

УДК 575.852:113:592

НОВЫЕ ДАННЫЕ О ФИЛОГЕНИИ MESOZOA НА ОСНОВАНИИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНОВ 18 И 28S рРНК

Н.Б. Петров¹, В.В. Алёшин¹, А.Н. Пегова², М.В. Офицеров³, Г.С. Слюсарев⁴

(¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, г. Москва; ²Международный биотехнологический центр МГУ, г. Москва; ³Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства РАСХН, Московская область; ⁴кафедра зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург; e-mail: petr@belozersky.msu.ru)

Филогенетические связи двух групп Mesozoa изучены с помощью сравнительного анализа полных объединенных последовательностей генов 18 и 28S рРНК. Показано, что две группы Mesozoa на филогенетических деревьях образуют статистически хорошо поддержанную кладу. По результатам анализов Mesozoa включаются в группировку Spiralia в составе группы Lophotrochozoa, проявляя тенденцию к сближению с одной из группировок Annelida.

Ключевые слова: гены 18 и 28S рРНК, Mesozoa, Orthonectida, Dicyemida, филогения.

В настоящее время под названием Mesozoa объединяются две небольшие по числу видов группы крайне просто организованных беспозвоночных животных: Dicyemida (Rhombzoa) и Orthonectida. Животные обеих групп построены из малого числа клеток, образующих наружный ресничный слой и внутренний репродуктивный слой из одной (Dicyemida) или многих (Orthonectida) клеток. У них нет также обычных для большинства животных тканей, органов или их систем, что давало бы основания считать этих животных промежуточным звеном между одноклеточными эукариотами и многоклеточными животными и находило отражение в их названии. Все без исключения представители этой группы являются эндопаразитами беспозвоночных и для всех них характерен сложный, не до конца изученный жизненный цикл со сменой бесполого и полового поколения, но без смены хозяина.

Вследствие скудости морфологических признаков филогенетические связи Mesozoa с другими группами беспозвоночных до сих пор остаются неясными. Анализ последовательностей генов 18S рРНК и Нох генов [1, 2, 3] и полученные в последнее время молекулярные [4] и морфологические данные [5] не вносят полной ясности в этот вопрос, а также ставят под сомнение и близкое родство двух групп Mesozoa друг с другом. В настоящей работе для решения вопроса о филогенетических связях Mesozoa проведен исчерпывающий анализ расширенного набора объединенных последовательностей генов 18 и 28S рРНК основных типов многоклеточных животных.

Почти полные нуклеотидные последовательности генов 28S рРНК двух видов Orthonectida (*Rhopalura litorali* и *Intoshia linei*) и одного вида Dicye-

mida (*Dicyema* sp.), а также гена 18S рРНК *Intoshia linei* получали с помощью ПЦР [6], используя соответствующие наборы праймеров [7, 8], с последующим прямым секвенированием продуктов амплификации с помощью автоматического анализатора в ЦКП “Геном” (ИМБ РАН). Полученные последовательности встраивали в выравнивание, содержащее такие же последовательности представителей основных типов многоклеточных животных с включением расширенного набора последовательностей 82 видов Annelida. Исходное выравнивание длиной 4564 нуклеотидные позиции включало последовательности 101 вида билатерально-симметричных животных.

Байесов анализ проводили с применением общей обратимой модели эволюции нуклеотидных последовательностей с учетом гетерогенности позиций по скорости эволюции и доли инвариантных позиций (GTR + Γ + I), параметры которой вычислялись непосредственно программой MrBayes [9]. В процессе 4 независимых анализов проводилось от 2 до 6 миллионов генераций по четырем — восьми марковским цепям. Из генерированных деревьев отбирали 10 000, из которых 6000 отбрасывали как не достигшие стационарного состояния цепей, а по остальным 4000 строили консенсусное дерево.

Схематический вариант дерева, построенного по исходному выравниванию, представлен на рис. 1. На этом дереве группировка Ecdysozoa представлена типами Cephalorhyncha (Priapulida + Kinorhyncha), Nematoda, Nematomorpha, Arthropoda. Spiralia включают в себя большую группу трохофорных животных, объединяемых в кладу Lophotrochozoa (Mollusca, Nemertea и Annelida, Brachiopoda, Echiura и Sipuncula), а также группировку Syndermata (Rotife-

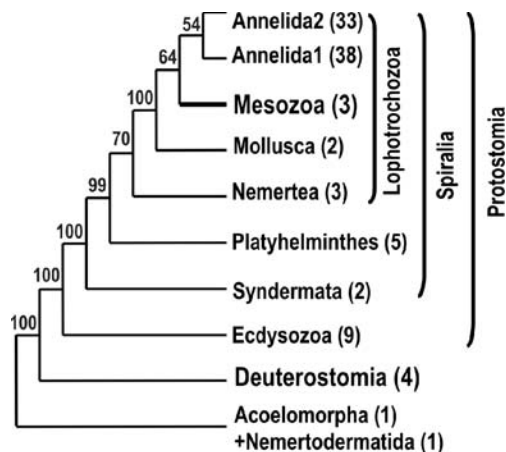


Рис. 1. Схематическое представление Байесова филогенетического дерева основных групп билатерально-симметричных животных. Анализируемый набор включал 101 последовательность генов 18 + 28S рРНК (4564 нуклеотидные позиции), из них 71 последовательность представляла Annelida и родственные им группы (Sipuncula, Echiura, Pogonophora). Цифры на ветвях показывают статистическую поддержку узлов в процентах постериорной вероятности. Цифры в скобках обозначают число последовательностей

ра + Acanthocephala) и плоских червей (Platyhelminthes). Три вида Mesozoa (2 вида Orthonectida и 1 вид Dicyemida) образуют хорошо поддержанную кладу, занимающую положение внутри группировки лофотрохофорных животных (Mollusca, Brachiopoda, Annelida, Sipuncula и Echiura). Учитывая тенденцию

сближения Mesozoa с Annelida и родственными им группами (Echiura, Pogonophora) и, в частности, с группировкой, включающей Capitellida, Echiura, Sipuncula и Oligochaeta, мы попытались уточнить положение Mesozoa, разбив последовательности Annelida и их родственников на две группы. Первая (Annelida1) включала в себя в числе прочих последовательности Capitellida, Echiura, Sipuncula и Oligochaeta, вторая (Annelida2) — все остальные группы Annelida, представленные в нашем анализе.

Результат анализа выравнивания с включением групп Annelida1 схематически показан на рис. 2, А. Видно, что Mesozoa, монофилия которых всегда имеет 100% поддержку и поддерживается также набором из 8 молекулярных синапоморфий, примыкают непосредственно к группе Annelida1 с поддержкой 69%. Хотя для Байесовых деревьев такая поддержка считается невысокой [10], она не уступает поддержке объединения группировок внутри клады Annelida1 (35–60%). На рис. 2, Б показано положение Mesozoa на дереве, полученном при анализе второго набора последовательностей, включающего группу Annelida2. На этом дереве Mesozoa не только не примыкают к группировке Annelida2, но занимают более базальное положение, объединяясь с плоскими червями (Platyhelminthes), тем не менее и в этом случае их положение в группировке Spiralia имеет поддержку 87%.

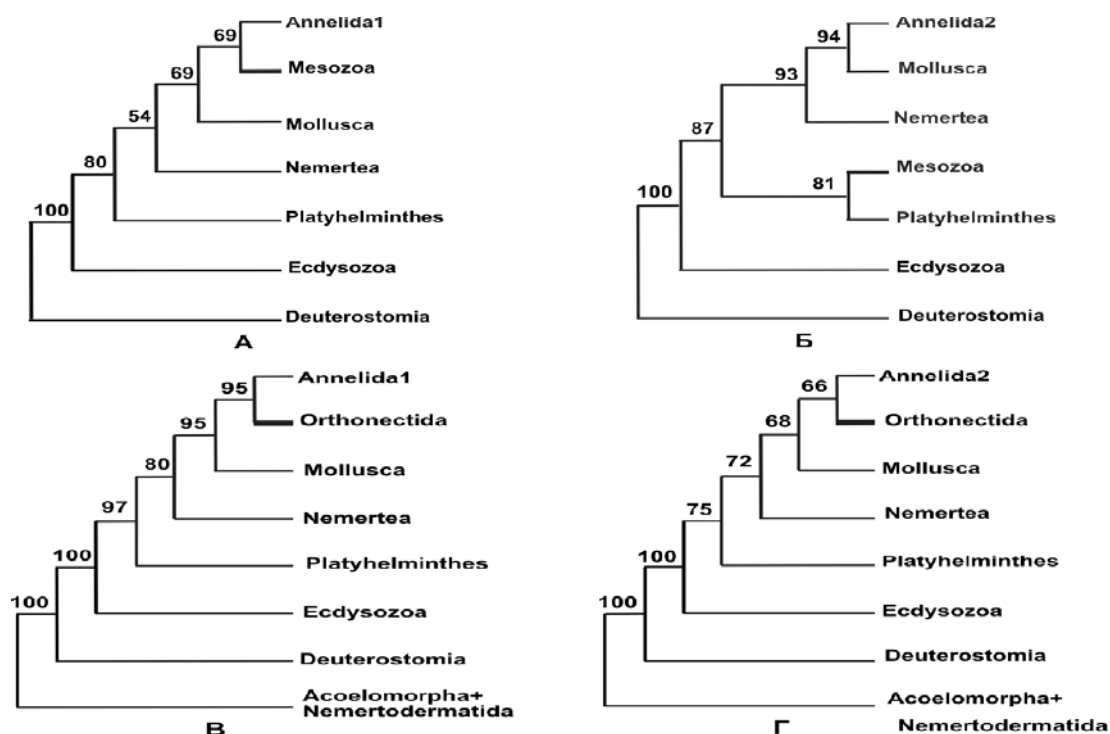


Рис. 2. Схематическое представление Байесова филогенетического дерева основных групп билатерально-симметричных животных. Анализируемые наборы включали разное число последовательностей генов 18 + 28S рРНК (4564 нуклеотидные позиции). На деревьях, изображенных на панелях А и Б, Mesozoa представлены двумя группами (Orthonectida и Dicyemida); на деревьях, изображенных на панелях В и Г, Mesozoa представлены только одной группой Orthonectida. Цифры на ветвях показывают статистическую поддержку узлов в процентах постериорной вероятности

На всех деревьях ветви, ведущие к Mesozoa, и особенно к Dicyemida, намного длиннее всех других ветвей, что говорит о высокой скорости эволюции генов их рРНК. По-видимому, на положении мезозой сказывается эффект притяжения длинных ветвей [11], смещающий эту группу к основанию дерева. Чтобы убедиться в этом, последовательности Orthonectida и Dicyemida были проанализированы раздельно в наборах, включающих Annelida1 и Annelida2. Одиночная последовательность Dicyemida (дерева не приведены) объединялась с последовательностями плоских червей, причем наборы Annelida1 и Annelida2 давали этому объединению несколько разную поддержку — 89 и 80% соответственно. При включении в наборы последовательностей только Orthonectida, они объединялись с последовательностями моллюсков и аннелид, причем наборы Annelida1 и Annelida2 поддерживали это объединение с показателями 95 и 66% соответственно (рис. 2, В, Г).

В сумме эти результаты показывают, что объединение Orthonectida и Dicyemida в одну моно-

филетическую группу Mesozoa поддержано данными молекулярного анализа. На положении Mesozoa на деревьях 18 + 28S рРНК сильно сказывается эффект притяжения длинных ветвей, причем наибольшее искажение вносит последовательность дициемиды. Вместе с тем можно определенно утверждать, что Mesozoa входят в группировку Spiralia, возможно, в составе лопотрохофорных животных, проявляя тенденцию сближения с группировкой Annelida, включающей Capitellida, Sipunculida, Echiurida, Oligochaeta.

Вычисления проводили с помощью суперкомпьютера СКИФ МГУ “Чебышёв”.

* * *

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 08-0401746-а и 09-04-01150-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pawlowski J. et al. Origin of the Mesozoa inferred from 18S rRNA gene sequences // Mol. Biol. Evol. 1996. Vol. 13. N 8. P. 1128—1132.
2. Hanelt B. et al. The phylogenetic position of Rhopalura ophiocoma (Orthonectida) based on 18S ribosomal DNA sequence analysis // Mol. Biol. Evol. 1996. Vol. 13. N 9. P. 1187—1191.
3. Kobayashi M. et al. Dicyemids are higher animals // Nature. 1999. Vol. 401. P. 762.
4. Петров Н.Б. и др. Объединенные последовательности генов 18 и 28S рРНК показывают родство гастротрих и дициемид с плоскими червями, а ортонектид — с аннелидами // Вычислительная филогенетика и геносистематика “ВФГС 2007”. М., 2007. С. 245—248.
5. Слюсарев Г.С. Тип ортонектида (Orthonectida): строение, биология, положение в системе многоклеточных животных // Журн. общ. биол. 2008. Т. 69. № 6. С. 403—427.
6. Saiki R.K., Gelfand D.H., Stoffel S., Scharf S.J., Higuchi R., Horn G.T., Mullis K.B., Erlich H.A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase // Science. 1988. Vol. 239. P. 487—491.
7. Medlin L., Elwood H.J., Stickel S., Sogin M.L. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions // Gene. 1988. Vol. 71. P. 491—499.
8. van der Auwera G., Chapelle S., de Wachter R. Structure of the large ribosomal subunit RNA of *Phytophthora megasperma*, and phylogeny of the oomycetes // FEBS Letters. 1994. Vol. 338. P. 133—136.
9. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics. 2001. Vol. 17. N 8. P. 1572—1574.
10. Alfaro M.E., Zoller S., Lutzoni F. Bayes or bootstrap? A Simulation Study Comparing the Performance of Bayesian Markov Chain Monte Carlo Sampling and Bootstrapping in Assessing Phylogenetic Confidence // Mol. Biol. Evol. 2003. Vol. 20. N 2. P. 255—266.
11. Philippe H., Germot A. Phylogeny of eukaryotes based on ribosomal RNA: long-branch attraction and models of sequence evolution // Mol. Biol. Evol. 2000. Vol. 17. P. 830—834.

Поступила в редакцию
15.04.2010.

NEW INSIGHT INTO PHYLOGENY OF MESOZOA: EVIDENCE FROM 18 AND 28S RRNA GENES

N.B. Petrov, V.V. Aleshin, A.N. Pegova, M.V. Ophitserov, G.S. Slyusarev

Phylogenetic relationships of two Mesozoa group were inferred on the base of analysis of nearly complete combined nucleotide sequences of 18 and 28S rRNA genes. Two Mesozoa groups, Orthonectida and Dicyemida, comprise in phylogenetic trees well statistically supported clade. In phylogenetic trees inferred, Mesozoa put into alliance Spiralia within Lophotrochozoa group exhibiting a tendency to unite with one of Annelida group.

Key words: 18 and 28S rRNA genes, Mesozoa, Orthonectida, Dicyemida, phylogeny.

Сведения об авторах

Петров Николай Борисович — докт. биол. наук, зав. лабораторией геносистематики животных НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ. Тел. (495)939-14-40; e-mail: petr@belozersky.msu.ru

Алешин Владимир Вениаминович — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. отдела эвол. биохимии НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ. Тел. (495)939-14-40.

Пегова Анна Николаевна — канд. биол. наук, ст. преподаватель Международного биотехнологического центра МГУ. Тел. (495)463-68-26; e-mail: Anna_Pegova@mail.ru

Офицеров Михаил Владимирович — канд. биол. наук, науч. сотр. Государственного научного учреждения Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства РАСХН. Тел. (495)511-13-57; 8-903-708-71-67.

Слюсарев Георгий Сергеевич — докт. биол. наук, проф. каф. зоологии беспозвоночных СПбГУ. Тел. + 7(812)328-96-88.