



УДК 575.174.015.3 (594.32)

Эволюционные взаимоотношения между близкородственными видами эндемичных гастропод рода *Baicalia* (Mollusca, Caenogastropoda)

Т. Е. Перетолчина¹, Т. Я. Ситникова¹, Д. Ю. Щербаков^{1,2}

¹Лимнологический институт СО РАН, Иркутск,

²Иркутский государственный университет, Иркутск

E-mail: tanya@lin.irk.ru

Аннотация. Исследован генетический полиморфизм у представителей всех видов рода *Baicalia* на основе сравнения 196 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена, кодирующего первую субъединицу цитохром *c* оксидазы (mtCO1). На основе анализа простирающегося древа установлено, что вид *Baicalia carinata* занимает центральное положение и является предковым для всех остальных видов рода *Baicalia*. Восточная популяция дала начало подвиду *B. c. rugosa* и виду *B. turriiformis*. Юго-Западная популяция дала начало видам *B. carinatocostata* и *B. dybowskiana*.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, фрагмент гена CO1, мтДНК, моллюски, род *Baicalia*.

Введение

Род *Baicalia* насчитывает четыре вида с подвидами и относится к эндемичному семейству брюхоногих моллюсков Baicaliidae, населяющему озеро Байкал. Для представителей рода *Baicalia*, характерно большое разнообразие форм и скульптуры раковин. Из всех видов этого рода наиболее изменчивым оказался вид *Baicalia carinata* W. Dyb., 1875, который, в то же время, является одним из наиболее широко распространенных в озере. Представители этого вида обитают как в открытых частях Байкала, так и в бухтах на глубинах от 5 до 100 м, и населяют песчаные или песчано-илистые грунты. Из всех ранее описанных внутривидовых форм *B. carinata* [4] ранг подвида сохранился только для одной – *Baicalia carinata rugosa* Linsh., 1909, отличающейся от других наличием слабо выраженных поперечных складок на раковине. Остальные виды рода *Baicalia* не так широко распространены, к ним относится вид *Baicalia carinatocostata* W. Dyb., 1875 Обитает в Байкале на глубине от 4 до 100 метров, на песчаных и илистых грунтах. Часто встречается совместно с *B. carinata* [1; 10]. Вид *Baicalia dybowskiana* Lindh., 1909, обитает на песчаных и песчано-илистых грунтах [1; 10]. Вид *Baicalia turriiformis* W. Dyb., 1875, живет на стенках валунов и выходах скальных пород.

Описанные выше особенности байкалий делают их исключительно интересным объектом исследования микроэволюционных про-

цессов. В этом качестве байкалии обладают рядом преимуществ даже по сравнению с цикловыми рыбами Великих африканских озер, которые относятся к наиболее популярным объектам для исследования моделей микроэволюции. Каринаты также принадлежат к букету видов, населяют почти непрерывную зону по периметру озера Байкал, образуя систему популяций, которые в первом приближении можно считать одномерными, но, в отличие от рыб, моллюски никогда не отрываются от дна, что очень сильно ограничивает их латеральную относительно шельфа миграцию.

Биологическая и экологическая изученность этих моллюсков, а также их широкое распространение и низкая скорость перемещения по периметру водоема, дают уникальную возможность для изучения сценариев видообразования в оз. Байкал.

Настоящая работа посвящена систематическому исследованию генетического разнообразия всех видов рода *Baicalia* по всему периметру оз. Байкал с помощью сравнения нуклеотидных последовательностей двух локусов, одного – ядерного, и одного – митохондриального, и изучению филогенетических взаимоотношений между *B. carinata* и его близкородственными видами рода *Baicalia*.

Материалы и методы

Сбор моллюсков осуществлялся с помощью драги в 30 точках акватории Байкала на глубине 10–40 м. (рис. 1). Сразу после разбора бен-

тосной пробы, моллюсков фиксировали 80%-ным этиловым спиртом, через сутки меняли его на 70%-ный, в котором хранили до экстракции ДНК.



Рис. 1. Карта-схема районов сбора представителей рода *Baicalia*

Геномную ДНК экстрагировали из мышц ноги моллюска по модифицированному методу Дойла и Диксона [3] и методу Соколова [11].

В качестве молекулярно-филогенетического маркера использовали фрагмент гена, кодирующего первую субъединицу цитохром-с-оксидазы (CO1) мтДНК.

Аmplification фрагмента гена CO1 проводили методом ПЦР с помощью пары универсальных для беспозвоночных праймеров [2].

L1490: 5' - GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG - 3'
H2198: 5' - TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA - 3'

Параметры при 35 циклах амплификации были следующими: денатурация при 94 °C – 60 с (5 минут на первом цикле), отжиг при 50 °C – 70 с, элонгация цепи при 72 °C – 90 с (5 минут на последнем цикле).

Продукты реакции анализировали электрофоретически в 1%-ном агарозном геле. Полосу ожидаемого размера вырезали и очищали согласно [7].

Определение нуклеотидных последовательностей (секвенирование) продуктов амплификации проводилось на автоматическом секвенаторе модели 373A (Applied Biosystem Inc., США) с набором реактивов «Thermo Sequenase II dye terminator cycle sequencing kit» фирмы «Amersham pharmacia biotech», а также

на автоматическом секвенаторе SEQ 8800 (Beckman Coulter Inc., Германия) с набором реактивов «Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit» фирмы «Beckman Coulter», при помощи тех же праймеров.

Условия секвенирующей при 30 циклах амплификации включали следующие параметры: денатурация при 94 °C – 20 с, отжиг при 50 °C – 20 с, элонгация при 60 °C – 4 мин. Первичную обработку расшифрованных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit ver.5.0.9 [5].

Анализ генетических расстояний между нуклеотидными последовательностями проводили по двухпараметровой модели Кимуры [6] с помощью программы DNADist из пакета программ Phylip. Для изучения пространственной структуры и филогенетических взаимоотношений строили простирающиеся деревья методом максимальной экономии, с помощью программы NetWork филогенетические деревья методом максимального правдоподобия с помощью программы Phyml, для оценки генетических дистанций при этом использовали двухпараметрическую модель Кимуры [6].

Результаты и обсуждение

Нуклеотидные последовательности фрагмента митохондриального гена CO1 длиной 588 пн определены для 125 представителей *B. carinata*, собранных из 30 районов озера Байкал (номера доступа в GenBank: DQ436347 – DQ436441), для 10 представителей *B. carinata rugosa*, для 25 представителей близкородственного вида *B. carinatocostata*, для 15 представителей вида *B. turriiformis* и для 11 представителей вида *B. dybowskiana*.

Исследование пространственно генетической структуры видов рода *Baicalia* проводили с помощью простирающихся деревьев, построенных по фрагменту гена CO1 мтДНК методом максимальной экономии (Maximum Parsimony, MP). На простирающемся древе (рис. 2) видно, что все исследованные улитки *B. carinata* формируют две группы, связанные между собой одной веткой. Группы на древе соответствуют двум большим географическим ареалам: восточный берег Байкала (от губы Ая до Танхой) и западный берег, включая весь Южный Байкал (от Муринской Банки до о. Ярки), которые мы назвали Восточной и Юго-Западной популяциями соответственно. Северная граница между популяциями проходит в районе дельты р. Верхняя Ангара, южная – между п. Танхой и Муринской банкой на Юго-Восточном берегу

Байкала. На древе также хорошо видно, что все близкородственные виды образуются в его разных частях от вида *B. carinata* и формируют самостоятельные, четко различимые группы. То же касается и *B. carinata rugosa*, таксономический статус которого в настоящее время не ясен. Таким образом, исследование генетических взаимоотношений гаплотипов рода *Baicalia* на основе минимального простирающегося древа, построенного методом максимальной экономии, показало, что вид *B. carinata* занимает центральное положение и является предковым для видов *B. carinatocostata*, *B. turriiformis*, *B. dybowskiana* и подвида *B. c. rugosa*.

Анализ генетического разнообразия рода *Baicalia* по фрагменту CO1 мтДНК позволил обнаружить параллельное видообразование, которое определяется экологическими условиями. Восточная популяция дала начало *B. c. rugosa*, который как и *B. carinata* живет на песках, но прикрепляет яйца к камням, и виду *B. turriiformis*, населяющему скалы и валуны. Юго-Западная популяция дала начало виду *B. dybowskiana*, обитающему на песках и мигрирующему в период размножения на каменистые грунты и виду *B. carinatocostata*, который обитает и размножается на песчаных грунтах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, № 08-04-98046-р_сибирь_a.

Литература

1. Жадин В. И. Моллюски пресных вод СССР / В. И. Жадин. – М. : Изд-во Академии наук СССР, 1952. – 384 с.
2. DNA primer for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates / O. Folmer [et al.] // *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. – 1994. – Vol. 3. – P. 294–299.
3. Doyle J. J. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis / J. J. Doyle, E. Dickson // *Taxon*. – 1987. – Vol. 36. – P. 715–722.
4. Dybowski B. Beiträge zur Kenntnis der Baikalmollusken / B. Dybowski, J. Grochmalicki // *Buchdruckerei der keiserlichen Academie der Wissenschaften*. Petrograd. – 1914. – Vol. 19, №. 2. – P. 286–322.
5. Hall T. A. Bio Edit Sequence Alignment Editor. Version 5.0.9. / T. A. Hall. – Department of Microbiology. North Carolina State University, 1999.
6. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences / M. Kimura // *Journal Mol. Evol.* – 1980. – Vol. 16. – P. 111–20.
7. Maniatis T. *Molecular Cloning: a laboratory manual* / T. Maniatis, E. F. Fritch, J. Sambrook. – New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982. – 545 p.

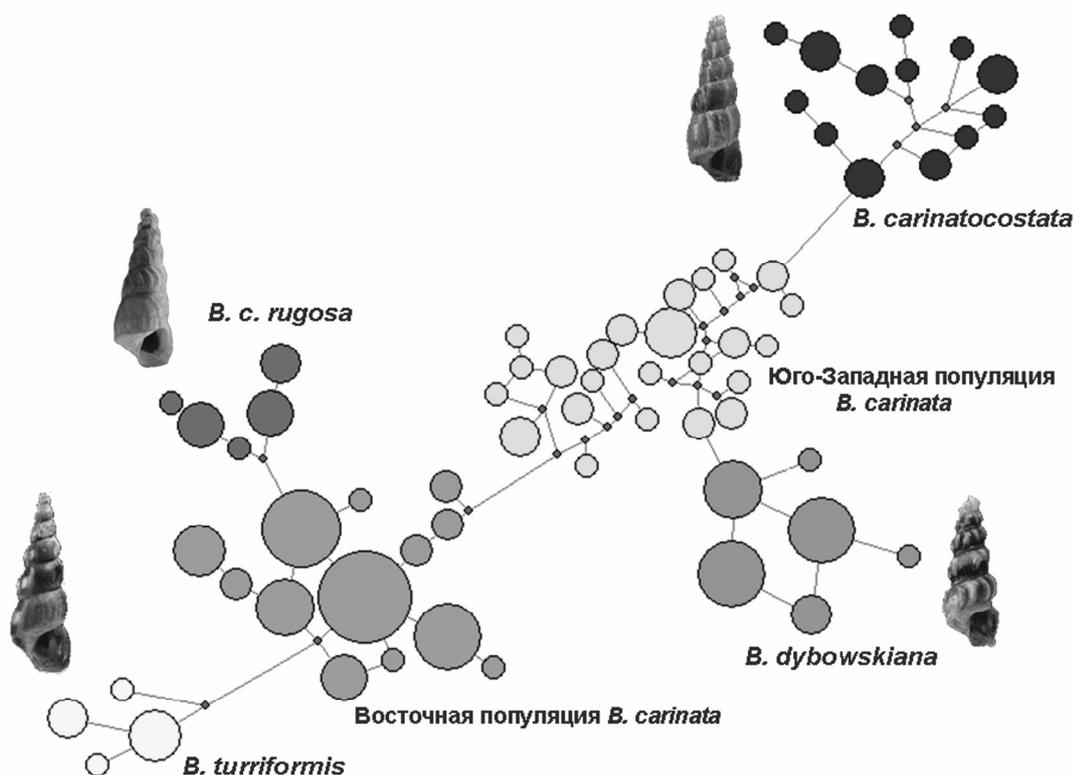


Рис. 2. Простирающееся древо, построенное на основе фрагмента гена CO1 мтДНК методом максимальной экономии для всех видов рода *Baicalia*

8. Nazar R. N. Nucleotide sequence of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ribosomal 5,8s ribonucleic acid / R. N. Nazar, K. L. Roy // J. Biol. Chem. – 1978. – Vol. 153. – P. 395–399.

9. Salim M. Nucleotide sequence of *Xenopus laevis* 18S ribosomal RNA inferred of gene sequence / M. Salim, B. E. Maden // Nature (London). – 1981. – Vol. 291. – P. 205–208.

10. Sitnikova T. Ya. Reproduction, duration of embryogenesis, egg capsules and protoconchs of gas-

tropods of the familia Baicaliidae (Caenogastropoda) endemic to Lake Baikal / T. Ya. Sitnikova, P. Roepstorff, F. Riedel // Malacologia. – 2001. – Vol. 43, №. 1. – P. 59–85.

11. Sokolov E. P. An improved method for DNA isolation from mucopolysacchride-rich molluscan tissues / E. P. Sokolov // J. Moll. Stud. – 2000. – Vol. 66. – P. 573–575.

Evolution relationships between closely related endemic gastropod species of genus *Baicalia* (Mollusca, Caenogastropoda)

T. E. Peretolchina¹, T. Ya. Sitnikova¹, D. Yu. Sherbakov^{1,2}

¹Institute of Limnology, Irkutsk

²Irkutsk State University, Irkutsk

Abstract. Genetic polymorphism for all representatives of genus *Baicalia* was studied on basis of 196 nucleotide sequences alignment of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit 1 (mtCO1). Analysis of minimum spanning tree suggests that *B. carinata* is ancestral species for rest species of genus *Baicalia*. *B. c. rugosa*, and *B. turiformis* descend from East Population *B. carinatocostata* and *B. dybowskiana* descend from South-West Population of *B. carinata* species.

Key words: genetic polymorphism, partial CO1, mtDNA, mollusk, genus *Baicalia*.

Перетолчина Татьяна Евгеньевна
Лимнологический институт СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278
кандидат биологических наук,
научный сотрудник лаборатории геносистематики
тел. (395 2) 42–29–23, факс (395 2) 42–54–05
E-mail: tanya@lin.irk.ru

Peretolchina Tatyana Evgenyevna
Institute of Limnology SB RAS
664033, Irkutsk, 3, Ulan-Batorskaya St.
Ph. D. in Biology, research scientist,
Laboratory of Gene Systematics
phone: 42-65-04, fax: 42-54-05
E-mail: tanya@lin.irk.ru

Ситникова Татьяна Яковлевна
Лимнологический институт СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
доктор биологических наук
старший научный сотрудник лаборатории биологии
водных беспозвоночных
тел. (395 2) 42–82–18, факс (395 2) 42–54–05
E-mail: sit@lin.irk.ru

Sitnikova Tatiana Yakovlevna
Institute of Limnology SB RAS
664033, Irkutsk, 3, Ulan-Batorskaya St.
D. Sc. in Biology, Head of Laboratory of Biology
of Water Invertebrates
phone: (395 2) 42-82-18, fax: (395 2) 42-54-05
E-mail: sit@lin.irk.ru

Щербаков Дмитрий Юрьевич
Лимнологический институт СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278
доктор биологических наук
зав. лабораторией геносистематики
тел. (395 2) 42–29–23, факс (395 2) 42–54–05
E-mail: sherb@lin.irk.ru

Sherbakov Dmitriy Yurievitch
Institute of Limnology SB RAS
664033, Irkutsk, 3, Ulan-Batorskaya St.
D. Sc. in Biology, Head of Laboratory of Gene Systematics
phone: (395 2) 42-29-23, fax: (395 2) 42-54-05
E-mail: sherb@lin.irk.ru