

© М. В. Коваленкова¹,
Т. Я. Ситникова¹,
Д. Ю. Щербаков^{1,2}

УДК 575.8+594.32

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИВЕРСИФИКАЦИИ ГАСТРОПОД СЕМЕЙСТВА BAICALIIDAE

¹Лимнологический институт
Сибирского отделения
Российской академии наук
(ЛИН СО РАН), Иркутск;

²Биолого-почвенный факультет
Иркутского государственного
университета

✿ На основании сравнения нуклеотидных последовательностей интрона гена α -субъединицы АТФ-синтазы из 11 видов гастропод, принадлежащих к быстро эволюционирующему байкальскому эндемичному семейству Baicaliidae, морфологических описаний этих видов и ранее опубликованных последовательностей митохондриального гена, кодирующего первую субъединицу цитохром с-оксидазы построено филогенетическое древо, объединяющее все признаки. Филогения, основанная на последовательностях интрона, хорошо соответствует морфологическим представлениям. Показано, что сестринские виды обычно имеют сходные субстратные предпочтения. Некоторое несоответствие топологии полученного древа с систематикой основанной на морфологических признаках, вероятно, связано с быстрой морфологической эволюцией моллюсков сем. Baicaliidae.

✿ **Ключевые слова:** интрон; филогенетический анализ; Baicaliidae.

ВВЕДЕНИЕ

Эндемичное семейство брюхоногих переднежаберных моллюсков Baicaliidae (Fischer, 1885) — самое многочисленное в видовом отношении семейство моллюсков оз. Байкал. В настоящее время известен 41 вид, принадлежащий к этому семейству из немногим более 110 эндемичных видов байкальских моллюсков (Ситникова, 2004). На данный момент семейство Baicaliidae подразделяется на восемь родов, семь из которых ранее относили к единственному роду *Baicalia*, кроме сильно отличающегося морфологически рода *Liobaicalia* (Кожов, 1936).

Механизмы формирования такой разнообразной в морфологическом плане группы остаются во многом непонятными, и их исследование может оказаться важным для эволюционной теории в целом (Michel, 1994; Martens, 1997; Shcherbakov, 1999). Систематика байкалий основана на морфологических признаках и анатомии репродуктивной системы и неоднократно пересматривалась на протяжении более чем столетней истории изучения семейства (Ситникова, 2004). Этой группе посвящено несколько молекулярно-филогенетических исследований, относящихся к различным уровням их эволюционных взаимосвязей с другими моллюсками (Дарикова, Щербаков, 2009; Зубаков и др., 1997; Перетолчина и др., 2007; Hausdorf et al., 2001), однако движущие силы видовой радиации внутри этого очень быстро эволюционирующего семейства до сих пор остаются во многом неясными. Одной из важных причин возникших сложностей, очевидно, является очень высокая скорость эволюции байкалий. Действительно, первые же результаты сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохром с-оксидазы (CO1) разных представителей сем. Baicaliidae заставили сделать предположение о взрывном видообразовании, приведшем к формированию «букета» видов (Зубаков и др., 1997), начавшемся не более 3,5 миллионов лет назад.

Несмотря на молодость современных видов байкалий, их эволюционная дистанция до ближайших групп гастропод оказалась очень велика. На основании сравнения последовательностей митохондриальных генов 12S рРНК, 16S рРНК и фрагмента гена CO1 ряда представителей суперсемейства Rissoidea и представителей трех видов байкалий показано, что байкалии отделились от их общего с Bithyniidae и Amnicolidae предка около 140 млн лет назад (Hausdorf et al., 2001).

Детальное исследование генетического полиморфизма нескольких видов рода *Baicalia* показало, что видообразование в этой группе происходило довольно быстро, виды этого рода достаточно молоды и размах внутривидового полиморфизма часто сравним с генетическими расстояниями между представителями хорошо морфологически и экологически различающихся видов (Перетолчина и др., 2007).

Поскольку митохондриальные маркеры отражают эволюционную судьбу митохондриального генома, которая может существенно отличаться от эволюционной истории соответствующих видов, большое распростране-

Поступила в редакцию 23.01.2013
Принята к публикации 17.09.2013

Таблица 1

Места сбора моллюсков сем. *Baicaliidae* и номера нуклеотидных последовательностей интронов, полученные в данном исследовании

Вид	Место сбора	№ последовательности интрона гена α -субъединицы АТФ-синтазы в Genbank
<i>Baicalia carinata 1</i>	г. Семисосенная	KF201695
<i>Baicalia carinata 2</i>	б. Якшакан	KF201696
<i>Baicalia rugosa</i>	г. Семисосенная	KF201697
<i>Godlewskia wrzesniowski</i>	пр. Ольхонские ворота	KF201707
<i>Korotnewia angigyra</i>	Баргузинский залив	KF201706
<i>Korotnewia semenkewitschi</i>	Баргузинский залив	KF201705
<i>Maackia herderiana</i>	п. Большие Коты	KF201699
<i>Parabaikalia kobeltiana</i>	м. Боро-Елга	KF201701
<i>Parabaikalia elata</i>	б.Песчанная	KF201704
<i>Parabaikalia florii</i>	м. Боро-Елга	KF201702
<i>Pseudobaikalia pulla tenuicosta</i>	пр. Ольхонские ворота	KF201700
<i>Teratobaikalia duthiersii</i>	п. Култук	KF201709

ние приобретают ядерные некодирующие (интронные) EPIС-маркеры (exon-primed intron-crossing), скорость эволюции которых может быть сравнима с таковой для митохондриальных маркеров (Feher et al., 2012).

Ранее нами была предпринята попытка использования последовательности интрона ядерного гена фосфофруктокиназы для установления межродовых отношений байкалий. Отмечена достаточно высокая «разрешающая способность» интронного маркера, древо построенное по данной последовательности для представителей семи видов байкалий по топологии соответствовало древу, полученному по последовательности фрагмента гена *COI*, но оба они содержали политомии (Дарикова, Щербаков, 2009).

Таким образом, к настоящему времени накопился довольно большой объем информации не только по сравнению видов байкалий по морфологическим и анатомическим признакам, но и по генетическому полиморфизму различных маркеров как митохондриальных, так и ядерных. С увеличением массива разнородных сведений о байкалиях возникает возможность синтеза всей этой информации для получения максимально полной картины эволюции в рамках этого семейства.

В настоящей работе на основании сравнения полиморфизма последовательностей интрона α -субъединицы АТФ-синтазы, ранее опубликованных нуклеотидных последовательностей митохондриальных генов, а также морфологических описаний соответствующих видов, сделана первая попытка получения филогенетического древа байкалий, объединяющего все признаки, основанная на едином байесовском подходе (Rieppel, 2005; Ronquist et al., 2012).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор и фиксация образцов

Образцы одиннадцати видов моллюсков сем. *Baicaliidae* были собраны в летний период 2009 г. с помощью водолазов или драги с глубин 5–90 м в разных районах оз. Байкал (табл. 1, рис. 1). Пробы фиксировали 80 %-м этиловым спиртом, через сутки фиксатор заменяли на 70 %-й спирт.

Экстракция ДНК

ДНК экстрагировали по модифицированному методу Дойла (Doyle, Doyle, 1987) из кусочка мышечной ткани ноги моллюска.



Рис. 1. Карта-схема районов сбора проб

Таблица 2

Морфологические признаки моллюсков сем. Baicaliidae, использованные в филогенетическом анализе

Признак	Состояния признака
1. Скульптура телеоконха	0 — всегда гладкая, 1 — периостракальные волоски; 2 — периостракальные волоски на ребрах, 3 — ребра, 4 — валики
2. Форма телеоконха	0 — широко-коническая, 1 — узко-коническая, 2 — веретеновидная, 3 — высоко-коническая, 4 — кубаревидная;
3. Наличие подшовного канта	0 — отсутствует, 1 — присутствует
4. Форма протоконха	0 — конический, 1 — шаровидный, 2 — высокий
5. Скульптура протоконха	0 — отсутствует, 1 — слабовыражена, 2 — хорошо заметна
6. Форма устья	0 — овальное, без уголков, 1 — с уголком внизу, 2 — округлое, 3 — неправильно-четухугольное
7. Отношение высоты завитка к высоте устья	0 — больше в 2–3 раза, 1 — больше приблизительно в 4 раза, 2 — больше в 5 раз
8. Форма крышечки	0 — погруженная, 1 — непогруженная
9. Расположение семяприемников	0 — отдельно, 1 — в «пучке»
10. Размер петли ренального гонодукта	0 — маленькая, 1 — средняя, 2 — большая
11. Ширина петли ренального гонодукта	0 — средняя, 1 — узкая, 2 — широкая

Амплификация и определение нуклеотидных последовательностей

Амплификацию фрагмента ядерного гена α-субъединицы АТФ-синтазы проводили с использованием универсальных праймеров, фланкирующих единственный интрон этого гена (Jarman et al., 2002). Праймеры имеют следующую структуру:

ATPSa F:

5'-GAGCCMATGCAGACTGGTATTAAGGCYGT-3'

ATPSa R:

5'-TTGAANCKCTTCTGGTTGATGATGGTGTC-3',

где R — G/A; K — G/T; Y — C/T; M — C/A; D — A/G/T; H — A/C/T; N — любой нуклеотид (по номенклатуре IUPAC).

Параметры при 35 циклах амплификации были следующими: преденатурация ДНК при 94 °C — 2 мин, денатурация ДНК при 94 °C — 20 с, отжиг праймеров при 54 °C — 1 мин, элонгация нуклеотидной цепи при 72 °C — 1 мин (+5 минут на последнем цикле).

Секвенирование продуктов амплификации проводилось в ЗАО «Синтол» (г. Москва).

Выравнивание нуклеотидных последовательностей с учетом вторичной структуры проводили с помощью программы Mafft v.6 (Katoh et al., 2009).

Для установления возможных рекомбинантных событий использовали методы, представленные в программе RDP 3 (RDP, GENECONV, Bootscan, Chimera, SciScan) (Martin et al., 2010).

Филогенетический анализ

Весь набор данных был разбит на 5 групп: интронная последовательность, каждое положение кодона митохондриального гена COI отдельно и морфологические признаки.

Морфологические признаки (табл. 2, 3) превращали в наборы бинарных признаков с помощью программы Factor из пакета программ Phylip-3.69 (Felsenstein, 1989) с учетом гипотез о вероятных изменениях этих признаков (Кожов, 1936; Ситникова, 1991; Sitnikova et al., 2001).

Таблица 3

Состояния морфологических признаков моллюсков сем. Baicaliidae, использованные в филогенетическом анализе

Видовое название	Номер признака										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Baicalia carinata</i>	0	1	1	3	1	3	2	0	0	1	0
<i>Baicalia rugosa</i>	4	1	1	3	1	3	2	0	0	1	0
<i>Baicalia dybowskiana</i>	3	1	1	3	1	3	2	0	0	1	0
<i>Godlewskia wrzesniowski</i>	3	2	0	3	0	2	2	0	0	0	2
<i>Korotnewia angigyra</i>	1	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0
<i>Korotnewia semenkewitschi</i>	1	3	0	2	1	0	1	0	0	0	0
<i>Maackia herderiana</i>	3	3	0	0	1	1	0	0	0	1	0
<i>Parabaikalia elata</i>	0	3	0	2	0	0	1	0	0	0	0
<i>Parabaikalia florii</i>	0	0	0	2	1	0	1	0	1	0	0
<i>Parabaikalia kobeltiana</i>	1	0	0	2	1	0	1	0	1	0	0
<i>Pseudobaikalia pulla tenuicosta</i>	4	3	0	0	0	0	0	1	0	1	0
<i>Teratobaikalia duthiersii</i>	2	4	0	1	2	2	0	0	0	2	1

Таблица 4

Данные о длине и мутациях интрона α -субъединицы АТФ-синтазы моллюсков сем. *Baicaliidae*. Индели учитываются относительно видов *Baicalia carinata*, *Baicalia rugosa*, *Godlewskia wrzesniowski* и *Parabaikalia florii*

Вид	Длина интрона (п. н.)	Количество инделей	Протяженность инделей (п. н.)
<i>Baicalia carinata</i>	523	—	—
<i>Baicalia rugosa</i>	523	—	—
<i>Godlewskia wrzesniowski</i>	523	—	—
<i>Korotnewia angigyra</i>	524	1 инсерция*	1
<i>Korotnewia semenkewitschi</i>	511	1 делеция	12
<i>Maackia herderiana</i>	509	4 делеции	3, 2, 9, 1
<i>Parabaikalia kobeltiana</i>	514	2 делеции	8, 1
<i>Parabaikalia elata</i>	524	1 инсерция*	1
<i>Parabaikalia florii</i>	523	—	—
<i>Pseudobaikalia pulla tenuicosta</i>	520	3 делеции	1, 1, 2
<i>Teratobaikalia duthiersii</i>	509	3 делеции, 1 инсерция	7, 1, 7 1

* — данная инсерция, вероятнее всего, является общей для видов *Korotnewia angigyra* и *Parabaikalia elata*

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена CO1 байкалий соответствующих видов с номерами AF445328.1, FN185835.1, FN185867.1, HM543405.1, HQ113296.1, Z92998.1, Z93000.1, Z93002.2, Z93003.2, Z93005.2 были взяты из базы данных NCBI, за исключением вида *Korotnewia angigyra*, для которого данная информация отсутствует.

Филогенетические древа были построены байесовским методом с помощью программы MrBayes 3.2.1 (Ronquist et al., 2012). Для байесовского анализа нуклеотидных данных была выбрана модель нуклеотидных замен GTR + gamma.

Для построения каждого из древ запускались 1 «холодная» и 3 «горячих» марковских цепи длиной 5 млн шагов, для построения финального древа отбиралось каждое тысячное сгенерированное древо, первые 25 % древ не учитывались.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ нуклеотидных последовательностей

Определены нуклеотидные последовательности интрона α -субъединицы АТФ-синтазы для представителей одиннадцати видов из семи родов эндемичных байкальских моллюсков сем. *Baicaliidae*. Полученные последовательности экспонированы в Genbank с номерами KF201695-KF201709.

Длина этого интрона варьирует от 509 до 524 н.п. у моллюсков разных видов благодаря многочисленным, но не протяженным вставкам и делециям (табл. 4).

Короткие (1–2 н.п.) индели чаще всего связаны с мононуклеотидными трактами длиной около 5 н.п. В нашем случае четыре из пяти более крупных делеций (от 5 нуклеотидов) связаны с потерей одного из повторов в tandemно повторенных минисателлитных или минисателлит-подобных последовательностях.

Блоки, содержащие индели, были исключены из последующего филогенетического анализа, в результате длина анализируемых последовательностей составила 482 н.п., 40 из которых были вариабельными. Количество трансверсий в данном интроне на 30 % выше количества транзиций.

Филогенетический анализ

Для всех молекулярных данных использовалась модель нуклеотидных замен GTR + gamma (значение gamma определялось независимо для каждого из четырех наборов нуклеотидных данных); для морфологических признаков — броуновская модель (Brown, Lemmon, 2007).

Древо полученное на основании только интронной последовательности является более разрешенным, по сравнению с ранее полученным древом по фрагменту гена CO1, несмотря на две политомии (Зубаков и др., 1997).

Представители части родов формируют отдельные клады, однако представители родов *Godlewskia*, *Co-*

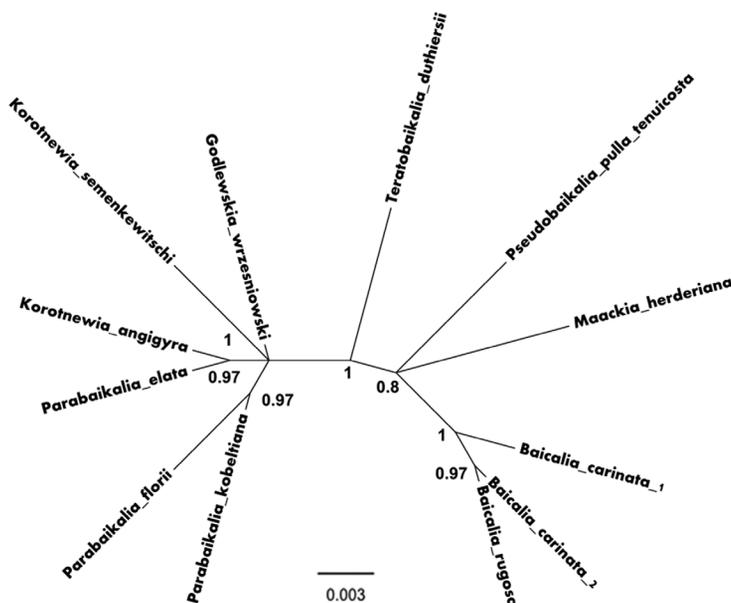


Рис. 2. Филогенетическое древо построенное байесовским методом на основании нуклеотидных последовательностей интрона α -субъединицы АТФ-синтазы моллюсков семейства Baicaliidae. *Baicalia carinata_1* — образец из юго-западной популяции (г. Семисосенная); *Baicalia carinata_2* — образец из восточной популяции (б. Якшакан)

rotnewia и *Parabaikalia* объединяются в общую кладу (рис. 2). Минимальное генетическое расстояние (0,2% нуклеотидных замен) — между представителями сестринских видов *Baicalia carinata* и *Baicalia rugosa*, максимальное (3,5%) — между видами *Maackia herderiana* и *Parabaikalia florii*.

В результате объединения данных по нуклеотидным последовательностям фрагмента гена *CO1* и интро-

на α -субъединицы АТФ-синтазы, и морфологических признаков было получено дихотомическое филогенетическое древо представителей семи родов моллюсков сем. Baicaliidae (рис. 3).

Самые короткие длины ветвей отмечаются для пар сестринских видов: *Baicalia carinata* и *Baicalia rugosa*; *Parabaikalia kobeltiana* и *Parabaikalia florii*. Виды родов *Korotnewia*, *Parabaikalia* и *Pseudobaikalia* класте-

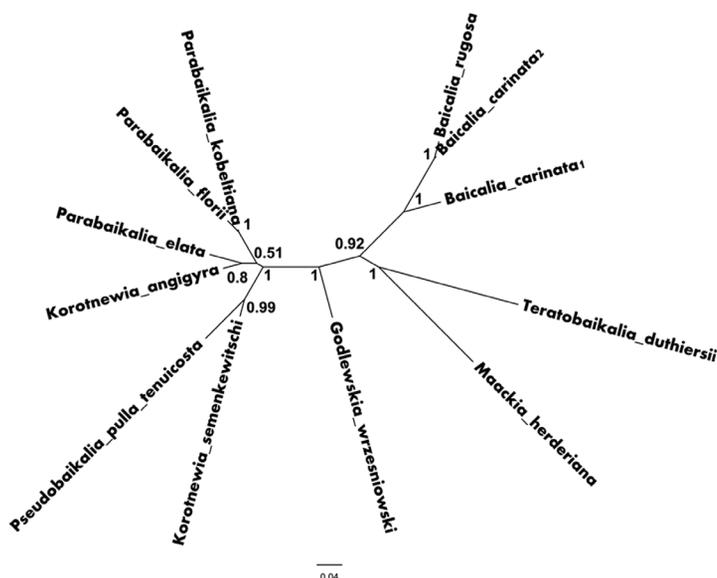


Рис. 3. Древо видов моллюсков сем. Baicaliidae, полученное с набором морфологических и известных нуклеотидных данных (интрон α -субъединицы АТФ-синтазы и фрагмент гена *CO1*). *Baicalia carinata1* — образец из юго-западной популяции (г. Семисосенная); *Baicalia carinata2* — образец из восточной популяции (б. Якшакан)

ризируются вместе. Представители остальных родов формируют отдельные клады.

ОБСУЖДЕНИЕ

Интрон α -субъединицы АТФ-синтазы, наряду с митохондриальными молекулярными маркерами, ранее уже использовался как филогенетический маркер в ряде исследований (Feher et al., 2012; Freya, Vermeij, 2008; Hedtke et al., 2011; Keever et al., 2009; Puritz et al., 2012; Teske et al., 2011).

Показано, что этот маркер применим для исследования популяционной структуры некоторых видов беспозвоночных (морских звезд и двустворчатых моллюсков). В частности, был отмечен высокий уровень гетерозиготности в популяциях морской звезды *Patiria miniata*, связанный главным образом с присутствием многочисленных коротких инделей, при относительно небольшом количестве нуклеотидных замен (Keever et al., 2009).

Также данный маркер успешно использовался на более высоком таксономическом уровне. При сравнении топологий древ, полученных по нуклеотидной последовательности данного интрона и древ, построенных по фрагментам митохондриальных генов (16S рРНК и CO1) для брюхоногих морских моллюсков рода *Nerita* незначительное несоответствие топологии полученных древ было отмечено лишь для комплекса вида *N. undata*, который, предположительно появился в начале плиоцена, около 4,3 млн лет назад, и является одной из самых «молодых» групп, из рассматриваемых в данной работе (Freya, Vermeij, 2008).

В интроне α -субъединицы АТФ-синтазы моллюсков сем. Baicaliidae отсутствуют протяженные индели (табл. 4), небольшие вариации длины чаще всего связаны с изменением числа повторов в микро- и минисателлит-подобных последовательностях.

Известно, что наличие инделей может повышать вероятность нуклеотидных замен в близлежащих регионах ДНК (на расстоянии до нескольких сотен нуклеотидных пар), преимущественно трансверсий в гетерозиготах, содержащих обе аллели, которыми представлена индель. Хотя большое значение имеет «региональный» эффект, то есть сайты более подверженные нуклеотидным заменам одновременно подвержены и инделям (McDonald, 2011). Несмотря на преобладание среди нуклеотидных замен трансверсий, можно отметить, что их распределение практически не связано с присутствием инделей, и накопление трансверсий главным образом происходит у видов морфологически более далеких родов.

Филогенетическое дерево построенное по последовательности интрона α -субъединицы АТФ-синтазы байкалий содержит меньше политомий по сравнению с деревом, полученным ранее по последовательности митохондриального гена CO1. Интронный маркер позволяет получить статистически достоверные клады не только на межвидовом таксономическом уровне, но и на популяционном уровне,

в частности для полиморфного вида *Baicalia carinata* (рис. 2). Ранее популяционная структура этого вида была установлена с использованием последовательности фрагмента митохондриального гена CO1, в то время как изменчивость внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS1) не отражала популяционной структуры. При этом показано, что восточная популяция вида *B. carinata* дала начало виду *B. rugosa*, причем по маркеру ITS1, в отличие от митохондриального маркера, генетические расстояния между видами *B. carinata* и *B. rugosa* были больше, чем генетические расстояния на уровне популяций *B. carinata* (Перетолчина и др., 2008).

Ранее на основании морфологических признаков вид *Baicalia carinata* также разделялся на два подвида, обитающие на разных: северо-восточном и юго-западном ареалах (Ситникова, 2004).

Полученное дерево по последовательности интрона α -субъединицы АТФ-синтазы главным образом соответствует морфологическим сведениям о рассматриваемых видах, за исключением положения вида *Godlewskia wrzesniowski*, который кластеризуется с родами *Korotnewia* и *Parabaikalia*, морфологически будучи сильно отличным от них.

В результате использования всех данных известных для представителей рассматриваемых видов сем. Baicaliidae было получено дихотомическое дерево (рис. 3), в отличие от крайне политомического дерева, полученного ранее по фрагменту гена цитохром-с-оксидазы (Sherbakov, 1999; Щербаков, 2003).

На полученном древе видов представители разных видов образуют статистически достоверные клады. Однако виды родов *Korotnewia*, *Parabaikalia* и *Pseudobaikalia* кластеризуются вместе, и если роды *Korotnewia* и *Parabaikalia* достаточно близки как экологически, так и морфологически, то положение вида *Pseudobaikalia pulla tenuicosta* оказалось достаточно неожиданным, т.к. род *Pseudobaikalia* имеет ряд морфологических признаков значительно отличающих его от других родов сем. Baicaliidae.

Однако ранее на основании данных по интронной последовательности ядерного гена фосфофруктокиназы было показано, что другой представитель рода *Pseudobaikalia* (*Pseudobaikalia zachwatkini*) и представитель вида *Korotnewia semenkewitschi* имеют генетическую дистанцию, сходную с межвидовыми дистанциями рода *Baikalia* (Дарикова, Щербаков, 2009).

На древе, построенном только по митохондриальному маркеру CO1, также очень короткой оказалась генетическая дистанция между видами *Korotnewia korotnewia gracilis* и *Parabaikalia elata* (Щербаков, 2003).

Интересно, что генетически близкими оказались виды со сходными биотопами: исследованные виды родов *Korotnewia*, *Parabaikalia* и *Pseudobaikalia* — зарываются в песок; *Teratobaikalia duthiersii* и *Maackia herderiana* чаще встречаются на каменистых грунтах; вид *Godlewskia wrzesniowski* предпочитает песчаные грунты, но редко за-

рывается; а виды рода *Baicalia* обитают как на песчаных, так и каменистых грунтах (Ситникова, 2004).

Несоответствия морфологических и молекулярных данных представляют большой интерес для дальнейших исследований. Возможно, такая топология полученного древа может быть связана с быстрой морфологической эволюцией родов *Korotnewia*, *Parabaikalina* и *Pseudobaikalina*.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы, соглашение № 8099, а также программы СО РАН «Виварии, коллекции клеточных культур, уникальных штаммов бактерий, микроорганизмов, коллекции растений»

ЛИТЕРАТУРА

1. Дарикова Ю. А., Щербаков Д. Ю. (2009) Эволюция интрона гена фосфофруктокиназы у брюхоногих моллюсков семейства *Baicaliidae*. *Молекулярная биология*. Т. 43 (5): С. 838–844.
2. Зубаков Д. Ю., Щербаков Д. Ю., Ситникова Т. Я. (1997) Анализ филогенетических взаимоотношений байкальских эндемичных моллюсков сем. *Baicaliidae* на основе нуклеотидных последовательностей фрагмента митохондриального гена *CO1*. *Молекулярная биология*. Т. 31 (6): С. 32–36.
3. Кожов М. М. (1936) Моллюски озера Байкал. В кн.: *Труды Байкальской лимнологической станции АН СССР*. М. 320 с.
4. Перетолчина Т. Е., Букин Ю. С., Ситникова Т. Я. и др. (2007) Генетическая дифференциация эндемичного байкальского моллюска *Baicalia carinata* (Mollusca, Caenogastropoda). *Генетика*. Т. 43 (12): С. 1667–1675.
5. Перетолчина Т. Е., Ситникова Т. Я., Щербаков Д. Ю. (2008) Эволюционные взаимоотношения между близкородственными видами эндемичных гастропод рода *Baicalia* (Mollusca, Caenogastropoda). *Известия Иркутского государственного университета, Серия «Биология. Экология»*. Т. 1 (2): С. 67–70.
6. Ситникова Т. Я. (1991) Новая структура байкальского эндемичного семейства *Baicaliidae* (Mollusca, Gastropoda, Pectinibranchia). В кн.: *Морфология и эволюция беспозвоночных*. С. 281–295.
7. Ситникова Т. Я. (2004) Переднежаберные брюхоногие моллюски (Gastropoda: Prosobranchia) Байкала: морфология, таксономия, формирование фауны. Автореф. дис... докт. биол. наук. СПб. 45 с.
8. Щербаков Д. Ю. (2003) Сравнительное исследование эволюционных историй букетов видов байкальских беспозвоночных. Автореф. дис... докт. биол. наук. М, 39 с.
9. Brown J. M., Lemmon A. R. (2007) The importance of data partitioning and the utility of Bayes factors in Bayesian phylogenetics. *Systematic Biology*. V. 56: P. 643–655.
10. Darrriba D., Taboada G. L., Doallo R., et al. (2012) **jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing**. *Nature Methods*. V. 9: P. 772.
11. Doyle J. J., Doyle J. L. (1987) **A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue**. *Phytochemistry Bulletin*. V. 19: P. 11–15.
12. Feher Z., Albrecht Ch., Major Á., et al. (2012) **Extremely low genetic diversity in the endangered striped nerite, *Theodoxus transversalis* (Mollusca, Gastropoda, Neritidae) — a result of ancestral or recent effects?** *North-western Journal of zoology*. V. 8(2): P. 300–307.
13. Felsenstein J. (1989) **PHYLIP — Phylogeny Inference Package (Version 3.2)**. *Cladistics*. V. 5: P. 164–166.
14. Freya M. A., Vermeij G. J. (2008) **Molecular phylogenies and historical biogeography of a circumtropical group of gastropods (Genus: Nerita): Implications for regional diversity patterns in the marine tropics**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. V. 48: P. 1067–1086.
15. Guindon S., Gascuel O. (2003) **A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood**. *Systematic Biology*. V. 52: P. 696–704.
16. Hausdorf B., Ropstorff P., Riedel F. (2003) **Relationships and origin of endemic Lake Baikal gastropods (Caenogastropoda: Rissooidea) based on mitochondrial DNA sequences**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. V. 26: P. 435–443.
17. Hedtke S. M., Glaubrecht M., Hillis D. M. (2011) **Rare gene capture in predominantly androgenetic species**. *PNAS*. V. 108 (23): P. 9520–9524.
18. Jarman S. N., Ward R. D., Elliott N. G. (2002) **Oligonucleotide primers for PCR amplification of coelomate introns**. *Marine Biotechnology*. V. 4: P. 347–355.
19. Katoh K., Asimenos G., Toh H. (2009) **Multiple Alignment of DNA Sequences with MAFFT**. *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis*. In: D. Posada, editor. *Methods in Molecular Biology*. V. 537: P. 39–64.
20. Keever C. C., Sunday J., Puritz J. B., et al. (2009) **Discordant distribution of populations and genetic variation in sea star with high dispersal potential**. *Evolution*. Vol. 63 (12): P. 3214–3227.
21. Martens K. (1997) **Speciation in ancient lakes**. *Trends Ecol. Evol.* V. 12 (5): P. 177–182.
22. Martin D. P., Lemey P., Lott M. et al. (2010) **RDP3: a flexible and fast computer program for analyzing recombination**. *Bioinformatics*. Vol. 26: P. 2462–2463.
23. McDonald M. J., Wang W. C., Huang H. D. et al. (2011) **Clusters of Nucleotide Substitutions and Insertion/Deletion Mutations Are Associated with Repeat Sequences**. *PLoS Biology*. V. 9(6).
24. Michel E. (1994) **Why snails radiate: a review of gastropod evolution in long-lived lakes, both recent and fossil**.

- Speciation in Ancient Lakes/Eds. Martens K., Godderis B., Coulter G., *Arch. Hydrobiology*. Vol. 44: P. 285–317.
25. Puritz J. B., Addison J. A., Toonen R. J. (2012). **Next-Generation Phylogeography: A Targeted Approach for Multilocus Sequencing of Non-Model Organisms.** *PLoS ONE*. V. 7(3).
 26. Rieppel O. (2005) **The philosophy of total evidence and its relevance for phylogenetic inference.** *Papeis Avulsos Zoology*. V. 45(8).
 27. Ronquist F., Taslenko M., van der Mark P., et al. (2012) **MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space.** *Systematic Biology*. V. 61(3): P. 539–542.
 28. Sitnikova T. Ya., Roepstorf P., Riedel F. (2001) **Reproduction, duration, of embryogenesis egg capsules and protoconchs of the family Baicaliidae (Caenogastropoda) endemic to Lake Baikal.** *Malacologia*. V. 43(1–2): P. 59–85.
 29. Shcherbakov D. Yu. (1999) **Molecular phylogenetic studies on the origin of biodiversity in Lake Baikal.** *Trends in Ecology & Evolution*. Vol. 14: P. 92–95.
 30. Teske P. R., Rius M., McQuaid Ch. D., et al. (2011) **“Nested” cryptic diversity in a widespread marine ecosystem engineer: a challenge for detecting biological invasions.** *BMC Evolutionary Biology*. Vol. 11: P. 176.
- GENETIC AND MORPHOLOGICAL DIVERSIFICATION IN GASTROPODS OF THE BAICALIIDAE FAMILY**
- Kovalenkova M. V., Sitnikova T. Ya., Shcherbakov D. Yu.*
- ☛ **SUMMARY:** *Background:* Molecular phylogenetic studies of Baikalian endemic gastropod family Baicaliidae as well as the morphological comparisons have not yet provided a fully resolved phylogeny of this family. There is a need to increase the current set of markers to solve current difficulties. Intronic nuclear markers can be used as a valuable tool for phylogenetics. *Methods:* Nucleotide sequences for the intron of ATP-synthase alpha-subunit gene from 11 gastropod species belonging to the fast evolving Baikalian endemic family Baicaliidae together with the morphological traits and previously obtained mitochondrial COI sequences were used to build a synthetic species tree. *Results:* A Phylogenetic tree built using only intron sequences contains less polytomies than the one built using sequences of the mitochondrial gene COI and is compatible with the morphological views. Intronic marker provides high support for the interspecific clades. Topology of the tree built using the intronic marker mainly corresponds to morphology based systematics of eleven investigated species of this family. The only exception was *Godlewskia wrzesniowski*, which were placed within the clade of species from *Korotnewia* and *Parabaikalia* genera, though it has significant morphological differences from these genera. *Conclusions:* Sister species were shown to diverge within the same substrate preferences. Observed discrepancies between the species tree and current taxonomy of the group may be explained by fast morphological evolution in the Baicaliidae family.
- ☛ **KEY WORDS:** intron; total evidence phylogeny; Baicaliidae.
- ☛ **REFERENCES (TRANSLITERATED)**
1. Brown J. M., Lemmon A. R. (2007) **The importance of data partitioning and the utility of Bayes factors in Bayesian phylogenetics.** *Systematic Biology*. V. 56: P. 643–655.
 2. Darikova Yu. A., Scherbakov D. Yu. (2009) **Evolutsiya introna gena fosfofruktokinazy u bryuhonogih mollyuskov semeystva Baicaliidae [Evolution of the phosphofructokinase gene intron in gastropods of family Baicaliidae].** *Molecular biology*; V. 43(5). P. 838–844.
 3. Darriba D., Taboada G. L., Doallo R., et al. (2012) **jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing.** *Nature Methods*. V. 9: P. 772.
 4. Doyle J. J., Doyle J. L. (1987) **A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue.** *Phytochemistry Bulletin*. V. 19: P. 11–15.
 5. Feher Z., Albrecht Ch., Major Á., et al. (2012) **Extremely low genetic diversity in the endangered striped nerite, *Theodoxus transversalis* (Mollusca, Gastropoda, Neritidae) — a result of ancestral or recent effects?** *North-western Journal of zoology*. V. 8(2): P. 300–307.
 6. Felsenstein J. (1989) **PHYLIP — Phylogeny Inference Package (Version 3.2).** *Cladistics*. V. 5: P. 164–166.
 7. Freya M. A., Vermeij G. J. (2008) **Molecular phylogenies and historical biogeography of a circumtropical group of gastropods (Genus: Nerita): Implications for regional diversity patterns in the marine tropics.** *Molecular Phylogenetics and Evolution*. V. 48: P. 1067–1086.
 8. Guindon S., Gascuel O. (2003) **A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood.** *Systematic Biology*. V. 52: P. 696–704.
 9. Hausdorf B., Ropstorf P., Riedel F. (2003) **Relationships and origin of endemic Lake Baikal gastropods (Caenogastropoda: Rissooidea) based on mitochondrial DNA sequences.** *Molecular Phylogenetics and Evolution*. V. 26: P. 435–443.
 10. Hedtke S. M., Glaubrecht M., Hillis D. M. (2011) **Rare gene capture in predominantly androgenetic species.** *PNAS*. V. 108 (23): P. 9520–9524.
 11. Jarman S. N., Ward R. D., Elliott N. G. (2002) **Oligonucleotide primers for PCR amplification of coelomate introns.** *Marine Biotechnology*. V. 4: P. 347–355.
 12. Katoh K., Asimenos G., Toh H. (2009) **Multiple Alignment of DNA Sequences with MAFFT. Bioinformatics for DNA Sequence Analysis.** In: D. Posada, editor. *Methods in Molecular Biology*. V. 537: P. 39–64.
 13. Keever C. C., Sunday J., Puritz J. B., et al. (2009) **Discordant distribution of populations and genetic variation in sea star with high dispersal potential.** *Evolution*. Vol. 63 (12): P. 3214–3227.
 14. Kozhov M. M. (1936) **Mollyuski ozera Baykal. [Mollusks of the lake Baikal].** *Proceedings of Baikal limnological station AS USSR*. V. 8.

15. Martens K. (1997) **Speciation in ancient lakes**. *Trends Ecol. Evol.* V. 12 (5): P. 177–182.
16. Martin D. P., Lemey P., Lott M. et al. (2010) **RDP3: a flexible and fast computer program for analyzing recombination**. *Bioinformatics*. Vol. 26: P. 2462–2463.
17. McDonald M. J., Wang W. C., Huang H. D. et al. (2011) **Clusters of Nucleotide Substitutions and Insertion/Deletion Mutations Are Associated with Repeat Sequences**. *PLoS Biology*. V. 9(6).
18. Michel E. (1994) **Why snails radiate: a review of gastropod evolution in long-lived lakes, both recent and fossil**. *Speciation in Ancient Lakes/Eds. Martens K., Godderis B., Coulter G., Arch. Hydrobiology*. Vol. 44: P. 285–317.
19. Peretolchina T. E., Bukin Yu. S., Sitnikova T. Ya., Scherbakov D. Yu. (2007) **Geneticheskaya differentsiatsiya endemichnogo baykalskogo mollyuska *Baicalia carinata* (Mollusca, Caenogastropoda)**. [Genetic differentiation of endemic baicalian mollusks *Baicalia carinata* (Mollusca, Caenogastropoda)]. *Russian Journal of Genetics*. V. 43(12). P. 1667–1675.
20. Peretolchina T. E., Sitnikova T. Ya., Scherbakov D. Yu. (2008) **Evolutsionnyye vzaimootnosheniya mezhdu blizkorodstvennyimi vidami endemichnykh gastropod roda *Baicalia* (Mollusca, Caenogastropoda)**. [Evolutionary relationships between sister species of endemic gastropods phylum *Baicalia* (Mollusca, Caenogastropoda)]. *News of Irkutsk State University, Chapter «Biology. Ecology»*. V. 1(2): P. 67–70.
21. Puritz J. B., Addison J. A., Toonen R. J. (2012). **Next-Generation Phylogeography: A Targeted Approach for Multilocus Sequencing of Non-Model Organisms**. *PLoS ONE*. V. 7(3).
22. Rieppel O. (2005) **The philosophy of total evidence and its relevance for phylogenetic inference**. *Papeis Avulsos Zoology*. V. 45(8).
23. Ronquist F., Taslenko M., van der Mark P., et al. (2012) **MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space**. *Systematic Biology*. V. 61(3): P. 539–542.
24. Sitnikova T. Ya. (1991) **Novaya struktura baykalskogo endemichnogo semeystva Baicaliidae (Mollusca, Gastropoda, Pectinibranchia)**. [New structure of baicalian endemic family Baicaliidae (Mollusca, Gastropoda, Pectinibranchia)]. In *Lynevich A. A., editor. Morphology & Evolution of invertebrates*. Novosibirsk: Nauka; p. 281–295.
25. Sitnikova T. Ya. (2004) **Perednezhabernyye bryuhonogie mollyuski (Gastropoda: Prosobranchia) Baykala: morfologiya, taksonomiya, formirovanie fauny**. [Prosobranchia gastropods mollusks Gastropoda: Prosobranchia] of the Baikal: morphology, taxonomy, origin of fauna]. *Synopsis of PhD diss.* SPb.
26. Sitnikova T. Ya., Roepstorff P., Riedel F. (2001) **Reproduction, duration, of embryogenesis egg capsules and protoconchs of the family Baicaliidae (Caenogastropoda) endemic to Lake Baikal**. *Malacologia*. V. 43(1–2): P. 59–85.
27. Scherbakov D. Yu. (1999) **Molecular phylogenetic studies on the origin of biodiversity in Lake Baikal**. *Trends in Ecology & Evolution*. Vol. 14: P. 92–95.
28. Scherbakov D. Yu. (2003) **Sravnitelnoe issledovanie evolyutsionnykh istoriy buketov vidov baykalskikh bespozvonochnykh**. [Comparative study of evolutionary histories of baicalian invertebrate species flocks]. *Synopsis of PhD diss.* M.
29. Teske P. R., Rius M., McQuaid Ch. D., et al. (2011) **“Nested” cryptic diversity in a widespread marine ecosystem engineer: a challenge for detecting biological invasions**. *BMC Evolutionary Biology*. Vol. 11: P. 176.
30. Zubakov D. Yu., Scherbakov D. Yu., Sitnikova T. Ya. (1997) **Analiz filogeneticheskikh vzaimootnosheniy baykalskikh endemichnykh mollyuskov sem. Baicaliidae na osnove nukleotidnykh posledovatelnostey fragmenta mitochondrialnogo gena CO1**. [Analysis of phylogeny of endemic mollusca of family Baicaliidae from Baikal lake using fragments of nucleotide sequences of the mitochondrial gene CO1]. *Molecular biology*; V. 31(6). P. 32–36.

✉ Информация об авторах

Коваленкова Мария Владимировна — аспирант, вед. инженер, лаборатория геносистематики беспозвоночных. Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (ЛИН СО РАН). 664033, Иркутск, Улан-Баторская ул., 3. E-mail: kovalenkovam@mail.ru.

Ситникова Татьяна Яковлевна — д. б. н., с. н. с., лаборатория биологии водных беспозвоночных. Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (ЛИН СО РАН). 664033, Иркутск, Улан-Баторская ул., 3.

Щербakov Дмитрий Юрьевич — д. б. н., заведующий лабораторией геносистематики беспозвоночных. Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (ЛИН СО РАН). 664033, Иркутск, Улан-Баторская ул., 3; Профессор Биолого-почвенный факультета. Иркутский Государственный университет. 664011, Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5. E-mail: sherb@lin.irk.ru, dysh007@gmail.com.

Kovalenkova Mariya Vladimirovna — postgraduate, principal engineer. Laboratory of Molecular Systematics. Limnological Institute, Siberian Division, Russian Academy of Sciences. 664033, Irkutsk, Ulan-Batorskaya St., 3, Russia. E-mail: kovalenkovam@mail.ru.

Sitnikova Tatyana Yakovlevna — dr., senior researcher. Laboratory of Biology of aquatic invertebrates. Limnological Institute, Siberian Division, Russian Academy of Sciences. 664033, Irkutsk, Ulan-Batorskaya St., 3, Russia.

Shcherbakov Dmitriy Yuryevich — dr., Head of Laboratory of Molecular Systematics. Limnological Institute, Siberian Division, Russian Academy of Sciences. 664033, Irkutsk, Ulan-Batorskaya St., 3, Russia; Professor, Department of Biology and Soil Sciences, Irkutsk State University. 664011, Irkutsk, Sukhe-Batora St., 5, Russia. E-mail: sherb@lin.irk.ru, dysh007@gmail.com.