

Veterinarski fakultet  
Sveučilišta u Zagrebu

Filogenetska analiza kitova (Cetacea) iz Jadranskoga mora usporedbom kontrolnih  
regija mitohondrijske DNA

Andreja Janžek i Tihana Ivanišević, studentice II. godine

Izvedeno na Zavodu za biologiju

Voditelji: mr. sc. Tomislav Gomerčić, dr. vet. med., Martina Đuras Gomerčić, dr. vet. med.

Zagreb, 2006.

# Filogenetska analiza kitova (Cetacea) iz Jadranskoga mora usporedbom kontrolnih regija mitohondrijske DNA

Andreja Janžek i Tihana Ivanišević  
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

---

**Janžek, A., T. Ivanišević: Filogenetska analiza kitova (Cetacea) iz Jadranskoga mora usporedbom kontrolnih regija mitohondrijske DNA.**

## SAŽETAK

Cilj ovog rada je kvantificirati evolucijski odnos životinjskih vrsta, reda kitova (Cetacea), korištenjem kontrolne regije mitohondrijske DNA. U analizi je uspoređeno 20 kontrolnih regija različitih životinja koje su obitavale u hrvatskom dijelu Jadranskog mora; tri velika sjeverna kita (*Balaenoptera physalus*), četiri plavetna kita (*Balaenoptera musculus*), dvije glavate ulješure (*Physeter catodon*), dva bjelogrla dupina (*Globicephala melas*), jedan plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*), tri dobra dupina (*Tursiops truncatus*), tri obalna dupina (*Phocoena phocoena*) i dva krupnozuba dupina (*Ziphius cavirostris*). Korištene su sekvence iz genske baze podataka, GenBank, koje su računalnim programima uspoređene i opisane, na temelju čega je napravljeno filogenetsko stablo. Stablo pokazuje klasičnu sistematiku vrsta. Pronađena su specifična mjesta u kontrolnim regijama, bitna za razlikovanje vrsta kitova. Ovim radom su ustanovljene teoretske osnove za razvijanje metode lančanom reakcijom polimeraze za identifikaciju različitih vrsta kitova iz hrvatskog dijela jadranskoga mora ne temelju minimalnih količina tkiva.

**Ključne riječi:** mitohondrijska DNA, filogenetsko stablo, kitovi, Jadransko more, Cetacea

---

## Uvod

U Jadranskom moru danas živi samo jedna vrsta iz reda kitova (Cetacea) i to dobri dupin (*Tursiops truncatus*). Iako se ponekad mogu vidjeti i ostale vrste kitova njihov je boravak u Jadranskom moru samo privremen. U Jadranskom moru iz podreda kitova usana (Mysiceti) zabilježeni su veliki sjeverni kit (*Balaenoptera physalus*) i plavetni kit (*Balaenoptera physalus*), a od kitova zubana (Odontoceti) obični dupin (*Delphinus delphis*), glavati dupin (*Grampus griseus*), sjeverna kljunasta ulješura (*Hyperoodon ampullatus*), crni dupin (*Pseudorca crassidens*), plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*), glavata ulješura (*Physeter catodon*), krupnozubi dupin (*Ziphius cavirostris*) (GOMERCIC i sur., 2002.; ĐURAS GOMERČIĆ i sur., 2003.; GOMERČIĆ i sur., 2004.).

Moguće pogrešno identificirane vrste kitova zubana su obalni dupin (*Phocoena phocoena*) i bjelogrli dupin (*Globicephala melas*) (GOMERČIĆ i sur., 2004.).

Životinjska mitohondrijska DNA posjeduje nekoliko važnih svojstava: prisutna je u svim tkivima, ima mali genom i jednostavne je strukture, nema nekodirajućih dijelova (introna), ima različitu stopu evolucije u svojim pojedinim dijelovima, što omogućuje rješavanje filogenetskih pitanja na različitim taksonomskim razinama (ZHANG i HEWITT, 1996.)

Mitohondrijska DNA (mtDNA) je mala, kružna, dvolančana DNA molekula veličine između 15 000 i 20 000 parova baza. Ona sadrži 37 gena od čega 22 tRNA gena, 2 rRNA gena, 13 gena koji kodiraju sintezu bjelančevina uključenih u transport elektrona i oksidativnu fosforilaciju, te nekodirajući dio veličine oko 1 000 parova baza koji se naziva kontrolnom regijom i u kojem započinje replikacija i transkripcija mitohondrijskog genoma. U kontrolnoj regiji mitohondrijske DNA nalazi se D – petlja (D - loop), trolančana struktura koja nastaje tijekom replikacije, a često se taj naziv upotrebljava i kao sinonim za kontrolnu regiju (TABERLET, 1996.; WHITE i sur., 1998.)

Dijelovi kontrolne regije evoluiraju četiri do pet puta brže od ostatka molekule mtDNA, što kontrolnu regiju čini jednim od najvarijabilnih dijelova mtDNA (TABERLET, 1996.). Kontrolna regija ne kodira sintezu bjelančevina i zbog toga ne podliježe prirodnoj selekciji, pa je pogodna za filogenetska istraživanja.

Od 1995. godine u Hrvatskoj su sve vrste kitova zaštićene, Zakonom o zaštiti prirode (Narodne novine, 30/1994., 162/2003.), Pravilnikom o zaštiti pojedinih vrsta sisavaca (Mammalia) (Narodne novine, 31/1995.) i Sporazumom o zaštiti kitova (Cetacea) u Crnom moru, Sredozemnom moru i susjednom atlantskom području (Agreement on the conservation of cetaceans of the Black Sea, Mediterranean Sea and contiguous Atlantic area - ACCOBAMS) (Međunarodni ugovori, 6/2000.).

U znanstvenim i ekološkim istraživanjima te gospodarenju životinjskim vrstama važno je točno odrediti kojoj vrsti pripada pojedina jedinka. Ponekad je teško odrediti vrstu jer su životinje

premlade ili je tkivo preraspadnuto za prepoznavanje. U nekim slučajevima na temelju morfoloških karakteristika vrlo je teško odrediti vrstu. Čak ni detaljnom razudbom ponekad nije moguće sa 100% sigurnošću utvrditi vrstu (GOMERČIĆ i sur., 2003.)

PALOMARES i sur. (2002.) su uspoređujući kontrolne regije mtDNA definirali metodu za određivanje prisutnosti risa na određenom području. GOERLITZ i sur. (2003). su na temelju mtDNA odredili iz kojih dijelova svijeta u Kaliforniju dolaze kitovi. MAURIĆ i PAĐEN (2005.) pronašle su specifična mjesta u kontrolnim regijama, bitna za razlikovanje velikih zvjeri u Hrvatskoj, te su uspjele kvantificirati evolucijski odnos tih zvjeri. TOMAŠKOVIĆ (2002.) je na temelju mtDNA i mikrosatelita proučavala populaciju crvenokljunih galica.

Uspoređivanjem više kontrolnih regija različitih vrsta kitova htjeli smo pronaći specifična mjesta pomoću kojih bismo mogli razlikovati spomenute životinjske vrste i kvantificirati njihov evolucijski odnos.

## **Materijali i metode**

Za utvrđivanje genetske razlike pojedinih vrsta kitova korištene su sekvence mitohondrijske DNA (mtDNA) uzete iz genske baze podataka, GenBank koja se nalazi na adresi:

[www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/). U radu su korištene tri mtDNA velikog sjevernog kita (*Balaenoptera physalus*), četiri mtDNA plavetnog kita (*Balaenoptera musculus*), dvije mtDNA glavate ulješure (*Physeter catodon*), dvije mtDNA bjelogrlog dupina (*Globicephala melas*), jednu mtDNA plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), tri mtDNA dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), tri mtDNA obalnog dupina (*Phocoena phocoena*) i dvije mtDNA krupnozobog dupina (*Ziphius cavirostris*).

U tablici 1. navedene su vrste životinja, identifikacijski broj iz genske baze, referenca i zemljopisno područje iz kojeg potječe uzorak (za životinje za koje postoji informacija u genskoj bazi).

Tablica 1. Podaci o korištenim sekvencama preuzetim iz GenBank baze (oznaka životinje, vrsta životinje, identifikacijski broj iz genske baze, referenca i zemljopisno područje iz kojeg potječe uzorak)

Oznaka životinje	Vrsta životinje	Identifikacijski br. iz GenBank baze	Referenca	Područje iz kojeg potječe uzorak
veliki sjeverni kit 1	<i>Balaenoptera physalus</i> 1	X61145	ARNASON i sur., 1991.	
veliki sjeverni kit 2	<i>Balaenoptera physalus</i> 2	DQ145101	BAKER i MEDRANO-GONZALES, 2002.	
veliki sjeverni kit 3	<i>Balaenoptera physalus</i> 3	DQ145100	BAKER i MEDRANO-GONZALES, 2002.	
plavetni kit 1	<i>Balaenoptera musculus</i> 1	DQ145102	BAKER i MEDRANO-GONZALES, 2002.	
plavetni kit 2	<i>Balaenoptera musculus</i> 2	DQ145044	BAKER i MEDRANO-GONZALES, 2002.	
plavetni kit 3	<i>Balaenoptera musculus</i> 3	DQ145043	BAKER i MEDRANO-GONZALES, 2002.	
plavetni kit 4	<i>Balaenoptera musculus</i> 4	AY822087	HATCH i HARRISON, 2005.	sjeverni dio Tihog oceana
glavata ulješura 1	<i>Pyseter catodon</i> 1	AF547993	MATZEN i sur., 2002.	
glavata ulješura 2	<i>Pyseter catodon</i> 2	AY822115	HATCH i HARRISON, 2005.	sjeverni dio Atlantskog oceana
bjelogrlji dupin 1	<i>Globicephala melas</i> 1	U20928	SIEMANN, 1994.	sjeverni dio Atlantskog oceana
bjelogrlji dupin 2	<i>Globicephala melas</i> 2	U20927	SIEMANN, 1994.	sjeverni dio Atlantskog oceana
plavobijeli dupin	<i>Stenella coeruleoalba</i>	AF393574	PICHLER i sur., 2001.	
dobri dupin 1	<i>Tursiops truncatus</i> 1	AF155162	PARSONS i sur., 1999.	
dobri dupin 2	<i>Tursiops truncatus</i> 2	U20912	SIEMANN, 1994.	sjeverni dio Atlantskog oceana
dobri dupin 3	<i>Tursiops truncatus</i> 3	AF155160	PARSONS i sur., 1999.	
obalni dupin 1	<i>Phocoena phocoena</i> 1	X91613	WALTON, 1997.	
obalni dupin 2	<i>Phocoena phocoena</i> 2	AY262388		sjeverni dio Atlantskog oceana
obalni dupin 3	<i>Phocoena phocoena</i> 3	AY262387		sjeverni dio Atlantskog oceana
krupnozubi dupin 1	<i>Ziphius cavirostris</i> 1	AF036223	DALEBOUT i sur., 1998	
krupnozubi dupin 2	<i>Ziphius cavirostris</i> 2	AF036222	DALEBOUT i sur., 1998	

Sekvence mtDNA prebačene su u program BioEdit Sequence Alignment Editor, Version 5.0.6. (HALL, 1999.), te su sekvence različitih vrsta uspoređene međusobnim poravnavanjem. Budući da za sekvencioniranje kontrolnih regija nisu korištene iste početnice, kontrolne regije nisu započinjale na istoj sekvenci niti su na istoj završavale. Da bi mogli uspoređivati sekvence morali smo krajeve kontrolnih regija odrezati, tako da sve započinju i završavaju na istom mjestu.

Filogenetsko stablo životinjskih vrsta napravljeno je u programu Mega 3 (KUMAR i sur., 2004.) po metodi Minimal Evolution, gdje je izračunata sličnost između pojedinih sekvenci kontrolnih regija.

## Rezultati

Tablica 2. prikazuje evolucijsku analizu osam životinjskih vrsta koja se temelji na usporedbi 288 baza kontrolnih regija mitohondrijske DNA (mtDNA). U tablici se nalaze poravnate sekvence dvadeset različitih životinja te su vidljive sličnosti i različitosti među njima.

Tablica 2. Poravnate sekvence kontrolnih regija obrađenih životinja i oznake specifičnih mjesta za razlikovanje

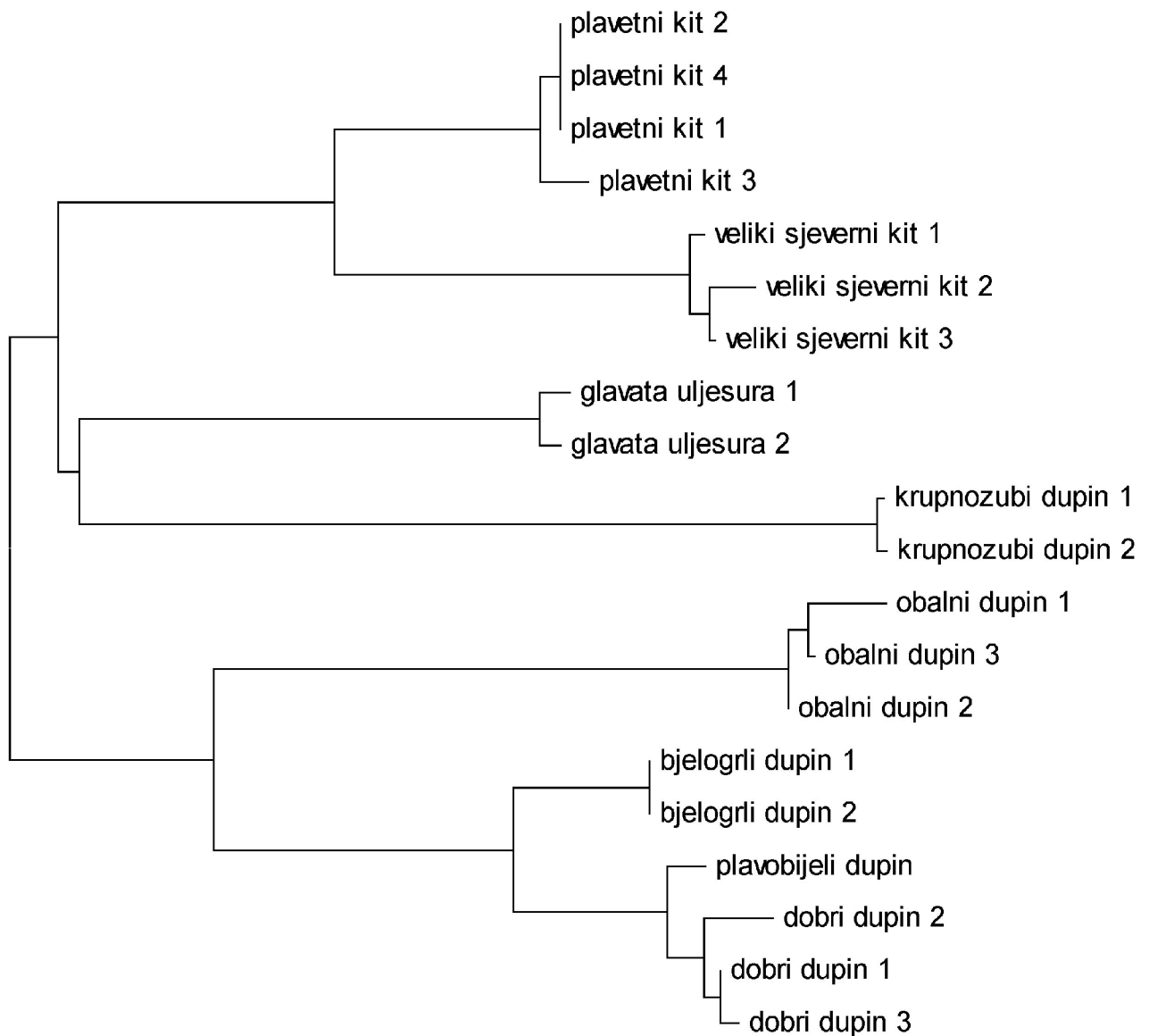
	10	20	30	40	50	60	70
veliki sjeverni kit 1	CCACAGTACTATGTC	CGTATTGAAAATA	ACTTGCCTTATTA	-GATATTATTATG	TAACCTCGTGCA	-TGCA	
veliki sjeverni kit 2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
veliki sjeverni kit 3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
plavetni kit 1	.....	A...AT.A..AT..	C...-C...G...CT	.....	.....	.....	.....
plavetni kit 2	.....	A...AT.A..AT..	C...-C...G...CT	.....	.....	.....	.....
plavetni kit 3	.....	A...AT.A..AT..	C...-C...G...CT	.....	.....	.....	.....
plavetni kit 4	.....	A...AT.A..AT..	C...-C...G...CT	.....	.....	.....	.....
glavata uljesura 1	.....G.....A.....	A...C...CCA..CA	.....-C...C...TCCTAC	CC.GACCAT	-CCA		
glavata uljesura 2	.....G.....A.....	A...C...CA..CA	.....-C...C...TCCTAC	CC.GACCAT	-CCA		
bjelogrli dupin 1	TT.....A.....A...	G...T..ATT...AA	AC..T...C.G.AC	CA..ACAT	-C.T		
bjelogrli dupin 2	TT.....A.....A...	G...T..ATT...AA	AC..T...C.G.AC	CA..ACAT	-C.T		
dobri dupin 1	T.....C...A.....	A...G...T...TT	..AA.AC..T...C	G.AC.CA..TACAT	-A..		
dobri dupin 2	T.....CC.A.....A...	G...T...TT...AA	AC..T...C.G.AC	CA..TACAT	-CA..		
dobri dupin 3	T.....C...A.....	A...G...T...TT	..AA.AC..T...C	G.AC.CA..TACAT	-A..		
obalni dupin 1	.T..T.....C.A.....	CA.....CC..CCGAA	-C...CCC.C	----.GCAA	TAC..-..T		
obalni dupin 2	..T.....C.A.....	A.....CC..TCCGAA	-C...CCC.C	----.GCAA	TAC..-..T		
obalni dupin 3	..T.....C.A.....	A.....CC..TCCGAA	-C...CCC.C	----.GCAA	TAC..-..T		
plavobijeli dupin	T.....C...A.....	A...G...T...TT	..AA.AC..T...C	G.AC.CA..TACAT	-CA..		
krupnozubi dupin 1	.....G...C.C.A.....	A...A..A..C	CAG-T.G	.....TCCTG-	CTAATCAA	-AGG	
krupnozubi dupin 2	.....G...C.C.A.....	A...A..A..C	CAG-T.G	.....TCCTG-	CTAATCAA	-AGG	
	80	90	100	110	120	130	140
veliki sjeverni kit 1	TGTA	CTTCCACATA	-ATTAAT	-----AGCGTC	-TTCCATGGG	TATGAACAGATATACATGCTATGTA	
veliki sjeverni kit 2	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
veliki sjeverni kit 3	.....C.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
plavetni kit 1	.....C..C.....-CC	G.T--AATC	.T..TA.CC.TG	..AA...T.T.C..C	.....	.....	.....
plavetni kit 2	.....C..C.....-CC	G.T--AATC	.T..TA.CC.TG	..AA...T.T.C..C	.....	.....	.....
plavetni kit 3	.....C..C.....-G-CC	G.T--AATC	.T..TA.CC.TG	..AA...T.T.C..C	.....	.....	.....
plavetni kit 4	.....C..C.....-CC	G.T--AATC	.T..TA.CC.TG	..AA...T.T.C..C	.....	.....	.....
glavata uljesura 1	..CC.CCAT	-----GCC	----ATTC	.....TC.CC.TG	AA--..T.T.C..G	.....	.....
glavata uljesura 2	..CC.CCAT	-----GCC	----ATTC	.....TC.CC.TG	AA--..T.T.C..G	.....C	.....
bjelogrli dupin 1	.A...ACGT	..C.T.CC..A--TCT-	TC.T-CCTT	..AA--..AT.T.T	.....	.....	.....
bjelogrli dupin 2	.A...ACGT	..C.T.CC..A--TCT-	TC.T-CCTT	..AA--..AT.T.T	.....	.....	.....
dobri dupin 1	.AC..A.GT	...-TGC...A--TTTT	.TC.-CCTG	AA--..ATT..T.C	.....	.....	.....
dobri dupin 2	.AC..A.GT	...-TGC...A--TTTT	.TC.-CCTG	AA--..ATT..T.C	.....	.....	.....
dobri dupin 3	.AC..A.GT	...-TGC...A--TTTT	.TC.-CCTG	AA--..ATT..T.C	.....	.....	.....
obalni dupin 1	.....CA..T.CT	--ACG...--CCT	TC.T-CCC	T..AA--..ATTT	TG.....	.....	.....
obalni dupin 2	.....CA..T.CT	--AC...--CCT	TC.T-CCC	T..AA--..ATTT	TG.....	.....	.....
obalni dupin 3	.....CA..T.CT	--AC...--CCT	TC.T-CCC	T..AA--..ATTT	TG.....	.....	.....
plavobijeli dupin	.A...A.GT	...-TGC...A--TTTT	.TC.T-CCTG	AA--..ATT..T	.....	.....	.....
krupnozubi dupin 1	CA...CCGTC	..CCGC...--ATAT	.....-C.C.T	..G.A--C..T	TGT	.....T..A	.....
krupnozubi dupin 2	CA...CCGTC	..CCGC...--ATAT	.....-C.C.T	..G.A--C..T	TGT	.....T..A	.....

	150	160	170	180	190	200	210
veliki sjeverni kit 1	TAATTGTGCATTCAATTATTTTCACCACGAGCA-GTTGAAGCTCGTATTAAATTTTATTAAATTTTACATA						
veliki sjeverni kit 2	.....C.....-.....						
veliki sjeverni kit 3	.....-.....						
plavetni kit 1	.....C.....-A..C.....						
plavetni kit 2	.....C.....-A..C.....						
plavetni kit 3	.....C.....-A..C.....						
plavetni kit 4	.....C.....-A..C.....						
glavata uljesura 1	...A.....T..T..-GA.....C.....						
glavata uljesura 2	...A.....T..T..-GA.....C.....						
bjelogrli dupin 1	.T.C.....T.....CAT...TA.-A..TC.....T.A.C.....						
bjelogrli dupin 2	.T.C.....T.....CAT...TA.-A..TC.....T.A.C.....						
dobri dupin 1	.T.....T.....CAT...TA.-A..A.....T.A.C.....						
dobri dupin 2	.T.....T.....CAT...CA.-A..C.....T.A.C.....						
dobri dupin 3	.T.....T.....CAT...TA.-A.....T.A.C.....						
obalni dupin 1	.T.....T.....CAT...CT.T..A..C.....AC.....C..A.						
obalni dupin 2	.T.....T.....CAT...CT.T..A..C.....AC.....C..A.						
obalni dupin 3	.T.....T.....CAT...CT.T..A..C.....AC.....C..A.						
plavobijeli dupin	.T.....T.....CAT...TA.-A.....T.A.C.....						
krupnozubi dupin 1	...C.....T.....T..GAG.-A.....A.T.....T.....						
krupnozubi dupin 2	...C.....T.....T..GAG.-A.....A.T.....T.....						

	220	230	240	250	260	270
veliki sjeverni kit 1	T-TACATAATATGTATTAATAGTACAATA	CCGC	ATGTTCTTATGCATCCCCAGATCTATTTA			
veliki sjeverni kit 2	.....-.....T...G.T.....					
veliki sjeverni kit 3	.....-.....G.T.....					
plavetni kit 1	.....T.....G..TA.....T..G..A.....					
plavetni kit 2	.....T.....G..TA.....T..G..A.....					
plavetni kit 3	.....T.....G..TA.....T..G..A.....					
plavetni kit 4	.....T.....G..TA.....T..G..A.....					
glavata uljesura 1	...A.....GG..C.....GA...A.C...AATCAATT	CAG..CCC.G				
glavata uljesura 2	...A.....GG..C.....GA...A.C...AATCAA.T	CAG..CCC.G				
bjelogrli dupin 1	.....-C.CT.....TTAT..A.C.CCTAAT.GTTTT.TT..C...AT					
bjelogrli dupin 2	.....-C.CT.....TTAT..A.C.CCTAAT.ATTTT.TT..C...AT					
dobri dupin 1	.....C.-GC.CT.....TTAT..C.C.CCTAT.ATTT..TC..C...AT					
dobri dupin 2	.....C.-GC.CT.....TTAT..A.C..CTAT..AT.TT.TC..C...AT					
dobri dupin 3	.....C.-GC.CT.....TTAT..C.C.CCTAT.ATTTT.TC..C...AT					
obalni dupin 1	A-.....T..C.C-GC.CT.....TTAT..C.C.ACT..T.-.T..T..C...AT					
obalni dupin 2	G-.....T..C.C-GC.CT.....TTAT..C.C.ACT..T.-.T..T..C...AT					
obalni dupin 3	G-.....T..C.C-GC.CT.....TTAT..C.C.ACT..T.-.T..T..C...AT					
plavobijeli dupin	.....C.-C.CT.....TTAT...C.CCT-T..ATTT..TCC.C...AT					
krupnozubi dupin 1	AG.....T..C.....C.....TG-----	CCG.TCC				
krupnozubi dupin 2	AG.....T..C...G..C.....TG-----	CCG.TCC				

crvena- specifična mjesta za razlikovanje velikog sjevernog kita od ostalih obrađenih vrsta  
žuta- specifična mjesta za razlikovanje plavetnog kita od ostalih obrađenih vrsta  
ružičasta- specifična mjesta za razlikovanje glavate ulješure od ostalih obrađenih vrsta  
siva- specifično mjesto za ralikovanje dobrog dupina od ostalih obrađenih vrsta  
plava- specifična mjesta za razlikovanje obalnog dupina od ostalih obrađenih vrsta  
zelena- specifična mjesta za razlikovanje krupnozubog dupina od ostralih obrađenih vrsta



Slika 1. Filogenetsko stablo obrađenih životinja

Slika 1. prikazuje grafički evolucijski odnos koji se temelji na usporedbi kontrolnih regija mtDNA. Životinje koje su bliže, međusobno su sličnije i obratno.

Prema tablici 2. plavetni kit i veliki sjeverni kit su međusobno veoma slični, kao što su i dobri dupin, plavobijeli dupin i bjelogrli dupin. Plavetni kit, veliki sjeverni kit i glavata ulješura dosta se razlikuju od obalnog dupina, bjelogrlog dupina, plavobijelog dupina i dobrog dupina, što odgovara današnjoj sistematici gdje plavetni kit, veliki sjeverni kit i glavata ulješura pripadaju podredu kitova usana (*Mysiceti*), dok krupnozubi dupin, obalni dupin, bjelogrli dupin, plavobijeli dupin i dobri dupin pripadaju poredu kitova zubana (*Odontoceti*).



## Rasprava

Kontrolne regije dobrog dupina i plavobijelog dupina međusobno su najbližnije što odgovara s njihovom morfološkom sličnošću.

Dobiveno filogenetsko stablo (Slika 1.) poklapa se s klasičnim filogenetskim stablima koja su dobivena na temelju morfologije, embriologije i paleontologije. Veliku sličnost na molekularnoj razini pokazuju plavobijeli dupin, bjelogrli dupin, dobri dupin i obalni dupin što se podudara sa njihovom kvalifikacijom i pripadanošću istoj porodici Delphinidae.

Velika sličnost se pronalazi i između velikog sjevernog kita i plavetnog kita koji pripadaju porodici Balanopteridae.

U tablici se može uočiti da glavata ulješura i krupnozubi dupin ne odgovaraju niti porodici Delphinidae niti Balanopteridae. Glavata ulješura pripada porodici Physeteridae, dok krupnozubi dupin pripada porodici Ziphiidae.

## Zaključci

1. U sekvencama mitohondrijske DNA postoje specifična mjesta prema kojima se mogu razlikovati različite vrste kitova.
2. Filogenetsko stablo koje se temelji na sličnosti na molekularnoj razini odgovara onome s klasičnom sistematikom kitova.

## Literatura

- ARNASON, U., A. GULLBERG, B. WIDEGREN (1991.): The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA of the fin whale, *Balaenoptera physalus*. *J. Mol. Evol.* 33, 556-568.
- BAKER, C. S., L. MEDRANO-GONZALEZ (2002.): World-wide distribution and diversity of humpback whale mitochondrial DNA lineages. U: *Cell and molecular biology of marine mammals*. Kreiger Publishing Co., Inc., Melburn, Florida, USA, 84-99.
- DALEBOUT, M. L., A. V. HELDEN, K. VAN WAEREBEEK, C. S. BAKER (1998.): Molecular genetic identification of southern hemisphere whales (Cetacea: Ziphiidae). *Mol. Ecol.* 7, 687-694.
- ĐURAS GOMERČIĆ, M., T. GOMERČIĆ, H. LUCIĆ, H. GOMERČIĆ, D. ŠKRTIĆ, S. ĆURKOVIĆ, S. VUKOVIĆ (2003.): Prisutnost i rasprostranjenost vrsta iz reda kitova (Cetacea) u zadarskom akvatoriju. Abundance and distribution of whale species (Order: Cetacea) in the area of Zadar. U: *Zbornik sažetaka Osmog hrvatskog biološkog kongresa -*

Proceedings of Abstracts of Eighth Croatian Biological Congress (V. Besendorfer i N. Kopjar, uredice). Hrvatsko biološko društvo 1885. Zagreb. 254-255.

GOERLITZ, D., J. URBÁN R., L. ROJAS-BRACHO, M. BELSON, C. SCHAEFF (2003.): Mitochondrial DNA variation among Eastern North Pacific Gray Whales (*Eschrichtius robustus*) on winter breeding grounds in Baja California. Canadian Journal of Zoology 81: 1965-1972.

GOMERCIC, H., M. CURAS, H. LUCIC, T. GOMERCIC, C. HUBER, D. CKRTIC, S. CURKOVIC, A. GALOV, S. VUKOVIC (2002.): Cetacean mortality in Croatian part of the Adriatic Sea in period from 1990 till February 2002. 9<sup>th</sup> International Congress on the Zoogeography and Ecology of the Greece and adjacent regions Abstracts. The Hellenic Zoological Society. Thessaloniki. 42.

GOMERČIĆ, H., M. DALEBOUT, A. GALOV, M. ĐURAS GOMERČIĆ, T. GOMERČIĆ, H. LUCIĆ, D. ŠKRTIĆ, S. ČURKOVIĆ, S. VUKOVIĆ, Đ. HUBER (2003.): Krupnozubi dupin (*Ziphius cavirostris*) prvi puta nađen u hrvatskom Jadranu. First record of the Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) in the Croatian part of the Adriatic Sea. U: Zbornik sažetaka Osmog hrvatskog biološkog kongresa - Proceedings of Abstracts of Eighth Croatian Biological Congress (V. Besendorfer, N. Kopjar, uredice). Hrvatsko biološko društvo 1885. Zagreb, str. 252-253.

GOMERČIĆ, T., M. ĐURAS GOMERČIĆ, H. GOMERČIĆ, D. ŠKRTIĆ, S. ČURKOVIĆ, H. LUCIĆ, A. GALOV, S. VUKOVIĆ, Đ. HUBER (2004.): Vrste, brojnost i rasprostranjenost morskih sisavaca u hrvatskom dijelu Jadranskog mora. U: Zbornik radova 1. hrvatsko-slovenski simpozij o egzotičnim i divljim životinjama, 25.-27. studenog, Zagreb, Hrvatska, str. 16-17.

HALL, T. A. (1999.): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41, 95-98.

HATCH, L. T., R. G. HARRISON (2005.): Phylogenetic relationships among the baleenwhales based on maternally and paternally inherited characters. Neobjavljeno.

KUMAR, S., K. TAMURA, M. NEI (2004.): MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. Briefings in Bioinformatics 5: 150-163.

- MAURIĆ, M., L. PAĐEN (2005.): Filogenetska analiza iz reda zvijeri usporedbom kontrolnih regija mitohondrijske DNA. Studentski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
- PALOMARES, F., J. A. GODOY, A. PIRIZ, S. J. O'BRIEN, W. E. JOHNSON (2002.): Faecal genetic analysis to determine the presence and distribution of elusive carnivores: design and feasibility for Iberian lynx. *Molecular ecology* 11, 2171–2182.
- PARSONS, K.M., J.F. DALLAS, D.E. CLARIDGE, J.W. DURBAN, K.C. BALCOMB III., P.M. THOMPSON, L.R. NOBLE (1999.): Amplifying dolphin mitochondrial DNA from faecal plumes. *Mol. Ecol.* 8 (10), 1766-1768.
- PICHLER, F. B., U. D. ROBINEA, R. N. GOODALL, M. A. MEYER, C. OLIVARRIA, C. S. BAKER (2001.): Origin and radiation of Southern Hemisphere coastal dolphins (genus *Cephalorhynchus*). *Mol. Ecol.* 10, 2215-2223.
- SIEMANN, L. A. (1994.): Mitochondrial DNA sequence variation in North Atlantic longfinned pilot whales, *Globicephala melas*. Master of science thesis. Biology, Woods Hole Oceanographic Institution.
- TABERLET, P. (1996.): The use mitochondrial DNA control region sequencing in conservation genetics. U: *Molecular genetics approaches in conservation* (T. B. Smith, R. K. Wayne, urednici). Oxford University press. New York, Oxford, 125-142.
- TOMAŠKOVIĆ, I. (2002.): Mitohondrijska DNA i mikrosateliti kao genski biljezi u istraživanjima populacije vrste crvenokljuna galica. Magistarski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
- WALTON, M. J. (1997.): Population structure of harbour porpoises *Phocoena phocoena* in the seas around the UK and adjacent waters. *Proc. Biol. Sci.* 264, 89-94.
- WHITE, P. S. O. L. TATUM, H. TEGELSTROM, L. D. DENSMORE III (1998.): Mitochondrial DNA isolation, separation and detection of fragments. U: *Molecular genetics analysis of population* (A. R. Hoelzel, urednik). Oxford University press. New York, 65-101.
- ZHANG, D. X., G. M. HEWITT (1996.): Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. *Trends in ecology and evolution* 11, 247-251.

# Phylogenetic analysis of Cetacea comparing the control region of the mitochondrial DNA

**Andreja Janžek i Tihana Ivanišević**

Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

---

**Janžek, A., T. Ivanišević: Phylogenetic analysis of Cetacea comparing the control region of the mitochondrial DNA.**

## **ABSTRACT**

The objectives of this study were to quantify the evolutionary relationship of cetacean species using control region of mitochondrial DNA sequence variation. In the analysis we compared 20 control regions of different animals who live in Croatian part of the Adriatic Sea; 3 fin whale (*Balaenoptera physalus*), 4 blue whale (*Balaenoptera musculus*), 2 sperm whale (*Physeter catodon*), 2 long-finned pilot whale (*Globicephala melas*), 1 striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), 3 bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*), 3 harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) i 2 Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*). We took these sequences from gene database on Internet ([www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/)) and with computer programs compared control regions, describe patterns and made phylogenetic tree. The tree showed a typically classic systematic of species. In the future, using this specific locus is possible to design primers for PCR reactions, so we can distinguish different cetacean species in Croatian part of the Adriatic Sea.

**Key words:** mitochondrial DNA, phylogenetic tree, whales, Adriatic sea, Cetacean