

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра зоологии

ЯСЮЧЕНЯ

Роман Андреевич

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕЛЬМИНТОВ ВОДОПЛАВАЮЩИХ ПТИЦ
И МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА ОСНОВЕ ДНК-МАРКЕРОВ

Дипломная работа

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е.Э. Хейдорова

Допущена к защите

«__» _____ 2023 г.

Зав. кафедрой зоологии

Доктор биологических наук, профессор С.В. Буга

Минск, 2023

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 42 с., 6 рис., 9 табл., 66 источников.

Ключевые слова: Trematoda, Paramphistomidae, Schistosomatidae, ДНК-маркеры, филогенетика, генетическое разнообразие, *Paramphistomum cervi*, *Bilharziella polonica*, COI, SSU, зооантропонозы.

Объект исследования: паразитические черви семейств Paramphistomidae и Schistosomatidae (*Paramphistomum cervi*, *Bilharziella polonica*).

Цель: апробировать существующие ДНК-методы верификации и оценки генетического разнообразия видов гельминтов и разработать новые подходы для их идентификации.

Методы исследования: паразитологические (неполное гельминтологическое вскрытие, компрессионный анализ, паразитологическая седиментация, консервирование проб), спектрофотометрические, молекулярно-генетические (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, электрофоретическое разделение, секвенирование), методы компьютерного анализа.

Исходя из полученной для *B. polonica* дендрограммы, можно судить о наличии для всех представленных гаплотипов по крайней мере двух заметно дивергировавших гаплотипических линий. Для образцов *P. cervi* также было обнаружено значительное генетическое разнообразие и, как минимум, две гаплотипические линии.

В рамках дипломной работы была теоретически проверена возможность применения полиморфизма размеров маркерных последовательностей ярдНК у представителей разных видов для идентификации гельминтов. В качестве маркерной последовательности была выбрана последовательность SSU рДНК, состоящая из 6 условных регионов. При помощи онлайн-инструмента BLAST и указанных в литературе праймеров были определены длины ампликонов и установлено, что регионы R1, R2, U1 заметно разнятся по размеру у разных родов гельминтов и могут быть полезны для их идентификации в смешанных образцах ДНК.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 42 с., 6 мал., 9 табл., 66 крыніц.

Ключавыя словы: Trematoda, Paramphistomidae, Schistosomatidae, ДНК-маркеры, філагенетыка, генетычная разнастайнасць, *Paramphistomum cervi*, *Bilharziella polonica*, COI, SSU, зооантрапозы.

Аб'ект даследвання: паразітычныя чарвякі сямействаў Paramphistomidae і Schistosomatidae (*Paramphistomum cervi*, *Bilharziella polonica*).

Мэта даследвання: апрабаваць існуючыя ДНК-метады верыфікацыі і ацэнкі генетычнай разнастайнасці відаў гельмінтаў і распрацаваць новыя падыходы для іх ідэнтыфікацыі.

Метады даследвання: паразіталагічныя (няпоўнае гельмінталагічнае выкрыццё, кампрэсійны аналіз, паразіталагічная седыментацыя, кансерваванне спроб), спектрафотаметрычныя, малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, электрафарэтычны падзел, секвеніраванне), метады камп'ютарнага аналізу.

Зыходзячы з атрыманай для *B. polonica* дэндраграмы, можна меркаваць аб наяўнасці для ўсіх прадстаўленых гаплатыпаў па меншай меры двух прыкметна дывергіраваных гаплатыпічных ліній. Для узораў *P. cervi* таксама было выяўлена значная генетычная разнастайнасць і, як мінімум, дзве гаплатыпічныя лініі.

У рамках дыпломнай працы была тэрэтычна праверана магчымасць прымянення палімарфізму памераў маркерных паслядоўнасцяў ярДНК у прадстаўнікоў розных відаў для ідэнтыфікацыі гельмінтаў. У якасці маркернай паслядоўнасці была абрана паслядоўнасць SSU рДНК, якая складаецца з 6 умоўных рэгіёнаў. Пры дапамозе анлайн-інструмента BLAST і паказаных у літаратуры праймераў былі вызначаны даўжыні ампліконаў і ўстаноўлена, што рэгіёны R1, R2, U1 прыкметна адрозніваюцца па памеры ў розных родаў гельмінтаў і могуць быць карысныя для іх ідэнтыфікацыі ў змешаных узорах ДНК.

ABSTRACT

Diploma project 42 p., 6 fig., 9 tables, 66 sources.

Keywords: Trematoda, Paramphistomidae, Schistosomatidae, DNA markers, phylogenetics, genetic diversity, *Paramphistomum cervi*, *Bilharziella polonica*, COI, SSU, zooanthroponoses.

Object of study: Paramphistomidae and Schistosomatidae (*Paramphistomum cervi*, *Bilharziella polonica*) parasitic worms.

Aim of the research: to test the existing DNA methods for verification and assessment of the genetic diversity of helminth species and to develop new approaches for their identification.

Research methods: parasitological (incomplete helminthological dissection, compression analysis, parasitological sedimentation, sample conservation), spectrophotometric, molecular genetic (DNA extraction, polymerase chain reaction, electrophoretic separation, sequencing), computer analysis methods.

Based on the dendrogram obtained for *B. polonica*, it can be judged that for all presented haplotypes there are at least two markedly divergent haplotype lines. *P. cervi* samples also showed significant genetic diversity and at least two haplotype lineages.

As part of the thesis, the possibility of using the size polymorphism of nrDNA marker sequences in representatives of different species for the identification of helminths was theoretically tested. The rDNA SSU sequence consisting of 6 conditional regions was chosen as a marker sequence. Using the BLAST online and the primers indicated in the literature, the lengths of the amplicons were determined and it was found that the R1, R2, U1 regions differ markedly in size in different genera of helminths and can be useful for their identification in mixed DNA samples.