

Полиморфные микросателлитные локусы дафний: компьютерное моделирование популяций со смешанной стратегией размножения и их экспериментальный анализ

Порошина А.А.*, Щербаков Д.Ю.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия

* a.poroshina@lin.irk.ru

Ключевые слова: Полиморфные локусы; капиллярный электрофорез; агентно-ориентированное моделирование; микросателлиты

Мотивация и цель: Полиморфные локусы играют важную роль в изучении генетического разнообразия и эволюционных процессов в популяциях. В частности, для кладоцер [1], таких как дафнии, которые демонстрируют смешанную репродуктивную стратегию, включающую как половое, так и бесполое размножение, понимание полиморфизма локусов может помочь в оценке доли полового размножения и других популяционных параметров. Ранее разработанная агентно-ориентированная модель позволила оценить генетическое разнообразие и параметр неравновесности (D) на смоделированных данных, что открыло возможность использования неравновесности для оценки доли полового размножения в популяции.

Целью настоящей работы является поиск полиморфных локусов в геномах дафний с помощью анализа последовательностей генома и экспериментального анализа реальных проб. Мы используем предсказанные алгоритмом праймеры для амплификации ДНК из проб дафний и капиллярного электрофореза для обнаружения полиморфных локусов [2]. Затем обсуждаются результаты искажения частот микросателлитных аллелей с предсказанными с помощью агентно-ориентированной модели. Таким образом мы оцениваем эффективность метода и уточняем параметры популяции, включая долю полового размножения и эффективный размер популяции.

Методы и алгоритмы: Разработанная ранее агентно-ориентированная [3] модель используется для моделирования перехода популяции диплоидных организмов от полового к бесполому размножению на селективно-нейтральных маркерах. Модель учитывает параметр эффективного размера популяции для расчета θ -параметра с использованием нейтральных маркеров. Специфика микросателлитных маркеров учитывается при моделировании и анализе результатов. Были собраны пробы дафний из различных популяций, была проведена экстракция ДНК из этих проб.

Капиллярный электрофорез был проведен для разделения и анализа амплифицированных ДНК-фрагментов. Результаты капиллярного электрофореза были зарегистрированы в виде электрофоретических профилей. Для фрагментного анализа было использовано оригинальное программное обеспечение на языке R. Обнаружены несколько полиморфных маркеров.

Результаты: В рамках настоящей работы мы провели комплексное исследование для поиска полиморфных локусов в геномах дафний.

В результате проведенного исследования, из 33 ранее разработанных микросателлитных маркеров, 10 были идентифицированы как полиморфные в геномах дафний. Эти полиморфные маркеры будут использоваться в дальнейшем для определения стратегии размножения внутри популяций дафний.

Вывод: Настоящая работа демонстрирует успешное применение компьютерного моделирования и экспериментального анализа для поиска полиморфных локусов в геномах дафний. Разработанные полиморфные маркеры будут полезны для оценки доли полового размножения и других популяционных параметров в популяциях дафний. Кроме того, результаты работы открывают перспективы для разработки аналогичных маркеров для других организмов, размножающихся факультативно, таких как гидры. Дальнейшее исследование с помощью этих маркеров может помочь в понимании эволюционных процессов и стратегий размножения в этих организмах.

Результаты настоящей работы могут быть полезны в различных областях, включая экологические исследования, мониторинг и управление популяциями, эволюционные исследования, разработку новых методов и практические приложения.

Финансирование: Исследование было выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-24-00791 «Метод оценки доли полового размножения у организмов со смешанной репродуктивной стратегией»).

Polymorphic microsatellite loci of daphnia: computer modeling of populations with a mixed breeding strategy and their experimental analysis

Poroshina A.A.*, Sherbakov D.Yu.

Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russia

* a.poroshina@lin.irk.ru

Key words: Polymorphic loci; capillary electrophoresis; agent-based modeling; microsatellites

Motivation and purpose: Polymorphic loci play an important role in the study of genetic diversity and evolutionary processes in populations. In particular, for cladocerans [1], such as daphnia, which exhibit a mixed reproductive strategy involving both sexual and asexual reproduction, understanding the polymorphism of loci can help in estimating the proportion of sexual reproduction and other population parameters. The previously developed agent-based model made it possible to estimate genetic diversity and the disequilibrium parameter (D) on the simulated data, which opened up the possibility of using disequilibrium to estimate the proportion of sexual reproduction in a population. The purpose of this work is to search for polymorphic loci in daphnia genomes using genome sequence analysis and experimental analysis of real samples. We use the primers predicted by the algorithm for DNA amplification from daphnia samples and capillary electrophoresis to detect polymorphic loci [2]. Then, the results of distortion of the frequencies of microsatellite alleles with those predicted using an agent-oriented model are discussed. Thus, we evaluate the effectiveness of the method and refine the population parameters, including the proportion of sexual reproduction and the effective population size.

Methods and algorithms: The agent-oriented model developed earlier [3] is used to simulate the transition of a population of diploid organisms from sexual to asexual reproduction on selectively neutral markers. The model takes into account the parameter of the effective population size to calculate the θ parameter using neutral markers. The specificity of microsatellite markers is taken into account when modeling and analyzing the results. Samples of daphnia from various populations were collected and DNA extraction was performed from these samples.

Capillary electrophoresis was performed to separate and analyze amplified DNA fragments. The results of capillary electrophoresis were recorded in the form of electrophoretic profiles. The original software in the R language was used for the fragment analysis. Several polymorphic markers have been found.

Results: As part of this work, we conducted a comprehensive study to search for polymorphic loci in the genomes of daphnia.

As a result of the study, out of 33 previously developed microsatellite markers, 10 were identified as polymorphic in the daphnia genomes. These polymorphic markers will be used in the future to determine the breeding strategy within daphnia populations.

Conclusion: This work demonstrates the successful application of computer modeling and experimental analysis to search for polymorphic loci in daphnia genomes. The developed polymorphic markers will be useful for estimating the proportion of sexual reproduction and other population parameters in daphnia populations. In addition, the results of the work open up prospects for the development of similar markers for other organisms that reproduce optionally, such as hydra. Further research using these markers may help in understanding the evolutionary processes and reproduction strategies in these organisms.

The results of this work can be useful in various fields, including environmental research, population monitoring and management, evolutionary research, the development of new methods and practical applications.

Funding: The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 22-24-00791 "Method for estimating the proportion of sexual reproduction in organisms with a mixed reproductive strategy").

Список литературы/References

1. Brede N. et al. Microsatellite markers for European Daphnia. *Mol Ecol Notes*. 2006;6(2):536-539
2. Thielsch A. et al. Discrimination of hybrid classes using cross-species amplification of microsatellite loci: methodological challenges and solutions in Daphnia. *Mol Ecol Resour*. 2012;12(4):697-705
3. Poroshina A., Sherbakov D. A Procedure for Modeling Genetic Diversity Distortions in Populations of Organisms with Mixed Reproductive Strategies. *Mathematics*. 2023;11(13):2985