

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

Тетерина Вероника Игоревна

Генетика – 03.00.15

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО  
РАЗНООБРАЗИЯ И ПРОЦЕССОВ  
ВИДООБРАЗОВАНИЯ ЭНДЕМИЧНОГО СЕМЕЙСТВА  
РЫБ ОЗЕРА БАЙКАЛ – ГОЛОМЯНОК  
(СОМЕРНОРИДАЕ)**

Научный руководитель

Кандидат биологических наук

Кирильчик Сергей Васильевич

Большая (*Comephorus baicalensis* Pallas) /Pallas, 1776/ и малая (*C. dybowski* Korotneff) /Коротнев, 1905/ голомянки (Scorpaeniformes: Cottoidei)



## Модельные виды для исследований симпатрического видообразования:

- близкородственные виды, относительно молодые виды
- ареалы обитания видов в значительной степени перекрываются
- одни из наиболее изученных среди байкальских рогатковидных рыб виды

Поперечный батиметрический разрез (юг-север) озера Байкала. (The INTAS Project 99-1669 Team, 2002. *A new bathymetric map of Lake Baikal*. Open-File Report on CD-Rom

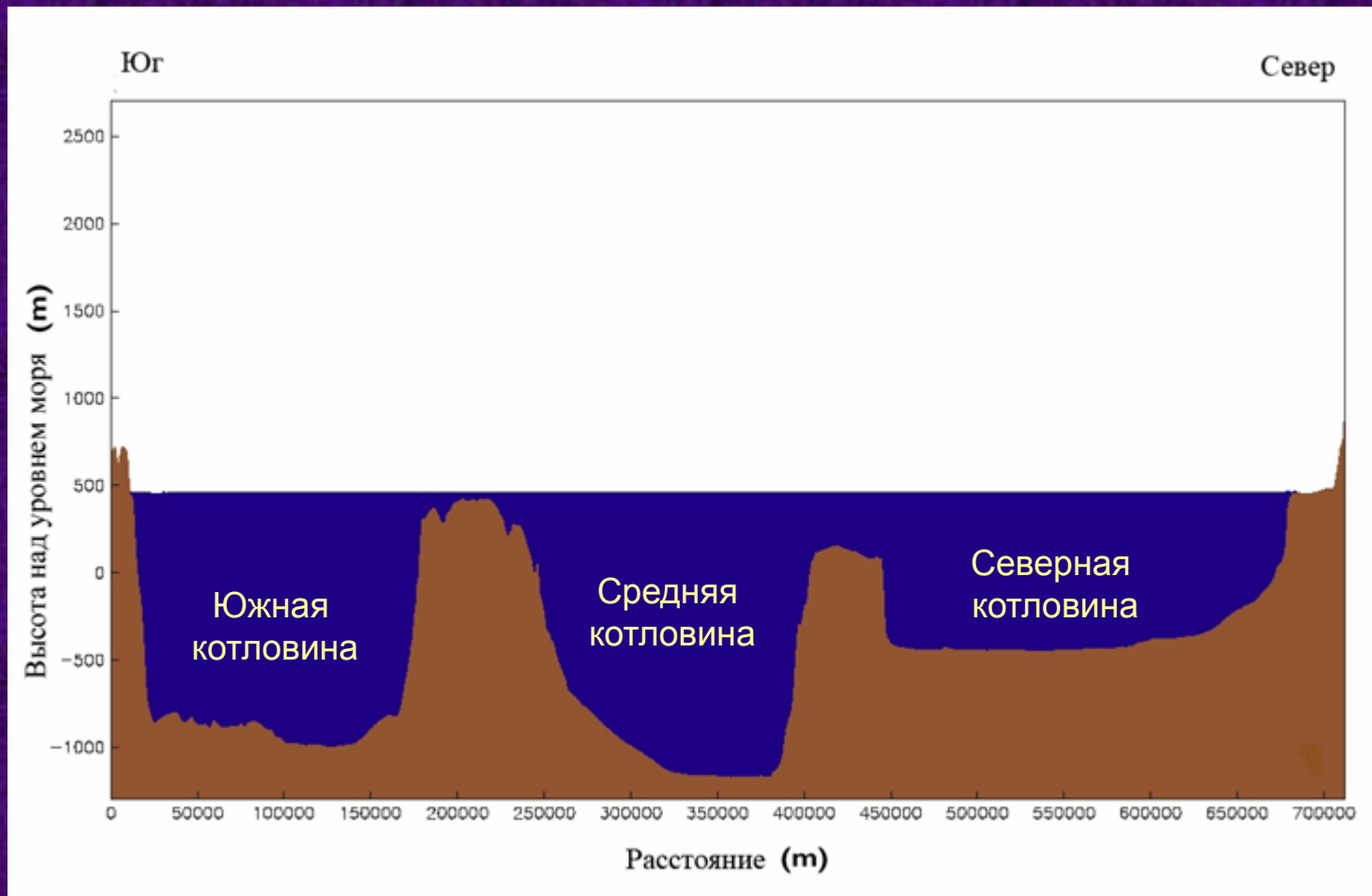
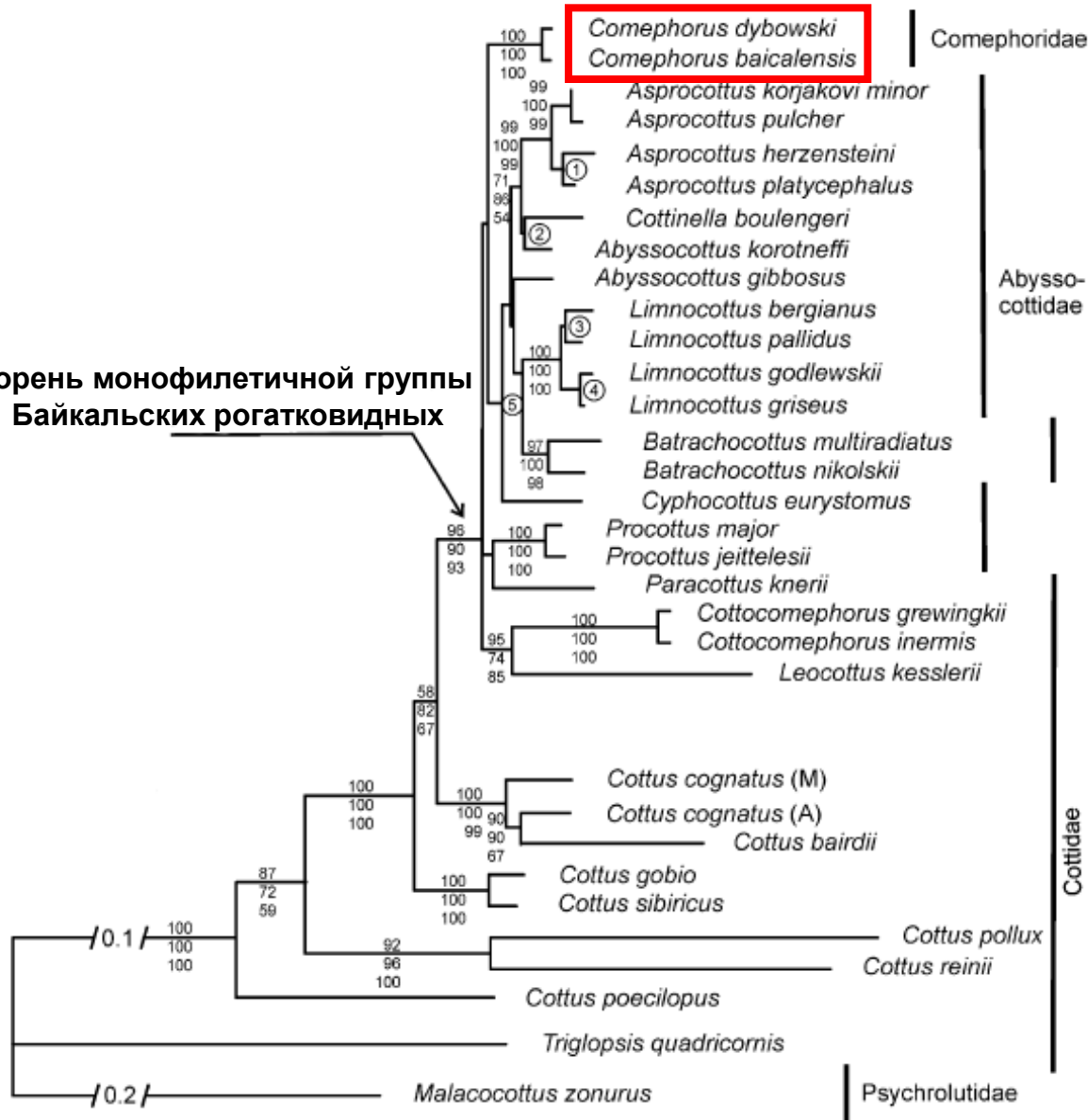


Схема филогенетических взаимоотношений байкальских и не байкальских рогатковидных рыб, построенное на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b*, генов АТФазы8 и АТФазы6 (Kontula et al., 2003)

Корень монофилетичной группы Байкальских рогатковидных



0.1

## Цель работы:

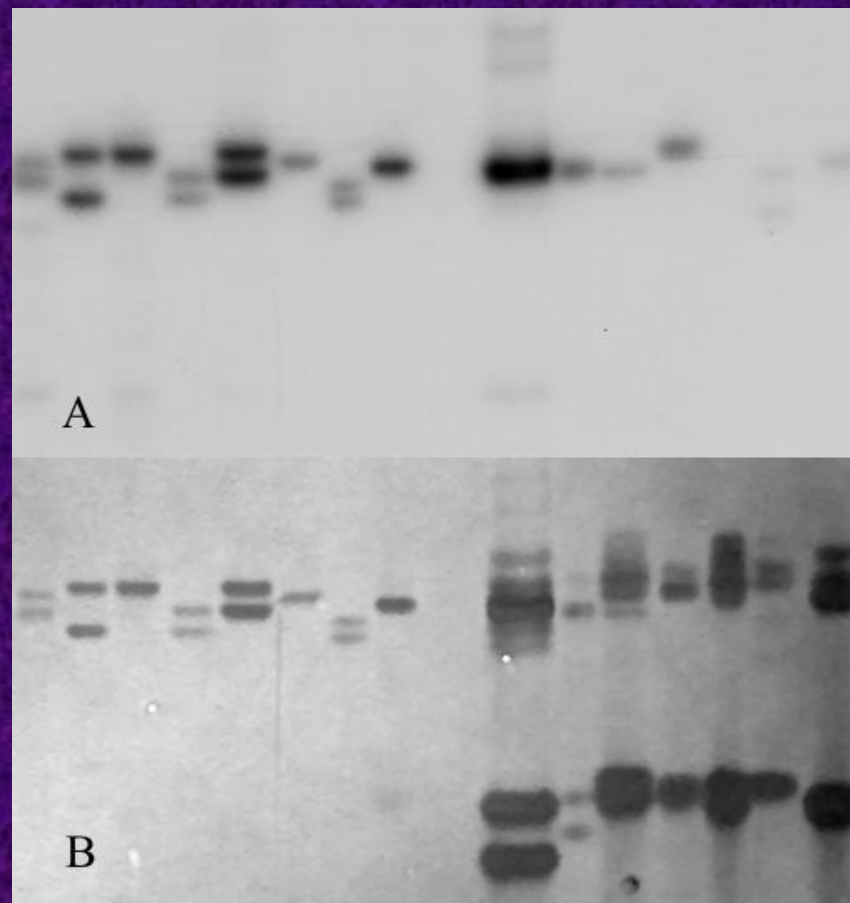
Исследование генетического разнообразия и эволюционной истории семейства голомянок (Compheroridae) с помощью молекулярно-генетических методов

## Задачи:

1. Провести исследования внутривидового генетического полиморфизма двух видов семейства голомянок на основе полиморфизма длин микросателлитных локусов и на основе анализа нуклеотидных последовательностей митохондриального гена цитохрома *b*.
2. Оценить степень генетической изоляции между особями собранными из разных котловин Байкала - южной, средней и северной.
3. Сравнить результаты анализа внутривидового генетического полиморфизма и межвидовой дивергенции полученные с помощью маркеров микросателлитной и митохондриальной ДНК.
4. Провести оценку времени дивергенции видов и реконструировать эволюционную историю семейства голомянок.

Использовали праймеры разработанные для европейского подкаменщика *Cottus gobio* (Englbrecht et al., 1999)

Локус	Повторяющаяся единица
Cgo56MENU	(GT) <sub>20</sub>
Cgo1016PBVE	(GT) <sub>2</sub> (GC) <sub>3</sub> (GT) <sub>2</sub> GCGTGC(GT) <sub>8</sub>
Cgo1033PBVE	(CA) <sub>16</sub>
Cgo1114PBVE	(GT) <sub>7</sub> TT(GT) <sub>9</sub>
Cgo05ZIM	(GT) <sub>14</sub>
Cgo33ZIM	(CA) <sub>9</sub> CC(CA) <sub>7</sub>
Cgo42ZIM	(CA) <sub>23</sub>



**A** – продукт ПЦР визуализирован на рентгеновской пленке с помощью радиоактивной метки; **B** – тот же гель после окрашивания серебром.

# Оценки показателей попарной генетической дифференциации по микросателлитным локусам между выборками из трех котловин Байкала

## Малая голомянка (среднее по всем семи локусам)

Место сбора	Южный Байкал	Средний Байкал	Северный Байкал
Южный Байкал	-	<b>-0.023</b>	<b>-0.022</b>
Средний Байкал	<b>0.016</b>	-	<b>-0.015</b>
Северный Байкал	<b>0.000</b>	<b>0.009</b>	-

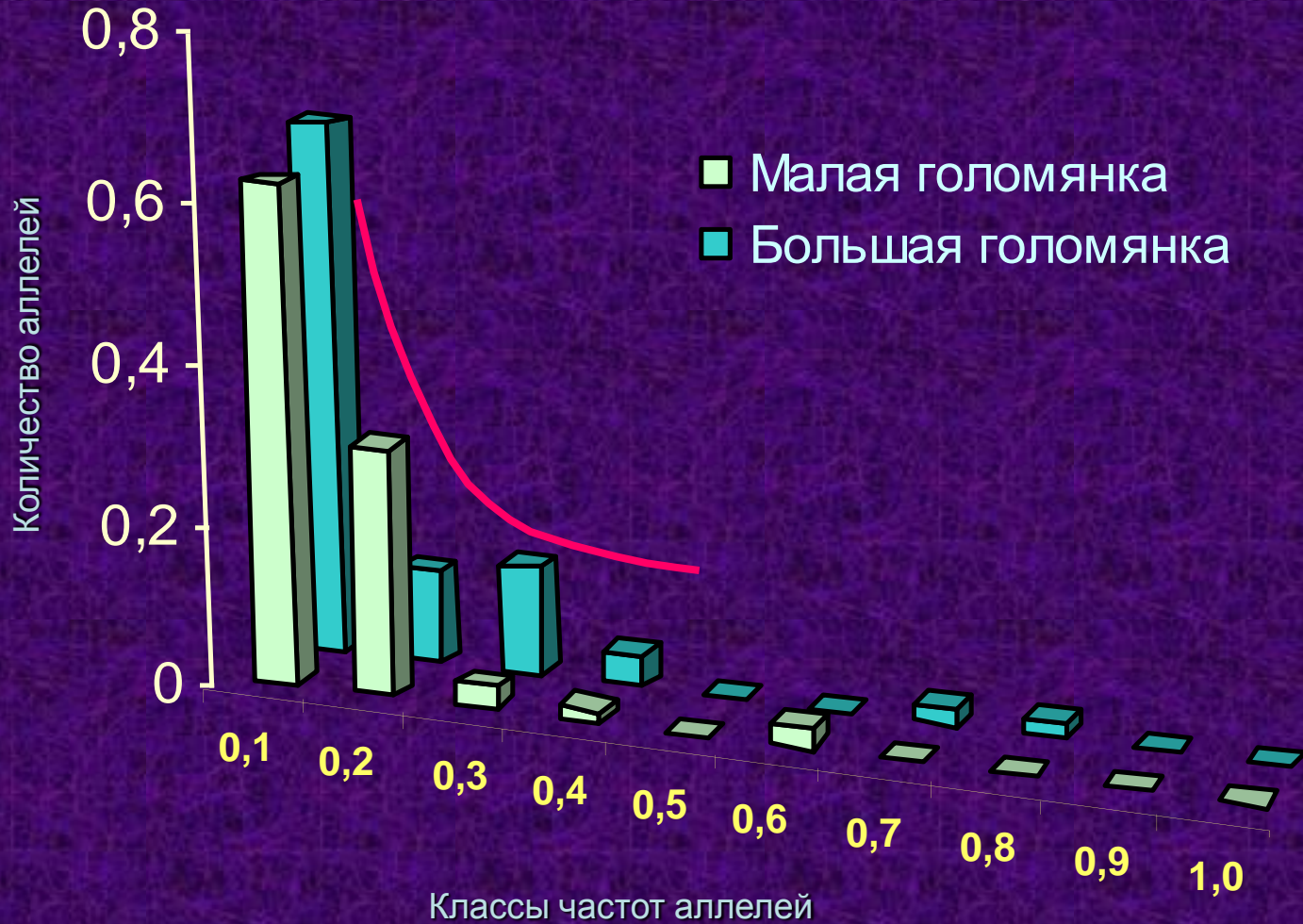
**Rst – красным цветом**

**Fst – желтым цветом**

## Большая голомянка (среднее по шести локусам)

Место сбора	Южный Байкал	Средний Байкал	Северный Байкал
Южный Байкал	-	<b>0.016</b>	<b>0.013</b>
Средний Байкал	<b>- 0.004</b>	-	<b>0.016</b>
Северный Байкал	<b>0.019</b>	<b>0.015</b>	-

# Распределение частот аллелей малой и большой голомянки

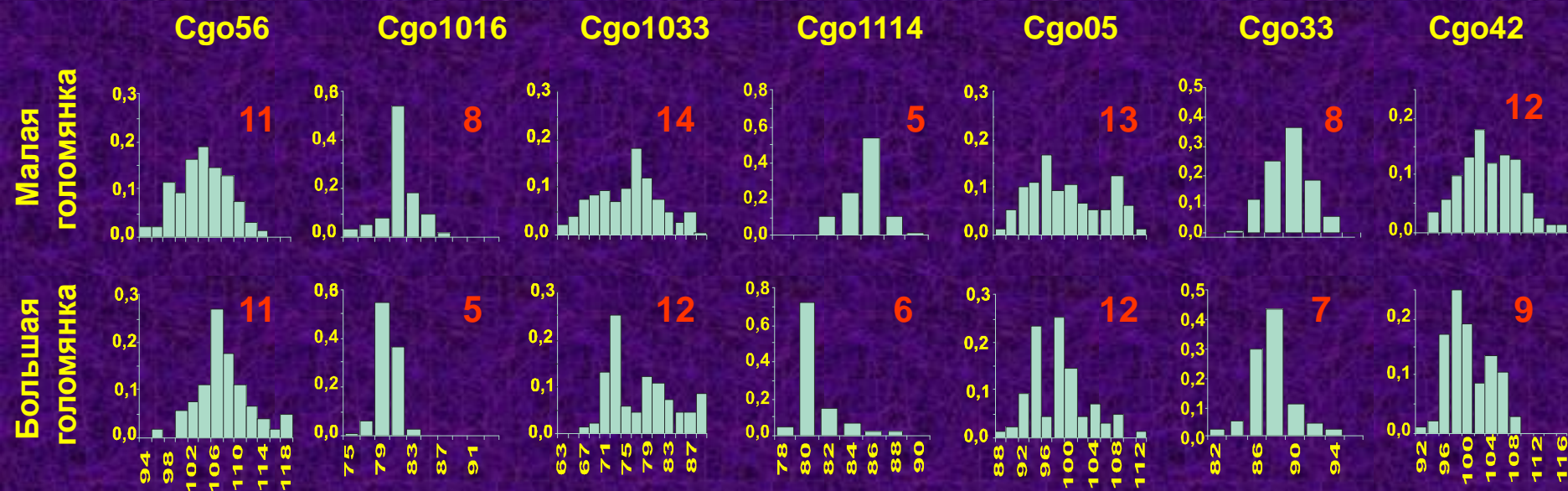




## Индексы генетической дифференциации между совокупными выборками малой и большой голомянок

Локусы	<i>F</i> ST	<i>R</i> ST
Cgo56	0.011	0.152
Cgo1016	0.235	0.279
Cgo1114	0.418	0.793
Cgo05	0.024	0.056
Cgo33	0.044	0.185
Cgo42	0.069	0.313
<b>Среднее</b>	<b>0.138</b>	<b>0.244</b>

# Диаграммы распределения частот аллелей малой и большой ГОЛОМЯНОК

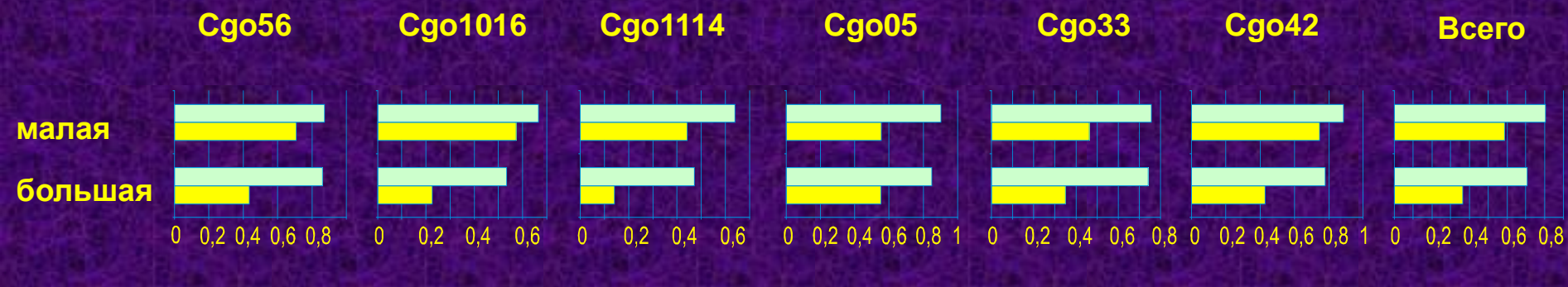



**Количество аллелей выделено красным цветом**


**По осям абсцисс- длина аллелей (пн)**

**По осям ординат – частота встречаемости в долях**

# Наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготности малой и большой голомянок



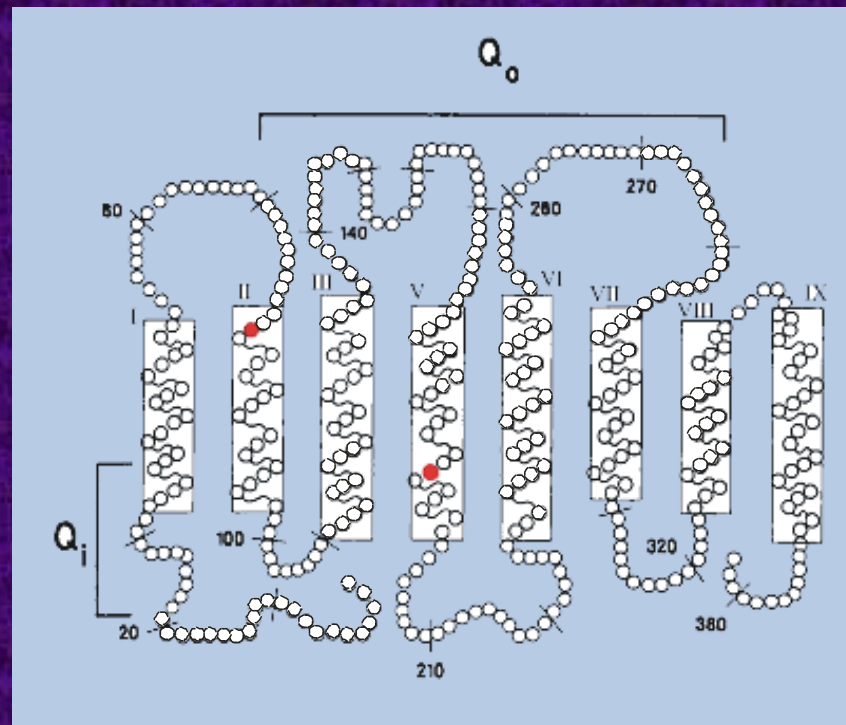
 - ожидаемая гетерозиготность

 - наблюдаемая гетерозиготность

## Тест МакДональда – Крейтмана и индекс нейтральности

	сайты с фиксированными заменами	полиморфные сайты
несинонимичные замены	2	10
синонимичные замены	2	81
G-тест	$G = 3.502$ ( $P = 0.06129$ )	
Индекс нейтральности	0.123	

## Двухмерная модель продукта гена цитохрома *b* (Howell, 1989)



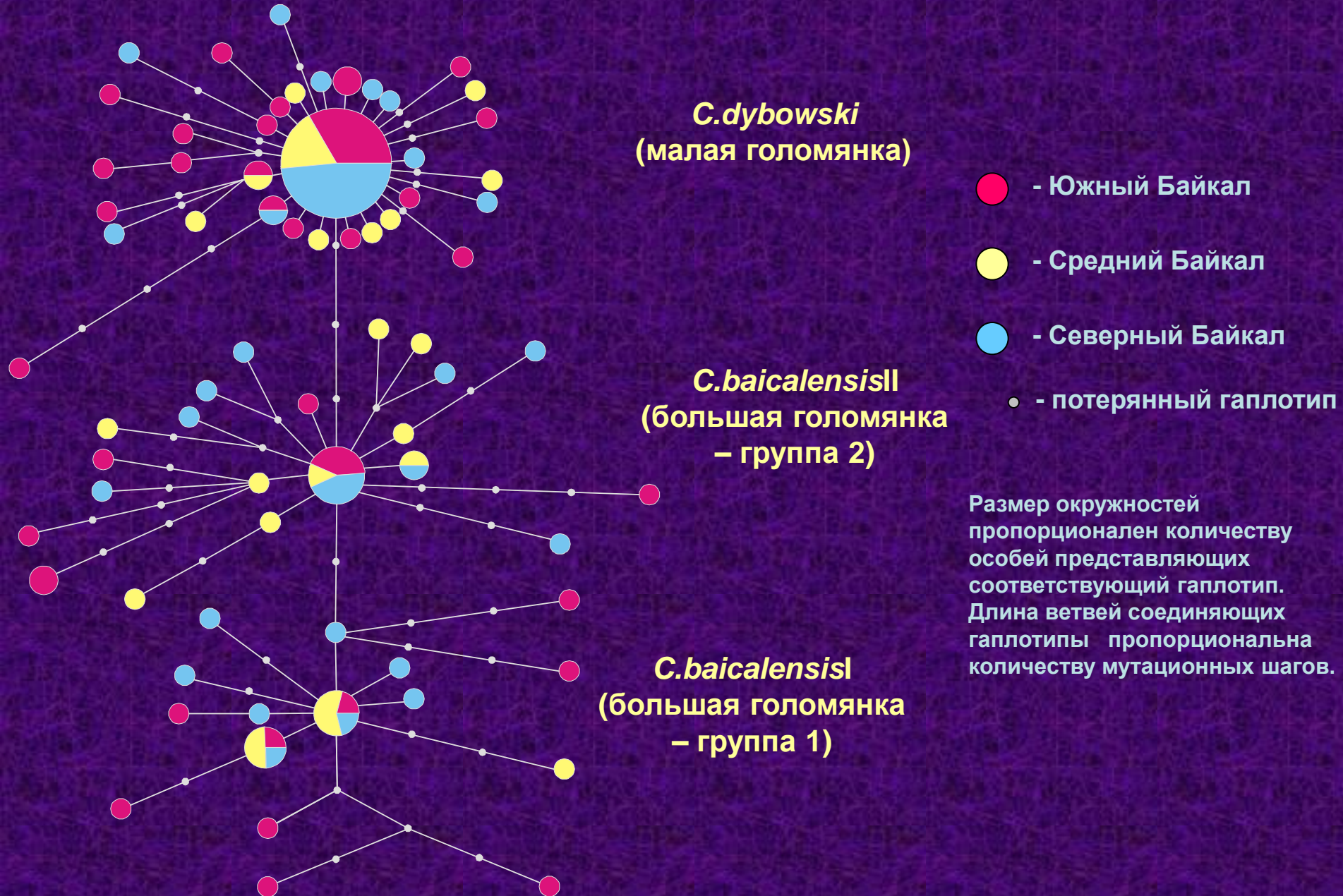
● - фиксированные несинонимичные замены между малой и большой голомянками

$Q_0$  и  $Q_i$  - реакционные центры,

I-III и V-IX –трансмембранные домены,

Арабские цифры - порядок расположения аминокислотных остатков относительно начала гена

Медианная сеть гаплотипов малой и большой голомянки, построенная на основе нуклеотидных последовательностей гена цитохрома b.



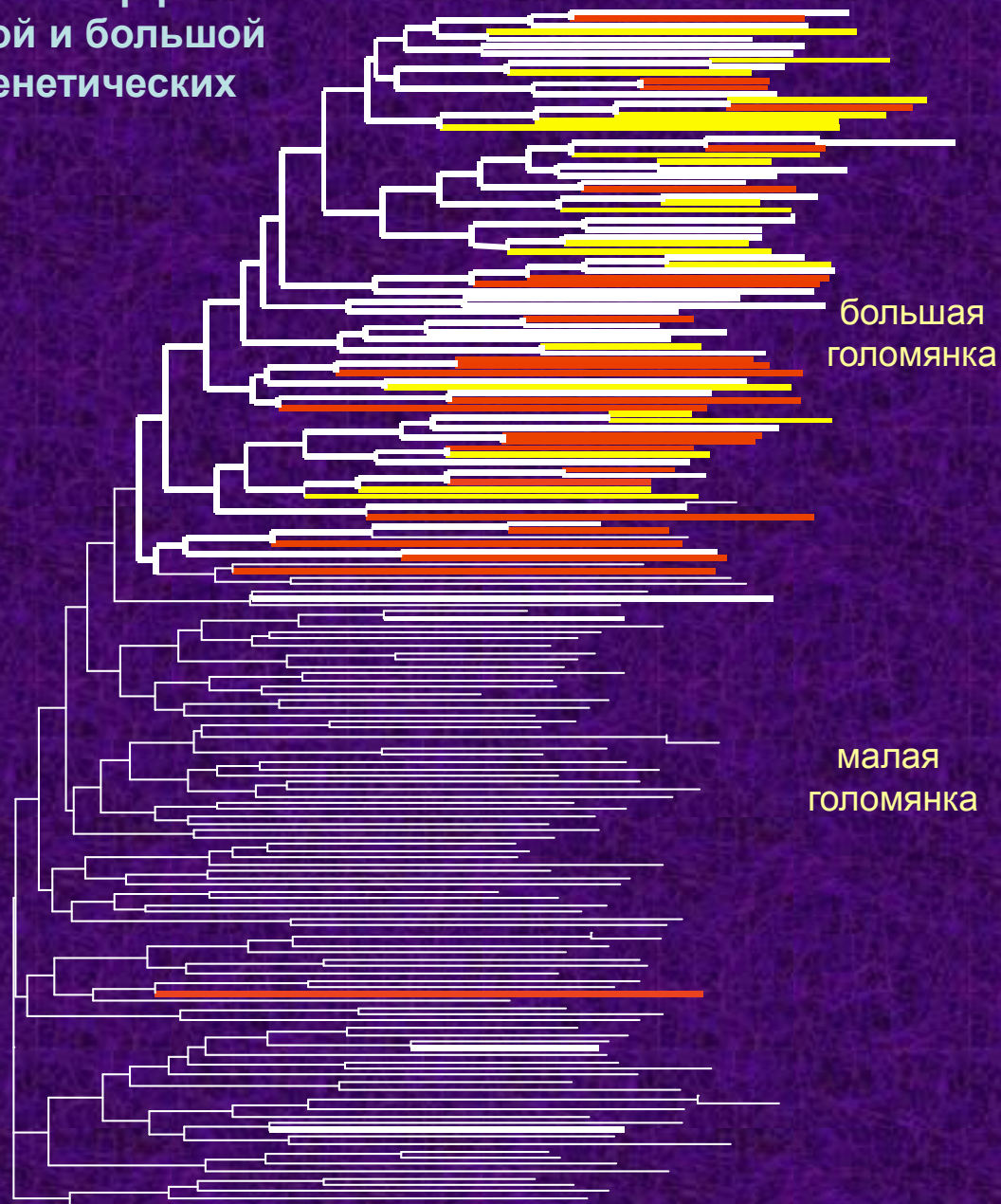
Дерево построенное на основе полиморфизма микросателлитных локусов малой и большой голомянок с использованием генетических дистанций DAS.

Индексы генетической дифференциации между двумя генетическими группами большой голомянки по микросателлитным локусам

$F_{ST}$	$R_{ST}$
0.012	0.008

Тонкие линии – малая голомянка, жирные - большая, где:

-  1 группа
-  2 группа



Не предковой для голомянок  
популяции ~ 16 000

Малая голомянка  
 $N_e \sim 500\ 000$

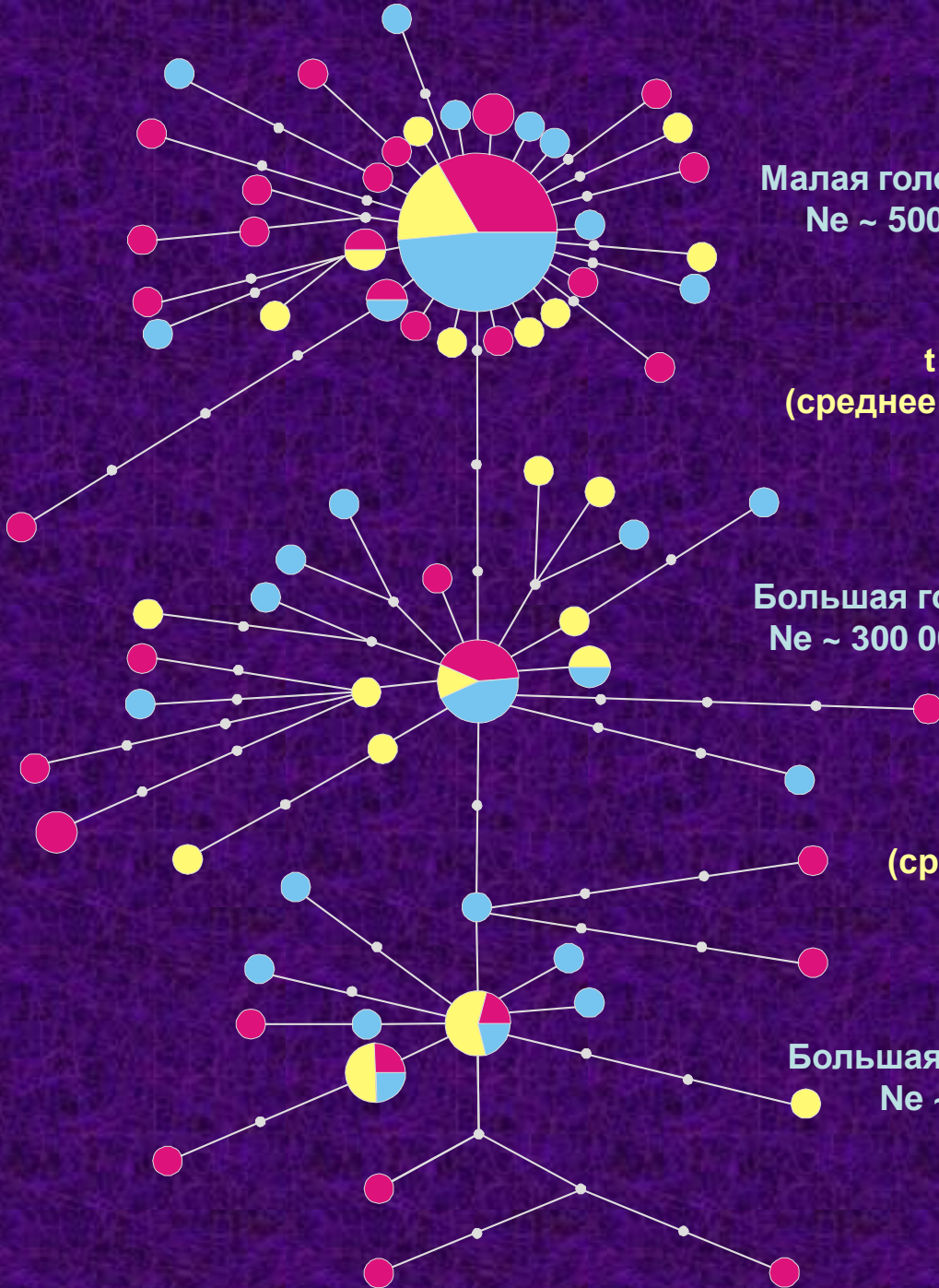
$t = 40-79$  тыс. лет  
(среднее значение 57-59 тыс. лет)

Большая голомянка – II  
 $N_e \sim 300\ 000 - 500\ 000$

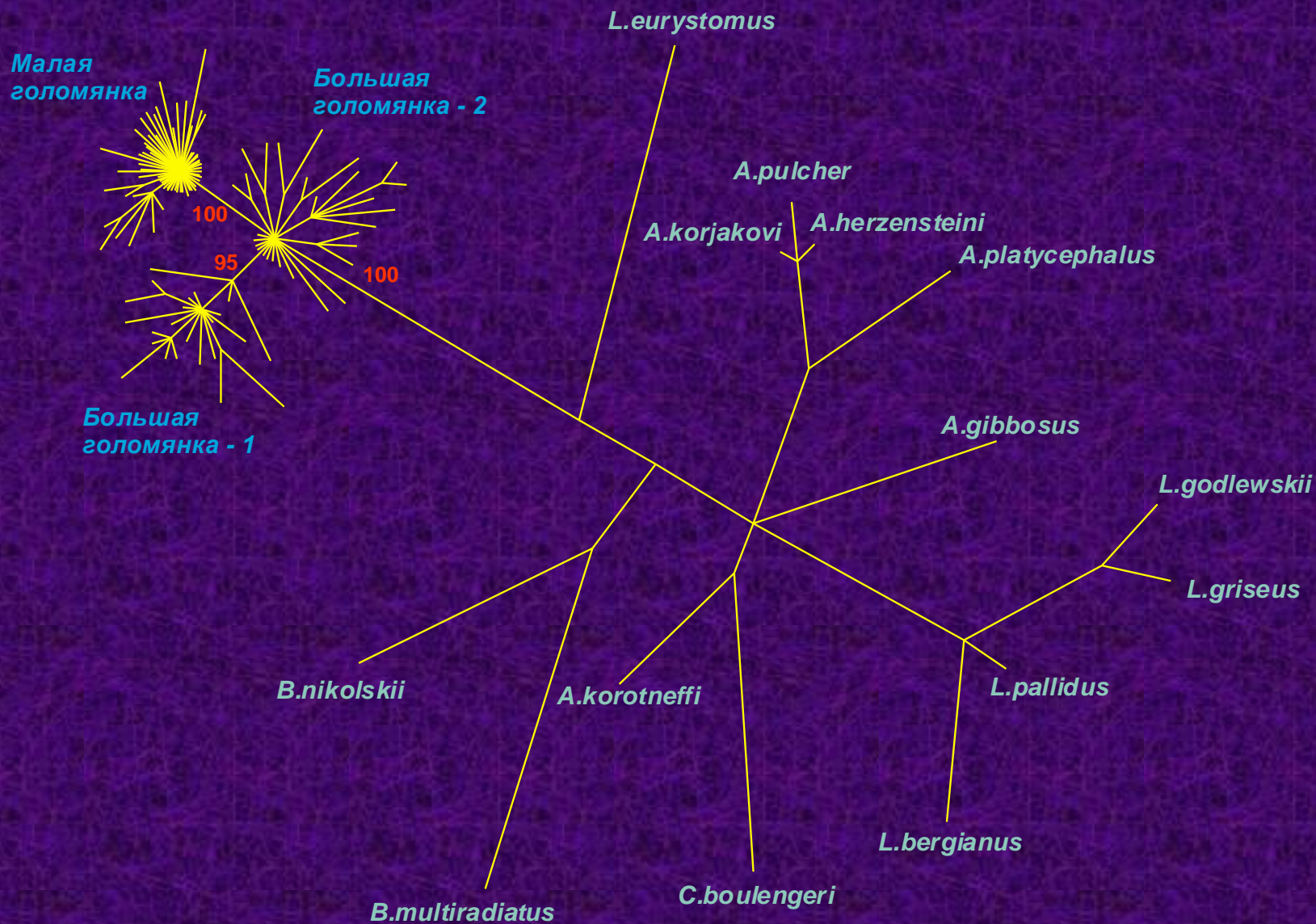
$t = 52-100$  тыс. лет  
(среднее значение 74-75 тыс. лет)

Большая голомянка – I  
 $N_e \sim 200\ 000$

$t$  - время начала дивергенции  
 $N_e$  – эффективный популяционный размер



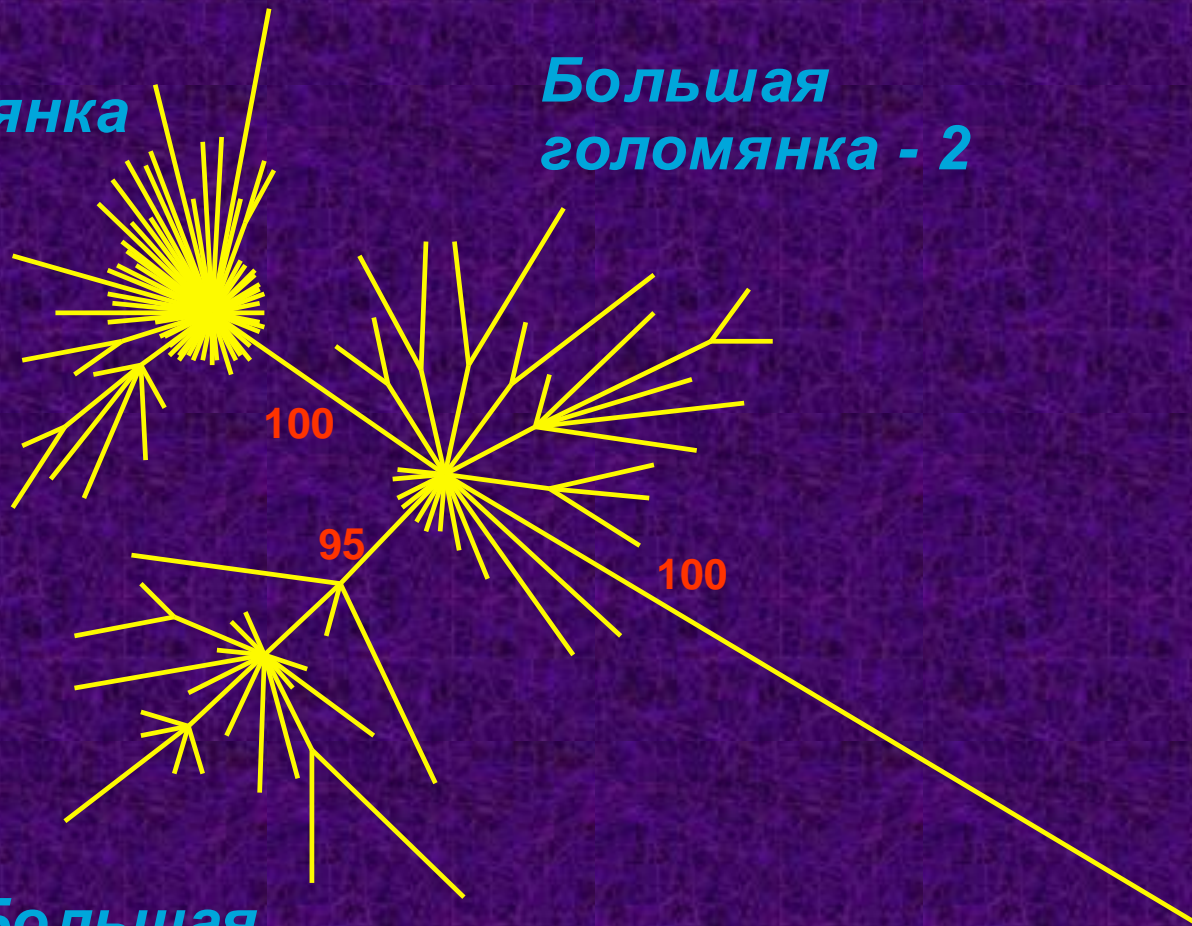
Филогенетическое древо, построенное баесовским методом на основе нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК голомянок и других представителей байкальских Cottoidei





**Малая  
голомянка**

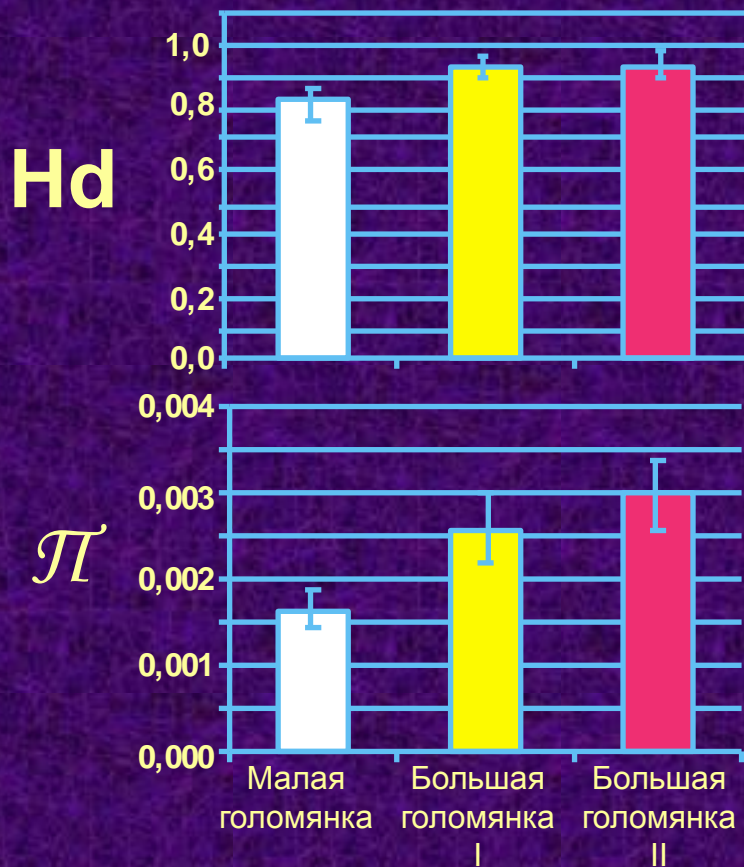
**Большая  
голомянка - 2**



**Большая  
голомянка - 1**

**Постериорные вероятности (в %)  
выделены красным цветом**

Диаграммы индексов генетического разнообразия ( $H_d$  и  $\pi$ ) гена цитохрома *b* большой и малой голомянок



$H_d$  – разнообразие гаплотипов

$\pi$  – нуклеотидная изменчивость

Большая голомянкаII



Малая голомянка

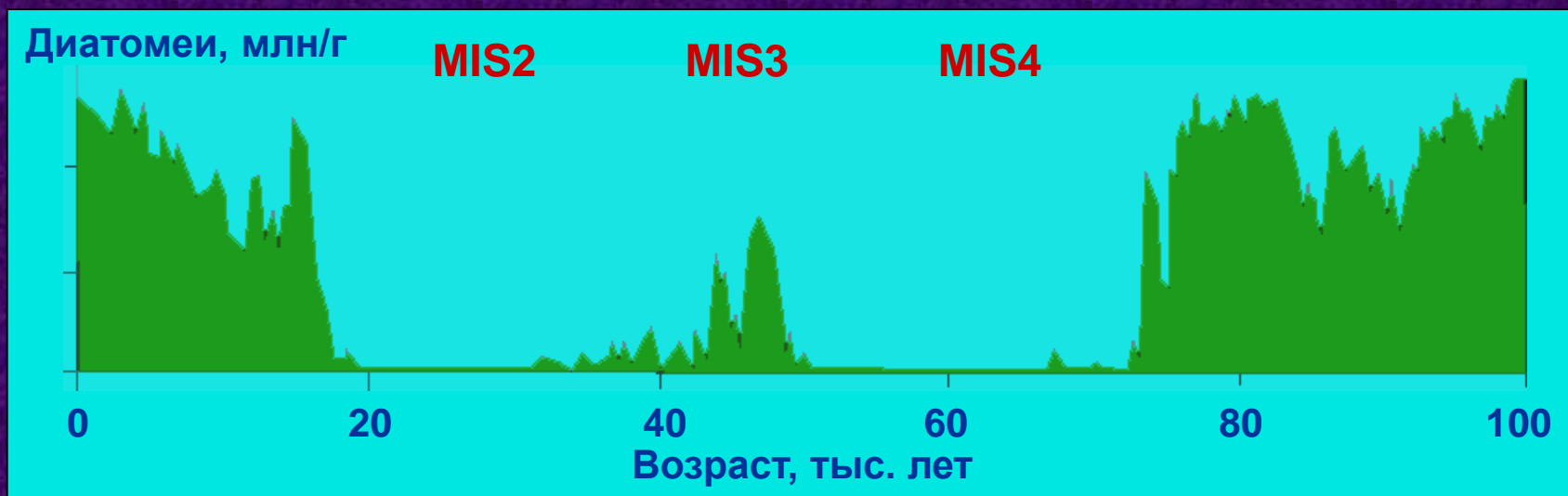
t = 40-79 тыс. лет  
( 57-59 тыс. лет)

Большая голомянкаII



Большая голомянкаI

t = 52-100 тыс. лет  
(74-75 тыс. лет)



Содержание створок диатомовых водорослей в осадках озера Байкал (Гольдберг и др.2005)

MIS – Морская изотопная стадия

# Выводы:

1. Согласно анализу микросателлитной ДНК и нуклеотидной последовательности митохондриального гена цитохрома *b* малая голомянка представлена в Байкале единой генетически не подразделенной популяцией.
2. Анализ полиморфизма микросателлитной ДНК не выявил какой-либо генетической подразделенности большой голомянки в пределах озера Байкал.
3. Анализ нуклеотидной последовательности митохондриального гена цитохрома *b* выявил наличие двух генетических групп большой голомянки. Распределение особей по группам не зависит от места сбора материала.
4. Филогенетический анализ полученных данных с привлечением нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* других представителей байкальских рогатковидных рыб показал, что малая голомянка произошла от большой голомянки.
5. Время, прошедшее с начала дивергенции малой и большой голомянки составило 40-79 тыс. лет, а двух групп большой голомянки 52-100 тыс. лет.
6. Возможными причинами дивергенции генетических групп и видов голомянок являются резкие изменения климата в ледниковую стадию MIS4 45-75 тыс. лет назад.

## ПУБЛИКАЦИИ

### Статьи в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК:

1. **Тетерина В.И., Суханова Л.В., Богданов Б.Э., Аношко П.Н., Кирильчик С.В.** Анализ генетического полиморфизма пелагического вида рыб оз. Байкал - малой голомянки (*Comephorus dybowski*) по микросателлитным локусам // Генетика, 2005, том 41, № 7, с. 919-924.
2. **Тетерина В.И., Суханова Л.В., Кирильчик С.В.** Полиморфизм микросателлитной ДНК эндемичного рода рыб оз. Байкал – голомянок (*Comephorus Lacerepede, 1801*) // Экологическая генетика, 2007, том V, №2, с. 50-57.

### Тезисы:

1. **Teterina V.I., Kirilchik S.V., Sukhanova L.V.** Significance of Microsatellite obtained from the bullhead *Cottus gobio* in the oilfish *Comephorus dybowski* an endemic of lake Baikal // Abs. Of the third international symposium of the series speciation in ancient lakes (SIAL-3): Ancient lakes: speciation, development in time and space, natural history.- Novosibirsk: Nauka, 2002.- P. 185.
2. **Тетерина В.И., Кирильчик С.В., Суханова Л.В.** Пригодность микросателлитных маркеров, полученных на европейском обыкновенном подкаменщике, *Cottus gobio* для исследования популяционной структуры малой голомянки, *Comephorus dybowski*, эндемика Байкала// Мат. регион. научно-практ. конф. "Структура и функционирование экосистем Байкальского региона".- Улан-Удэ: 2003.
3. **Teterina V.I., Sukhanova L.V., Bogdanov B.E., Anoshko P.N., Kirilchik S.V.** Intra-species genetic polymorphism of a little Baikal oilfish – *Comephorus dybowski* revealed by microsatellite analysis // The first Baikal Workshop on Evolutionary Biology. Abstracts. Irkutsk, Russia. 2004. P. 23-24.
4. **Тетерина В.И., Суханова Л.В., Богданов Б.Э., Кирильчик С.В.** Внутривидовой генетический полиморфизм малой *Comephorus dybowski* и большой *Comephorus baicalensis* голомянок // Сборник материалов VIII Всероссийского популяционного семинара «Популяции в пространстве и времени». 11-15 апреля 2005 г. Нижний Новгород, Россия; 2005; 417-419.
5. **Тетерина В.И., Гайкалов И.В., Суханова Л.В., Кирильчик С.В.** Эволюционные исследования рыб Байкала методами молекулярной биологии: основные результаты и перспективы // Тезисы докладов и стендовых сообщений Четвертой Верещагинской Байкальской конференции. Иркутск. 2005. С. 182-183.
6. **Тетерина В.И., Суханова Л.В., Богданов Б.Э., Кирильчик С.В.** Исследования темпов молекулярной дивергенции и видообразования на примере трех видов байкальских рогатковидных рыб // Популяционная экология животных: материалы Международной конференции «Проблемы популяционной экологии животных». – Томск. 2006. С. 257-258.

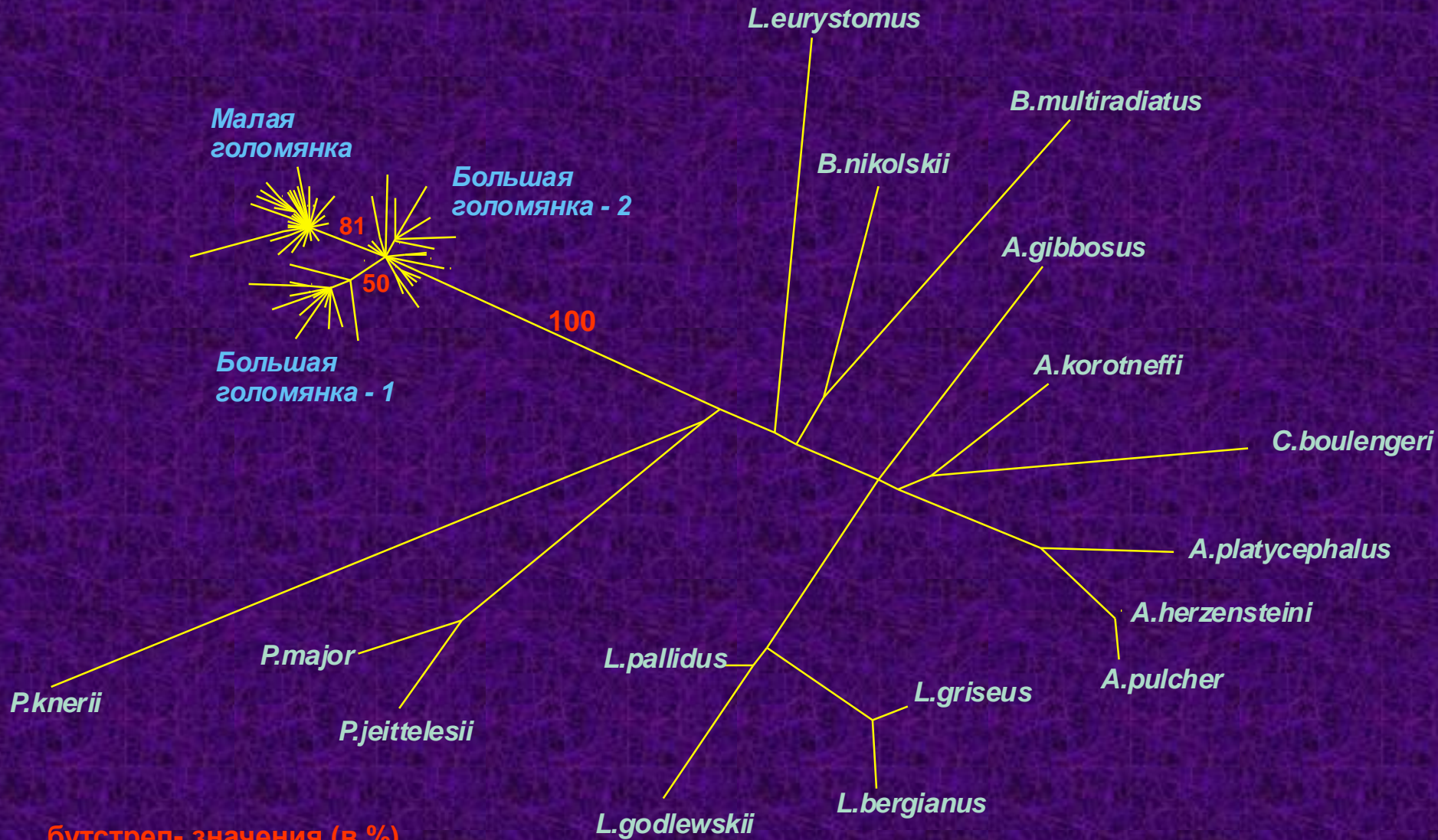
## Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю - к.б.н. Кирильчику С.В. за внимательное и конструктивное руководство, а также к.б.н. Сухановой Л.В., к.б.н. Дзюба Е.В., к.б.н. Богданову Б.Э. за ценные консультации на всех этапах исследования. Огромную благодарность автор выражает заведующей лабораторией биологии рыб к.б.н. Мельник Н.Г. И сотрудникам лаборатории Аношко П.Н. и Ханаеву И.В. за содействие в сборе материала. Автор выражает признательность к.б.н. Бондаренко Н.А., к.б.н. Воробьевой С.С., к.г.н. Гранину Н.Г за неоценимую помощь в интерпретации полученных в данном исследовании результатов.

Работа выполнялась при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект № 01-04-48939.



Схема филогенетических взаимоотношений голомянки с другими представителями байкальских Cottoidei, построенная на основе нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК.



бутстреп- значения (в %)  
выделены красным цветом



Оценки показателей попарной генетической дифференциации по микросателлитным локусам между выборками из трех котловин Байкала (среднее по шести локусам)

Большая голомянка - I

Место сбора	Южный Байкал	Средний Байкал	Северный Байкал
Южный Байкал (n=7)	-	0.288	0.164
Средний Байкал (n=6)	0.069	-	0.025
Северный Байкал (n=8)	0.051	0.018	--

Rst – красным цветом

Fst – желтым цветом

Большая голомянка - II

Место сбора	Южный Байкал	Средний Байкал	Северный Байкал
Южный Байкал (n=5)	-	0.093	0.124
Средний Байкал (n=9)	0.045	-	0.036
Северный Байкал (n=11)	0.056	0.052	-