

**АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ИЗ СИМБИОТИЧЕСКОГО СООБЩЕСТВА БАКТЕРИЙ,
ВЫЗЫВАЮЩИХ ГИБЕЛЬ ГУБОК *LUBOMIRSKIA BAICALENSIS***

Красавина Д.А. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Комиссаров А.С.
(Университет ИТМО)

Введение. В 2011 году были обнаружены первые признаки заболевания эндемичных губок озера Байкал *Lubomirskia baicalensis*: изменение цвета, язвы, бактериальные “чехлы” [1]. Исследование началось в 2015 году, к этому моменту уже не были обнаружены губки, состав микробиома которых близок к микробиому здоровых губок [2]. Массовое вымирание сообщества ценных фильтраторов является экологической катастрофой нашего времени.

Основная часть. Была сформулирована гипотеза, что причиной заболевания могут быть несколько видов бактерий, в частности *Janthinobacterium sp.* - предполагаемый первичный патоген, *Flavobacterium sp.* - вторичный патоген. Из больной губки были выделены *Janthinobacterium sp.* (образец *SLB01*) и *Flavobacterium sp.* (*SLB02*) и выведены в чистые культуры. Для проверки гипотезы здоровая культура клеток губки (примморф) была заражена штаммом *Janthinobacterium sp. SLB01*. Из зараженных примморф повторно были выделены *Janthinobacterium* (2 биологические повторности *PLB02, PLB04*), а также *Bacillus sp. PLB03, Pseudomonas sp. PLB05, Acinetobacter sp. PLB06*. Все семь геномов исследуемых образцов были секвенированы на платформе MiSeq Illumina. Биоинформатическое исследование полученных данных направленно на сборку и характеризацию геномов, поиск функциональных отличий геномов образцов *Janthinobacterium sp.*, подтверждение взаимовыгодных отношений бактерий. Покрытие геномов, определенное с помощью Jellyfish v2.2.10, для образцов, выделенных из больной губки *SLB01, SLB02* составило 60x, 150x соответственно; для образцов, выделенных из зараженных примморф *PLB02, PLB03, PLB04, PLB05, PLB06* - 60x, 100x, 200x, 500x, 300x соответственно. Необработанные чтения были качественно оценены FastQC v0.11.9 и отфильтрованы по качеству при помощи TrimmomaticPE v0.39. Геномы исследуемых образцов были собраны с помощью SPAdes v3.15.5. Аннотацию геномов выполняли с использованием Prokka v1.14.6. Оценка качества сборки проводилась с помощью Quast v5.2.0. Для исследуемых образцов, выделенных из больной губки *SLB01, SLB02* показатель L50 составил 4, 5; N50 – 610, 425 т.п.н. соответственно. Для образцов, выделенных из зараженных примморф *PLB02, PLB03, PLB04, PLB05, PLB06* - показатель L50 составил 7, 13, 6, 5, 16; N50 – 441, 131, 356, 387, 68 т.п.н.. Оценка качества по присутствию в сборке высоко консервативных генов проведено BUSCO v5.4.4 и примерно равно 98,8%, с помощью BUSCO Phylogenetics было построено филогенетическое дерево для всех доступных видов рода *Janthinobacterium*. По результатам филогенетического анализа *Janthinobacterium lividum* является ближайшим родственником исследуемых образцов. При сравнительном анализе образцов были обнаружены уникальные регионы геномов, специфичные только для одного из штаммов. Они были изолированы при помощи Vedtools v2.30.0 и проаннотированы (Prokka v1.14.6, EggNOG v5.0.2 с использованием библиотеки PFAMs).

Выводы. При сравнении геномов было обнаружено, что геномы бактерий, выделенные из примморф (*Janthinobacterium sp. PLB02, PLB04*) содержат 47 уникальных последовательностей, не встречающиеся в геноме бактерии, выделенной из больной губки реизолята из примморф (*Janthinobacterium sp. SLB01*), что свидетельствует об активной эволюции данного вида и приобретении им новых функций при паразитировании. Также были найдены последовательности, не встречающиеся в референсном геноме, принадлежащие бактериям других родов, наиболее встречаемые из которых *Flavobacterium, Pseudomonas*, что свидетельствует о возможном горизонтальном переносе.

Список использованных источников:

1. Belikov S.I., Ivan S., Petrushin I.S., Chernogor L.I. Genome Analysis of the *Janthinobacterium* sp. Strain SLB01 from the Diseased Sponge of the *Lubomirskia baicalensis* // *Curr. Issues Mol. Biol.*, 43. 2021. p. 2220–2237.

2. Feranchuk S.I., Potapova U.V., Chernogor L.I., Belkova N.L., Belikov S.I. Microevolution processes are detected in symbiotic microbiomes of Baikal sponges by the methods of fractal theory // *Limnology and Freshwater Biology*. 2018. p. 122-134.