

Morphological and molecular biological research of limpets in Shenzhen and its adjacent cities

Liang Jialong, Zhao Kexin, Ma Xiaonan, Zang Jiayi

Student, 4th year of biology

Shenzhen MSU-BIT University

E-mail: 1120200222@smbu.edu.cn

Limpets, belonging to Mollusca, Gastropoda, are abundant in the intertidal rocky zones globally, which are important in marine ecology. Due to the large number of limpets and the diversity of its shell morphology, it is hard to accurately identify limpets.

We aim to accurately identify limpets species by morphological and molecular biological methods, and secondly to clarify the relationships between species by phylogenetic methods.

In our research, we conducted morphological investigations on almost 180 limpets samples taken from 7 sites of Shenzhen Bay and adjacent Shenzhen's eastern area and recorded the features of all limpets, including the basic parameters of limpets (length, width, height, shape and appearance of shell). DNA barcoding technology is widely used in species identification. Among them, cytochrome c oxidase I (COI) and 16S ribosomal RNA (16S rRNA) genes are widely used because they were proved to have "Barcoding Gap". So as to improve the accuracy and credibility of our results, we used two barcode genes COI and 16S rRNA to make our identification of limpets more reliable.

Finally, we constructed the phylogenetic tree using the Maximum Likelihood (ML) and Maximum parsimony (MP) methods to deeper understand the phylogenetic relationships of limpet species.

The results obtained through morphological and molecular biological methods vary. Due to the small differences between species in the same genus, we were only able to distinguish 3 families (Siphonariidae, Lottiidae, Nacellidae) and 5 genus (Siphonaria, Nipponacmea, Cellana, Lottia, Patelloida), but we were able to accurately distinguish a total of 10 species of limpets by DNA barcoding. At the same time, the use of two barcoding genes combined with morphological analysis resulted in more precise and reliable species identification.

We also constructed phylogenetic trees (Fig.1) using the ML, MP methods and clearly recognized the phylogenetic relationships among the various species. A large number of different limpets species are widely distributed in the intertidal zones of Shenzhen and its adjacent cities. And Cellana and Nipponacmea are the dominant species in these regions.

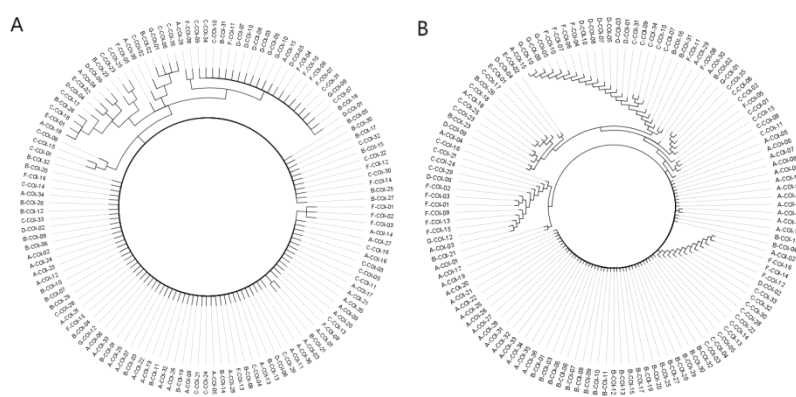


Fig. 1A. Phylogenetic tree by COI
1B. Phylogenetic tree by 16S rRNA

References

1. Teruya S, Setiamarga D H E, Nakano T, et al. Molecular phylogeny of Nipponacmea (Patellogastropoda, Lottiidae) from Japan: a re-evaluation of species taxonomy and morphological diagnosis[J]. ZooKeys, 2022, 1087: 163.
2. Chen J, Li Q, Kong L F, et al. COI-based DNA barcoding in Tapetinae species (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) along the coast of China[J]. 2010.

Видовой состав злаков (Poaceae) кампуса университета МГУ-ППИ в Шэньчжэне

Чжан Ф.

Студент, 4 курс бакалавриата

Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне,

биологический факультет, Шэньчжэнь, Китай

E-mail: 1271329897@qq.com

Злаки (Poaceae) – распространенные по всему миру растения, отличающиеся высокой степенью сходства внешнего вида у разных видов, например, у них уникальные просто организованные цветки. Все вышеперечисленное делает злаки сложными для идентификации. Именно поэтому флора злаков в Юго-Восточной Азии до сих пор недостаточно изучена.

Целью данного исследования было выявить флору злаковых в районе Лунган города Шэньчжэнь. В качестве пробной площадки был выбран кампус университета МГУ-ППИ в Шэньчжэне, где мы проводили исследовательские маршруты. Мы исследовали территорию 4 раза: два раза с начала июня по конец июля 2023 года, еще один раз в сентябре 2023 года и один раз в январе 2024 года. Трижды (8 июня 2023 года, 8 июля 2023 года и 11 января 2024 года) мы фотографировали все встреченные виды злаков. Также мы идентифицировали 22 гербарных образца злаков, собранных на территории кампуса и в его ближайших окрестностях осенью 2021 и 2022 годов. Для идентификации мы использовали "Flora of China" (т. 22) [1] и "Flora of Shenzhen" (т. 4) [2].

Всего мы обнаружили 18 видов из семейства Poaceae. Все эти виды широко распространены в тропиках и субтропиках, некоторые являются сорняками. 12 видов были точно зарегистрированы для района Лунган (согласно Flora Of Shenzhen), пять видов не были зарегистрированы для Лунгана, но, как утверждается, широко распространены в Шэньчжэне. И один вид, *Bothriochloa bladhii*, не был найден в Лунгане и не был признан широко распространенным в Шэньчжэне. Поэтому мы представляем его как флористическую находку.

Наше исследование еще раз показывает, что если мы сделали новую находку на такой маленькой территории, то это свидетельствует о том, что район Лунган в Шэньчжэне все еще недостаточно изучен, и необходимы более тщательные исследования.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю Ю.О. Копылову-Гуськову. Исследование проводилось при финансировании по Программе стабильной поддержки университетов г. Шэньчжэнь (грант 210101006).

Литература

1. Flora of China. Volume 22. Poaceae. Wu Z., Raven P., Hong D., (eds.). Beijing and St. Louis, 2006. 752 p.
2. Poaceae // Cui D., Xia N., Liang Q., Chen W., Liu Q. Flora of Shenzhen. Volume 4. Shenzhen, 2016. P. 220-399. [in Chinese].

Генетическое исследование симбиотической копеподы *Mecomerinx notabilis* (Humes & Cressey, 1961) с полуострова Дапенг.

Чэнь Ючжао

Студент, 4 курс бакалавриата

Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, биологический факультет, Шэньчжэнь

E-mail : 1120200191@smbu.edu.cn

Данных о митохондриальных геномах копепод или длинных участках ядерной ДНК относительно мало. Для мелких извлечение ДНК может оказаться сложной задачей. Однако с развитием новых технологий возможно извлекать ДНК из образцов меньшего размера. [1] Нашей целью было извлечь полную геномную ДНК *Mecomerinx notabilis* (Humes & Cressey, 1961) с полуострова Дапенг в Шэньчжэне и получить полный 18S и митохондриальный геном. При чтении ядерного гена мы использовали секвенирование по Сэнгеру для получения отдельных фрагментов. [2] Для полного митохондриального генома мы использовали высокопроизводительное секвенирование. При анализе образцов мы использовали MUSCLE [3] для выравнивания последовательностей и MrBayes 3.2 [4] для филогенетических реконструкций.

Показана конспецифичность последовательностей 28S и H3 для самцов и самок *M. notabilis* подтверждает правильность первоначальной идентификации в обоих случаях. Однако поскольку их особи слишком малы, экстракция ДНК отдельных животных дает низкие концентрации, поэтому мы модифицировали метод экстракции ДНК, что позволило получить достаточные количества геномной ДНК для дальнейших исследований. Мы собрали 18S полной длины из шести отдельных прочтений с достаточным перекрытием. Наша реконструкция филогении хорошо разрешена и подтверждает ожидаемое филогенетическое положение *M. notabilis*. В настоящее время мы секвенируем полный митохондриальный геном *M. notabilis* и в дальнейшем планируем построить обновленную реконструкцию филогении на основе наших данных и доступных полных геномов копепод. Полученные результаты показывают что образцы *M. notabilis*, обнаруженные в Дапенге, реконструированы как монофилетические с другими опубликованными последовательностями рода *Mecomerinx*. Кроме того мы успешно получили геномную ДНК достаточного качества и количества для секвенирования митогенома и ожидаем в ближайшее время завершить сборку генома и его аннотацию.

Литература

1. Jang-Seu Ki, Heum Gi Park, Jae-Seong Lee. (2009). The complete mitochondrial genome of the cyclopoid copepod *Paracyclopina nana*: A highly divergent genome with novel gene order and atypical gene numbers. *Gene*, 435, 13–22
2. Junzong He, Zhihao Zhou, Yan Huang, Jinmei Feng, Wenxiang Li, Guitang Wang and Congjie Hua. (2023) Evolutionary Rates, Divergence Rates, and Performance of Individual Mitochondrial Genes Based on Phylogenetic Analysis of Copepoda. *Genes* 2023, 14, 1496.
3. Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792–1797.
4. Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Hohn, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, 539–542.