

Филогеография шерстистого мамонта (*Mammuthus primigenius*) на географически изолированных территориях Восточной Сибири в позднем плейстоцене

Модина С.^{1*}, Куслий М.¹, Маликов Д.², Павлова Н.³, Павлов И.³, Протопопов А.³,
Молодцева А.^{1, 4}

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт геологии и минералогии им. В.С. Соболева СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Академия наук Республики Саха (Якутия), Якутск, Россия

⁴ Институт археологии и этнографии СО РАН, Новосибирск, Россия

* s.modina@g.nsu.ru

Ключевые слова: древняя ДНК; шерстистый мамонт; филогеография; митохондриальный геном

Мотивация и цель: К настоящему времени собрана достаточная научная база для определения филогеографии одного из самых многочисленных в летописи окаменелостей представителей мамонтовой фауны – вида шерстистый мамонт (*Mammuthus primigenius*), начиная с анализа частей митохондриального генома и заканчивая изучением полных ядерных геномов [1–3]. Изменение климата от позднего ледникового периода до голоцена привело к уменьшению открытых пространств в Евразии, что привело к сокращению области обитания мамонтов и других степных животных. Этот процесс включал сложные изменения климата и растительности в пространстве и времени, выживание видов в укрытиях, локальное исчезновение и временное расширение областей обитания (Lister, Stuart, 2008). Одним из эффективных подходов для детальной реконструкции этих процессов является исследование локальных серий образцов митохондриальной ДНК мамонтов, относящихся к различным хронологическим периодам. Несмотря на большую степень изученности, выборка образцов из Сибири и Дальнего Востока была представлена в основном северными и восточными регионами. Образцы мамонтовой фауны таких географически изолированных территорий, как Минусинская котловина и остров Котельный, не были исследованы на молекулярно-генетическом уровне, хотя полученные данные могут выявить не обнаруженное ранее генетическое разнообразие вида, уникальные популяции, которые эволюционировали здесь независимо от всех остальных.

Методы и алгоритмы: В рамках данной работы были получены митогеномные библиотеки двенадцати шерстистых мамонтов Минусинской котловины юга Восточной Сибири и десяти шерстистых мамонтов острова Котельный севера Восточной Сибири. Для данных библиотек было проведено двухэтапное обогащение геномных библиотек с использованием гибридизации с биотинилированными фрагментами современной митохондриальной ДНК *Elephas maximus*, на основе ранее опубликованного метода [4] с модификациями, описанными в статье Воробьевой и соавторов [5]. Также было проведено высокопроизводительное секвенирование для исследованных образцов. По результатам секвенирования было выполнено множественное выравнивание последовательностей митогеномов позднеледниковых шерстистых мамонтов изолированных территорий

Восточной Сибири и ранее опубликованных последовательностей митогеномов шерстистых мамонтов, проведена филогенетическая реконструкция и построено филогенетическое древо байесовским методом. Для образцов шерстистых мамонтов с Минусинской котловины было построено филогенетическое древо при помощи программной платформы BEAST с внутренней калибровкой времени расхождения ветвей на основе радиоуглеродных датировок образцов для всех митохондриальных последовательностей шерстистых мамонтов, ширина покрытия геномов которых превышала 68 %.

Результаты: Средняя глубина покрытия митогеномов шерстистых мамонтов из Минусинской котловины варьирует от 0.5 до 15.5 раза, а ширина покрытия составляет от 38 до 99.5 % от длины референсного митогенома. Для митогеномов шерстистых мамонтов с острова Котельный ширина покрытия составляет от 16 до 97.1 % от длины референсного митогенома. Исходя из полученных значений частоты дезаминирования оснований и среднего размера фрагментов ДНК, можно заключить, что костные образцы мамонтов имеют высокую степень сохранности ДНК, что связано с относительно хорошими для сохранности ДНК условиями окружающей среды.

Выявлено, что последовательности мтДНК шерстистых мамонтов Минусинской котловины и острова Котельный не формируют отдельную кладу на дереве, а рассредоточены в разных кластерах клады I, что отличает их от некоторых других исследованных локальных групп мамонтов, таких как мамонты с острова Врангеля, находившихся в стадии сниженного генетического разнообразия. Филогеографические реконструкции на основе последовательностей митохондриальной ДНК шерстистых мамонтов из Минусинской котловины подтвердили время расхождения I и II митохондриальных клад мамонтов, как 2–1 млн лет, выявили генетическую близость митохондриальных линий позднплейстоценовых мамонтов Минусинской котловины и других, в том числе сопредельных, регионов Восточной Сибири и их дивергенцию во временном промежутке от 150 до 100 тыс. лет назад, что свидетельствует об активных миграциях шерстистых мамонтов на обширных территориях Восточной Сибири (острова Врангеля, Центрального, Западного и Восточного регионов) в конце среднего плейстоцена–начале позднего плейстоцена.

Выводы: Данное исследование позволяет оценить митохондриальное генетическое разнообразие шерстистых мамонтов на территории Минусинской котловины и острова Котельный. Расположение митотипов в разных кладах внутри клады I может указывать на достаточно высокое разнообразие генофонда исследованных шерстистых мамонтов. По проведенным филогеографическим реконструкциям можно говорить об активных миграциях шерстистых мамонтов на обширных территориях Восточной Сибири в конце среднего плейстоцена–начале позднего плейстоцена.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ (№ 23-74-10060).

Phylogeography of the woolly mammoth (*Mammuthus primigenius*) in geographically isolated areas of Eastern Siberia in the Late Pleistocene

Modina S.^{1*}, Kusliy M.¹, Malikov D.², Pavlova N.³, Pavlov I.³, Protopopov A.³, Molodtseva A.^{1,4}

¹ Institute of Molecular and Cell Biology, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² V.S. Sobolev Institute of Geology and Mineralogy, SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Academy of Sciences of the Republic of Sakha (Yakutia), Yakutsk, Russia

⁴ Institute of Archaeology and Ethnography, SB RAS, Novosibirsk Russia

* s.modina@g.nsu.ru

Key words: ancient DNA; woolly mammoth; phylogeography; mitochondrial genome

Motivation and Aim: To date, a sufficient scientific basis has been assembled to determine the phylogeography of one of the most numerous representatives of the mammoth fauna, the woolly mammoth (*Mammuthus primigenius*) species, in the fossil record, from the analysis of parts of the mitochondrial genome to the study of complete nuclear genomes [1–3]. Climate change from the LGP to the Holocene led to a decrease in open spaces in Eurasia, resulting in a shrinking habitat for mammoths and other steppe animals. This process involved complex changes in climate and vegetation in space and time, survival of species in shelter, localized extinction, and temporary expansion of habitat areas (Lister, Stuart, 2008). One effective approach for detailed reconstruction of these processes is the study of localized series of mammoth mitochondrial DNA samples from different chronological periods. Despite the large degree of study, the sampling of samples from Siberia and the Far East was represented mainly by the northern and Eastern regions. Samples of the mammoth fauna of such geographically isolated areas as the Minusinsk Depression and Kotelný Island have not been studied at the molecular genetic level, although the data obtained may reveal a previously undiscovered genetic diversity of the species, unique populations that evolved here independently of all others. **Methods and Algorithms:** Mitogenomic libraries for twelve woolly mammoths from the Minusinsk Depression in southern Eastern Siberia and ten woolly mammoths from Kotelný Island in northern Eastern Siberia were generated in this study. For these libraries, based on a previously published method [4] with modifications described in Vorobieva et al. [5], two-round enrichment of genomic libraries was performed by hybridisation with biotinylated fragments of modern mitochondrial DNA from *Elephas maximus*. The investigated samples were also subjected to high-throughput sequencing. Based on the sequencing results, multiple alignment of mitogenome sequences of Late Pleistocene woolly mammoths from isolated areas of Eastern Siberia and previously published mitogenome sequences of woolly mammoths was performed, phylogenetic reconstruction was performed, and a phylogenetic tree was constructed using the Bayesian method. For woolly mammoth samples from the Minusinsk Depression, a phylogenetic tree was constructed using the BEAST software platform with internal calibration of branch divergence time based on radiocarbon dating of samples. The tree was constructed for all woolly mammoth mitochondrial sequences with genome coverage greater than 68 %.

Results: The average depth of coverage of the mitogenomes of woolly mammoths from the Minusinsk Depression varies from 0.5 to 15.5 times, and the width of coverage ranges from 38 to 99.5 % of the reference mitogenome length. The coverage width ranges from 16 to 97.1 % of the reference mitogenome length for woolly mammoths from Kotelny Island. Based on the obtained values of base deamination frequency and average size of DNA fragments, it can be concluded that mammoth bone samples have a high degree of DNA preservation. This is associated with relatively good environmental conditions for DNA preservation.

The mtDNA sequences of woolly mammoths from the Minusinsk Depression and Kotelny Island, unlike some other local groups of mammoths studied, such as mammoths from Wrangel Island, which were in a stage of reduced genetic diversity, were found not to form a separate clade on the tree but to be distributed in different clusters of clade I. Phylogeographic reconstructions based on mitochondrial DNA sequences of woolly mammoths from the Minusinsk Depression confirmed the time of divergence of the I and II mammoth mitochondrial clades as 2–1 million years ago, revealed the genetic proximity of mitochondrial lineages of Late Pleistocene mammoths from the Minusinsk Depression and other, including adjacent, regions of Eastern Siberia, and their divergence in the time interval from 150 to 100 thousand years ago, which points to active migrations of woolly mammoths in the vast territories of Eastern Siberia (the Wrangel Islands, the central, western and Eastern regions) in the late Middle Pleistocene – early Late Pleistocene.

Conclusion: This study allows an assessment of the mitochondrial genetic diversity of woolly mammoths in the Minusinsk Depression and Kotelny Island. The location of mitotypes in different clades within clade I may indicate a rather high diversity of the gene pool of the studied woolly mammoths. According to phylogeographic reconstructions, woolly mammoths were actively migrating across the vast territories of Eastern Siberia at the end of the Middle Pleistocene – beginning of the Late Pleistocene.

Funding: The study is supported by Russian Science Foundation (No. 23-74-10060).

Список литературы/References

1. Gilbert et al. Whole-genome shotgun sequencing of mitochondria from ancient hair shafts. *Science*. 2007;317(5846):1927-1930
2. Palkopoulou E., Dalén L., Lister A.M. et al. Holarctic genetic structure and range dynamics in the woolly mammoth. *Proc Biol Sci*. 2013;280(1770):20131910. doi 10.1098/rspb.2013.1910
3. Van der Valk T. et al. Million-year-old DNA sheds light on the genomic history of mammoths. *Nature* 2021;591(7849):265-269. doi 10.1038/s41586-021-03224-9
4. Maricic T., Whitten M., Pääbo S. Multiplexed DNA sequence capture of mitochondrial genomes using PCR products. *PLoS One*. 2010;5(11):e14004. doi 10.1371/journal.pone.0014004
5. Vorobieva N.V. et al. High genetic diversity of ancient horses from the Ukok Plateau. *PLoS One*. 2020;15(11):e0241997. doi 10.1371/journal.pone.0241997