

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук



БОЛБАТ АЛЕКСАНДР ВАСИЛЬЕВИЧ

СТРУКТУРА И ЭВОЛЮЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА РЕЛИКТОВЫХ ПИЯВОК

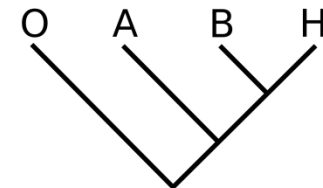
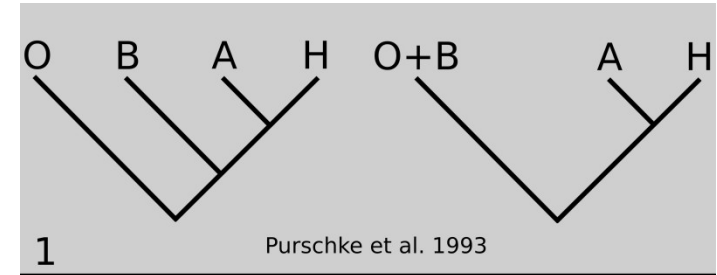
НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
1.5.7 – ГЕНЕТИКА

Научный руководитель:
к.б.н. Кайгородова И. А.

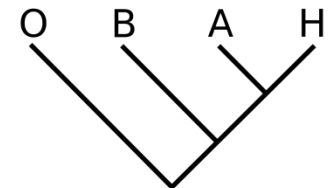
Иркутск
2022

Актуальность работы

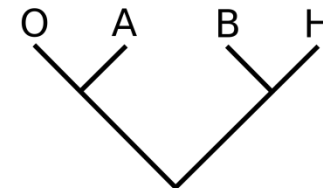
1. Реликтовые пиявкоподобные паразиты отряда Acanthobdellida остаются важным объектом исследований в эволюционной биологии и таксономических исследованиях. Научный интерес к ним поддерживается ввиду их предполагаемого промежуточного эволюционного положения между малощетинковыми червями (Oligochaeta) и пиявками (Hirudinea).
2. На протяжении многих лет вопрос происхождения и эволюционной истории акантобделлид не получалось решить с использованием морфологических данных и коротких маркерных последовательностей.
3. Митохондриальный геном животных является важным объектом для изучения ввиду его гаплоидного наследования и ограниченной рекомбинации, что позволяет с большей точностью реконструировать филогенетическую историю организма.



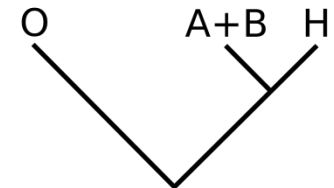
Siddal & Burreson 1998
Apakupakul et al. 1999
Siddal et al. 2001
Erséus & Källersjö 2004



Trontelj 1999
Brinkhurst 1999
Martin 2001
Kaygorodova & Sherbakov 2006
Tessler et al. 2018
Phillips et al. 2019



Rousset et al. 2008



Martin et al. 2000

Цели и задачи

Цель – получение сведений о структуре полного митохондриального генома, степени генетической и таксономической дивергенции и эволюционной истории представителей отряда Acanthobdellida.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Получить образцы представителей акантобделлид из различных, географически разобщённых мест обитания.
2. С помощью методов секвенирования нового поколения получить геномные прочтения образцов и на их основе реконструировать структуру митохондриального генома акантобделлид.
3. Проанализировать и аннотировать полученные генетические последовательности.
4. Реконструировать на основе полных митогеномов эволюционную историю кольчатых червей, оценить степень генетической дивергенции и их применимость для молекулярной делимитации таксонов.

Биологический материал

| Вид | Точка сбора | Номер в коллекции |
|----------------------------------|--|-------------------|
| <i>Acanthobdella peledina</i> | р. Питэльвен, Швеция | Б28 |
| | р. Барбитай, Иркутская Область | Б33 |
| | оз. Большой Харбей, Ямало-Ненецкий АО | Б35 |
| | оз. Лабынкыр, республика Саха (Якутия) | Б52 |
| | р. Рассоха, Иркутская Область | Б53 |
| | р. Яна, республика Саха (Якутия) | Б55 |
| <i>Paracanthobdella livanowi</i> | оз. Ажабачье, Камчатский Край | Б49 |
| | | Б56 |
| <i>Codonobdella sp.</i> | оз. Байкал, залив Малое Море | Б45 |
| | | Б47 |
| <i>Baicaloclepsis grubei</i> | оз. Байкал, залив Малое Море | Б57 |
| <i>Baicaloclepsis echinulata</i> | оз. Байкал, пролив Ольхонские Ворота | Б58 |

Данные из международной базы SRA

| Вид | Номер в базе SRA |
|--------------------------------|------------------|
| <i>Erpobdella octoculata</i> | SRX9009198 |
| <i>Glossiphonia complanata</i> | SRX8928147 |
| <i>Haemopis sanguisuga</i> | SRX9009141 |
| <i>Haemopis sanguisuga</i> | SRX9009400 |
| <i>Lumbriculus variegatus</i> | SRX9009164 |
| <i>Piscicola geometra</i> | SRX9009199 |
| <i>Theromyzon tessulatum</i> | SRX8928146 |

Материалы и методы

- **ДНК** выделяли с использованием спин-колонок diaGene для культур клеток и фенол-хлороформным методом.
- **Секвенирование** проводили на Illumina NextSeq 500 с длиной прочтения 150 нуклеотидов в одну сторону.
- **Сборку** проводили с использованием MIRA v. 5. Митохондриальные контиги искали по гомологии с помощью программы BLAST среди контигов с наибольшим покрытием. Проблемные и повторяющиеся регионы были собраны из необработанных прочтений, извлечённых из данных секвенирования программой собственной разработки (fastq-grep).
- **Проверку качества** сборки проводили рекурсивным картированием прочтений на полученный геном с использованием Bowtie2.
- **Филогенетический анализ** проводили с использованием IQ-TREE и BEAST2 с моделью замен, рекомендованной jModelTest2, а также со схемой сегментации, рекомендованной PartitionFinder2. К полученным ультраметрическим деревьям был применён алгоритм видовой делимитации Generalized Mixed Yule Coalescent.

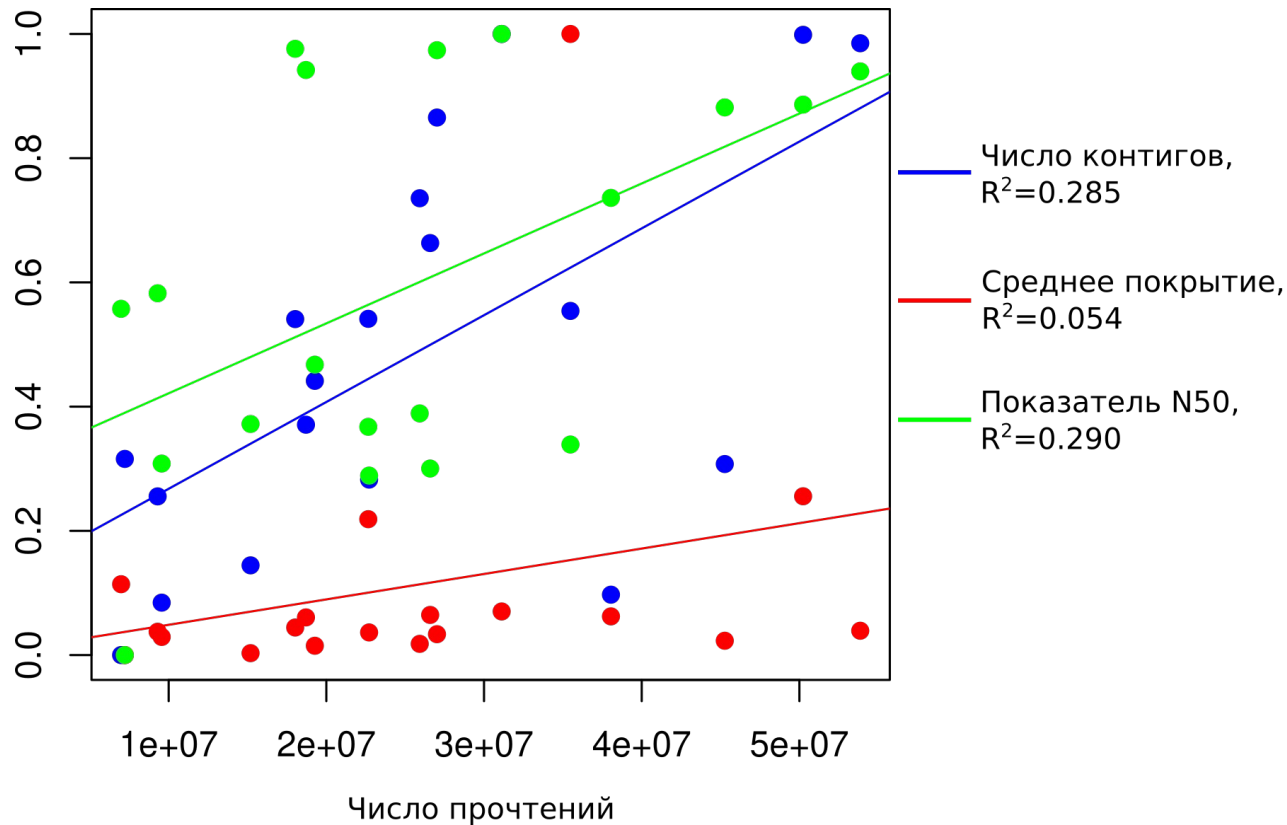
Статистические характеристики геномной сборки

| Вид | Номер в коллекции | Число контигов | Среднее покрытие | N50 | Размер митогенома |
|----------------------------------|-------------------|----------------|------------------|-----|-------------------|
| <i>Acanthobdella peledina</i> | Б28 | 491 622 | 26.48 | 459 | 18 528 |
| | Б33 | 380 282 | 195.28 | 440 | 16 709* |
| | Б35 | 643 295 | 70.36 | 996 | 17 499 |
| | Б52 | 642 489 | 226.28 | 896 | 16 388* |
| | Б53 | 634 709 | 44.26 | 943 | 17 271* |
| | Б55 | 380 058 | 48.59 | 975 | 16 547* |
| <i>Paracanthobdella livanowi</i> | Б49 | 566 108 | 39.60 | 973 | 15 500 |
| | Б56 | 125 634 | 63.70 | 764 | 15 411 |
| <i>Codonobdella sp.</i> | Б45 | 282 539 | 62.30 | 945 | 14 486 |
| | Б47 | 323 026 | 23.93 | 528 | 14 573** |
| <i>Baicaloclepsis grubei</i> | Б57 | 450 235 | 65.65 | 381 | 14 751 |
| <i>Baicaloclepsis echinulata</i> | Б58 | 152 709 | 13.92 | 444 | 15 120 |

Статистические характеристики геномной сборки

| Вид | Номер SRA | Число контигов | Среднее покрытие | N50 | Размер митогенома |
|--------------------------------|------------|----------------|------------------|-----|-------------------|
| <i>Erpobdella octoculata</i> | SRX9009198 | 231 899 | 41.93 | 371 | 15 580 |
| <i>Glossiphonia complanata</i> | SRX8928147 | 69 873 | 107.25 | 607 | 15 468 |
| <i>Haemopsis sanguisuga</i> | SRX9009141 | 216 384 | 42.89 | 629 | 14 530 |
| <i>Haemopsis sanguisuga</i> | SRX9009400 | 250 961 | 11.32 | 117 | 14 462** |
| <i>Lumbriculus variegatus</i> | SRX9009164 | 246 237 | 30.71 | 892 | 15 883 |
| <i>Piscicola geometra</i> | SRX9009199 | 387 593 | 852.10 | 415 | 14 788 |
| <i>Theromyzon tessulatum</i> | SRX8928146 | 118 265 | 35.86 | 388 | 15 913 |

Зависимость показателей сборки от числа прочтений



Порядок генов

Polychaeta

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Urechis | cox1 | cox2 | Pro | Asp | atp8 | Thr | nd4L | nd4 | Met | Asn | Gly | nd2 | Tyr | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | 12S | 16S | Val | Ser | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Cys | Glu |
| Marenzelleria | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | Gln | Trp | Ser | Arg | cox3 | nd6 | cytb | atp6 | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Ala | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |
| Alitta | cox1 | Asn | cox2 | Gly | Tyr | atp8 | Met | Asp | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | x | 12S | Val | 16S | Leu | Ser | Ala | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |
| Glycera | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Gly | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ser | Ala | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |
| Manayunkia | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Ser | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | 16S | Val | Leu | Ala | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Pista | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |
| Clymenella | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | Lys | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | nd3 | Ser | nd2 |
| Galathealinum | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |

Oligochaeta (почвенные)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|------|-----|------|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lumbricus | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |
|-----------|------|-----|------|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

Oligochaeta (пресноводные)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|------|------|------|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Nais | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Glu | Pro | nd4L | nd4 | Phe | Thr | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Tubifex | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Olavius | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | Trp | atp6 | nd3 | nd6 | Ala | Leu | nd1 | Ile | Ser | cytb | His | nd5 | Phe | Lys | Arg | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | nd2 | | |
| Lumbriculus | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Gly | cox3 | Trp | atp6 | cytb | Trp | His | Gln | Tyr | nd6 | Tyr | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |

Acanthobdellida

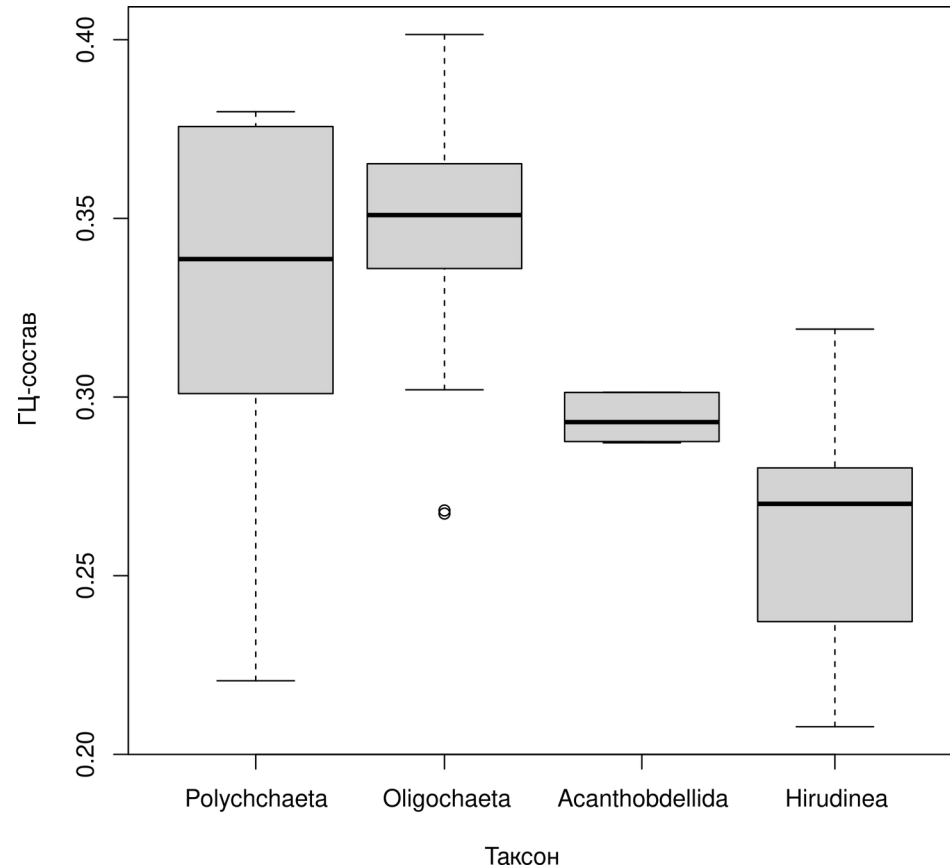
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|------|-----|------|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Acanthodella | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |
| Paracanthobdella | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 |

Hirudinea

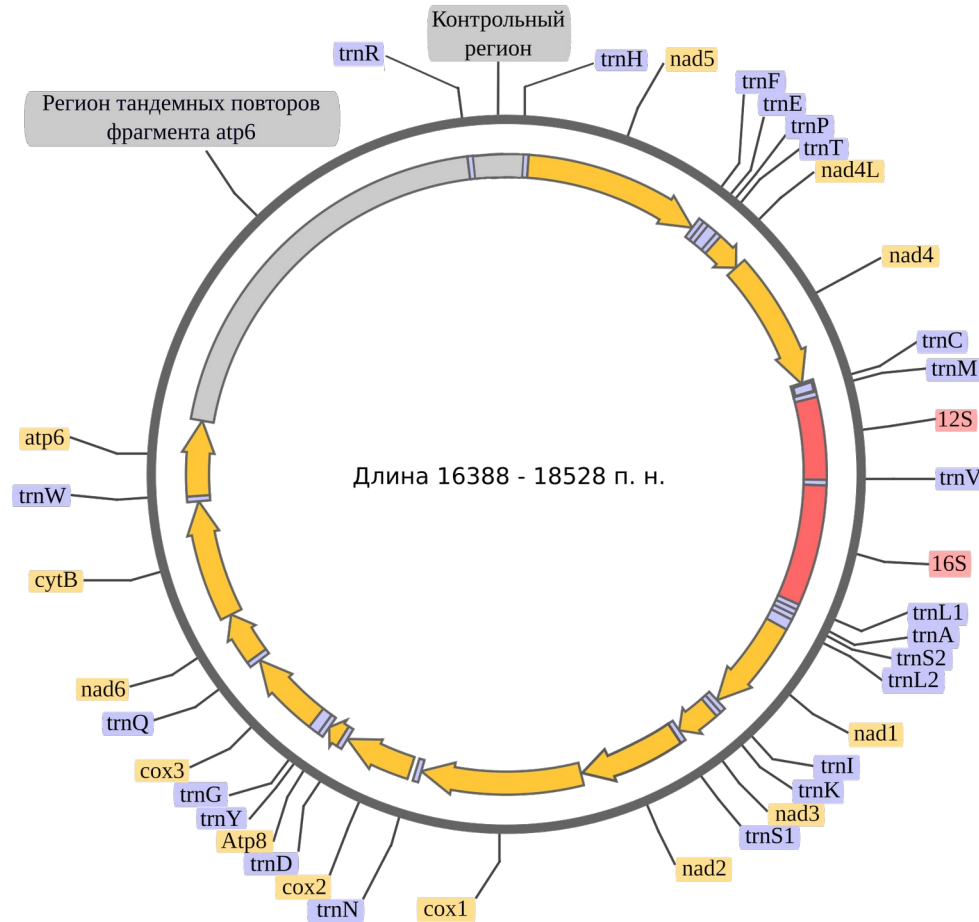
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|------|-----|------|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glossiphonia | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Baicalocleipsis | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Theromyzon | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | His | Arg | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | Ser | nd2 |
| Piscicola | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Codonobdella | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Erpobdella | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Tyr | Gly | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Erpobdella* | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Gly | Tyr | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ser | Ala | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Haemopsis | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Gly | Tyr | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | X | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Whitmania | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Gly | Tyr | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Trp | atp6 | Arg | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Cys | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Ile | Lys | nd3 | Ser | nd2 | |
| Haemadipsa | cox1 | Asn | cox2 | Asp | atp8 | Gly | Tyr | cox3 | Gln | nd6 | cytb | Arg | Trp | atp6 | His | nd5 | Phe | Glu | Pro | Thr | nd4L | nd4 | Met | 12S | Val | 16S | Leu | Ala | Ser | Leu | nd1 | Lys | Ile | nd3 | Cys | Ser | nd2 | |

* Erpobdella_octoculata_KC688270;

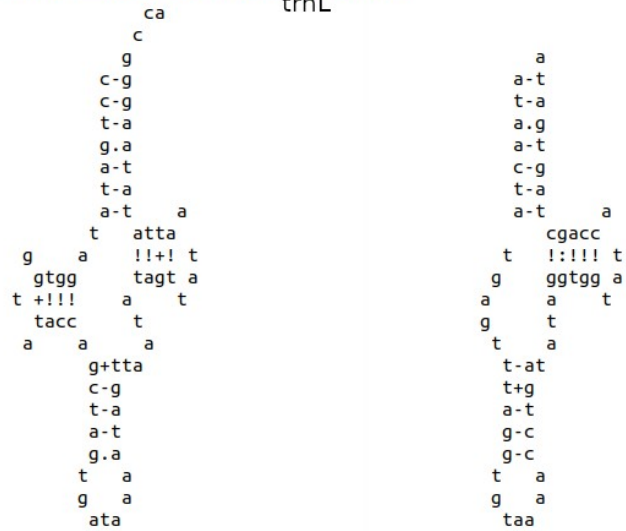
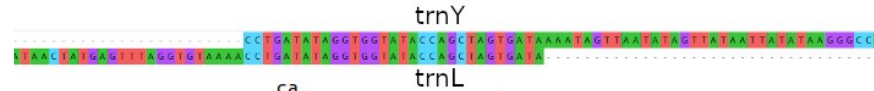
Доля ГЦ-оснований в разных группах КОЛЬЧЕЦОВ



Митогеном *A. peledina*



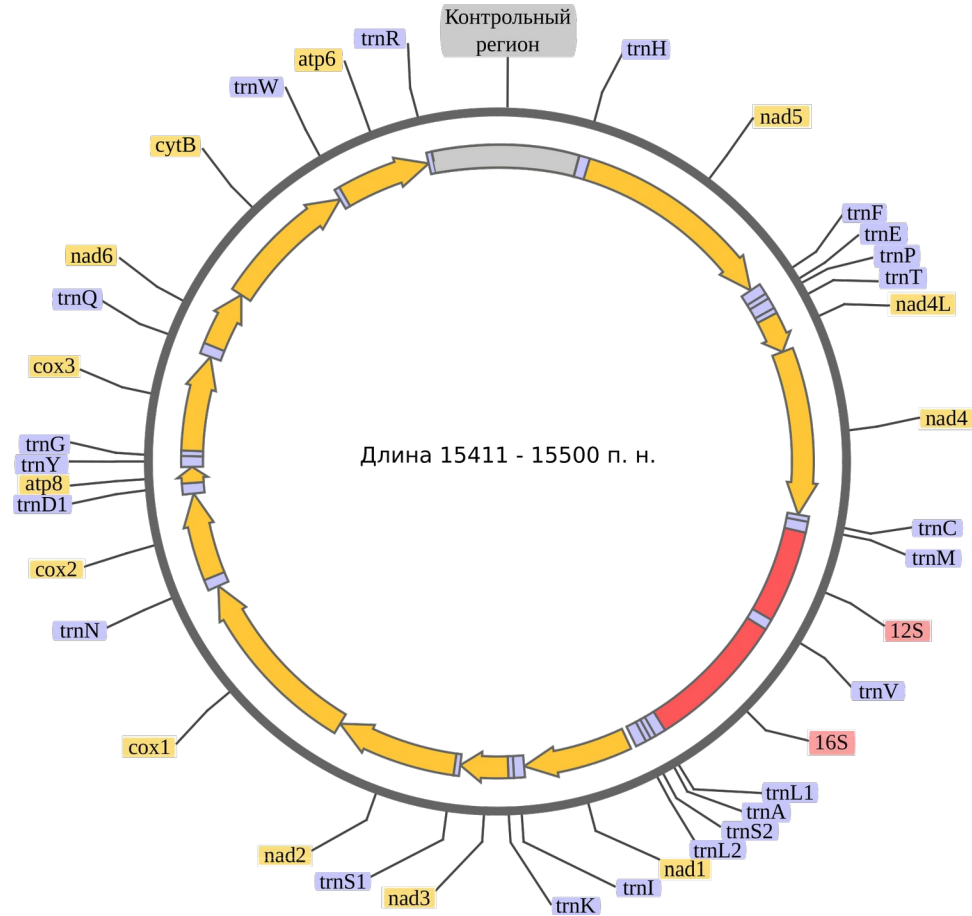
тРНК-подобные структуры *A. peledina*



mtRNA-Tyr(ata)
66 bases, %GC = 30.3
Sequence c[8450,8515]

D-loop mtrRNA-Leu(taa)
55 bases, %GC = 34.5
Sequence c[8485,8539]

Митогеном *P. livanowi*



тРНК-подобные структуры *P. livanowi*

```

      c
      t-a
      t+g
      t-a
      a-t
      a-t
      t-a
      a.gtta
      t      t
      tt a      a
      c aaaa      a
      a !!!!      t
      g tttt      a
      g a      a
      a-tgaa
      t.t
      g-c
      t-a
      t-a
      t t
      t t
      gtg
  
```

TV-loop mRNA-His(gtg)
61 bases, %GC = 18.0
Sequence c[77,137]

```

      a
      t-a
      a-t
      g-c
      t.t
      t-a
      t-a
      t-at
      t      t
      tgg a      t
      a aca      g
      t !!!      a
      t tgt      t
      tta c      a
      tt-ac
      a-t
      a-t
      t-a
      t-a
      t t
      t a
      ta
  
```

TV-loop mRNA-?(Stop|Leu)(ta)
58 bases, %GC = 15.5
Sequence c[177,234]

```

      c
      t-a
      t+g
      g-c
      a a
      a-t
      a-t
      a-t c
      t ttac
      at !!!! c
      a aatg a
      t t a
      gc g
      a t
      g+ta
      g+t
      t-a
      a-t
      g-c
      t a
      t a
      ttt
  
```

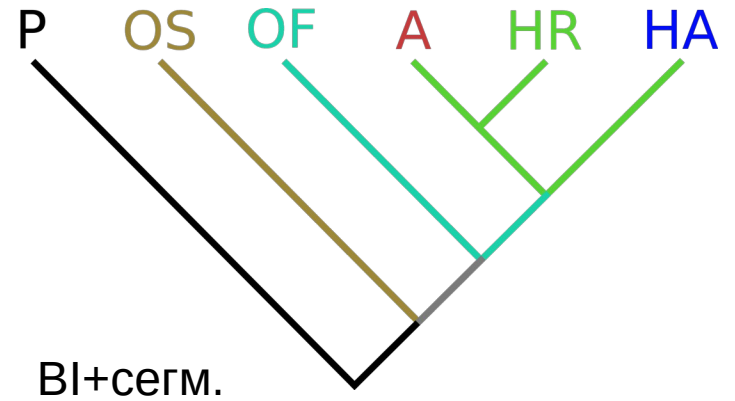
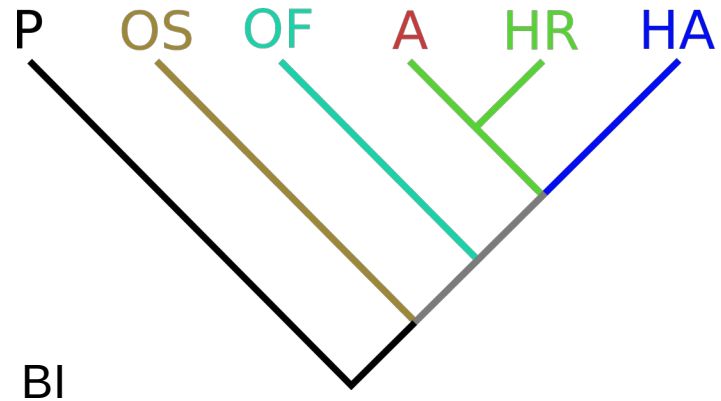
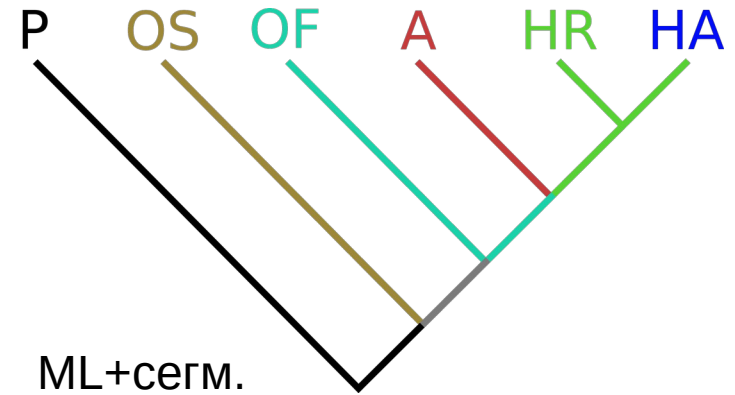
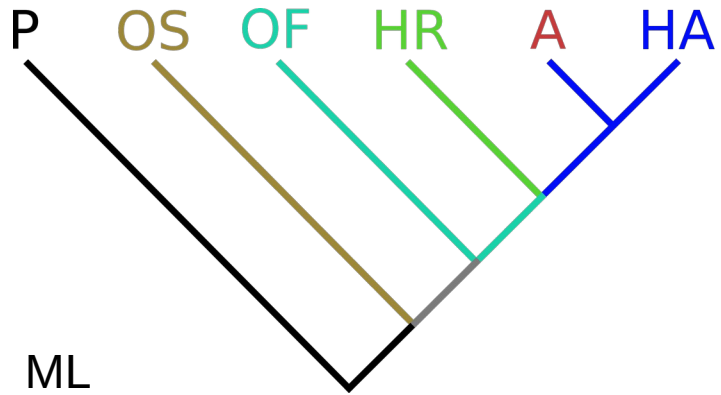
D-loop mRNA-Lys(ttt)
56 bases, %GC = 26.8
Sequence c[525,580]

```

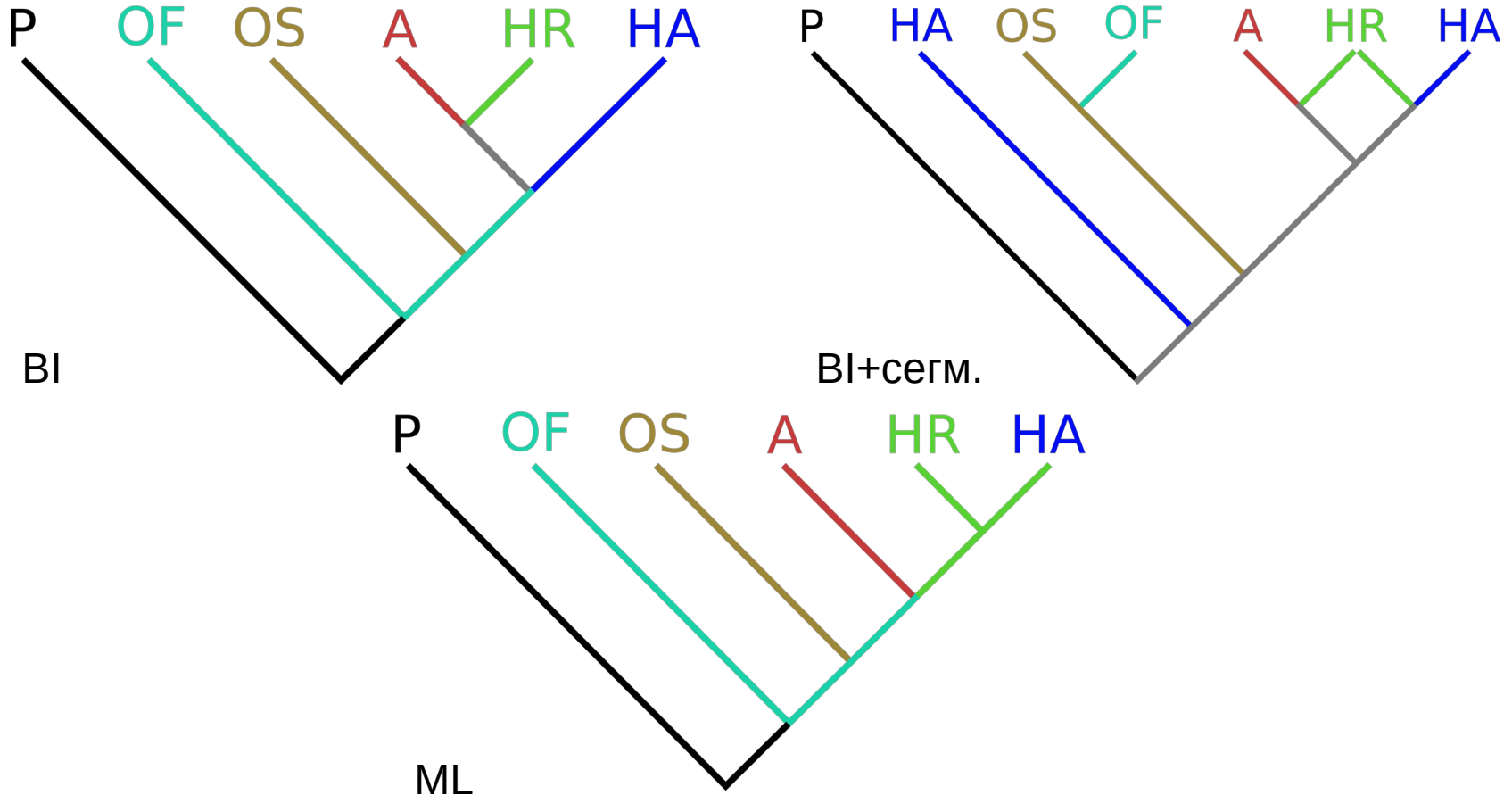
      a
      t-a
      a-t
      t-a
      t-a
      a-t
      c-g      ca
      tat atggc a
      at !!!!! a
      g ttccg g
      g g      tg
      at c
      ta g
      t-at
      g-c
      g.a
      a.g
      c t
      c a
      c a
      gat
  
```

D-loop mRNA-Ile(gat)
62 bases, %GC = 38.7
Sequence c[12626,12687]

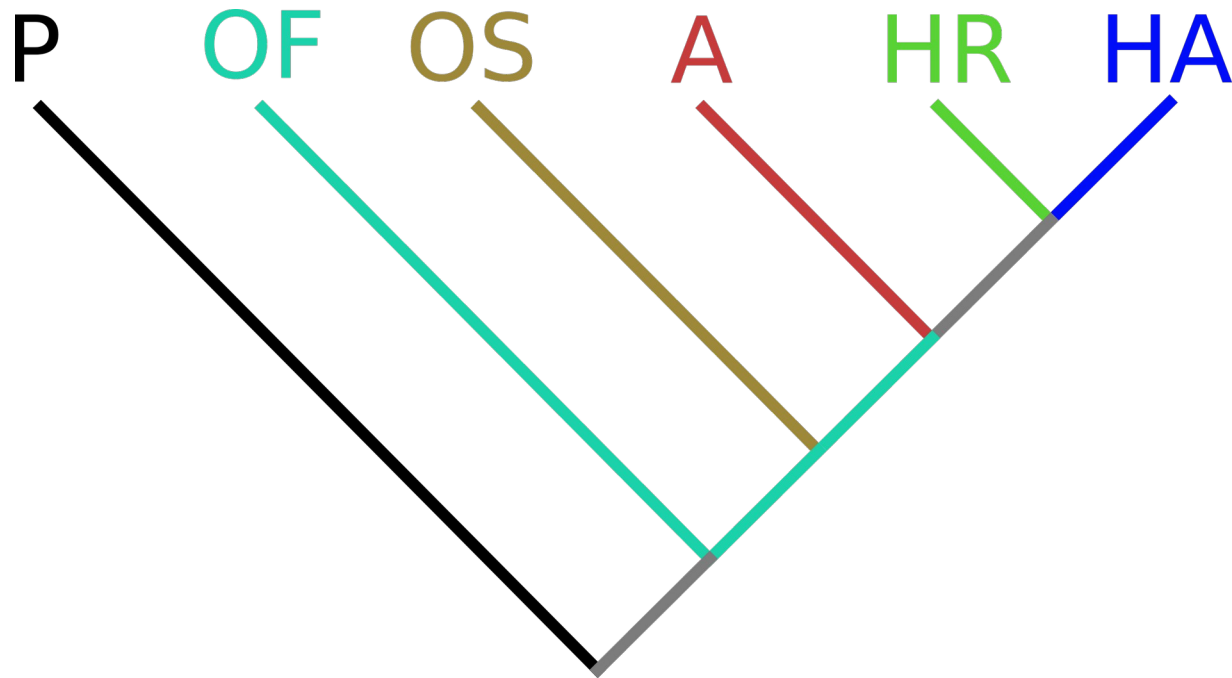
Кладограммы на основе гена *cox1*



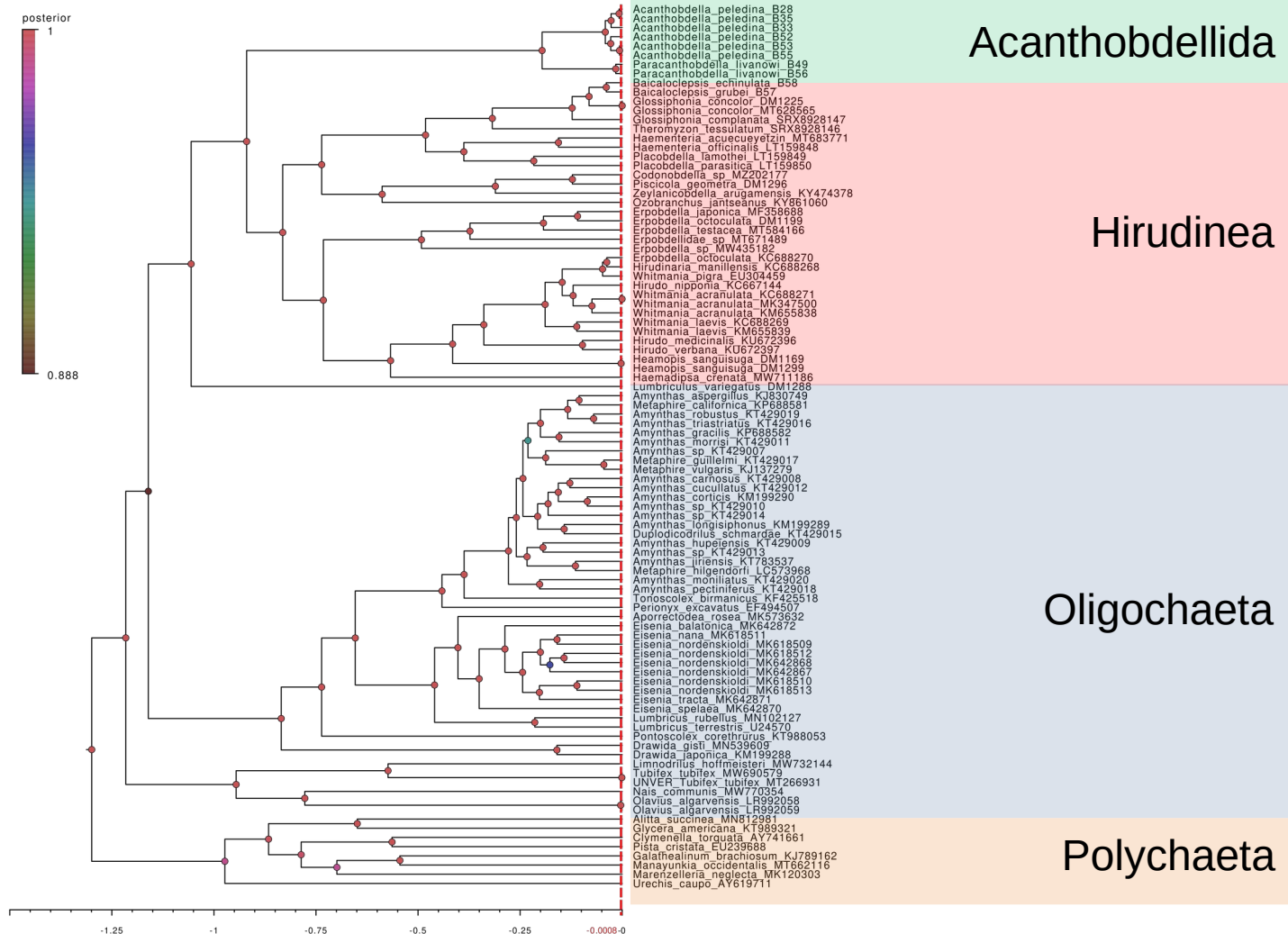
Кладограммы на основе гена *12S*



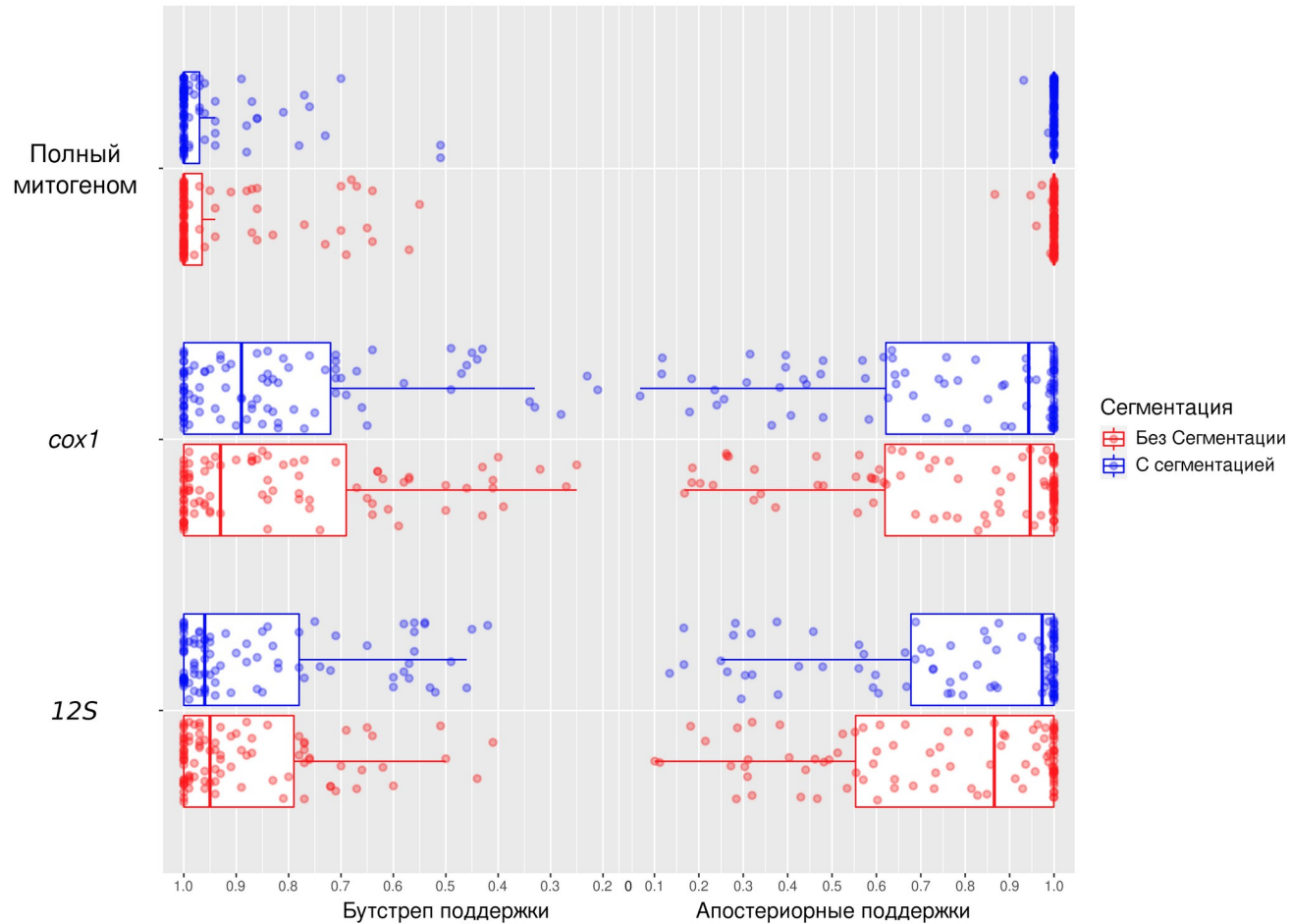
Кладограмма на основе полных митогеномов



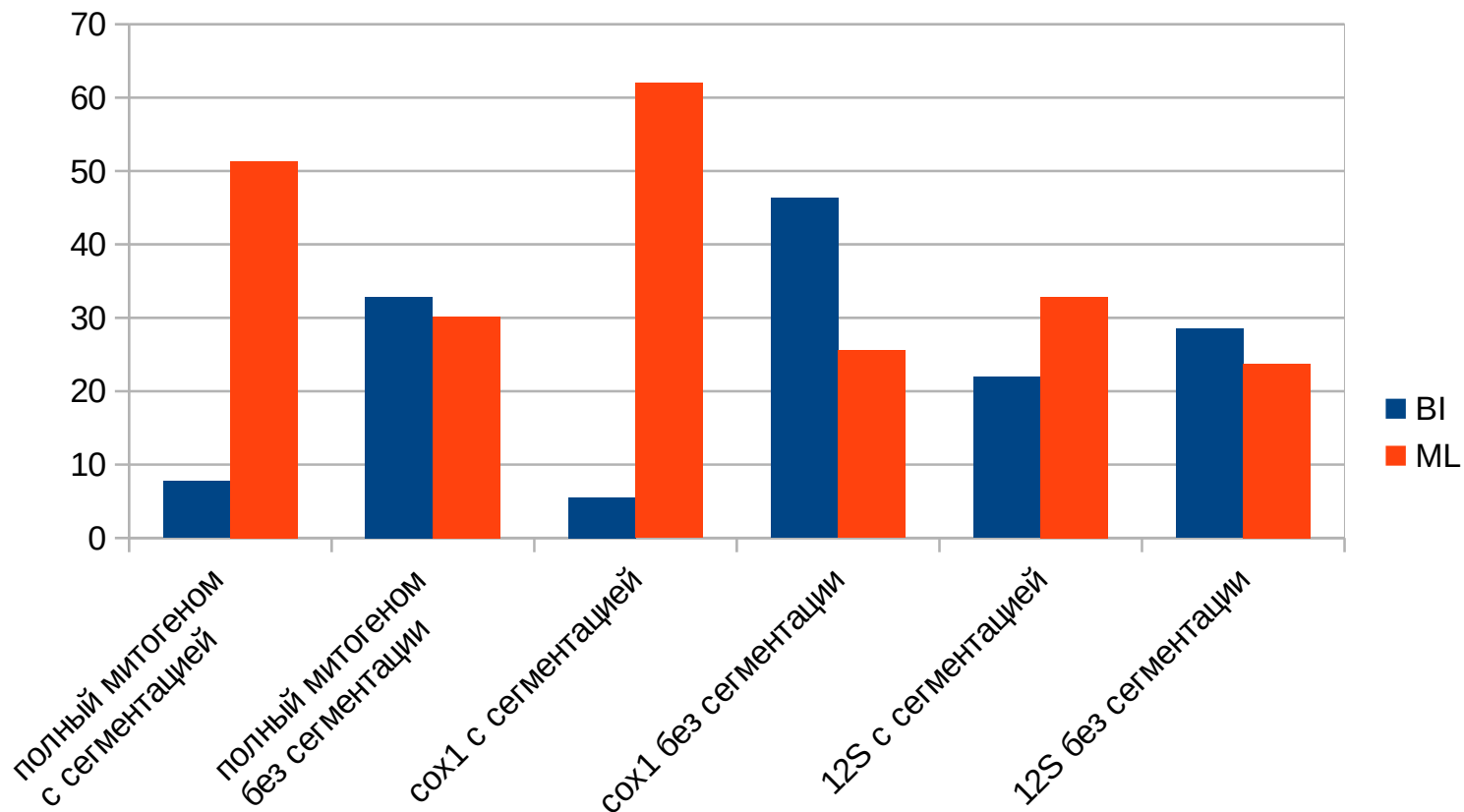
Древо на основе полных митогеномов



Сравнение поддержек филогений



Сумма длин ветвей деревьев



Соответствие реконструированных филогенетических деревьев различным гипотезам об эволюции аннелид

| Гипотеза \ Деревья | МГ | | МГ | | cox1 | | cox1 | | 12S | | 12S | |
|--|-------|----|----|----|-------|----|------|----|-------|----|-----|----|
| | сегм. | | | | сегм. | | | | сегм. | | | |
| | ml | bi | ml | bi | ml | bi | ml | bi | ml | bi | ml | bi |
| Предок Clitellata – водный организм | + | + | + | + | - | - | - | - | + | - | + | + |
| Предок Acanthobdellida и Hirudinea – водный организм | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + |
| Монофилетичность Rhynchobdellida | + | + | + | + | - | - | + | * | - | - | - | + |
| Монофилетичность Arhynchobdellida | + | + | + | + | + | + | + | + | ** | - | ** | + |
| Acanthobdellida – сестринская группа Hirudinea | + | + | + | + | - | - | - | - | ** | - | ** | - |

Примечания: МГ – митогеном; «+» – древо соответствует гипотезе; «-» – древо не соответствует гипотезе; «*» – древо в целом соответствует гипотезе за исключением положения *O. jantseanus*; «**» – древо в целом соответствует гипотезе за исключением положения *O. algarvensis*.

Выводы

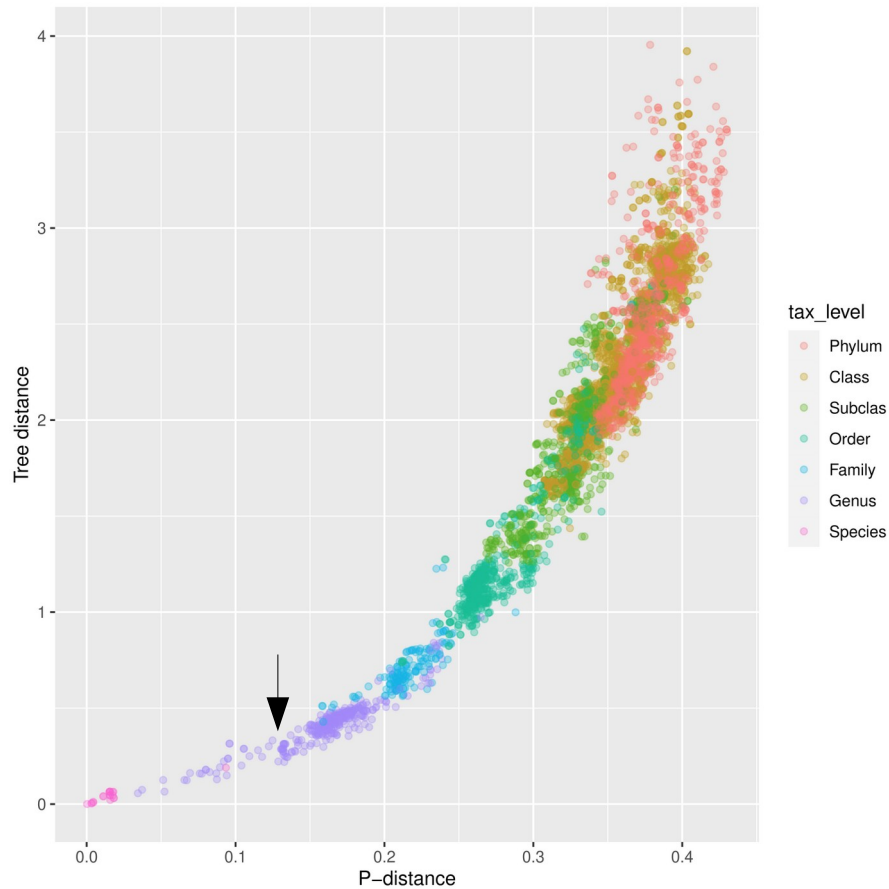
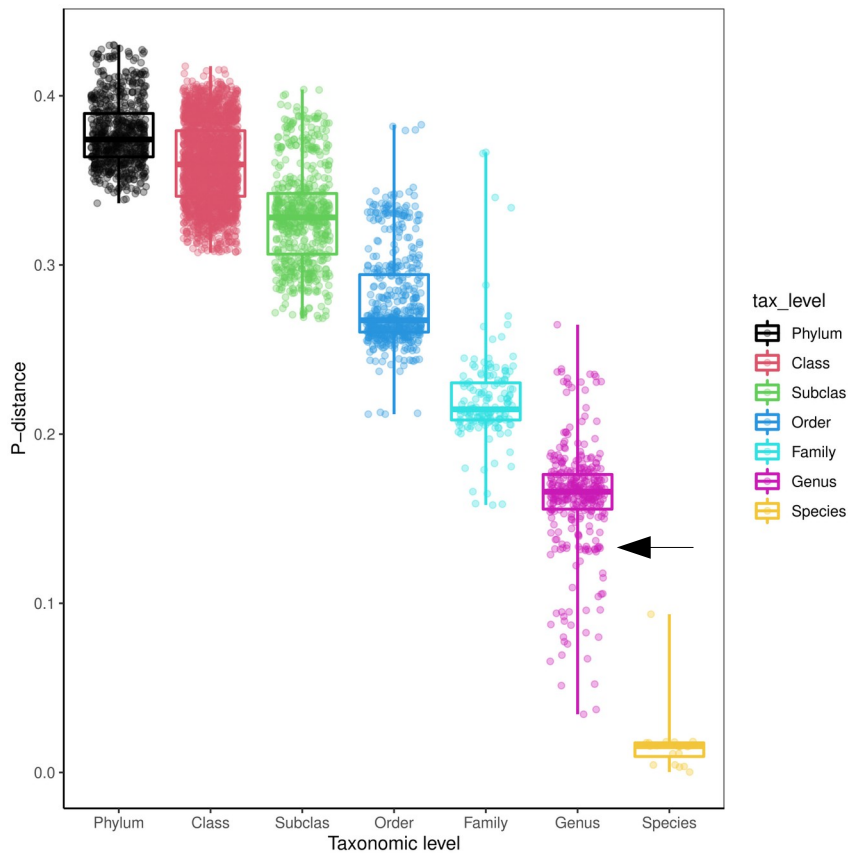
- 1) Впервые на основе данных секвенирования нового поколения реконструированы 12 митохондриальных геномов реликтовых (6 образцов *A. peledina* и 2 образца *P. livanowi*) и эндемичных байкальских пиявок (*Baicalocleipsis echinulata*, *Baicalocleipsis grubei* и два образца *Codonobdella* sp.).
- 2) Впервые реконструированы семь полных митогеномов олигохет и пиявок (*Lumbriculus variegates*, *Erpobdella octoculata*, *Glossiphonia complanata*, *G. concolor*, *Theromyzon tessulatum*, *Piscicola geometra* и 2 образца *Haemopsis sanguisuga*), необработанные геномные прочтения которых были получены из международной базы SRA.
- 3) Показано, что длина митохондриальных геномов камчатских образцов реликтовых пиявок *Paracanthobdella livanowi* составляет 15 411 и 15 500. Различия в длине нуклеотидных последовательностей не затрагивают функциональных генов и связаны с индивидуальной изменчивостью в контрольном регионе митогенома.
- 4) Выявлено, что размер митохондриальных геномов реликтового вида *Acanthobdella peledina*, имеющего обширный ареал, варьирует от 16 388 до 18 528 п. н. в зависимости от длины и количества tandemных повторов псевдогенных последовательностей *atp6* и *trnR* у образцов географически разрозненных популяций. Впервые у кольцецов обнаружен регион с tandemными повторами псевдогенных последовательностей *atp6* и *trnR*, который является уникальной структурной особенностью вида *A. peledina*.
- 5) Набор основных функциональных митохондриальных генов остаётся крайне консервативным у Clitellata. Однако порядок расположения этих генов в митогеномах, по-видимому, имеет таксон-специфический паттерн на уровне семейств.
- 6) Установлено, что длина и природа используемого для реконструкции филогении геномного фрагмента, а также метод обработки данных оказывают влияние на топологию и длины ветвей полученных филограмм. Использование полных митохондриальных геномов демонстрирует увеличение стабильности топологий филограмм, что отражается в повышении статистических поддержек узлов, по сравнению с короткими фрагментами маркерных генов вне зависимости от метода реконструкции и сегментации набора данных.
- 7) Реконструкция эволюционной истории на основе полных митохондриальных геномов подтвердила гипотезу о древних щетинконосных пиявках (*Acanthobdellida*) как промежуточной форме между *Oligochaeta* и *Hirudinea*.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

Защищаемые положения

- 1) Митохондриальный геном реликтовых пиявок представлен 37 функциональными генами, характерными для большинства многоклеточных животных, при этом геном *Acanthobdella peledina*, вида широко распространенного в Северной Евразии, содержит уникальные структурные элементы в виде вариабельных тандемных повторов.
- 2) Использование полных митохондриальных геномов для реконструкции эволюционной истории акантобделлид стабильно подтверждают гипотезу об их происхождении от олигохетного предка и сестринском положении относительно пиявок.

Генетические дистанции на разных таксономических уровнях



Вывод

- С помощью статистического анализа генетических дистанций показано, что виды реликтовых пиявок принадлежат одному роду *Acanthobdella*.