

Выводы. Установлено, что при использовании неспецифических средств терапии продуктивность свиноматок (по показателям – сохранность приплода, масса гнезда и молочная продуктивность) составила:

1) сохранность приплода в первой опытной 89,2 %, во второй опытной 90,0 %, что на 5,87 % и 6,67 % соответственно больше, чем в контрольной группе.

2) на 30-35-й день средняя масса гнезда в первой опытной на 16,525 %, а во второй на 10,169 % больше, чем в контрольной группе.

3) прирост массы гнезда при отъеме на 30-35 день (с вычетом массы гнезда при рождении) в первой опытной группе на 21,26 % и на 13,75 % во второй больше, чем в контрольной группе.

Список литературы

1. Вачевский, С. С. Экономическая эффективность и продуктивность животных при использовании новых средств патогенетической терапии / С.С. Вачевский, Г.В. Осипчук, Р.А. Караман // Сборник научных трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства. - 2017. - Т. 2. - № 6. – С. 78-83.

2. Ключников, А. Г. Эффективность йодсодержащих средств при ММА у свиноматок и санации спермы хряков: Автореф. дис... канд. вет. наук. - Краснодар, 2008.

3. Сузанский, А.С. Применение новых ветеринарных препаратов в молочном животноводстве./ А.С. Сузанский, Э.Ж. Апиева, С.Н. Поветкин, Г.В. Осипчук, И.А.Родин, С.П. Складов, Н.И. Тарануха, А.Н.Симонов // Ветеринария Кубани. – 2012. - № 3. – С. 3-5.

[DOI: 10.34617/rpsz-9257](https://doi.org/10.34617/rpsz-9257)

УДК 578.81

АНАЛИЗ МЕТОДОВ ГЕНОМНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ TLS-ПОДОБНЫХ

**БАКТЕРИОФАГОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ТЕРАПИИ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ
ANALYSIS OF GENOMIC CLASSIFICATION METHODS OF
CLOSELY RELATED TLS-LIKE BACTERIOPHAGES
PROMISING FOR TREATMENT OF FARM ANIMALS**

Панюков Валерий Васильевич¹, канд. физ.-мат. наук

¹Институт математических проблем биологии РАН – филиал
ФИЦ «Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша
РАН», г. Пушкино, Российская Федерация,

Киселев Сергей Сергеевич², канд. биол. наук

²Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделе-
ние ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследо-
ваний РАН», г. Пушкино, Российская Федерация,

Зимин Андрей Антонович³, канд. биол. наук

³Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.
Скрябина РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушин-
ский научный центр биологических исследований РАН»,

г. Пушкино, Российская Федерация ,

Panyukov Valery Vasilievich¹, Ph. D. Phys.-Math. Sci.

¹Institute of Mathematical Problems of Biology RAS - the Branch of
Keldysh Institute of Applied Mathematics of Russian Academy of
Sciences, Pushchino, Russian Federation,

Kiselev Sergej Sergeevich², Ph. D. Biol. Sci.

²Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Russian Federation,

Zimin Andrey Antonovich³, Ph. D. Biol. Sci.,

G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of
Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino,
Russian Federation.

Аннотация: бактериофаги рассматриваются в качестве перспективных средств для терапии сальмонеллёзов сельскохозяйственных животных, обработки продуктов животноводства и кормов. В данной работе исследована таксономия 12 TLS-подобных фагов с помощью методов полногеномного анализа. Показано, что подход, основанный на попарном сравнении гено-

мов и расчёте расстояний между ними, можно использовать для реконструкции филогении близкородственных бактериофагов.

Ключевые слова: *k*-меры; классификация; бактериофаги.

Abstract: bacteriophages are considered as promising agents for the treatment of salmonellosis of farm animals, the processing of livestock products and feed. The taxonomy of 12 TLS-like phages was investigated using the methods of genome-wide analysis. It is shown that an approach based on comparison of genomes and calculation of pairwise distances can be used to the phylogeny reconstruction of closely related bacteriophages.

Key words: *k*-mers; classification; bacteriophages.

Salmonella enterica является глобальным пищевым патогеном человека и животных, значение которого усиливается из-за появления штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Использование терапевтических фагов позволяет контролировать распространение этого патогена. Геном бактериофага vB_SenS_PHB07, относящийся к группе TLS-подобных вирусов, рассматривается авторами работы [1] как перспективный для получения фаговых антибактериальных средств против сальмонелл. В задачи работы входил поиск геномов родственных ему фагов в базе данных GenBank и дальнейший их анализ различными методами компьютерной геномики.

Объекты исследования. Приводим полную таксономию объектов изучения: Viruses; царство – dsDNA viruses, класс – по RNA stage; отряд – Caudovirales; семейство – Siphoviridae; подсемейство – Tunavirinae; род – Tlsvirus.

Методика. Используемые программные средства: BLASTn, Mauve (версия 2.4.0) (для получения полногеномного выравнивания), MEGA X 64-bit (для построения филогенетических деревьев методами UPGMA и максимального правдоподобия), программа собственной разработки GnmDistUsKm (для анализа сходства и расстояния между геномами по используемым *k*-мерам).

Результаты исследований и их обсуждение. При поиске геномов фагов, гомологичных вирусу сальмонеллы vB_SenS_PHB07, была использована программа BLASTn (с оп-

цией megablast). В результате были найдены 11 геномов бактериофагов, близкородственных к таксонообразующему бактериофагу TLS (минимальная степень покрытия 80 %). Хозяином шести фагов является *Salmonella* (фаг 36, GJL01, YSP2, FSL SP-126, phSE-2, phSE-5), трёх — *Citrobacter* (Sazh, Stevie, CF1 DK-2017), двух — *Escherichia* (TLS, LL5). Размер геномов варьировал в пределах 41085 – 51818 нуклеотидных пар, а степень идентичности с геномом vB_SenS_PHB07 — от 92,4 % до 96,4 % согласно анализу с помощью BLASTn.

Для построения филогенетических деревьев были использованы 2 подхода. Оба они основаны на сравнении геномных последовательностей, но в первом подходе используется множественное выравнивание, а для второго выравнивание не требуется. Полногеномное выравнивание всех 12 последовательностей было сделано с помощью BLASTn (с опцией megablast) и программы Mauve. В каждом геноме был выявлена область с высокой степенью гомологии, занимающий от 48 % (у FSL SP-126) до 60,5 % (у фага 36) общей длины. Результаты выравнивания этих областей в Mauve были использованы для построения филогенетического дерева с помощью метода максимального правдоподобия в программе MEGA X 64-bit [2] (рис. 1). В качестве оптимальной модели нуклеотидных замен была выбрана GTR+G+I (General Time Reversible) с 5 гамма-категориями для учёта разных скоростей эволюции и инвариантными сайтами.

Второй подход был основан на собственных исследованиях и программных средствах. Для этого анализа использован учёт общих реализованных k -меров (коротких олигонуклеотидов длиной k оснований) в геномах. При расчётах k -меры берутся со сдвигом в 1 нуклеотид. Прямая и инвертированная последовательность считаются идентичными. Нами было выбрано $k = 9$. Для каждой пары геномов рассчитывался индекс сходства по Сёрсенсену [3] (данная мера сходства широко используется в экологии для сравнения видового состава сообществ).

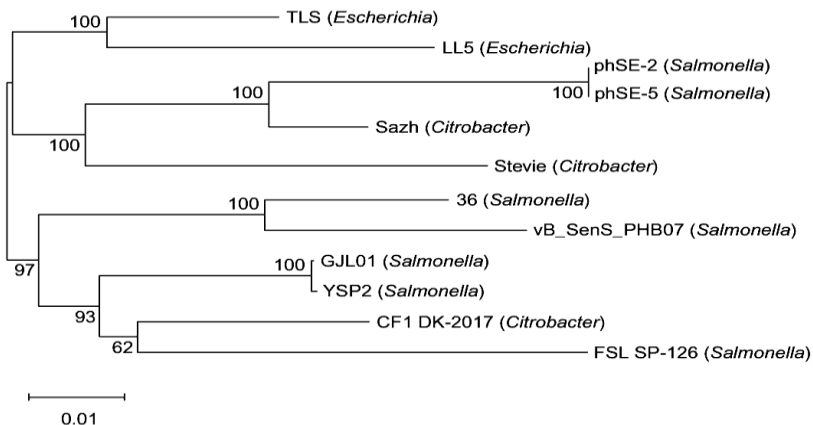


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное методом максимального правдоподобия на основе выравнивания из программы Mauve. Хозяева фагов указаны в скобках. Значения бутстрап-поддержки в процентах от 2000 реплик приведены рядом с узлами ветвления. На масштабной линейке отражено число нуклеотидных замен на позицию.

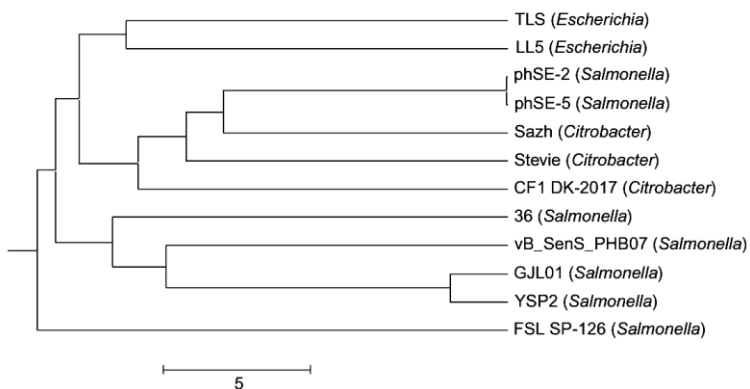


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное с помощью метода UPGMA на основе попарного сравнения геномов по общим используемым 9-мерам. Хозяева фагов указаны в скобках. На масштабной линейке отражено различие между геномами в процентах.

Матрица сходства переводилась в матрицу расстояний по формуле:

$$dist = 1 - sim ,$$

где *dist* — расстояние между двумя геномами, а *sim* — сходство по Сёренсену. Эта матрица расстояний использовалась на входе алгоритма кластеризации UPGMA в MEGA X 64-bit. Полученное филогенетическое дерево показано на рис. 2.

Топология деревьев, представленных на рис. 1 и рис. 2, содержит определённые различия. Во-первых, разное положение генома бактериофага CF1 DK-2017, хозяином которого является *Citrobacter*. Видно, что на рис. 1 он попал в кладу с тремя сальмонеллёзными фагами (GJL01, YSP2 и FSL SP-126). На рис. 2, где изображено дерево, построенное предложенным нами методом, этот геном находится в кластере с двумя другими геномами фагов *Citrobacter* (Sazh, Stevie) и двумя геномами сальмонеллёзных фагов (phSE-2, phSE-5). Кроме того, геном фага FSL SP-126 на рис. 2 выделился во внешнюю группу.

Выводы. Очевидно, что метод попарного сравнения геномов по общим используемым *k*-мерам можно использовать для классификации геномов близкородственных организмов и реконструкции филогении.

Работа частично поддержана средствами гранта РФФИ (проект № 18-07-00899).

Список литературы

1. Chen, Y., Sun, E., Song, J., Tong, Y., Wu B. Three *Salmonella enterica* serovar Enteritidis bacteriophages from the *Siphoviridae* family are promising candidates for phage therapy // Can. J. Microbiol. – 2018. – 64:865-875.
2. Kumar, S., Stecher, G., Li M., Knyaz, C., Tamura, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. – 2018. – 35:1547-1549.
3. Sorensen, T. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content // Kongelige Danske Videnskabernes Selskab. Biol. krifter. — 1948. – 4:1-34.