определенному виду, фактически состоит из сиквенсов, принадлежащих разным организмам. Такие химерные наборы данных представляют особую опасность, поскольку не просто приводят к ошибочному позиционированию отдельного таксона, но искажают общую топологию филогенетического дерева, создавая ложные эволюционные связи между неродственными группами.

В качестве примера можно привести таксон, обозначенный как *Isoetalia* sp. ER-2010. Три его сиквенса, 16S, 18S и 28S (GU473290, GU473306 и GU473322), полностью совпадают с соответствующими сиквенсами *Stephanthus antarcticus* (KJ482960, KJ483019 и KJ483092), в то время как COIII (GU473354) идентичен последовательности *Nemanthus nitidus* (FJ489495) из другого надсемейства. Такое сочетание выглядит крайне маловероятным с биологической точки зрения и явно указывает на проблемы с исходными данными, разрешить которые станет возможным только когда данный вид будет отсеканен еще раз. До этого момента химерный таксон лучше исключать из анализа: он создает потенциально ложную связь между семействами, к которым относятся *Stephanthus* и *Nemanthus*, и, в то же время, не дает реальной информации о положении рода *Isoetalia*, так как нет уверенности, что отсеканен образец, относящийся именно к этому роду.

Причины возникновения таких химер разнообразны. В некоторых случаях проблема возникает из-за того, что по одному из маркеров был отсеканен нецелевой организм. Такие ошибки должны выявляться на этапе первичного анализа (с помощью BLAST), еще до публикации данных. Тем не менее, сиквенсы сторонних видов, приписываемых актиниям, периодически публикуются. Например, 18S сиквенс *Edwardsianthus smaragdus* (LC649487) резко отличается от сиквенсов всех актиний, но имеет 99,47 % сходство с зооксантеллами *Symbiodinium* (симбионт многих Anthozoa, в том числе и данного вида). Естественно, что на филогенетическом дереве, полученном авторами этого сиквенса [Izumi, Fujii, 2021], *E. smaragdus* разрешился на очень длинной ветви и «хорошо отделился» от остальных представителей рода, что позволило авторам описать эту актинию как новый вид.

Другой распространенный сценарий — контаминация исходного материала. Так, 12S сиквенс *Synhalcurias kahakui* (LC768524) не имеет значимого сходства с другими актиниями, но на 99,84 % совпадает с последовательностью склерактинии *Rhizotrochus*. Примечательно, что другие сиквенсы этого же экземпляра (16S и 28S) соответствуют ожидаемым для данного семейства (Isactinernidae), что исключает возможность ошибки в видовой идентификации. В подобных случаях важно не столько установить точную причину

ошибки (будь то перепутанные пробирки или изначальная контаминация образца), сколько признать сам факт наличия ошибочных данных и исключить их из последующего анализа, по крайней мере, до получения данных повторного секвенирования вида.

Случаются и технические ошибки при загрузке данных в GenBank. Пример: 18S сиквенсы *Scytophorus striatus* (Halcampoididae) и *Chitinactis marmara* (Condylanthidae) на 100 % идентичны, имеют одинаковую длину и номера, отличающиеся последней цифрой (MT676784, MT676785). Очевидно, что здесь произошла ошибка при подаче данных, когда один и тот же сиквенс был ошибочно присвоен двум разным видам. Остальные сиквенсы этих двух видов (12S, 16S, 28S и COIII) сильно отличаются друг от друга, что ожидаемо, учитывая их кардинально различную морфологию. Еще раз отметим, что подобные ошибки относятся к наиболее неприятным по своим последствиям. Включение таких данных в анализ приводит к искусственному сближению неродственных таксонов (уровня семейств и выше) и серьезным искажениям в топологии дерева.

Большую сложность представляют случаи, когда один из маркеров конкретного вида существенно отличается от ожидаемого, демонстрируя сходство с таксонами из отдаленных групп. Таких случаев достаточно много. Например, 18S сиквенс актинии *Isohalcurias citreum* (LC768594) имеет сходство с представителями семейства Actiniidae (98,84 % сходство с *Urticina*), хотя морфологически эти группы совершенно различны. При этом два других экземпляра того же вида демонстрируют типичные для рода последовательности. Наличие нескольких экземпляров, только один из которых демонстрирует отклонение, позволяет уверенно идентифицировать такой случай как ошибку. Однако, когда вид представлен единственным экземпляром с аномальным сиквенсом, как в случае с 12S сиквенсом *Sicyonis kuznetsovi* (MZ569952), который отличается от других сиквенсов родственных видов, но имеет сходство с сиквенсами аконтиарных актиний, установить истинную природу расхождения становится трудно — остается лишь констатировать наличие проблемы и с осторожностью интерпретировать полученные результаты.

4. Проблема низкокачественных сиквенсов. Сиквенсы с большим количеством неуверенно прочитанных нуклеотидов (обозначаемых как N или другими символами, отличными от A, T, C, G) обычно хорошо заметны при визуальном анализе выравниваний. Такие последовательности требуют особого внимания, поскольку их другие участки также могут содержать скрытые ошибки секвенирования. Аналогичные подозрения вызывают сиквенсы с длинными вставками, которые часто оказываются бактериальными (или иными) контаминантами. Сами по себе такие вставки не сильно

вливают на результат анализа, но их наличие свидетельствует об общем низком качестве данных. Отдельную категорию составляют сиквенсы без явных технических дефектов, но демонстрирующие необычно низкое сходство с другими таксонами. В качестве примера можно привести 18S и 28S сиквенсы для таксона, обозначенного как *Haloclava* sp. (J483031 и KJ483138), максимальное сходство которых с другими актиниями составляет около 88 % — этот показатель настолько низок, что разумнее исключить такие данные из анализа. В подобных случаях предпочтительнее потерять часть сомнительной информации, чем строить выводы на потенциально ошибочных данных.

5. Курьезный случай с серьезными последствиями. Отдельно стоит упомянуть случай, когда простая опечатка в номере сиквенса, указанного в публикации, поспособствовала серьезным таксономическим изменениям. В работе Daly et al. [2008] для 18S маркера *Haloclava producta* был ошибочно указан номер AF254370 (принадлежащий дрозофиле) вместо правильного AF254379 (опечатка в последней цифре). Последующие авторы копировали таблицы с номерами сиквенсов друг у друга. Если верить приводимым ими данным, сиквенс дрозофилы (AF254370) был использован для построения филогенетических деревьев, по крайней мере, в 10 статьях 17 авторами. Более того, в одной из недавних работ сиквенс дрозофилы был ошибочно присвоен уже двум маркерам (18S и 28S) *H. producta*. В сочетании с другими проблемными сиквенсами *Haloclava* (см. выше) это привело к тому, что представители семейства Haloclavidae оказывались на филогенетических деревьях в разных местах. В итоге семейство было признано не монофилетичным и из его состава выделили два новых семейства, Peachiidae и Narenactidae (правда, авторы не соблюли положения Кодекса и названия оказались непригодными). Однако, когда мы [Sanamyuan et al., в печати] исключили некорректные данные, включая сиквенс дрозофилы, представители семейства Haloclavidae снова объединились вместе в одну кладу с высокой поддержкой.

Приведенные примеры — лишь небольшая часть проблем, встречающихся при работе с молекулярными данными. Они наглядно демонстрируют, насколько критична тщательная проверка исходных сиквенсов перед анализом. Показательно, что тот же сиквенс дрозофилы, упомянутый выше, легко обнаруживается при визуальном анализе выравниваний — он принципиально не выравнивается с последовательностями актиний и резко выделяется на общем фоне (собственно, так мы его и обнаружили). Удивительно, что эту ошибку не заметили раньше другие исследователи в ходе многократного использования этих данных.

Особую осторожность следует проявлять при интерпретации неожиданных результатов, если они противоречат морфологическим данным.

Некритичное выделение новых таксонов или пересмотр систематики на основании непроверенных молекулярных данных может привести к искажениям в понимании эволюционных взаимосвязей. Важно подчеркнуть, что высокие значения статистических поддержек (bootstrap/PP) свидетельствуют лишь о том, что полученная топология максимально хорошо соответствует исходным данным, но не гарантируют биологической достоверности результатов, если исходные последовательности содержат ошибки. Многие выводы, сделанные преимущественно на основе молекулярных данных, зачастую объясняются техническими артефактами, которые легко можно было выявить при проверке исходных данных.

Работа выполнена в рамках государственного задания КФ ТИГ ДВО РАН «Структурно-функциональная организация, динамика и продуктивность наземных и прибрежных экосистем на Дальнем Востоке РФ. Разработка научных основ и экономических инструментов устойчивого природопользования» (№ ЕГИСУ 124012700496-4).

Литература

- Daly M., Chaudhuri A., Gusmao L., Rodriguez E. 2008. Phylogenetic relationships among sea anemones (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria) // Mol. Phyl. Evol. — Vol. 48. — P. 292–301.
- Daly M., Crowley L.M., Larson P., Rodriguez E., Heestand Saucier E., Fautin D.G. 2017. *Anthopleura* and the phylogeny of Actinioidea (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria) // Organism Diversity and Evolution. — Vol. 17. — P. 545–564. DOI: 10.1007/s13127-017-0326-6.
- Grebelyni S.D. 2017. The significance of acontia for the traditional classification of Actiniaria. Conflict of morphological systematics and modern opinions based on the study of molecular markers // Inv. Zool. — Vol. 14. No. 2. — P. 121–126.
- Izumi T., Fujii T. 2021. Gems of the southern Japanese seas — four new species of *Edwardsianthus* (Anthozoa, Actiniaria, Edwardsiidae) with redescrptions of two species // ZooKeys. — Vol. 1076. — P. 151–182.
- Larson P.G., Daly M. 2016. Phylogenetic analysis reveals an evolutionary transition from internal to external brooding in Epiactis Verrill (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria) and rejects the validity of the genus Cnidopus Carlgren // Mol. Phyl. Evol. — Vol. 94. — P. 548–558.
- Rodriguez E., Daly M. 2010. Phylogenetic relationships among deep-sea and chemosynthetic sea anemones: Actinoscyphiidae and Actinostolidae (Actiniaria: Mesomyaria) // PLoS ONE. — No. e10958.
- Sanamyan N.P., Sanamyan K.E., Kukhlevskiy A.D., Savinkin O.V. A new species of *Edwardsianthus* (Actiniaria: Edwardsiidae), with an overview of the genus and patterns of development of tentacles and mesenteries in the family // Inv. Zool. — (In press).
- Sanamyan N.P., Sanamyan K.E., McDaniel N.G., Kukhlevskiy A.D., Bocharova E.S. 2025. A new genus and species of sea anemone (Cnidaria: Actiniaria) related to *Urticina*, with the reinstated family Tealidae Hertwig, 1882 and keys to genera and species // Inv. Zool. — Vol. 22. No. 2. — P. 219–236.