

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

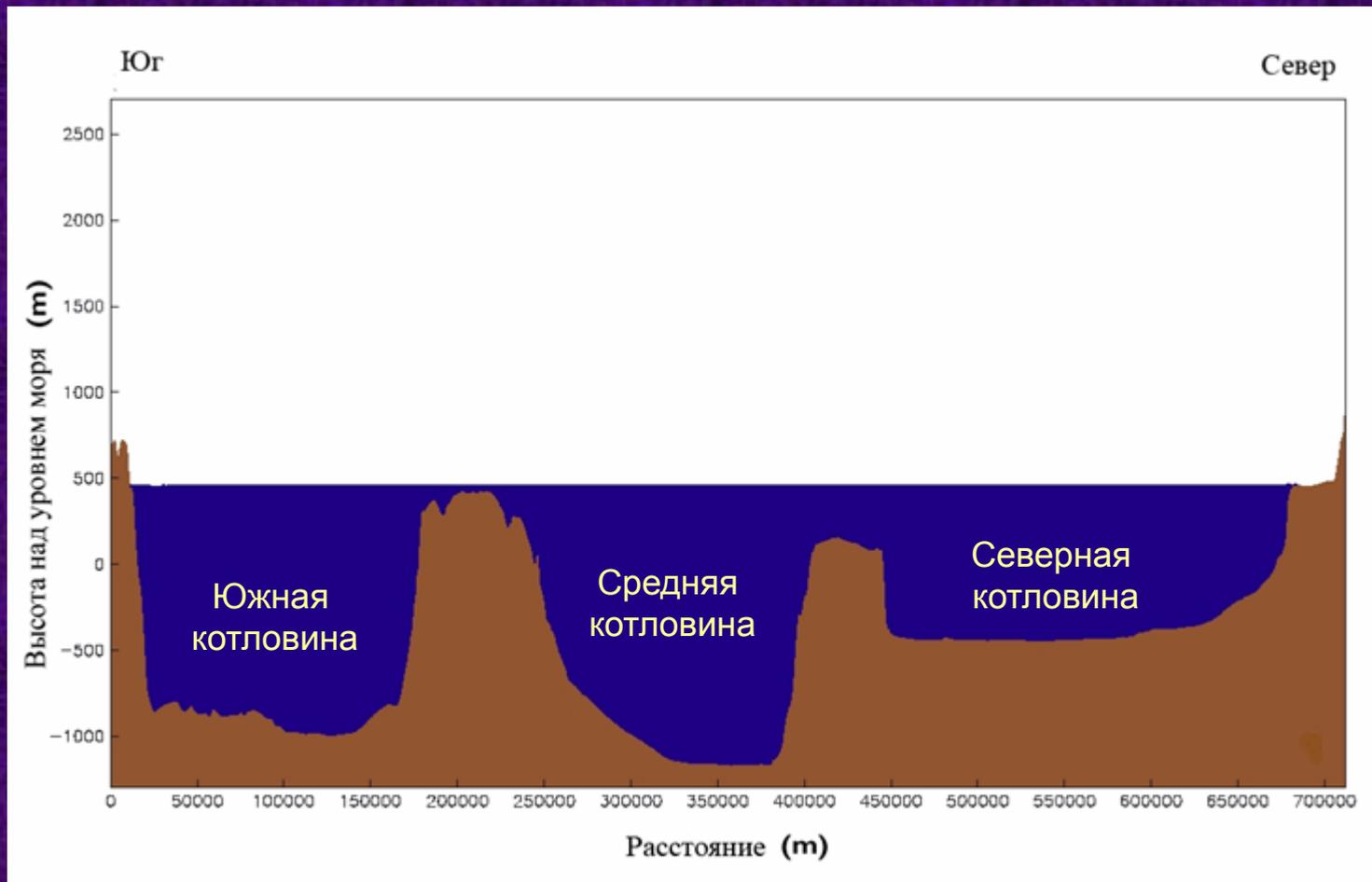
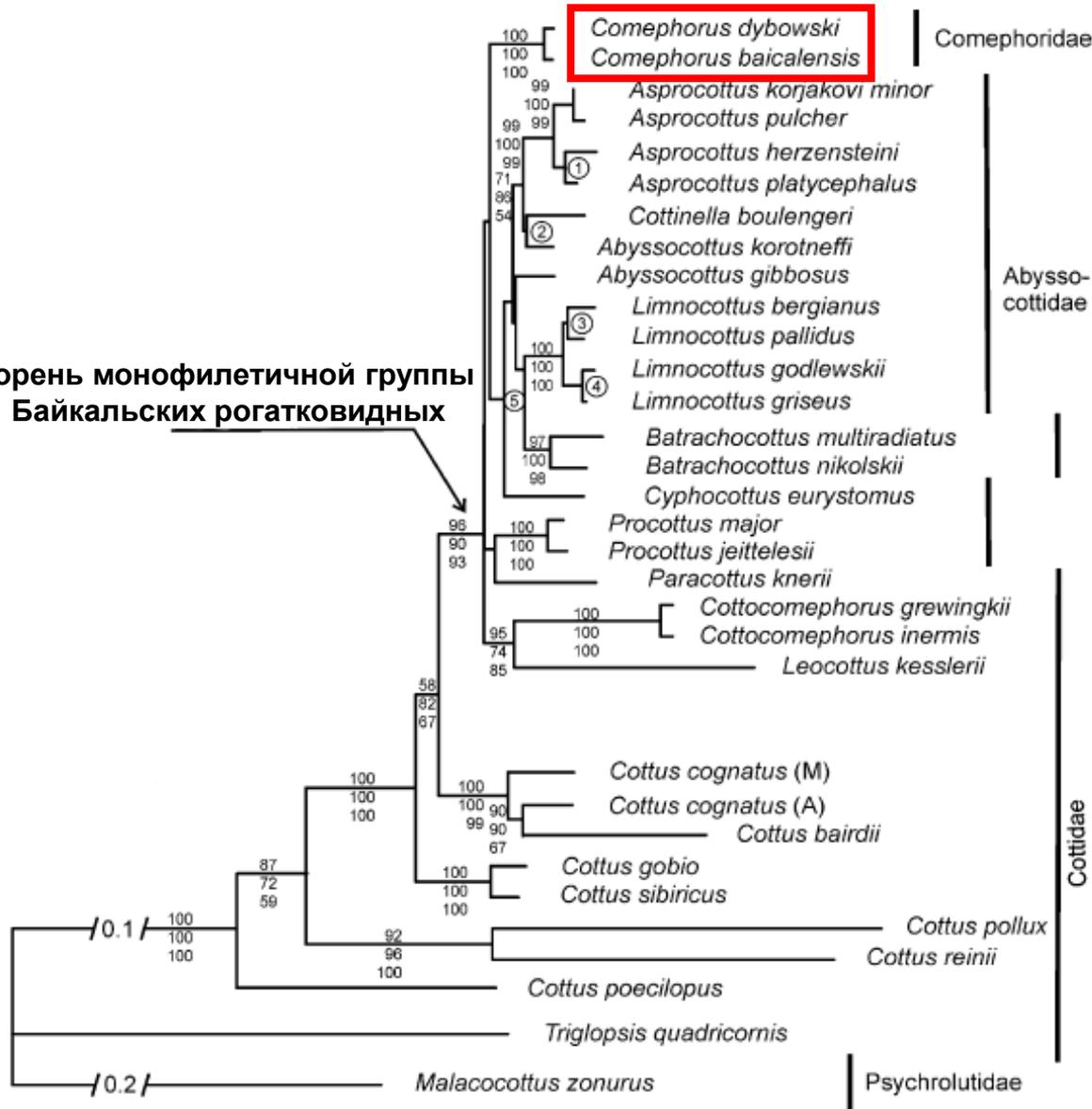


Схема филогенетических взаимоотношений байкальских и не байкальских рогатковидных рыб, построенное на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b*, генов АТФазы8 и АТФазы6 (Kontula et al., 2003)

Корень монофилетичной группы Байкальских рогатковидных



0.1

Цель работы:

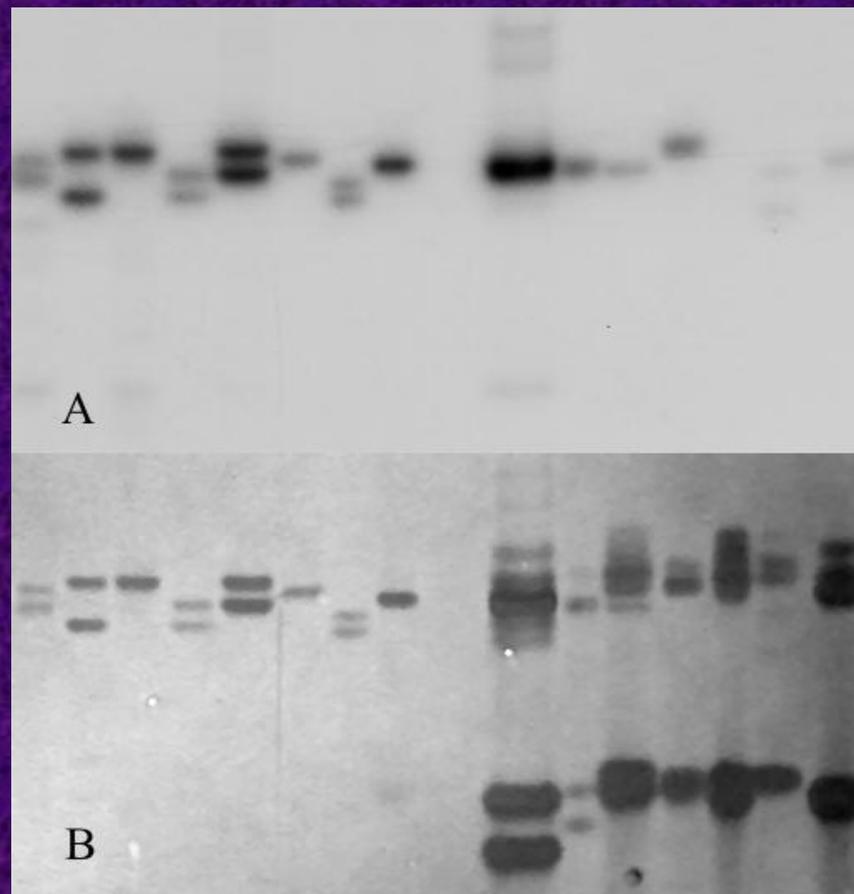
Исследование генетического разнообразия и эволюционной истории семейства голомянок (Compheroridae) с помощью молекулярно-генетических методов

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) ₂₀
Cgo1016PBVE	(GT) ₂ (GC) ₃ (GT) ₂ GCGTGC(GT) ₈
Cgo1033PBVE	(CA) ₁₆
Cgo1114PBVE	(GT) ₇ TT(GT) ₉
Cgo05ZIM	(GT) ₁₄
Cgo33ZIM	(CA) ₉ CC(CA) ₇
Cgo42ZIM	(CA) ₂₃



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	-	-0.023	-0.022
Средний Байкал	0.016	-	-0.015
Северный Байкал	0.000	0.009	-

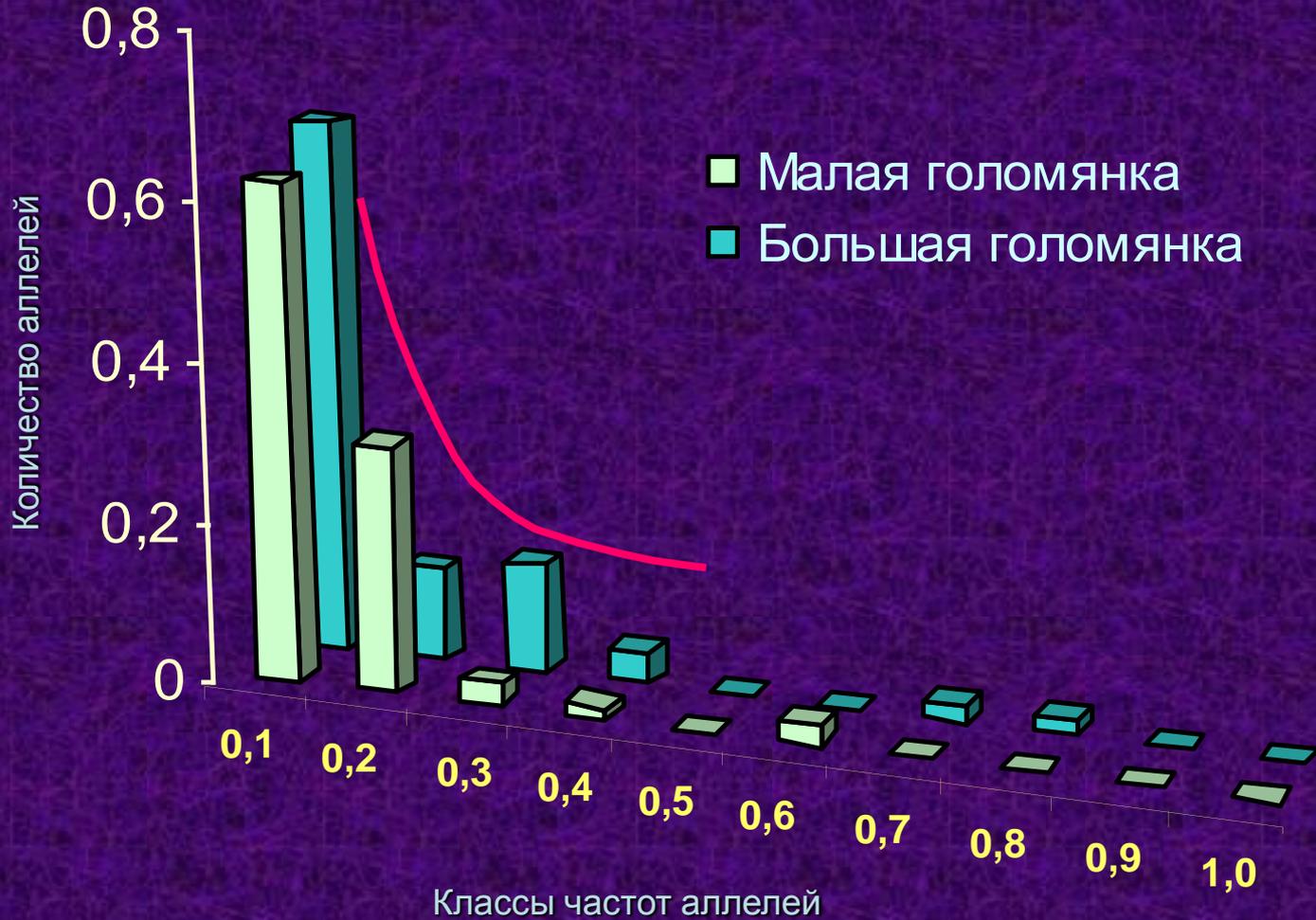
Rst – красным цветом

Fst – желтым цветом

Большая голомянка (среднее по шести локусам)

Место сбора	Южный Байкал	Средний Байкал	Северный Байкал
Южный Байкал	-	0.016	0.013
Средний Байкал	- 0.004	-	0.016
Северный Байкал	0.019	0.015	-

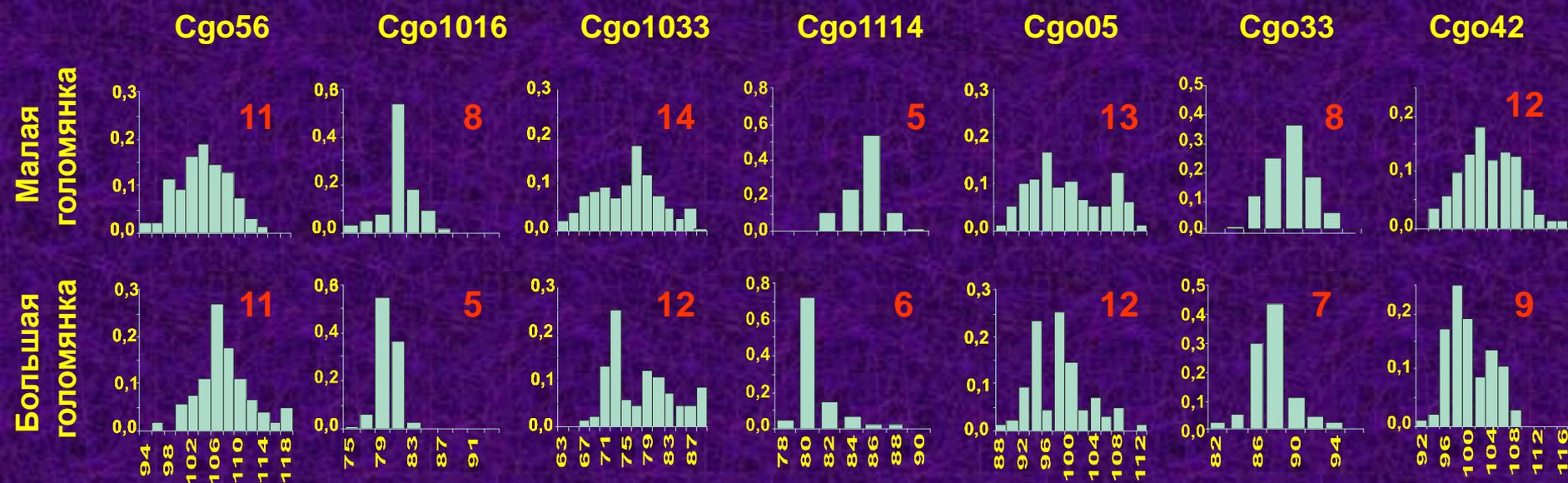
Распределение частот аллелей малой и большой голомянки



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
Среднее	0.138	0.244

Диаграммы распределения частот аллелей малой и большой ГОЛОМЯНОК

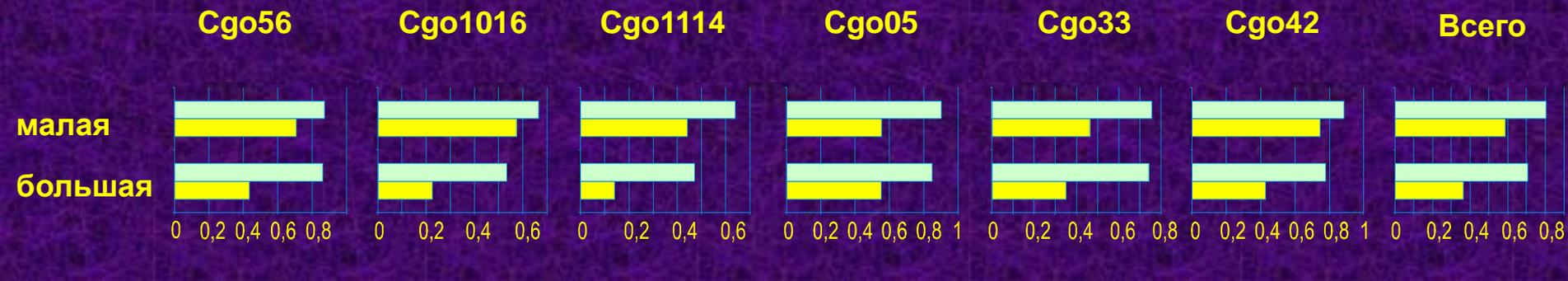


Количество аллелей выделено красным цветом

По осям абсцисс- длина аллелей (пн)

По осям ординат – частота встречаемости в долях

Наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготности малой и большой голомянок

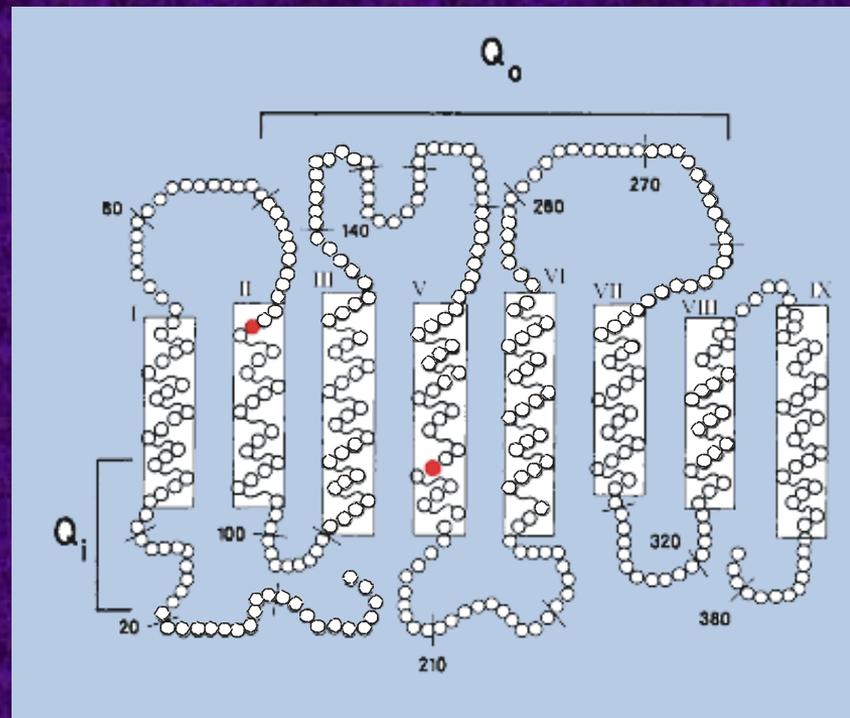


■ - ожидаемая гетерозиготность
■ - наблюдаемая гетерозиготность

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)



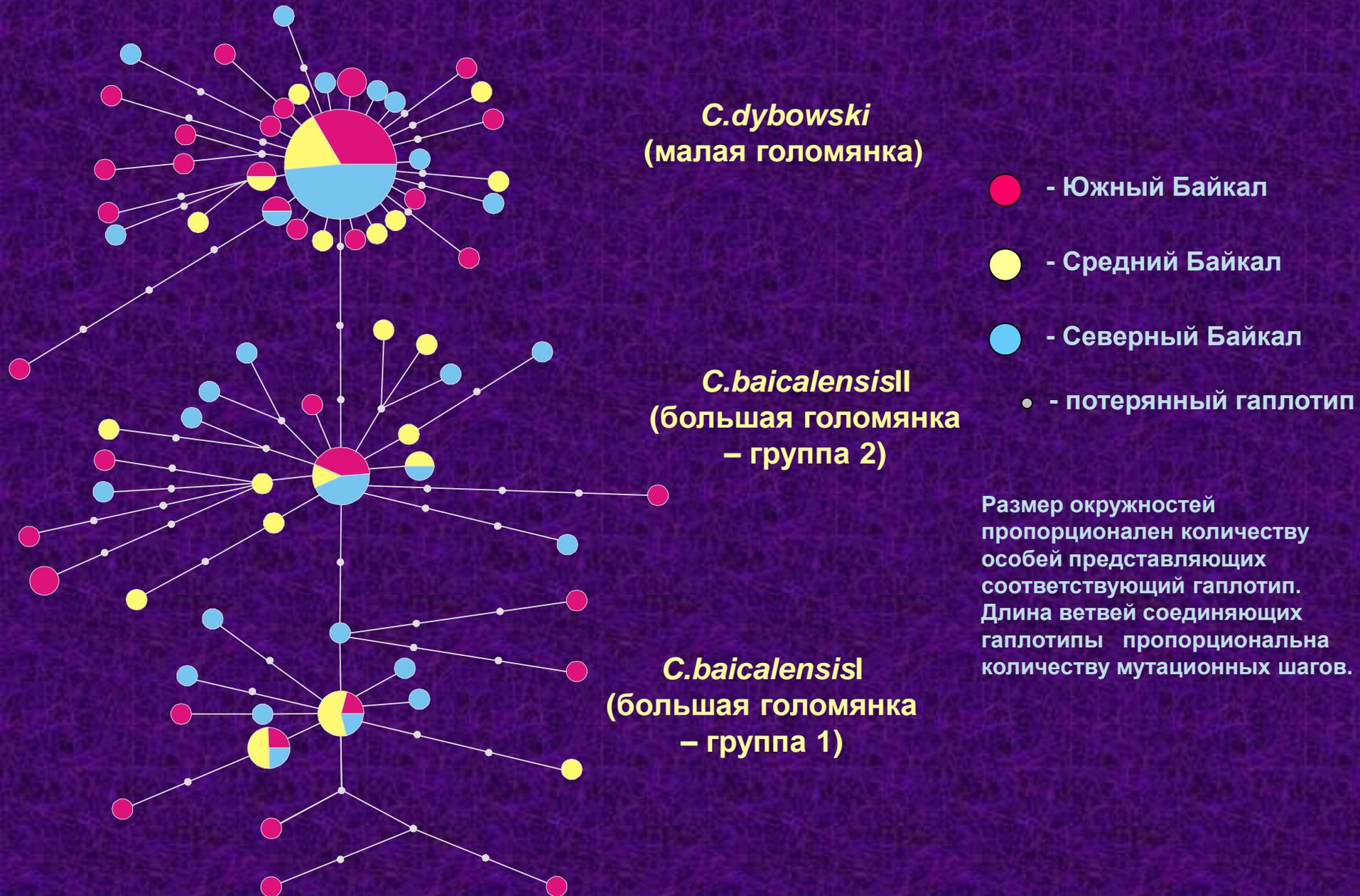
● - фиксированные несинонимичные замены между малой и большой голомянками

Q_o 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.



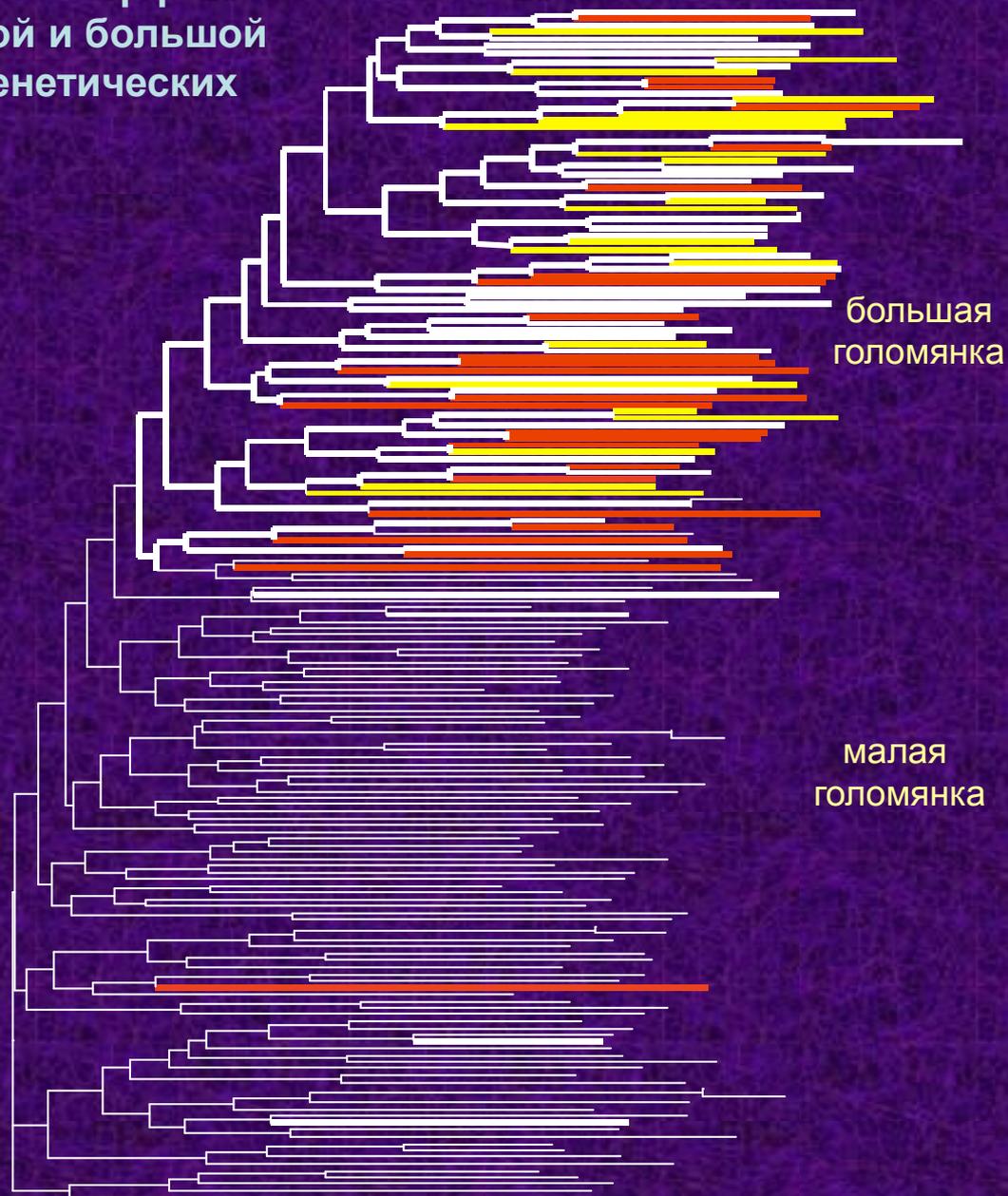
Дерево построенное на основе полиморфизма микросателлитных локусов малой и большой голомянок с использованием генетических дистанций DAS.

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
 $N_e \sim 500\ 000$

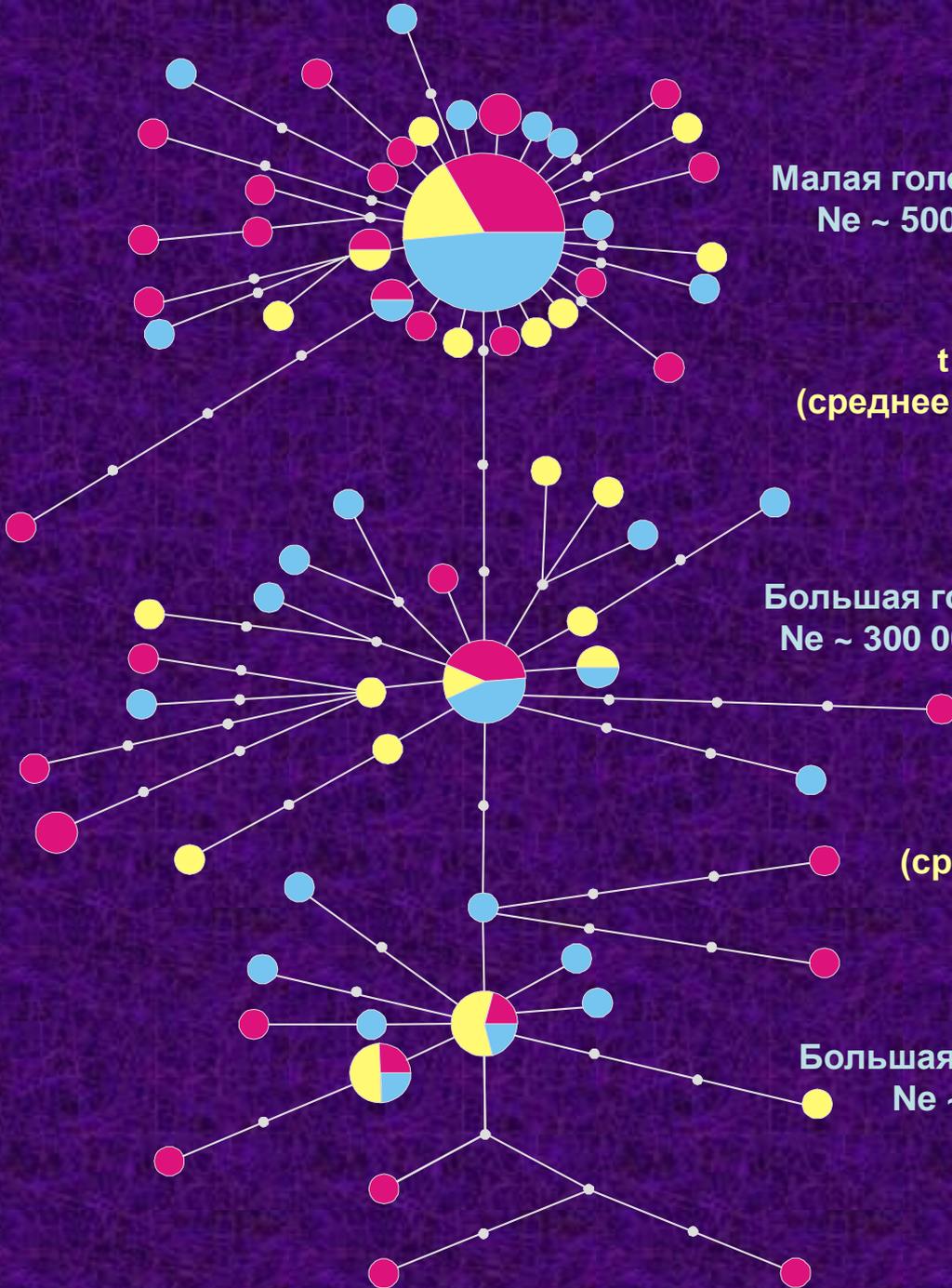
$t = 40-79$ тыс. лет
(среднее значение 57-59 тыс. лет)

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

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

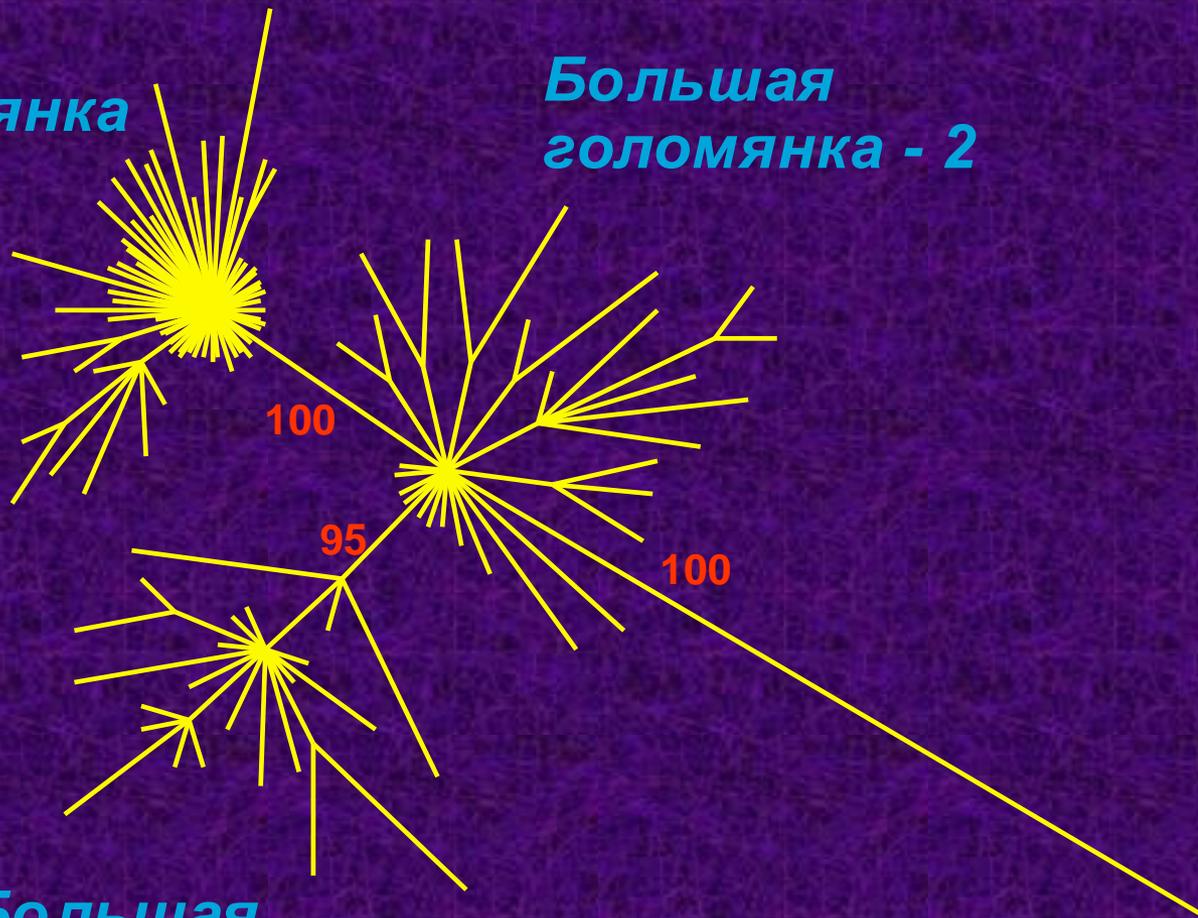
Большая голомянка – I
 $N_e \sim 200\ 000$

t - время начала дивергенции
 N_e – эффективный популяционный размер



**Малая
голомянка**

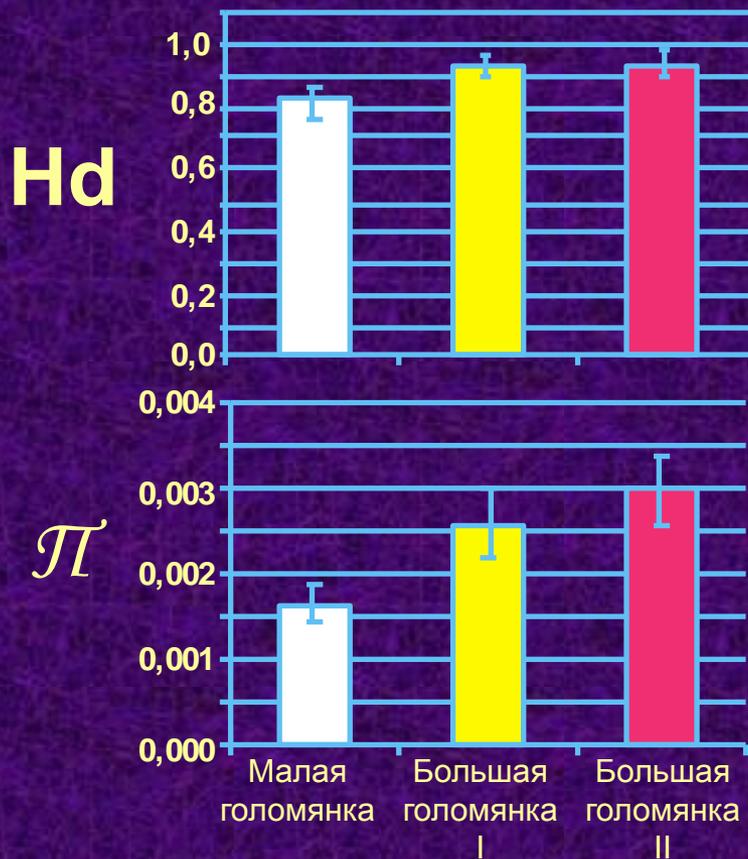
**Большая
голомянка - 2**



**Большая
голомянка - 1**

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

Диаграммы индексов генетического разнообразия (H_d и π) гена цитохрома *b* большой и малой голомянок



H_d – разнообразие гаплотипов

π – нуклеотидная изменчивость

Большая голомянкаII



Малая голомянка

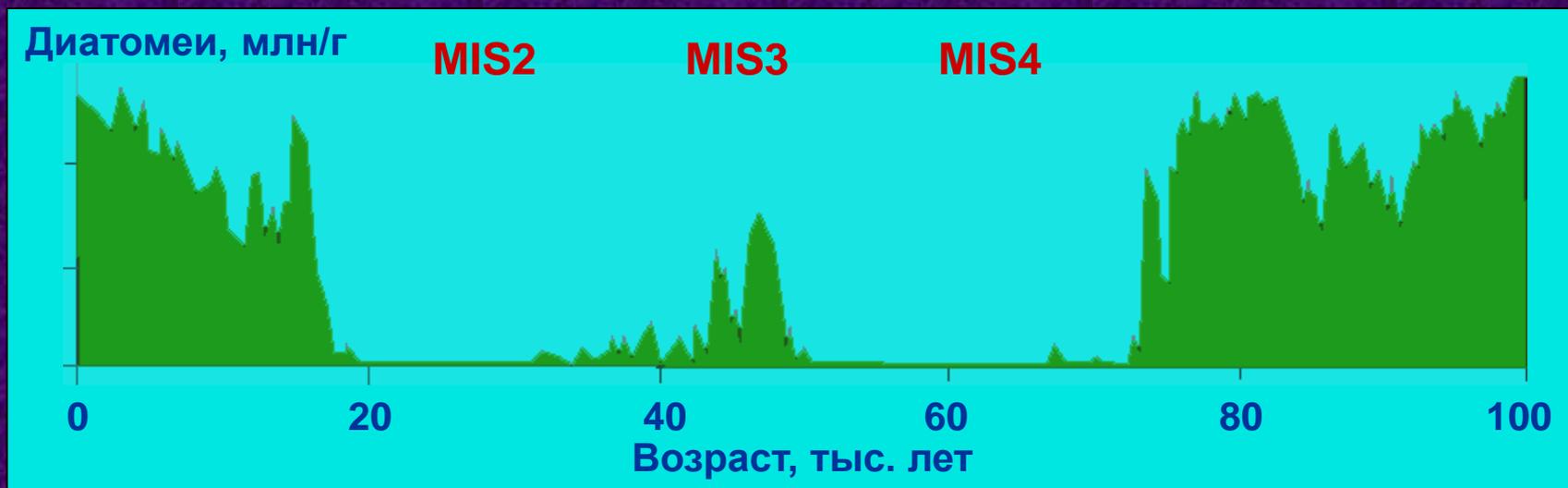
t = 40-79 тыс. лет
(57-59 тыс. лет)

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:

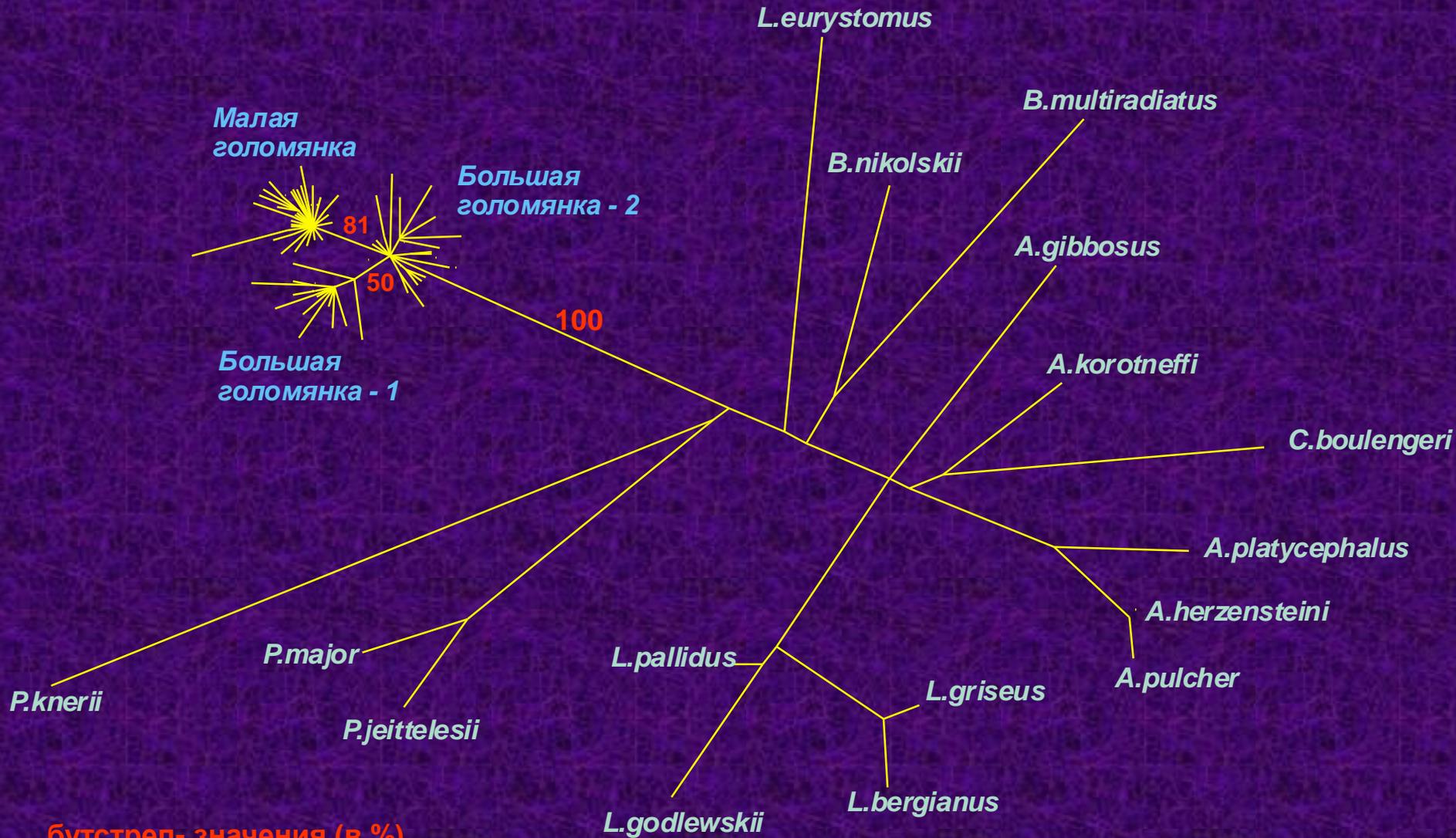
1. **Teterina V.I., Kirilchik S.V., Sukhanova L.V.** Significance of Microsatellite obtained from the bullhead *Cottus gobio* in the oilfish *Comephorus dybowski* an endemic of lake Baikal // Abs. Of the third international symposium of the series speciation in ancient lakes (SIAL-3): Ancient lakes: 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	-