

*На правах рукописи*

СИДОРОВА ТУЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ  
БАЙКАЛЬСКИХ СИГОВЫХ РЫБ**

1.5.7. Генетика

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Иркутск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки  
Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук

**Научный руководитель:**

кандидат биологических наук, доцент **Суханова Любовь Васильевна**

**Официальные оппоненты:**

**Зуйкова Елена Ивановна**, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, старший научный сотрудник Тематической группы физиологии и генетики гидробионтов

**Бондарь Евгения Игоревна**, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, научный сотрудник лаборатории генетики

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук

Защита диссертации состоится «9» июня 2023 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета 24.1.191.01 (Д 005.008.01) при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук по адресу: 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17.

Факс: (423)2310-900, e-mail: nscmb@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук: <http://www.imb.dvo.ru/misc/dissertations/index.php/sovet-d-005-008-01/52-sidorova-tuyana-valerevna>

Отзывы просим присылать на e-mail: mvaschenko@mail.ru

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

*Ващенко*

М.А. Ващенко

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность.** Лососевидные рыбы преобладают в северных экосистемах. Сиговые рыбы (*Coregonidae*) – обширное успешное семейство в большой группе лососевидных рыб. Они занимают первое место по биомассе, являясь доминантными или супердоминантными видами во многих рыбных сообществах Арктики и суб-Арктики. Озеро Байкал уникально тем, что условия в нем схожи с условиями северных водоемов, так как озеро, хотя и находится в бореальной зоне, но расположено высоко над уровнем моря. В отличие от молодых северных водоемов, Байкал имеет длинную непрерывную эволюционную историю, а характерное для озер многообразие экологических ниш особенно выражено благодаря большим глубинам. В Байкале обитает три представителя сиговых рыб. Байкальский озерно-речной сиг *Coregonus pidschian* Gmelin, 1789 – прибрежный бентофаг, населяет глубины менее 30 м, нерестится в реках и остается там надолго (Скрябин, 1969). Байкальский озерный сиг *Coregonus baicalensis* Dybowski, 1874 – глубоководный бентофаг, в основном обитает на глубинах 30-100 м, но иногда встречается на глубине до 200 м и нерестится в озере (Скрябин, 1969). Третий представитель – байкальский омуль *Coregonus migratorius* Georgi, 1775 заходит в реки только для нереста, населяет открытую пелагиаль, эпипелагиаль, бентические слои подводного склона и прибрежно-пелагическую зону Байкала до глубин 350-400 м. Освоив пелагиаль глубоководного водоема, байкальский омуль приобрел фенотип, типичный для пелагических рыб (Smirnov, 1992), из-за чего долго считался подвидом арктического омуля. Изучение сиговых рыб Байкала имеет большое значение для понимания закономерностей формирования биоразнообразия оз. Байкал, их эволюции.

**Степень разработанности темы.** За приблизительно 200-летнюю историю исследований морфология и экология байкальских сиговых изучена детально, при этом происхождение, родственные связи и эволюция в озере долго были предметом дискуссий. Предпринятые в 90-е годы исследования внутривидового генетического полиморфизма не дали какой-либо общей картины, так как омуль и сиви изучались отдельно друг от друга и небайкальских видов и разными методами (Яхненко и др., 1992; Суханова и др., 1996; Mamontov, Yakhnenko, 1995; Brzuzan et al., 1998).

В 2000-е годы проведено несколько молекулярно-филогенетических реконструкций, касающихся родственных взаимоотношений сиговых рыб оз. Байкал и других представителей семейства *Coregonidae* (Politov et al., 2000, 2002; Sukhanova et al., 2004). Полученные результаты позволили авторам предполагать, что все сиговые рыбы Байкала относятся к обширному комплексу близкородственных видов *C. lavaretus*, или выдвигать противоречивую комбинацию гипотез об их близости с комплексом *C. lavaretus* и, вместе с тем, о родстве байкальского омуля с ледовитоморским (арктическим) омулем *Coregonus*

*autumnalis* Pallas, 1776, весьма далеким от комплекса *C. lavaretus*, и даже о возможном корневом положении байкальского омуля ко всему роду *Coregonus* (Polotov et al., 2004).

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящей работы – исследовать эволюцию байкальских сиговых рыб на основе анализа меж- и внутривидового генетического полиморфизма и филогеографических реконструкций.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести анализ полиморфизма нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК «истинных» сигов, обитающих в оз. Байкал, его бассейне, на прилегающих территориях и европейской территории России. Включить в анализ основных представителей рода *Coregonus*. На основе полученных данных сделать выводы относительно происхождения байкальских сиговых.

2. Изучить популяционную структуру байкальских сиговых рыб используя анализ полиморфизма пяти микросателлитных локусов ядерного генома.

3. При помощи высокопроизводительного секвенирования РНК (RNAseq) исследовать различия в транскрипционных профилях тканей мозга симпатрической пары близкородственных видов – байкальских омуля и озерного сига. Определить функциональные группы генов, потенциально вовлеченные в адаптивную дивергенцию исследуемых рыб.

4. При помощи тотального секвенирования гена 16S рРНК микробиомов кишечника байкальских омуля и озерного сига, а также их гибридов, полученных в условиях *common garden* экспериментов, исследовать взаимосвязь между принадлежностью рыб-хозяев к определенному экотипу и формированием микробного разнообразия.

**Научная новизна.** Впервые проведен анализ полиморфизма мтДНК сиговых оз. Байкал в контексте происхождения группы «истинных» сигов и рода *Coregonus* в целом. В рамках исследования процессов внутриозерной радиации сиговых рыб впервые: 1) осуществлен анализ популяционной структуры всех байкальских сиговых с использованием микросателлитных локусов; 2) проведен сравнительный анализ уровня экспрессии генов в тканях мозга пелагической (байкальский омуль) и бентической (байкальский озерный сиг) форм; 3) у байкальских омуля, озерного сига и их гибридов изучен состав микробиомов кишечника и выявлены различия в зависимости от экотипа и наследственности.

**Теоретическое и практическое значение работы.** Включение в общую с байкальскими сиговыми молекулярно-филогенетическую реконструкцию основных представителей рода *Coregonus* и большого количества членов комплекса *C. lavaretus*, обитающих в Палеарктике и соседних с оз. Байкал бассейнах, в сочетании с параллельным исследованием внутриозерной эволюции всех трех байкальских видов комплексом

молекулярно-генетических методов, позволило объединить в единое целое полученные ранее данные. В результате, сделаны новые выводы о происхождении не только байкальских, но и других представителей рода *Coregonus*, основного рода сем. Coregonidae. Получено целостное представление о родственных связях и направлениях эволюции сиговых внутри Байкала, важное для понимания и исследования процессов внутризерной адаптивной радиации. Результаты проведенной работы не только вносят вклад в понимание фундаментальных процессов видообразования, но и имеют большое практическое значение, поскольку позволят совершенствовать технологии искусственного воспроизводства и аквакультуры сиговых рыб Байкала исходя из особенностей их эволюции и наиболее полной информации о родственных связях между собой и с другими представителями семейства.

Теоретические положения и результаты проведенных исследований использованы при подготовке отчетов о НИР по темам ЛИН СО РАН «Исследование трансформаций состояния водоемов и водотоков Восточной Сибири в сезонных и долговременных аспектах в контексте изменений климата, геологической среды и антропогенных нагрузок» (0279-2021-0005, № гос. регистрации 121032300224-8).

**Методология и методы диссертационного исследования.** В качестве эволюционных генетических маркеров в исследовании выбрали фрагменты ДНК с разными темпами эволюции, пригодные для исследований на разном уровне: ген *cyt b* для исследований на уровне вида и микросателлиты на популяционном уровне. Для исследования разницы экспрессии генов исследуемых видов применяли метод NGS транскриптомов мозга, а для изучения микробиомов кишечника чистых линий байкальских омуля, озерного сига и их гибридов, полученных в условиях *common garden* экспериментов, – метод тотального секвенирования гена 16S рРНК. В работе применяли следующие молекулярно-генетические методы: амплификация целевых фрагментов ДНК с помощью ПЦР, секвенирование ДНК, выделение РНК, синтез кДНК, создание кДНК библиотек и их секвенирование. Филогенетический анализ был проведен с помощью программ MEGA, PhyML, NETWORK, Arlequin, Structure, Population и др. Для анализа транскриптомов мозга было использовано приложение local Blastx, при исследовании уровня экспрессии генов было рассчитано значение RPKM для достоверно различающихся последовательностей. Для сравнительного анализа таксономического состава микробиома кишечника была использована программа Mothur.

**Личный вклад автора.** Диссертационная работа является результатом исследований автора, выполненным согласно планам исследовательских работ в группе эволюционной генетики лаборатории ихтиологии ЛИН СО РАН. Автор непосредственно участвовал в

экспедиционных и экспериментальных работах, в анализе и интерпретации полученных результатов, в написании научных публикаций.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Филогеографический анализ полиморфизма мтДНК выявил доминирующую роль катастрофических геолого-климатических событий в плейстоцене, происходивших на территории байкальского и прилегающих бассейнов, в эволюции рода *Coregonus* в целом и байкальских сиговых, в частности. Около трех миллионов лет назад здесь практически одновременно появились клады, давшие начало основным современным группам рода *Coregonus*: 1) пелядь/ряпушка, 2) белорыбица, 3) тугун, 4) омулевидные сиви и американские ряпушки, 5) «истинные» сиви. Спустя 1,5 млн лет из клады «истинных» сигов выделились байкальские представители этой группы.

2. Несмотря на продолжительное (не менее 1,5 млн лет) обитание предковой формы в оз. Байкал, байкальские омуль и озерный сиг имеют недавнее симпатрическое происхождение, которое может быть приурочено к последним похолоданиям плейстоцена. Байкальский озерно-речной сиг, имеет аллопатрическое происхождение и проник в Байкал около 60 тысяч лет назад, чему, вероятно, способствовало появление ангарского речного стока из озера.

3. Байкальские омуль и озерный сиг репродуктивно изолированы и имеют четко выраженные популяционные структуры, окончательно сформировавшиеся в период климатического оптимума, наступившего после последнего Сартанского оледенения. Различия, выявленные в транскрипционных профилях мозга и составе микробиомов кишечника омуля и озерного сига, согласуются с морфо-экологическими особенностями видов.

**Степень достоверности результатов.** О достоверности полученных результатов свидетельствуют использование современных молекулярных методов исследования с применением статистических оценок филогенетических деревьев, различий в экспрессии генов и таксономическом составе микрофлоры, воспроизводимость результатов и публикации полученных результатов в рецензируемых журналах. Обсуждение и интерпретация результатов базируется на экспериментальных данных, приведенных в диссертации в виде рисунков и таблиц.

**Апробация результатов работы.** Результаты работы были представлены на следующих симпозиумах и конференциях: Пятая Верещагинская Байкальская конференция (г. Иркутск, 4-9 октября, 2010); Шестая Верещагинская Байкальская конференция (г. Иркутск, 7-12 сентября, 2015); Московская международная конференция «Молекулярная филогения» (г. Москва, MolPhy-2, 18-21 мая, 2010); XII Международный симпозиум по

биологии и менеджменту сиговых рыб (г. Иркутск, 25-30 августа, 2014); XIII Международный симпозиум по биологии и менеджменту сиговых рыб (США, Бейфилд, штат Висконсин (озеро Верхнее), 10-15 сентября, 2017); III Всероссийская научная конференция «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии» (г. Улан-Удэ, 21-23 июня, 2016); 50-й Юбилейный симпозиум общества рыболовства Британских островов (Великобритания, Эксетер, 3-7 июля, 2017); Международная научная конференция, посвященная 100-летию высшего биологического образования в Восточной Сибири (г. Иркутск, 19-20 сентября, 2019).

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 11 работ, в том числе 3 статьи в журналах из списка ВАК.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 138 страницах, содержит 11 таблиц и 13 рисунков, а также 3 приложения на 79 страницах. Работа представлена в виде глав «Литературный обзор», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», а также «Заключения», «Выводов», «Списка литературы» и Приложений. Список литературы содержит 265 источника, из них 187 на иностранном языке.

**Благодарности.** Выражаю глубокую признательность к.б.н. Сухановой Любове Васильевне за всестороннюю помощь, опытное руководство и поддержку на протяжении всех лет работы в лаборатории. Выражаю искреннюю благодарность коллективу лаборатории ихтиологии, ультраструктуры клетки и микробиологии за сотрудничество и всестороннюю поддержку, в частности к.б.н. Букину Юрию Сергеевичу, Хабудаеву Кириллу Владимировичу, к.б.н. Бельковой Наталье Леонидовне, к.б.н. Королевой Анастасии Геннадьевне, за ценные наставления и советы при использовании молекулярно-генетических методов, к.б.н. Огаркову Олегу Борисовичу за предварительное ознакомление с текстом диссертационной работы и важные замечания, к.б.н. Дзюба Елене Владимировне за ценные консультации и рекомендации. Выражаю искреннюю благодарность центру коллективного пользования «Иркутский суперкомпьютерный центр СО РАН» за предоставленные вычислительные ресурсы и его сотрудникам за ценные консультации.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

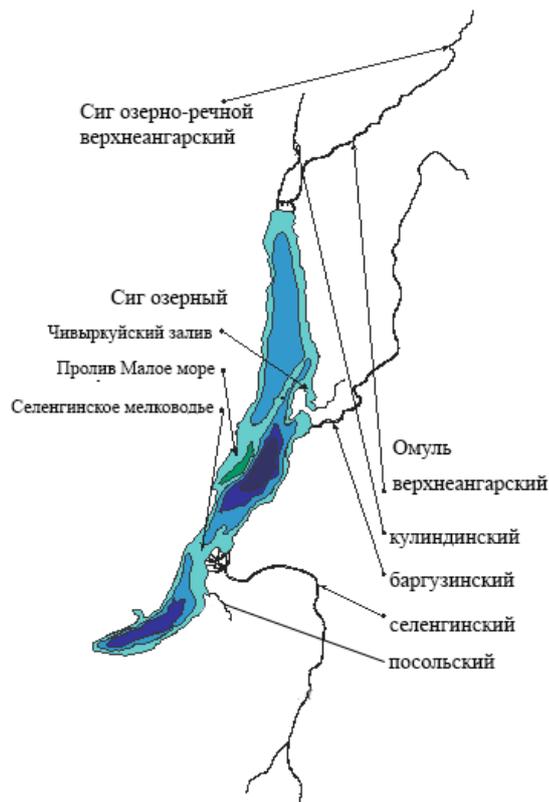
Обзор литературы содержит сведения о популяционной структуре байкальских омуля, озерного сига и озерно-речного сига. Также описаны современные представления по филогении, таксономии и транскриптомным исследованиям сиговых рыб. Большое внимание уделено оз. Байкал как уникальному водоему и вероятному центру видообразования рода *Coregonus*.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Сбор проб и выделение ДНК.** Для филогеографического анализа образцы собирали в оз. Байкал и прилегающих к нему бассейнах. Для микросателлитного анализа отбирали представителей 9 популяций (рис. 1), всего 244 особи. Экстракцию ДНК из тканей рыб проводили стандартным фенол-хлороформным методом (Sambrook et al., 1989).

Для транскриптомного анализа мозга материал собирали в Чивыркуйском заливе. Рыб усыпляли 0,001% гвоздичным маслом. Образцы мозговой ткани замораживали в жидком азоте и хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Для сравнительного анализа микробиомов в условиях пресноводного аквариумного комплекса ЛИН СО РАН и Байкальского музея ИНЦ СО РАН путем искусственного оплодотворения (Черняев и др., 1987) получали и выращивали до двухлетнего возраста байкальских омуля и озерного сига, а также их гибридов. Микробиом исследовали у пяти особей каждого вида. Геномную ДНК толстого кишечника каждой особи выделяли с помощью набора DNAsorb B (AmpliSens, Россия).



**Рисунок 1** – Места сбора представителей исследуемых популяций сиговых рыб.

**Аmplификация и секвенирование ДНК.** В ПЦР на микросателлитные локусы использовали праймеры, предложенные Patton et al., 1997 (Bwf1), Bernatchez, 1996 (Coc123) и Гайкалов и др., 2006 (Bom22b, Cam 1, Cam 5). Ген *cytb* размером 1140 пн амплифицировали с использованием праймеров L14727, L15162, H15149, H15915 (Irwin et al., 1991). Определение

нуклеотидных последовательностей выше описанных участков ДНК проводили на автоматических секвенаторах ABI 373A (Applied Biosystems) и SEQ 8800 (Beckman, Coulter).

Суммарную РНК из 0,5-1 г ткани выделяли с помощью реагента TRIzol (Ambion), доочищали с одновременной обработкой ДНКазой I на колонках PureLink RNA Mini (Invitrogen). Качество РНК определяли на биоанализаторе BA2100 набором RNA Nano. Для создания направленных баркодированных транскриптомных библиотек использовали набор TruSeq Stranded mRNA Library Preparation Kit (Illumina) с двойными индексами UD согласно протоколу изготовителя с модификациями для получения встоек большей длины (200-500 пн). Брали 1 мкг суммарной РНК, время фрагментации мРНК составляло 4 мин. После амплификации библиотек дополнительно проводили селекцию по длине на магнитных частицах AMPureXP: к разбавленной библиотеке добавляли 0,65 объёма AMPureXP. Качество и молярность полученных библиотек определяли на биоанализаторе BA2100, библиотеки смешивали в эквимольных количествах до суммарной концентрации 2 нМ. Секвенирование полученных библиотек выполняли на высокопроизводительном секвенаторе Illumina NextSeq550 набором NextSeq® 550 High Output v2 Kit (300 cycles) парными чтениями по 150 пн.

При анализе микробиома область V3-V4 генов 16S рРНК амплифицировали с помощью 343F и 806R праймеров в сочетании с последовательностями адаптера Illumina, пэдом и линкером из двух оснований, а также штрих-кодами на праймерах (Carogaso et al., 2011). Парное секвенирование библиотек 16S рРНК проводили на секвенаторе MiSeq Illumina (ICBFM SB RAS, Новосибирск, Россия).

**Статистическая обработка данных анализа мтДНК.** Для первичного анализа данных, расчета генетических расстояний (модель Кимуры-2р) и построения деревьев использовали ClustalW v1.7 (Thompson et al., 1994) и MEGA v4.0 (Tamura et al., 2007). Наиболее подходящую модель нуклеотидных замен НКУ выбирали с использованием программы FINDMODEL (Posada et al., 1998). ML дерево создавали с помощью PhyML v. 3.0 (Guidon et al., 2003). Для оценки времени дивергенции использовали скорость мутирования мтДНК лосося – 0,5-1% за 1 млн. лет (Shedko et al., 1991, Smith et al., 1992). Эти значения использовали для интерпретации NJ дерева (Takezaki et al., 1995). Программу NETWORK 4.6 (Guindon et al., 2003) использовали для создания медианных сетей (MJ). Сети строили с использованием полной последовательности (1141 пн) и более короткого сегмента гена цитохрома b (501 пн).

**Статистическая обработка данных микросателлитного анализа.** Данные тестировали на наличие «нулевых» аллелей, «доминирования коротких аллелей» и «заикания» в программе Micro-Checker (van Oosterhout et al., 2004). В программе Arlequin v.

3.5 (Excoffier, Lischer, 2010) по пяти локусам (Bwfl, Cocl23, Vom22b, Cam 1, Cam 5) проводили вычисление наблюдаемой ( $H_o$ ) и ожидаемой ( $H_e$ ) гетерозиготности, отклонения от равновесия Харди-Вайнберга, количества аллелей на локус, аллельного разнообразия, среднего индекса аллельных «потерь» Garza-Williams (G-W индекс) на локус, а также критерия  $F_{ST}$  (Cockerham, 1973; Weir, Cockerham, 1984) как показателя меры генетической дифференциации. Значения  $F_{ST}$  и метод объединения ближайших соседей (NJ) реализованные в программах Arlequin (Excoffier, Lischer, 2010) и MEGA7.0 (Kumar et al., 2016) использовали для построения схемы, отражающей степень репродуктивной обособленности между анализируемыми популяциями. Древо гаплотипов, основанное на данных полиморфизма микросателлитных локусов, строили, используя генетические расстояния  $D_a$  (Nei et al., 1983) и метод NJ, реализованные в программе Population v1.2.32 (Langella, 2002). При построении схем визуализацию осуществляли в программе FigTree v1.4.4 (Rambaut, 2018). Для выявления границ популяций и их числа использовали программу STRUCTURE (Pritchard et al., 2000).

**Анализ транскриптомов мозга (NGS).** Для подготовки чтений к последующей *de novo* сборке удаляли последовательности адаптеров с помощью программы Scythe v0.994 (Manousaki et al., 2019), а чтения с низким качеством отфильтровали с помощью программы Sickle v1.210 (Joshi NA, Fass JN, 2011) по параметру  $q > 30$ . *De novo* сборку транскриптома проводили с использованием ассемблера Trinityrnaseq v2.8.5 (Grabherr et al., 2011). Статистику сборки рассчитывали с помощью программы Transrate v1.0.3 (Smith-Unna et al., 2016). Для оценки значений уровня экспрессии транскриптов использовали программное обеспечение Salmon 1.3.0 (Patro et al., 2017) и Bowtie2 v2.3.5.1 (Langmead, Salzberg, 2012). Полученные оценочные значения и нормализованные значения TPM группировали в матрицы с помощью скрипта программного пакета Trinityrnaseq v2.8.5. (Haas et al., 2013). Статистический анализ и идентификацию существенно дифференциальных транскриптов проводили инструментом EdgeR v3.9 (McCarthy et al., 2012) программного пакета Bioconductor. Для аннотации дифференциально экспрессирующихся транскриптов в качестве референсной базы данных использовали ранее аннотированные последовательности *Salmon salar*. Поиск совпадений проводили с помощью BLAST (Boratyn et al., 2019) в NCBI с параметром поиска blastx для анализа совпадения нуклеотидных последовательностей с аннотированными аминокислотными последовательностями. Запуск blastx осуществляли со стандартными настройками и значением e-value  $1e^{-3}$ . Для аннотирования полученные значения совпадений последовательностей транскриптов соотносили с актуальной базой GO в программе BLAST2GO (Götz et al., 2008).

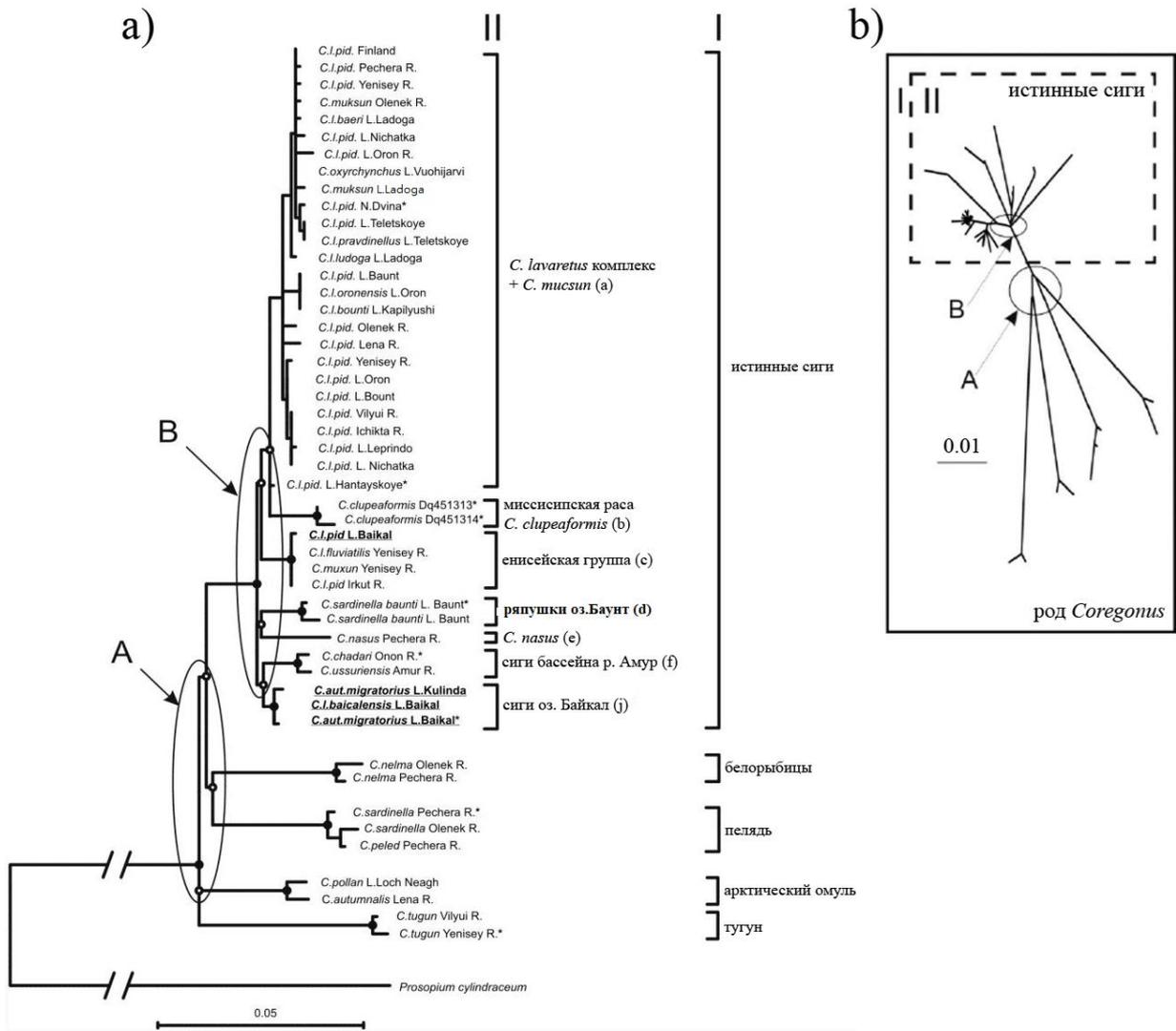
**Биоинформатический и статистический анализ микробиомов кишечника.** Сборку контигов, анализ ОТЕ и тестирование гипотез проводили в программе Mothur 1.31.2. (Schloss et al., 2009). Фильтрацию и кластеризацию проводили в программе QIIME (Caporaso et al., 2010). В итоге получили 89246 последовательностей. Для анализа ОТЕ каждой пробы использовали 17978 последовательностей, т.е. количество прочтений в пробе с наименьшим покрытием. Анализировали 100 бутстрэп-повторностей, в каждой из них для всех проб были получены ОТЕ с дистанцией кластеризации 0,03. На основании этих данных устанавливали наиболее вероятное (модальное) количество ОТЕ и его 90% доверительный интервал. Библиотеки кластеризовали с использованием алгоритма UPGMA и на основании дистанций UniFrac (Schliep, 2011). Для оценки различий между пробами, индексы UniFrac рассчитывали с помощью пакета phyloseq для языка программирования R (McMurdie, Holmes, 2013).

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

**Филогеографический анализ.** Последовательность гена *cyt b* была определена для 22 таксонов. Обнаружено 48 различных гаплотипов и 144 информативных сайта. Наибольшие генетические расстояния между представителями рода *Coregonus* составили 3-6%. ML дерево демонстрирует, что в кластер I входят все члены сиговых рода *Coregonus*, и подразделяются на пять клад: «истинные сиви», «белорыбицы», «пелядь», «арктический омуль» и «тугун» (рис. 2).

Кластер II объединяет всех истинных сигов, среди которых выделились 7 клад (a-j): «a» включает большую часть комплекса *C. lavaretus* и представителей *C. muksun*; «b» представлена миссисипской расой североамериканского озерного сига *C. clupeaformis*; «c» представлена несколькими таксонами из бассейна р. Енисей (*C. muksun* и *C. fluviatilis* Isaczenko, 1925, а также *C. pidschian* из оз. Байкал и р. Иркут); «d» включает ряпушку оз. Баунт *C. sardinella baunti*; «e» представлена *C. nasus*; сиви р. Амур *C. ussuriensis* и *C. chadari* объединились в кладу «f»; байкальские озерный сиг и байкальский омуль, включая популяцию из оз. Кулинда, образовали кладу «j».

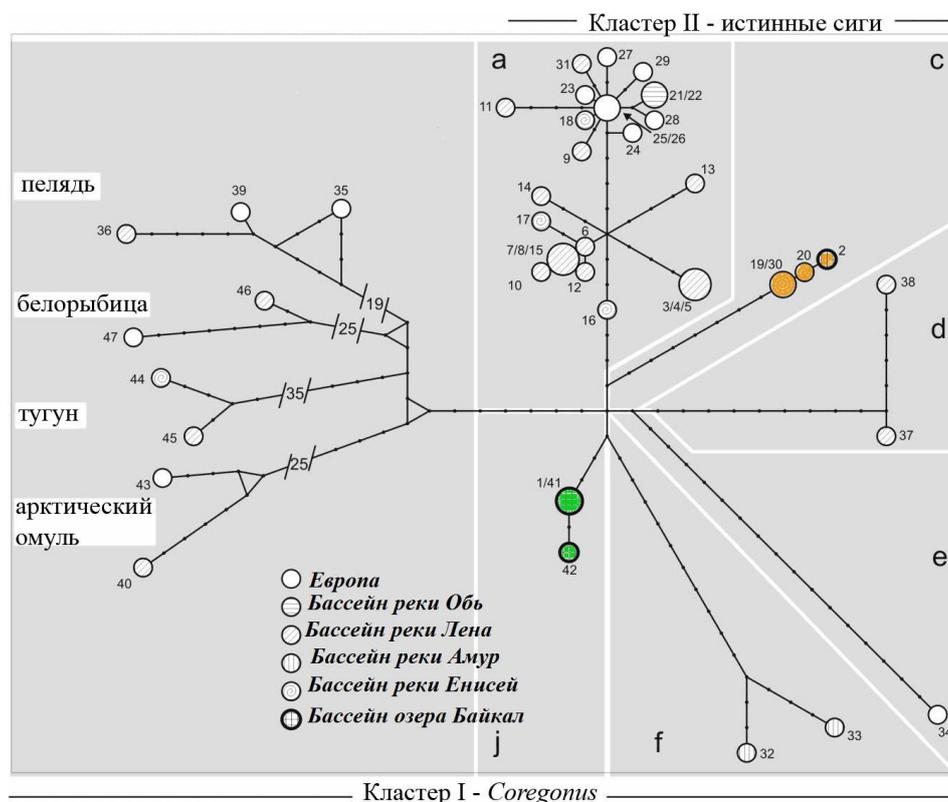
Построение дихотомических схем является сложной задачей, особенно когда большое количество последовательностей (гаплотипов) разделено короткими генетическими расстояниями. В этих ситуациях сети часто лучше отражают отношения между гаплотипами, поскольку последние могут располагаться не только на концах ветвей, но и внутри сети, а также могут быть соединены альтернативными эволюционными цепочками. Представленная на рис. 3 «полноразмерная» медианная сеть (MJ) гаплотипов, в целом, соответствует кластеризации гаплотипов в ML дереве (рис. 2).



**Рисунок 2** – Филогенетические связи между представителями рода *Coregonus*. Древо построено на основе *cyt b* (ML, MEGA). I (род *Coregonus*) и II (группа «истинных» сигов) - два последовательных монофилетичных кластера, объединяющих монофилетичные дивергентные клады с высокой бутстреп поддержкой (85-100%, черные кружки) в два скопления (A и B) коротких ветвей с недостоверными узлами ветвления (белые кружки). В линейаризованном NJ древе, представленном в тексте диссертации, время образования A и B соответствует ~ 3 и 1,5 млн. лет назад, при скорости накопления нуклеотидных замен в мтДНК лососевых в среднем 0,75% за млн. лет.

Незначительные отличия были связаны с особенностями сетевых конструкций. Примечательно, что гаплотип из Хантайского озера (№16 в сети) был предковым для всех членов клады «а» кластера II (II-a). Другие гаплотипы клады II-a упорядочивались следующим образом: группа гаплотипов сигов из бассейнов рек Лены и Енисея (№3-8, 10, 12-15, 17), последовали за гаплотипом №16; представители западных территорий (бассейны рек Обь (№21, 22), Печеры (№27) и Северной Двины (№28), а также Ладожского озера (№23, 24) и водоемов Финляндии (№25, 26) образовали производную группу, в которой ладожский сиг (№24) и обитатели финских водоемов (№25 и 26) были предковыми гаплотипами. В этой

же группе гаплотипов оказалось несколько сибирских гаплотипов из оз. Ничатка (№9) и оз. Орон (№11), а также из нижнего течения р. Енисей (№18) и р. Оленек (№31).



**Рисунок 3** – «Полноразмерная» медианная сеть гаплотипов, построенная в программе NETWORK на основе полной нуклеотидной последовательности гена *cutb* анализируемых представителей рода *Coregonus*. Размерность кругов пропорциональна числу индивидуумов, представляющих гаплотипы. Выделенные области а, с-*j* соответствуют обозначениям основных клад кластера II «истинных сигов» на ML дереве (рис. 2). Числа между слэшами указывают число замен. Номера гаплотипов совпадают с порядковыми номерами таксонов, представленных в тексте диссертации в таблице. Зеленым цветом выделены гаплотипы байкальского озерного сига (1/41, 42), оранжевым – гаплотипы байкальского омуля (2, 20, 19/30).

В целом, географическая принадлежность и порядок гаплотипов в сети соответствовали их западно-восточному появлению, то есть из Байкала в бассейн Лены и Енисея, затем в Европу, и обратно на восток: в бассейны рек Енисея и Лены, в том числе в самые ее верховья. Сиговые оз. Байкал оказались членами двух клад кластера II – «с» и «*j*». Гаплотипы клады II-с были расположены следующим образом: сначала *C. l. pidschian* из р. Иркут (№19) и *C. muksun* из р. Енисей (№30), потом енисейский речной сиг (№20) и на вершине ветви эволюционно самый молодой *C. pidschian* из оз. Байкал (№2), только одна-две мутации отделяют его от других членов клады. Байкальский омуль (№41) и озерный сиг (№1) сформировали кладу II-*j*. Гаплотип омуля №42 из оз. Кулинда (бассейн оз. Байкал) был производным от гаплотипа озерного сига (№1). В отличие от ML дерева, сеть более

отчетливо показала, что клады II-f (сиги р. Амур, №32-33) и II-j (байкальские омуль и озерный сиг, №1, 41, 42) разошлись почти одновременно с другими кладами кластера II истинных сигов.

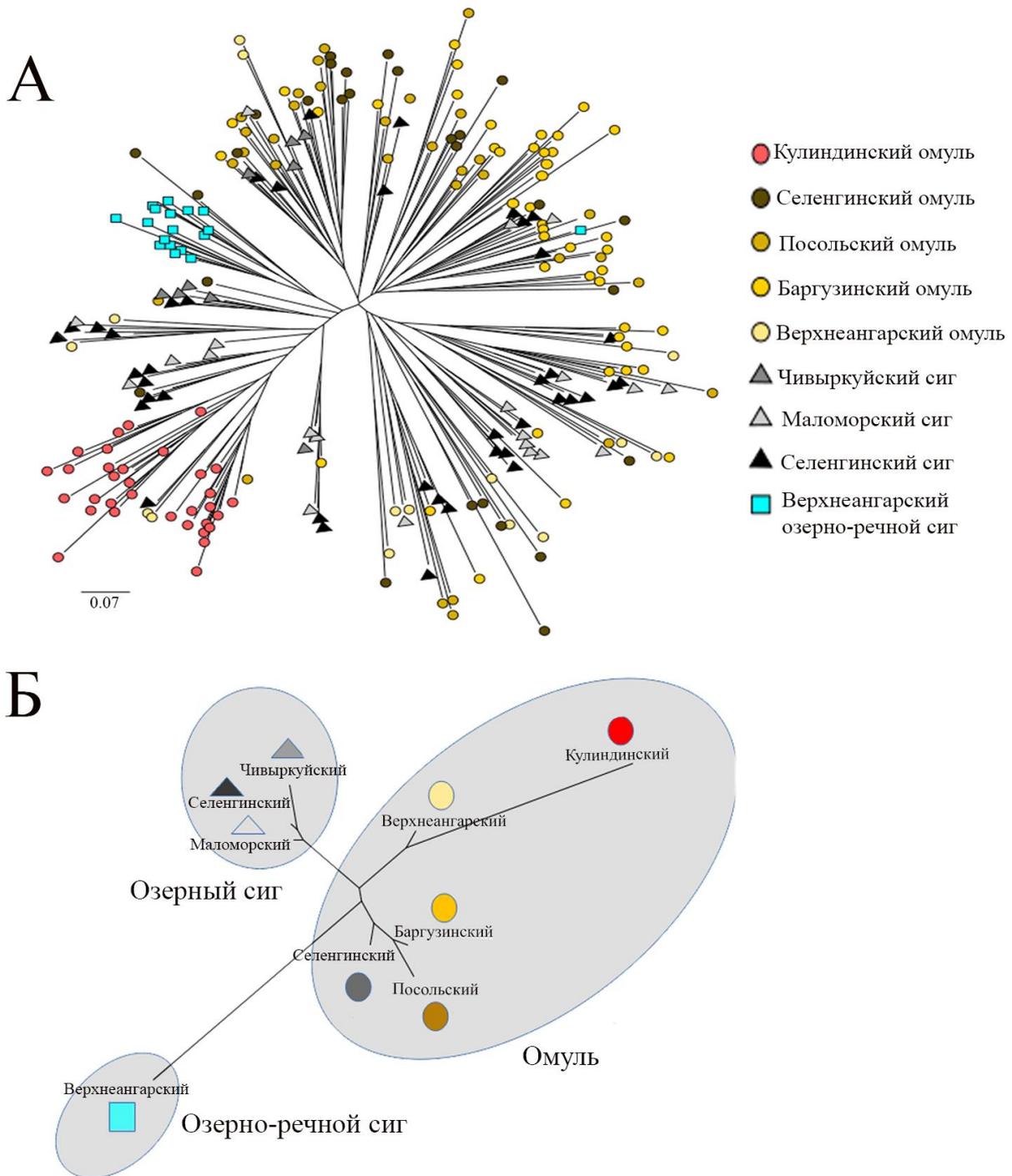
**Микросателлитный анализ.** В результате проведенного анализа наблюдали высокий полиморфизм изученных популяций байкальских сиговых по исследованным локусам (рис. 4А). Наименьшее число выявленных аллелей на локус в анализируемой выборке – два (22b и Cocl23), а наибольшее – 26. Популяции байкальского омуля по числу выявленных аллелей и уровню гетерозиготности были более полиморфными (среднее число аллелей – 10,9; средний уровень  $HE=0,77$ ;  $HO=0,70$ ), чем популяции озерного сига (6,4;  $HE=0,6404$ ;  $HO=0,60$ ). Еще более низкий уровень полиморфизма продемонстрировали малочисленные популяции – географический изолят байкальского омуля – омуль оз. Кулинда (5,6;  $HE=0,58$ ;  $HO=0,60$ ) и верхнеангарская популяция байкальского озерно-речного сига (4,4;  $HE=0,51$ ;  $HO=0,47$ ).

G-W индекс для всех исследованных выборок оказался менее 0,70, что предполагает прохождение популяций через бутылочное горлышко (Garza, Williamson, 2001).

Согласно полученным значениям  $F_{ST}$ , все анализируемые выборки достоверно отличались друг от друга, исключая селенгинскую популяцию озерного сига, который не показал достоверных различий от двух других выборок озерных сигов (чивыркуйской и маломорской популяций). Общая картина дифференциации между анализируемыми выборками наглядно представлена на деревьях (рис. 4).

Кластерный анализ в программе STRUCTURE выявил наибольшее значение  $\Delta K$ , указывающее на разделение анализируемых выборок на 6 кластеров. Вместе с тем значения  $\Delta K$  для случаев с возможным разделением на 7 и 8 кластеров, а также их дисперсия имеют близкие вероятные значения. Полученный результат хорошо согласуется со схемами на рис. 4.

**Сравнительный анализ транскриптомов мозга методом NGS.** При анализе сборок транскриптомов байкальских озерного сига и омуля общее количество контигов (транскриптов) составило 167255 и 197112, соответственно. Достоверные отличия в экспрессии были выявлены в 0,18 и 0,15% транскриптов, соответственно. У озерного сига выше экспрессируются гены, связанные с ростом и развитием, слухом, зрением, с предполагаемой способностью к обучению и памятью, а у омуля – гены, связанные с иммунитетом, внутриклеточным транспортом, регуляцией и репродукцией.



**Рисунок 4** – Деревья, построенные по данным полиморфизма пяти микросателлитных локусов: А – для особей, методом ближайших соседей (NJ - neighbor joining) на основе генетических расстояний между гаплотипами  $D_a$  (Kumar et al., 2016), реализованных в программе Population v.1.2.32; Б – для популяций, методом NJ на основе попарных значений  $F_{st}$  (Excoffier, Lischer, 2010; Cockerham, 1973), реализованных в программе Arlequin и MEGA 7.0 (Сидорова и др., 2022).

### Сравнение микробиомов кишечника байкальских сига и омуля и их гибридов F1.

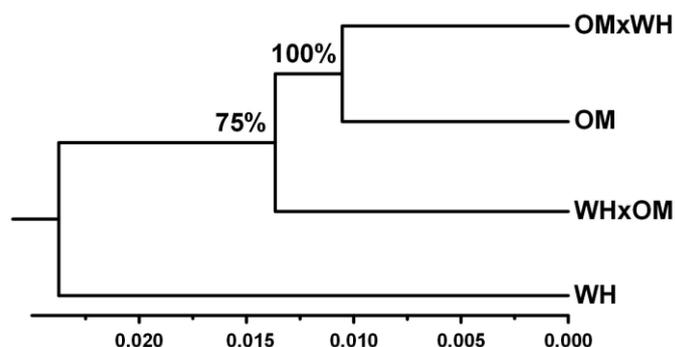
В общей сложности 89246 нуклеотидных последовательностей и 624 OTU были извлечены из четырех библиотек, полученных методом метагеномного секвенирования. Эти последовательности/OTU были отнесены к 13 различным бактериальным филам (таблица 1).

**Таблица 1** – Бактериальные филы, обнаруженные в четырех библиотеках микробиома кишечника байкальских сига, омуля и их гибридов при метагеномном секвенировании

Название филы	Последовательности		OTUs	
	Общее количество	Доля, %	Общее количество	Доля, %
Proteobacteria	74174	83,11	300	48,08
Bacteroidetes	8953	10,03	42	6,73
Firmicutes	3427	3,84	120	19,23
Actinobacteria	1200	1,34	72	11,54
Spirochaetes	1095	1,22	6	0,96
Verrucomicrobia	83	0,09	7	1,12
Candidatus Saccharibacteria	53	0,06	11	1,76
Fusobacteria	47	0,05	5	0,80
Chloroflexi	23	0,03	6	0,96
Synergistetes	6	0,01	1	0,16
Acidobacteria	5	<0,01	3	0,48
Deinococcus-Thermus	5	<0,01	1	0,16
Chlamydiae	2	<0,01	1	0,16
unclassified	173	0,19	49	7,85

Анализ разнообразия библиотек кишечных микробиомов был проведен в диапазоне 17978-36037 последовательностей и 168-311 OTUs. Индексы разнообразия ACE и Chao1 варьировали между 397-976 и 299-593, соответственно. Индекс разнообразия Shannon варьировал между 1,01-1,68 с наименьшим значением в библиотеке гибрида ♀сиг×♂омуль и самым высоким в библиотеке сига. Кривые насыщения бактериальных последовательностей 16S рРНК не стремились достичь плато, за исключением библиотеки сига.

Наибольшее число OTU согласно анализу альфа-разнообразия наблюдалось в микробиоме омуля, а самое низкое – в микробиоме сига. Количество OTU указывает на дихотомию кластеризации микробиома омуля с микробиомом гибрида ♀омуль×♂сиг, затем гибрида ♀сиг×♂омуль, в то время как микробиом сига был наиболее далеким от остальных групп. Этот паттерн кластеризации, полученный с помощью взвешенных и невзвешенных дистанций UniFrac частично совпал с групповым определением: бутстрэп анализ подтверждает кластеризацию омуля и гибрида омуль×сиг (рис. 5).



**Рисунок 5** – Дендрограмма UPGMA, основанная на кластеризации библиотек микробиомов кишечника в соответствии с составом микробных сообществ. Группы определялись с помощью взвешенных и невзвешенных расстояний UniFrac. OM - омуль, WH - сиг, гибриды F1: WHxOM - ♀сиг×♂омуль и OMxWH - ♀омуль×♂сиг.

Бактериальные паттерны всех кишечных микробиомов были очень похожи на уровне фил. В их состав входило от 7 до 9 фил, где Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes и Actinobacteria были наиболее важными группами, составляющими 89,8, 14,2, 5,2 и 4,2%, соответственно. Все сообщества микробиомов отличались только в составе минорных бактериальных таксонов, обилие которых варьировало от 0,01 до 2,4%. Минорные бактериальные группы сигов и гибридов, у которых самка сиг показали относительно небольшое разнообразие. Представители Spirochaetes, Deinococcus-Thermus, Fusobacteria и Chlamydiae встречались как у сигов, так и у гибридов. Более разнообразными были минорные бактериальные таксоны у омуля и гибридов, у которых самка омуль. Verrucomicrobia, Chloroflexi и Synergistetes были идентифицированы только в микробиоме омуля, в то время как Acidobacteria и Candidatus Saccharibacteria были распространены у омуля и гибридов. Самой распространенной OTU (сходство 97%) была *Serratia*, которая варьировала среди разных микробиомов с 61 до 80%. Основные OTU микробиома кишечника омуля включали последовательности, схожие с *Porphyromonas* (6,02%), *Achromobacter* (5,11%), *Rhodobacter* (2,77%) и Rhodobacteraceae (1,06%). В библиотеке микробиома сига доминировали последовательности, наиболее тесно связанные с Chitinophagaceae (6,73%), *Achromobacter* (6,25%), *Sediminibacterium* (5,68%), *Brevinema* (2,22%), *Prevotella* (1,62%), *Caulobacter* (1,31%) и *Sphingomonas* (1,24%). Десять наиболее распространенных OTU, связанных с библиотеками микробиомов гибридов были очень разными. Самыми распространенными OTU в библиотеке микробиома ♀сиг×♂омуль были последовательности, подобные *Achromobacter* (4,77%) и *Porphyromonas* (4,07%). В библиотеке ♀омуль×♂сиг доминировали последовательности, связанные с *Pseudomonas* (7,49%), *Achromobacter* (3,27%), *Porphyromonas* (2,64%), *Brevinema* (1,11%) и Proteobacteria (1,14%).

#### ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Эволюция сиговых, а также многих других пресноводных рыб, обитающих в водных средах умеренных и северных широт северного полушария, тесно связана с геолого-климатической историей региона. Эта связь особенно наглядно прослеживается в подробных филогенетических исследованиях двух полиморфных групп рода *Coregonus* – «*C. lavaretus complex*» и «*C. artedi complex*» (Bernatchez, Dodson, 1994; Turgeon, Bernatchez, 2003; Østbye et al., 2005). Результаты молекулярно-филогенетического анализа подтверждают гипотезу о том, что Восточная Сибирь является очагом видообразования рода *Coregonus* (Dryagin et al., 1969; Himberg et al., 1970; Shaposhnikova et al., 1970; Reshetnikov et al., 1980; Karasev, 1987), а также выводы о выживании более старых форм комплекса *C. lavaretus* на юге Восточной Сибири (Bernatchez et al., 1994).

Наши филогеографические реконструкции свидетельствуют, что неоднократные изменения климата (похолодания 2.82-2.48 и 1.75-1.45 млн. л. н. (Williams et al., 1997) и рельефа (Mats et al., 2001) могли привести к обособлению в этом регионе мажорных эволюционных линий сиговых (около 3 млн. л. н. - белорыбиц, тугуна, пеляди, арктического омуля и «истинных» сигов - кластер I) и позже - предков байкальских сиговых рыб (около 1,5 млн. л. н. - кластер II), соответственно. Рефугиумами в это время могли служить Саяно-Алтай и Байкальская рифтовые зоны, откуда, вероятнее всего и произошло распространение сиговых по Евразии и в Северную Америку. Особое положение занимает не подвергавшееся оледенению плато Путорана (Barr et al., 2011), где расположено Хантайское озеро и предковый гаплотип для всех европейских сигов.

Анализ микросателлитных локусов указывает на прохождение некоторых популяций исследуемых сиговых через бутылочное горлышко (Сидорова и др., 2022). Популяции байкальских омуля и озерного сига кластеризованы в разные группы с небольшими попарными генетическими расстояниями, что говорит о недавнем времени дивергенции этих популяций и самих видов (рис. 4). Рисунок генетического полиморфизма и его сопоставление с имеющимися литературными данными (Мамонтов и Яхненко, 1987; Яхненко и др., 1992; Мамонтов, Яхненко, 1995; Mamontov, Yakhnenko, 1998; Суханова и др., 1996; Смирнов и др., 2009; Смирнов и др., 1987a; Слободянюк и др., 1993; Politov et al., 2002; Politov et al., 2004) окончательно подтвердил предположение о недавней симпатрической дивергенции байкальских омуля, озерного сига и их популяций (Суханова и др., 1996).

Отличия в образе жизни байкальских омуля (пелагический экотип) и озерного сига (бентический экотип) коррелируют с отличиями в экспрессии генов и сравнимы с таковыми описанными для симпатрической пары североамериканского озерного сига. Так, для

североамериканского озерного сига *C. clupeaformis* было показано, что у карликового пелагического экотипа были более активны гены, потенциально связанные с выживанием (энергетический обмен, сокращение мышц, гомеостаз, липидный обмен и детоксикация, иммунитет), тогда как гены, связанные с ростом (синтез белка, клеточный цикл и рост клеток), как правило, сильнее экспрессировались у нормального бентического экотипа (Bernatchez et al., 2010). Нами выявлено, что у байкальского озерного сига выше экспрессируются гены, связанные с ростом и развитием, слухом и зрением, а также предполагаемой способностью к обучению и памятью, а у байкальского омуля – гены, связанные с иммунитетом, внутриклеточным транспортом, регуляцией и репродукцией. Полученные результаты согласуются с данными сравнительного анализа экспрессии генов, полученными у карликовой и нормальной экологических форм *C. clupeaformis* помощью микрочипов (Derome et al., 2006; St-Cyr et al., 2008), где было показано, что у карликовой формы активнее экспрессируются гены, связанные с иммунитетом, что может быть обусловлено локальной адаптацией, которая лежит в основе дивергенции популяций и видообразования (Goetz et al., 2010). Транскрипты, связанные с репликацией и репарацией ДНК, также были более представлены у карликовой формы по сравнению с нормальной. Можно предположить, что более высокая скорость метаболизма первой индуцирует больше повреждений в ДНК и, следовательно, необходимы более активные пути ее репарации. Таким образом, в целом характер генной экспрессии байкальской пары видов, анализируемый на уровне транскрипции, согласуется с таковым у подобных симпатрических пар сиговых из озер как Северной Америки, так и Европы (Rougeux et al., 2019) и подтверждает данные, полученные ранее серийным анализом генной экспрессии (SAGE) транскриптомов мозга байкальских омуля и озерного сига (Buchenko et al., 2014).

В результате проведенного анализа микробиомов кишечника байкальских сига и омуля и их гибридов установили, что состав микрофлоры был схож у всех рыб в доминантных филумах, в основном в составе протеобактерий, но отличался представленностью аллохтонной микрофлоры и минорными фракциями, разнообразие которых было больше у омуля и гибридов, и меньше у озерного сига. Большее количество аллохтонной микрофлоры и меньшее разнообразие минорных фракций у озерного сига, вероятно, связано как с особенностями обмена, так и питания, например, «экранирования» минорных фракций в анализе за счет большего количества потребляемой пищи, также связанного с особенностями экологии вида. Так, омуль и в условиях эксперимента демонстрировал активное поведение, и потреблял меньше корма в сравнении с пассивным сигом. Такое поведение рыб в искусственных условиях соответствует их активности в природе. Омуль – активный

пелагический мигрант, сиг – придонный бентофаг, питающийся около дна и передвигающийся на относительно низкой скорости.

Присутствие общей «резидентной» автохтонной микрофлоры во всех проанализированных микробиомах кишечника молоди омуля, озерного сига и их гибридов в количествах, превышающих 77%, свидетельствует о наличии «корового микробиома» и на его потенциальную роль в питании и иммунитете организма-хозяина. Это также может быть следствием недавней симпатрической дивергенции на пелагический и бентосный экотипы (Sukhanova et al., 2012).

Интересно отметить, что каждый гибрид был ближе к тому виду, самка которого использовалась для оплодотворения (материнский эффект). Этот факт, а также анализ структуры микробиома кишечника и существенная дифференциация микробного сообщества указывают на значительное влияние наследственности организма-хозяина на состав микрофлоры.

Настоящая работа демонстрирует разностороннее исследование эволюции сиговых Байкала, а также морфо-генетических особенностей озерного сига и омуля, что позволяет лучше понять механизмы симпатрического видообразования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный молекулярно-филогенетический анализ мтДНК, включивший основных представителей рода *Coregonus* и большинство «истинных» сигов, обитающих в водных бассейнах, соседствующих с оз. Байкал, позволил сделать выводы о внутрибайкальском происхождении байкальских сиговых от общего предка и о существовании на территории Байкальской рифтовой зоны и Саяно-Алтайской горной страны двух этапов быстрого кладогенеза в эволюции рода, кардинально повлиявших на его современную филогенетическую структуру. При этом байкальские омуль и озерный сиг очень близки филогенетически и являются единственными членами своей клады. Их предок дивергировал от других «истинных» сигов, не покидая озеро. Байкальский озерно-речной сиг, напротив, находится в одной кладе с некоторыми обитателями бассейна р. Енисей и имеет гаплотип, производный от гаплотипа своих ближайших родственников из Енисейского бассейна, что свидетельствует о длительной аллопатрической изоляции предка байкальского озерно-речного сига от предка байкальских омуля и озерного сига в некоем рефугиуме в бассейне р. Енисей, и о недавнем возвращении в озеро (вероятно, с появлением Ангарского речного стока из Байкала около 60 тыс. лет назад). Ближайшее генетическое родство байкальских омуля и озерного сига полностью подтвердилось в последующем микросателлитном анализе. Из схемы генетических расстояний между популяциями байкальских сиговых рыб,

построенной на основе  $F_{st}$  значений по данным полиморфизма пяти микросателлитных локусов, наглядно видно, что популяции омуля кластеризованы в одну группу с небольшими попарными генетическими расстояниями, а популяции озерного сига в другую группу. Расстояния между этими группами невелики, на основании чего можно заключить, что озерный сиг и омуль дивергировали друг от друга в недавнем геологическом прошлом. На большом расстоянии от этих групп находится популяция омуля из оз. Кулинда (бассейн р. Кичера, северного притока оз. Байкал), что подтверждает ее изолированность от всего комплекса байкальский омуль/озерный сиг. Промежуточное положение верхнеангарской популяции омуля, нерестящейся в еще одном северном притоке оз. Байкал – реке Верхняя Ангара между остальными популяциями омуля и кулиндинской популяцией, по-видимому, свидетельствует о наличии потока генов из оз. Кулинда в северные притоки озера. Также на большом расстоянии находится озерно-речной сиг из р. Верхней Ангары, не смотря на наложение сроков и мест нереста с верхнеангарской популяцией омуля, что согласуется с результатами филогенетических исследований, основанных на анализе полиморфизма мтДНК. Так как байкальские озерный сиг и омуль дивергировали друг от друга в последний раз в недавнем геологическом прошлом, соответственно, на уровне ДНК они не должны были накопить большие отличия. В таком случае, приспособление к различным экологическим нишам, вероятнее всего, шло путем появления различий в уровне экспрессии наиболее важных для адаптации генов. Анализ транскриптомов показал: у озерного сига больше экспрессируются гены, связанные с ростом и развитием, в то время как у омуля – гены, связанные с каталитической активностью, регуляцией и иммунитетом. NGS анализ кишечной микрофлоры байкальских сиговых рыб, выращенных в экспериментальных условиях является логичным дополнением к проведенному молекулярно-филогенетическому анализу и анализу транскриптомов. Результаты сравнения микробиомов кишечника байкальских омуля, озерного сига и их гибридов, выращенных в идентичных условиях аквариумного комплекса, начиная с момента оплодотворения, согласуются с результатами филогенетических реконструкций. С одной стороны, сходство структуры основных бактериальных сообществ всех исследованных хозяев на уровне филума и незначительные различия в составе минорных бактериальных таксонов подтверждает близкое родство между изученными видами рыб. С другой, присутствие хоть и минорных различий, но интерпретируемых в контексте как влияния материнского генотипа на микробиом, так и пищевых адаптаций исследуемых видов к занимаемым экологическим нишам, подтверждает наличие генетически обусловленной адаптивной дивергенции байкальских омуля и озерного сига.

Таким образом, можно утверждать, что предок байкальских сиговых рыб появился в Байкале как минимум 1,5 миллиона лет назад. Современная же популяционная структура сиговых рыб окончательно сформировалась в недавнем геологическом прошлом, после последнего похолодания в плейстоцене.

## ВЫВОДЫ

1. Озеро Байкал и прилегающие территории – наиболее вероятное место происхождения байкальских сиговых рыб и в целом рода *Coregonus*. Формирование комплекса этих рыб происходило под непосредственным влиянием колебаний климата в плейстоцене. Байкальские омуль и озерный сиг имеют автохтонное симпатрическое происхождение от предковой формы, сохранившейся непосредственно в озере после глобальных плейстоценовых оледенений. Остальные представители рода *Coregonus* были изолированы в рефугиумах за пределами Байкала. Байкальский озерно-речной сиг имеет аллопатрическое происхождение, являясь потомком внутрибайкальской предковой формы, вернувшимся из Енисейского бассейна в Байкал после более миллиона лет географической изоляции за пределами озера.

2. Популяции байкальских омуля и озерного сига кластеризованы в разные группы. Небольшие генетические расстояния между видами и популяциями внутри видов указывают на то, что очередная симпатрическая изоляция пелагической (байкальский омуль) и бентической (озерный сиг) форм в условиях оз. Байкал произошла после последнего похолодания в плейстоцене.

3. Анализ транскриптомов мозга байкальских омуля и озерного сига методом высокопроизводительного секвенирования РНК (RNAseq) выявил различия в генной экспрессии, которые могут быть связаны с адаптивной дифференциацией: у байкальского омуля более активны гены, связанные с иммунитетом, внутриклеточным транспортом и регуляцией, а у озерного сига – гены, связанные с ростом и развитием.

4. Микробиомы кишечника байкальских омуля и озерного сига имеют сходное «коровое» бактериальное сообщество (несколько доминантных OTU), что связано с их недавней дивергенцией. Отличия касаются минорных бактериальных таксонов. У озерного сига по сравнению с байкальским омулем меньше разнообразие кишечных OTU, вероятно, из-за различий в поведении и питании. Гибриды байкальских омуля и озерного сига занимают промежуточное положение по составу микробиома, но наблюдается материнский эффект, то есть влияние наследственности хозяина на формирование микробиома кишечника.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### *Статьи в журналах из списка, рекомендованного ВАК:*

1. Bychenko O.S., Sukhanova L.V., Azhikina T.L., Skvortsov T.A., **Belomestnykh T.V.**, Sverdlov E.D. Differences in brain transcriptomes of closely related Baikal coregonid species // *BioMed Research International*. 2014. V. 2014. Article No. 857329. 11 p. Doi: 10.1155/2014/857329.
2. Belkova N., **Sidorova T.**, Glyzina O., Yakshenko V., Sapozhnikova Y., Bukin Y., Baturina O., Sukhanova L. Gut microbiome of juvenile coregonid fishes: comparison of sympatric species and their F1 hybrids // *Fundamental and Applied Limnology*. 2017. V. 189, № 3. P. 279–290.
3. **Сидорова Т.В.** Смирнов В.В., Кирилчик С.В., Суханова Л.В. Изучение популяционной структуры байкальских сиговых рыб на основе полиморфизма микросателлитных локусов // *Генетика*. 2022. Т. 58, № 11. С. 1311–1324.

### *Работы в материалах конференций:*

1. Sukhanova L.V., Smirnov V.V., Smirnova-Zalumi N.S., **Belomestnykh T.V.**, Kirilchik S.V. Molecular phylogeography of Lake Baikal coregonid fishes // *Biology and Management of Coregonid Fishes–2008: 10th International Symposium on the Biology and Management of Coregonid Fishes, Winnipeg, Canada / Advances in Limnology (Book series)*. V. 63. – Stuttgart: Schweizerbart, 2012. – P. 261–283.
2. Быченко О.С., Ажикина Т.Л., **Беломестных Т.В.**, Суханова Л.В. Байкальские сиговые (Coregonidae) как объект экологической геномики // *Пятая Верещагинская Байкальская конференция, Международная научная школа для молодежи «Экология крупных водоемов и их бассейнов», 16 объединенный семинар по проблемам изучения региональных осадений из атмосферы: тезисы докладов и стендовых сообщений (Иркутск, 4–9 октября 2010 г.)*. – Иркутск: Изд-во «Аспринт», 2010. – С. 64–65.
3. **Belomestnykh T.V.**, Sukhanova L.V., Kirilchik S.V., Smirnov V.V., Smirnova-Zalumi N.S. Evolution of Lake Baikal coregonine fishes: is it an example of periodic intra-lacustrine adaptive diversification? // *Contributions to the 2nd Moscow International 'Molecular Phylogenetics'(MolPhy-2)*. Moscow, May 18–21, 2010. – Moscow: TOPUS PRESS, 2011. – P. 167–168. ISBN: 978-5-94588-074-0.
4. **Belomestnykh T.V.**, Kirilchik S.V., Smirnova-Zalumi N.S., Smirnov V.V., Bychenkoikina T.L., Sukhanova L.V. Differences in brain transcriptomes of closely related lake Baikal coregonid species as revealed by next-generation sequencing // *XII International Symposium on the biology and management of coregonid fishes*. Listvyanka – Irkutsk, Russia, August 25–30, 2014. – Irkutsk, 2014. – С. 19.

5. Sukhanova L.V., **Belomestnykh T.V.**, Smirnov V.V., Kirilchik S.V. Joint ITS1/mtDNA analysis as an informative combination of markers to reveal major patterns of reticulate evolution in coregonid fishes // XII International Symposium on the biology and management of coregonid fishes. Listvyanka– Irkutsk, Russia, August 25–30, 2014. – Irkutsk, 2014. – P. 77.

6. Belkova N., Sukhanova L., **Sidorova T.** Cultivation of coregonid fishes and their F1 hybrids: comparison gut microbiome of fingerlings // Abstracts of World Aquaculture 2015: Aquaculture For Healthy People, Planet and Profit. Jeju, Korea, May 26–30, 2015. – Jeju, 2015. – P. 41.

7. Суханова Л.В., Смирнова-Залуми Н.С., Кирильчик С.В., Глызина О.Ю., **Сидорова Т.В.**, Сапожникова Ю.П., Яхненко В.М., Смирнов В.В., Благодетелев А.И. Биотехнологии в культивировании сиговых рыб: подходы к сохранению биоразнообразия и исследованию эволюции // Шестая Международная Верещагинская Байкальская конференция. Иркутск, 7–12 сентября 2015 г. – Иркутск: Изд-во «Аспринт», 2015. – С. 209.

8. Седова П.О., Белькова Н.Л., Юринова Г.В., Дмитриева А.М., Глызина О.Ю., **Сидорова Т.В.**, Смирнов В.В., Смирнова Н.С., Яхненко В.М., Сапожникова Ю.П., Тягун М.Л., Суханова Л.В. Сравнительный анализ качественных и количественных изменений в составе целевых таксонов кишечных микробиомах байкальских сиговых рыб и их гибридов F1 // Современные проблемы биологии, экологии и почвоведения. Материалы международной научной конференции, посвященной 100-летию высшего биологического образования в Восточной Сибири, Иркутск, 19–20 сентября 2019 г. – Иркутск: ФГБОУ ВО «ИГУ», 2019. – С. 199–200.

СИДОРОВА ТУЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ  
БАЙКАЛЬСКИХ СИГОВЫХ РЫБ**

1.5.7. Генетика

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук