

## Молекулярно-филогенетическое исследование рода × *Trisetokoeleria* Tzvelev

### Molecular phylogenetic study of the genus × *Trisetokoeleria* Tzvelev

Гнутиков А. А.<sup>1,2</sup>, Носов Н. Н.<sup>2</sup>, Королева Т. М.<sup>2</sup>, Пунина Е. О.<sup>2</sup>, Родионов А. В.<sup>2</sup>

Gnutikov A. A.<sup>1,2</sup>, Nosov N. N.<sup>2</sup>, Koroleva T. M.<sup>2</sup>, Punina E. O.<sup>2</sup>, Rodionov A. V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, г. Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: alexandr2911@yandex.ru;

<sup>2</sup> Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург, Россия.

E-mails: nnosov2004@mail.ru, korolevatm@gmail.com, elizaveta\_punina@mail.ru, avrodionov@mail.ru

<sup>1</sup> N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> V. L. Komarov Botanical Institute (BIN RAS), St-Petersburg, Russia

**Реферат.** Проведено молекулярно-филогенетическое исследование гибридного рода × *Trisetokoeleria* Tzvelev и некоторых предполагаемых предковых таксонов с использованием маркерных последовательностей ITS1-5.8S рДНК-ITS2, *trnL-trnF* и *trnK-rps16*. Кроме того, было проведено секвенирование нового поколения (NGS) на платформе Illumina последовательности ITS1 и начала гена 5.8S рРНК. Секвенирование по Сэнгеру выявило частичное совпадение с классическими представлениями о происхождении рода, причем × *T. jurtzevii* группируется с *Koeleria asiatica* и *K. macrantha*, а × *T. taimyrica* монофилетична с *Trisetum spicatum*. По данным NGS-секвенирования все виды × *Trisetokoeleria* содержат в своем геноме последовательности ITS *T. spicatum* – они самые массовые. Другие субгеномы различны у разных видов и не всегда соответствуют данным морфологического анализа.

**Ключевые слова.** Гибриды, ITS, Poaceae, ×*Trisetokoeleria*, филогения.

**Summary.** A molecular phylogenetic study of a hybrid genus × *Trisetokoeleria* Tzvelev and some putative ancestral taxa was carried out using ITS1-5.8S rRNA gene-ITS2, *trnL-trnF* and *trnK-rps16* marker sequences. In addition, new generation sequencing (NGS) on the Illumina platform of the ITS1-5.8S rRNA gene sequence was carried out. Sequencing according to Sanger revealed a partial coincidence with classical ideas about the origin of the genus: × *T. jurtzevii* is grouped with *Koeleria asiatica*; *K. macrantha*, and × *T. taimyrica* is monophyletic with *Trisetum spicatum*. According to NGS sequencing, all × *Trisetokoeleria* species contain *T. spicatum* ITS sequences in their genome – they are the most widespread. Other subgenomes are various in different species and do not always correspond to the data of morphological analysis.

**Key words.** Hybrids, ITS, phylogeny, Poaceae, ×*Trisetokoeleria*.

Род × *Trisetokoeleria* Tzvelev (трищетиноко-тонконог) – это редкий гибридогенный таксон из семейства Poaceae, произрастающий в арктических районах Сибири и Дальнего Востока России. Вместе с предполагаемыми родительскими родами *Koeleria* Pers. и *Trisetum* Pers. он относится в подтрибе *Koeleriinae* Aschers. et Graebn. трибы *Aveneae* Dumort. От рода *Koeleria* виды × *Trisetokoeleria* отличаются более или менее выраженной короткой (1–3 мм) слабоизогнутой или прямой остью на нижних цветковых чешуях, отходящей немного (0,5–1,5 мм) ниже их верхушек, полупрозрачными голыми колосковыми чешуями, а также коротко-густоволосистыми или шероховатыми от шипиков веточками метелки; в отличие от рода *Trisetum* ости нижних цветковых чешуй намного короче, прямые или очень слабо изогнутые, иногда шероховатые. Также для одних видов трищетиноко-тонконога характерны более крупные, а для других – более мелкие пыльники, чем у родительских таксонов. В роде описано три вида. И если один из родительских таксонов, принявших участие в образовании межродового гибрида – *K. asiatica* Domin s. l. – представлен одним видом, хоть и в широком смысле, второй – *Trisetum* – тремя

нотовидами из различных секций: × *T. gorodkowitzii* (Rozhev.) Tzvelev – гибрид *K. asiatica* s. l. × *Trisetum ruprechtianum* Tzvelev (*T. sibiricum* Rupr. subsp. *litorale* Rupr.) (Цвелев, 1971), × *T. jurtzevii* Prob. – гибрид *K. asiatica* s. l. × *T. spicatum* (L.) K. Richt. (Пробатова, 1984), и × *T. taimyrica* Tzvelev – гибрид *K. asiatica* s. l. × *Trisetum subalpestre* (Hartm.) Neuman (*T. agrostideum* (Laest.) Fries) (Цвелев, 1974).

Молекулярно-филогенетические исследования рода ранее не проводились. Между тем, было весьма интересно узнать, насколько гипотезы о гибридном происхождении, построенные исключительно на наблюдениях за мозаикой морфологических признаков, будут согласоваться с результатами молекулярно-генетическими, можно ли уточнить какие родительские виды принимали участие формирования × *Trisetokoeleria*.

Из всего разнообразия молекулярных маркеров при исследовании геномов злаков наиболее часто применяются последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1–ген 5.8S рРНК–ITS2 и последовательности хлоропластной ДНК. Нами были секвенированы последовательности ITS1–5.8S рДНК–ITS2 ядерного генома, а также *trnL–trnF* и *trnK–rps16* хлоропластного генома для двух видов рода (× *T. jurtzevii* и × *T. taimyrica*). Секвенирование образцов проводили по методу Сэнгера на генетическом анализаторе ABI3500 в Центре коллективного пользования БИН РАН. Филогенетический анализ проведен с помощью методов Байеса (BI) и максимального правдоподобия (ML) с учетом оптимальных моделей нуклеотидных замен в MEGA v. 7.0.16. Для всех трех видов рода (включая × *T. gorodkowitzii*) было проведено NGS-секвенирование (на платформе Illumina) внутреннего спейсера – ITS1–ген 5.8S рРНК в ЦКП «геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии

По всем исследованным фрагментам при секвенировании по Сенгеру × *T. jurtzevii* группируется с видами рода *Koeleria* – *K. asiatica* и *K. macrantha* (Ledeb.) Schult., входящими в одну типовую секцию *Koeleria* и, что необычно, с новозеландскими видами рода *Trisetum* (*T. drucei* Edgar, *T. youngii* Hook. f., *T. tenellum* (Petrie) A.W. Hill), образуя монофилетичную кладу. Здесь мы видим пример феномена межполюсной дизъюнкции, когда арктические и арктоальпийские виды в большей степени схожи с растениями Субантарктики (Winkworth et al., 2005; Родионов и др., 2010). В свою очередь, эта кладка с хорошей поддержкой является сестринской кладке, куда входит вид × *T. taimyrica*. Этот вид группируется с арктоальпийским *T. spicatum*, что в данном случае противоречит морфологическим представлениям о родительских видах таймырского трищетино-тонконога, а также с южноафриканской *Koeleria capensis* Nees.

По данным NGS-секвенирования геном × *T. taimyrica* содержит в себе несколько субгеномов, а именно – самый массовый, родственный *T. spicatum*, содержащий более 15 тыс. ридов (прочтений). Второй – родственный *Deyeuxia viridiflavescens* (Poir.) Kunth (род, входящий в *Calamagrostis* Adans. s.l.), он составляет минорную компоненту (более 20 ридов). Скорее всего, последовательности этого субгенома претерпели сильную трансформацию в полиплоидном геномном наборе, либо предковый таксон, передавший этот геном, мог вымереть (Родионов, 2013). Геном × *T. jurtzevii* представлен двумя основными субгеномами – *T. spicatum* и *Koeleria splendens* C. Presl, которая принадлежит типовой секции, как и *K. asiatica*, что подтверждает классические представления автора вида Н. С. Пробатовой о родительских таксонах этого гибрида.

× *T. gorodkowitzii* в своем геноме содержит только последовательности ITS1, родственные *T. spicatum*, и не несет рДНК, близких к рДНК *K. asiatica*. Вероятно, × *T. gorodkowitzii* прошла более долгий путь изогенизации последовательностей ITS в полиплоидном геномном наборе, в результате чего последовательности, близкие к роду *Koeleria*, были утрачены и/или замещены рДНК *T. spicatum* в соответствии с моделью эволюции повторенных генов «рождение-и-смерть» (Родионов и др., 2016).

Полученные данные отчасти подтверждают традиционные представления об эволюции рода × *Trisetokoeleria*, но также дают нам неизвестную ранее информацию о происхождении этого рода злаков. Поскольку в работе были задействованы не все предполагаемые предковые таксоны (например, *T. ruprechtianum*), необходимы дальнейшие исследования.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» при поддержке грантов РФФИ № 18-04-01040 и КОМФИ 17-00-00338.

ЛИТЕРАТУРА

**Пробатова Н. С., Юрцев Б. А.** Новые таксоны семейства Poaceae с северо-востока СССР // Бот. журн., 1984. – Т. 69, № 5. – С. 688–692.

**Родионов А. В., Гнутиков А. А., Коциян А. Р., Коцербуба В. В., Носов Н. Н., Пунина Е. О., Райко М. П., Тюпа Н. Б., Ким Е. С.** Последовательность ITS1–5.8S рДНК–ITS2 в генах 35S рРНК как маркер при реконструкции филогении злаков (сем. Poaceae) // Успехи современной биологии, 2016. – Т. 136, №5. – С. 419–438.

**Родионов А. В.** Полиплоидия и межвидовая гибридизация в эволюции цветковых растений // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. – Т. 17, № 4–2. – С. 916–929.

**Родионов А. В., Носов Н. Н., Ким Е. С., Мачс Э. М., Пунина Е. О., Пробатова Н. С.** Происхождение полиплоидных геномов мятликов (*Poa* L.) и феномен потока генов между северной Пацификой и субантарктическими островами // Генетика, 2010. – Т. 46, № 12. – С. 1598–1608.

**Цвелев Н. Н.** Новые таксоны злаков (Poaceae) // Новости сист. высш. раст., 1974. – Т. 11. – С. 70–72.

**Цвелев Н. Н.** К систематике родов *Trisetum* Pers. и *Koeleria* Pers. в СССР // Новости сист. высш. раст., 1971 – Т. 7. – С. 59–73.

**Winkworth R. C., Wagstaff S. J., Glenny D., Lockhart P. J.** Evolution of the New Zealand mountain flora: origins, diversification and dispersal // Organisms, Diversity and Evolution, 2005. – Vol. 5, P. 237–247.