

Министерство науки и высшего образования РФ
Правительство города Севастополя
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»
Всероссийское гидробиологическое общество при Российской академии наук
Русское географическое общество
Паразитологическое общество при Российской академии наук

Изучение водных и наземных экосистем: история и современность

Международная научная конференция, посвящённая 150-летию
Севастопольской биологической станции —
Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского
и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий»

Тезисы докладов

13–18 сентября 2021 г.
Севастополь, Российская Федерация

Севастополь
ФИЦ ИнБЮМ
2021

Характеристика митохондриального генома *Ligophorus vanbenedenii* (Plathelminthes: Monogenea)

Мегер Я. В.¹, Водясова Е. А.², Челебиева Э. С.², Шихат О. В.², Дмитриева Е. В.²

¹Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

²ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия

meger_yakov@mail.ru

Паразитические плоские черви — моногенеи (Plathelminthes: Monogenea) — рассматриваются как удобные модели для изучения эволюционных процессов, которые привели к их диверсификации и современному разнообразию. Простой жизненный цикл, специфичность к хозяевам на уровне родов и видов, морфологическое разнообразие позволяют использовать их для изучения влияния факторов, формирующих структуру видов, и исследования процессов, приводящих к видообразованию. Низшие моногенеи (Plathelminthes: Monogenea: Monopisthocotylea) характеризуются высокой видовой дивергенцией, отдельные рода насчитывают свыше 900 видов, при этом каждый год описываются десятки новых видов.

Существует большое количество публикаций по моногенеям, сочетающих морфологические описания видов с полученными для них данными по нуклеотидным последовательностям ДНК. Однако подавляющее большинство работ содержит данные только по сиквенсам фрагментов ядерных генов рибосомальной РНК, таких как 18S, 28S, ITS1, реже ITS2 и 5.8S. Значительно меньше представлены последовательности митохондриальных генов, главным образом небольшие участки гена COI (1955 сиквенсов от 282 видов, из которых больше половины приходится на 5 видов), при этом при использовании универсальных праймеров для COI в данной группе беспозвоночных при амплификации часто возникают сложности. Недостаток данных по митохондриальным геномам затрудняет полноценный анализ филогеографии низших моногеней.

Объектом данного исследования были особи *Ligophorus vanbenedenii* (Parona & Perugia, 1890), собранные с жабр пиленгаса в Чёрном море. В работе были использованы парно-концевые прочтения длиной 100–150 п. н. общим объёмом 2,23 Гб, полученные с помощью NGS-секвенирования ДНК на платформе Illumina MiSeq. Выделение ДНК проводилось с помощью «К-Сорб» (Синтол, Россия) из 85 особей. Подготовка геномной библиотеки с использованием NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep — согласно протоколу производителя без отбора по длине фрагментов. Фильтрация по качеству и удаление адаптеров из массива прочтений производились с помощью fastp. Сборка митохондриального генома осуществлялась при помощи программы MitoZ и уточнялась выравниванием результата работы модуля plasmid программы Spades. Для аннотации сборки использовались модуль аннотации и проверки цикличности программы MitoZ. С целью проверки покрытия и поиска замен было проведено картирование прочтений с помощью bowtie2, обработка и сортировка — SAMtools.

Итоговая сборка включает один консенсусный скаффолд длиной 14965 п. н. и имеет закольцованную структуру, перехлест составляет 179 п. н. Картирование прочтений показало более чем 600-кратное покрытие для каждого нуклеотида, которое является равномерным, за исключением области D-петли, где кратность покрытия варьирует от 3000 до 15000. В результате аннотации обнаружено 32 гена, из которых 10 белок-кодирующих, 20 тРНК и 2 рРНК.

Для визуализации картирования и подсчёта SNP был использован геномный браузер IGV. Исходя из вероятности ошибки секвенирования и количества особей, была выбрана частота замен

0,05 среди картированных прочтений в качестве критерия достоверности. С заданным критерием было обнаружено всего 417 замен, из которых 236 пришлось на некодирующие области. Исходя из длины участков, были получены значения изменчивости каждой области. Ожидаемо наиболее изменчивой областью оказалась D-петля, имеющая 90 замен на 1757 п. н. Среди кодирующих областей изменчивость не превышала 0,04, что для тРНК означает не более одной замены на ген, за исключением *trnQ(uug)*, имеющей две замены. Впервые проведён филогенетический анализ для низших моногеной на основе полных последовательностей митохондриального генома, которые представлены в NCBI для 17 видов из 10 родов.

Работа выполнена в рамках госбюджетной темы ФИЦ ИнБЮМ № 121030100028-0 и гранта РФФИ № 20-44-920004.