PCR.news: Анализ ДНК позволил реконструировать древнюю экосистему Гренландии

В северной Гренландии впервые обнаружена ДНК возрастом два миллиона лет. Секвенирование хлоропластной, митохондриальной и ядерной ДНК из древних образцов позволило детально реконструировать древнюю экосистему, которая была намного богаче современной, поскольку климат Гренландии в то время был существенно более теплым. Среди идентифицированных видов животных — мастодонт (*Mammut americanum*).

Опубликовано на PCR.news

Международная группа палеогенетиков и геологов побила предыдущий рекорд — исследование ДНК мамонтов возрастом более миллиона лет. Кроме того, в этот раз речь идет о не о ДНК отдельных особей, а о древней ДНК из окружающей среды (environmental DNA, eDNA, в русской литературе экосистемная, экологическая ДНК или эДНК). Руководители проекта — профессор Эске Виллерслев (Колледж Св.Иоанна в Кембридже, геогенетический центр Фонда Лундбека, Копенгаген), первый автор — Курт Кьер, геолог из Университета Копенгагена.

Глобальное потепление, которое согласно прогнозам наступит в ближайшем будущем, уже не первое на нашей планете. Два-три миллиона лет назад среднегодовая температура в Гренландии была выше современной на 11-19 °C (минимальную температуру оценивают как -17–10 °C). Биологические сообщества Арктики позднего плиоцена — раннего плейстоцена (3,6–0,8 млн лет назад), слабо изучены, поскольку ископаемые остатки животных того периода крайне редки. Этот пробел теперь могут восполнить исследования древней эДНК.

Как объяснил в электронном письме PCR.NEWS один из соавторов работы, доктор геолого-минералогических наук **Алексей Тесаков**, заведующий лабораторией стратиграфии четвертичного периода Геологического института РАН, на севере Гренландии есть полоса суши, не покрытая ледниками из-за сухости климата. Она называется Землей Пири в честь полярного исследователя Роберта Пири. Отсутствие ледников позволяет изучать геологическое строение в естественных обнажениях горных пород. В земле Пири находится формация Кейп-Кобенхавн, где и были в разные годы собраны образцы.

Эске Виллерслев с коллегой в Гренландии. Credit: Courtesy of NOVA, HHMI Tangled Bank Studios & Handful of Films

Исследователи секвенировали 41 образец ДНК из пяти локаций в Кейп-Кобенхавн. Конечно, были сомнения, что удастся прочитать настолько древние метагеномы. ДНК разрушается со временем под влиянием температуры, ферментов микроорганизмов, механических воздействий, спонтанного гидролиза или окисления. Кроме того, древняя ДНК теряет пуриновые основания. Чтобы оценить вероятность того, что из гренландских образцов удастся получить сохранную ДНК, авторы вычислили ее «термический возраст» (низкие среднегодовые температуры его существенно снижают) и сравнили степень ее депуринизации с ДНК вымерших птиц моа (в этой работе оценена кинетика деградации древней ДНК). Результаты указывали на то, что в образцах из Гренландии могли сохраниться фрагменты генома длиной не менее 50 п.н. Авторы отмечают, что сохранность эДНК обеспечивается иными механизмами, чем ДНК, выделенной из костного материала. Так, адсорбция ДНК на минеральной подложке изменяет ее конформацию и защищает от расщепления ферментами.

Из 41 образца получили 65 библиотек для секвенирования на платформе Illumina. Методом капельной цифровой ПЦР провели скрининг 34 из 65 библиотек на ген *pcbD* консервативной фотосистемы II пластид и ген *pcbA* — характерный маркер злаковых растений; для 31 образца подтвердили присутствие растительной ДНК. Также для 34 библиотек провели обогащение митохондриальной ДНК млекопитающих с помощью Arctic PaleoChip 1.0. Все библиотеки секвенировали методом дробовика на приборах HiSeq 4000 и NovaSeq 6000 от Illumina.

Подготовка к работе с образцом осадочных пород в чистой комнате. Credit: Courtesy of NOVA, HHMI Tangled Bank Studios & Handful of Films

В результате авторы описали богатое видовое разнообразие растений и животных, обитавших в Северной Гренландии около 2 миллионов лет назад. Так, геномы хлоропластов принадлежали в том числе представителям родов *Salix* (ивы), *Populus* (тополь) и *Betula* (береза). Из 102 родов растений обнаруженных с помощью анализа эДНК, 39% в Гренландии больше не встречаются.

Митохондриальные геномы животных принадлежали зайцевым, хомяковым, северным оленям, гусям. Как показал анализ последовательностей, все они являются предковыми по отношению к современным и позднеплейстоценовым животным. Кроме того, найдены последовательности ДНК мастодонта (*Mammut americanum*). В образцах также присутствовала митохондриальная ДНК беспозвоночных (муравьев и блох). Морские виды представлены мечехвостом, кораллом, различными группами фитопланктона и зоопланктона: присутствие части таксонов (например, зеленых микроводорослей) тоже свидетельствует в пользу более теплого климата, чем в наши дни.

Таким образом, два миллиона лет назад в Северной Гренландии существовала бореальная экосистема: смешанные леса из тополя, березы и туи, арктические и таежные кустарники и трава. Многие виды растений идентифицированы впервые и не регистрировались ранее при изучении макроотложений и анализе ископаемой пыльцы. Реконструированная экосистема не

имеет современных аналогов.

Представление о теплом периоде плио-плейстоцена в Гренландии существовало задолго до этой работы благодаря палеонтологическим исследованиям. Вот что рассказал об этом Алексей Тесаков.

«Состав растений, в том числе целые стволы невысоких таежных деревьев — лиственниц, показал, что в это время лесотундра дошла до самого северного края Гренландии. Сейчас в этих местах зона полярных пустынь с редкой тундровой растительностью и всего несколькими видами млекопитающих.

Десять лет назад, во время экспедиции летом 2012 года, в составе полевого отряда из четырех человек мне удалось побывать в этих местах и поучаствовать в исследованиях уникального полярного палеоархива. Как специалист по древним мелким позвоночным я занимался поиском их остатков в слоях формации мыса Кобенхавн. До этого здесь была сделана единственная находка позвоночных — фрагмент черепа древнего зайца. К сожалению, несмотря на все упорные поиски, костей млекопитающих нам найти не удалось. Зато были найдены кости рыб и раковины мидий — показателей значительной тепловодности морских вод того времени. Кроме того, я отобрал несколько образцов древних отложений для пыльцевого анализа.

В течение 10 лет, прошедших с экспедиции 2012 года, большой научный материал, собранный в слоях формации мыса Кобенхавн, изучался датскими и российскими специалистами. Первая попытка опубликовать синтез новых данных по геологии и палеонтологии в журнале Science в 2014-2015 гг. оказалась безуспешной — статья была отклонена по причине отсутствия заметной новизны результатов. И только развитие палеомолекулярных технологий и методов позволило датским исследователям под руководством Эске Виллерслева выполнить современный палеогенентический анализ образцов древних отложений, обогащенных растительными остатками. В поле их приходилось высверливать ручным буром из скованных вечной мерзлотой склонов льдистых холмов. По фрагментам геномов животных и растений было выявлено впечатляющее разнообразие древней приполярной биоты. Звездой этого списка, безусловно, является слон мастодонт. Оказалось, что около 2 млн лет назад эти хоботные бродили по самой северной суше в мире.

Работа российских участников проекта заключалось в применении классических методов четвертичной геологии для дополнительного обоснования возраста и биоразнообразия отложений формации мыса Кобенхавн по остаткам животных и растений, т.е. определении биостратиграфического возраста этой формации. Мне удалось показать, что из ранее определенных здесь двух родов зайцев — древнего *Hypolagus* и более современного *Lepus* — здесь присутствует только вымерший гиполагус, а остатки современного зайца определены ошибочно. Это существенно меняет представление о возрасте формации мыса Кобенхавн, ограничивая ее возраст примерно 2 млн лет (2 млн лет или древнее). Такой же возраст получается по нескольким другим анализам.

Кандидат геолого-минералогических наук Александра Николаевна Симакова провела палинологический анализ образцов из формации мыса Кобенхавн в лаборатории стратиграфии четвертичного периода Геологического института РАН в Москве. Несмотря на то, что пыльца древних растений отсюда уже изучалась датскими палеоботаниками, новый анализ впервые показал присутствие в раннеплейстоценовой лесотундровой флоре Северной Гренландии орешника, растения теплых периодов плейстоцена. Это стало приятной и неожиданной добавкой к древней термофильной флоре формации мыса Кобенхавн».

Отечественные ученые были соавторами уже упоминавшейся работы по секвенированию ДНК мамонтов возрастом 1 млн лет. На очереди, отмечает Алексей Тесаков, — валовый генетический анализ древних отложений плио-плейстоцена высоких широт Сибири. По его мнению, роль российских специалистов не всегда будет сводиться к предоставлению материала для анализа: «Сейчас существует несколько проектов развития таких исследований и в России, например, в Зоологическом институте РАН в Санкт-Петербурге и ряде учреждений Москвы. Однако очень высокие требования к качеству и чувствительности оборудования, трудности с расходными материалами и созданием чистых лабораторных помещений сдерживают развитие отечественной палеогенетики».

Источник

Kurt H. Kjær et al. A 2-million-year-old ecosystem in Greenland uncovered by environmental DNA // Nature. 2022. DOI:

10.1038/s41586-022-05453-y