

УДК 575.17:582.52

DOI: 10.14258/pbssm.2021066

Геномная конституция диплоидных видов рода *Avena* L. с А-геномом по данным секвенирования следующего поколения (NGS)

Genomic constitution of diploid species of the genus *Avena* L. with A-genome according to the data of the next-generation sequencing (NGS)

Носов Н. Н.¹, Гнутиков А. А.², Лоскутов И. Г.², Блинова Е. В.², Родионов А. В.¹Nosov N. N.¹, Gnutikov A. A.², Loskutov I. G.², Blinova E. V.², Rodionov A. V.¹¹ Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: nnosov2004@mail.ru, i.loskutov@vir.nw.ru, e-blinova.blinova2017@yandex.ru, avrodionov@mail.ru

² Komarov Botanical Institute (BIN RAS), St-Petersburg, Russia² Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, г. Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: alexandr2911@yandex.ru

² N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St-Petersburg, Russia

Реферат. Для диплоидных (2x) видов с А-геномом, а также для гексаплоида (6x) из рода *Avena* было проведено локус-специфичное секвенирование следующего поколения (NGS) на платформе Illumina последовательности района внутреннего транскрибируемого спейсера ITS1 и начала гена 5.8S рРНК. Показано высокое разнообразие и разнородность геномов диплоидных видов. Выявлено, что геномы современных диплоидных видов овсов относительно далеко отстоят от гексаплоидных видов. Обнаружено, что *A. canariensis* занимает обособленное положение среди остальных диплоидных видов, а также принимает лишь незначительное участие в формировании геномов гексаплоидов.

Ключевые слова. А-геном, овес, филогения, NGS, Poaceae.

Summary. For diploid (2x) species with the A-genome, as well as for hexaploid (6x) from the genus *Avena*, a locus-specific next-generation sequencing (NGS) of the sequence of the region of the internal transcribed spacer ITS1 and the beginning of the 5.8S rRNA gene was carried out on the Illumina platform. The high diversity and heterogeneity of the genomes of diploid species are shown. It was revealed that the genomes of modern diploid oat species are relatively far removed from the hexaploid species. It was found that *A. canariensis* occupies an isolated position among other diploid species, and also takes only an insignificant role in the formation of hexaploid genomes.

Key words. A-genome, NGS, oats, phylogeny, Poaceae

Сравнительный анализ морфологии митотических хромосом видов в роде *Avena* L. показал, что диплоидные виды овса могут иметь геномы А или С-типа, при этом было предложено различать пять вариантов А-генома. Варианты генома А отличаются друг от друга по числу акроцентрических хромосом. Геномы *A. canariensis* B. R. Baum, Rajhathy et D. R. Sampson (Ac), *A. damascena* Rajhathy et B. R. Baum (Ad), *A. longiglumis* Durieu (Al), и *A. prostrata* Ladiz. (Ap), – видоспецифичны, в то время как разновидность генома As встречается у нескольких диплоидных видов: *A. atlantica* B. R. Baum et Fedak, *A. hirtula* Lag., *A. strigosa* Schreb., *A. wiestii* Steud. (Loskutov, Rines, 2011). Виды с разными вариантами А-генома не скрещиваются, гибриды их могут быть получены, однако они полностью или почти полностью стерильны, в то же время виды с геномом As в эксперименте скрещиваются и дают фертильное потомство (Лоскутов, 2001; Ladizinsky 2012). Диплоидные овсы с А-геномом – это преимущественно средиземноморские и ближневосточные растения (Древнее Средиземноморье), как правило, сорные и сорно-рудеральные.

Мы исследовали внутригеномный полиморфизм рДНК у дикорастущих диплоидных овсов с А-геномами, а также у культурного гексаплоида *A. sativa* var. *aurea* Körn.

Локус-специфичное секвенирование внутреннего спейсера – ITS1 – ген 5.8S рРНК методом NGS (секвенирование следующего поколения) было выполнено на платформе Illumina в Центре коллективного пользования «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ). Пул секвенированных ITS-последовательностей был обработан с помощью программы TCS 1.2 (Clement et al., 2000). Результаты TCS-расчетов были обработаны и визуализированы в программе TCS BU (Múrias dos Santos et al., 2016).

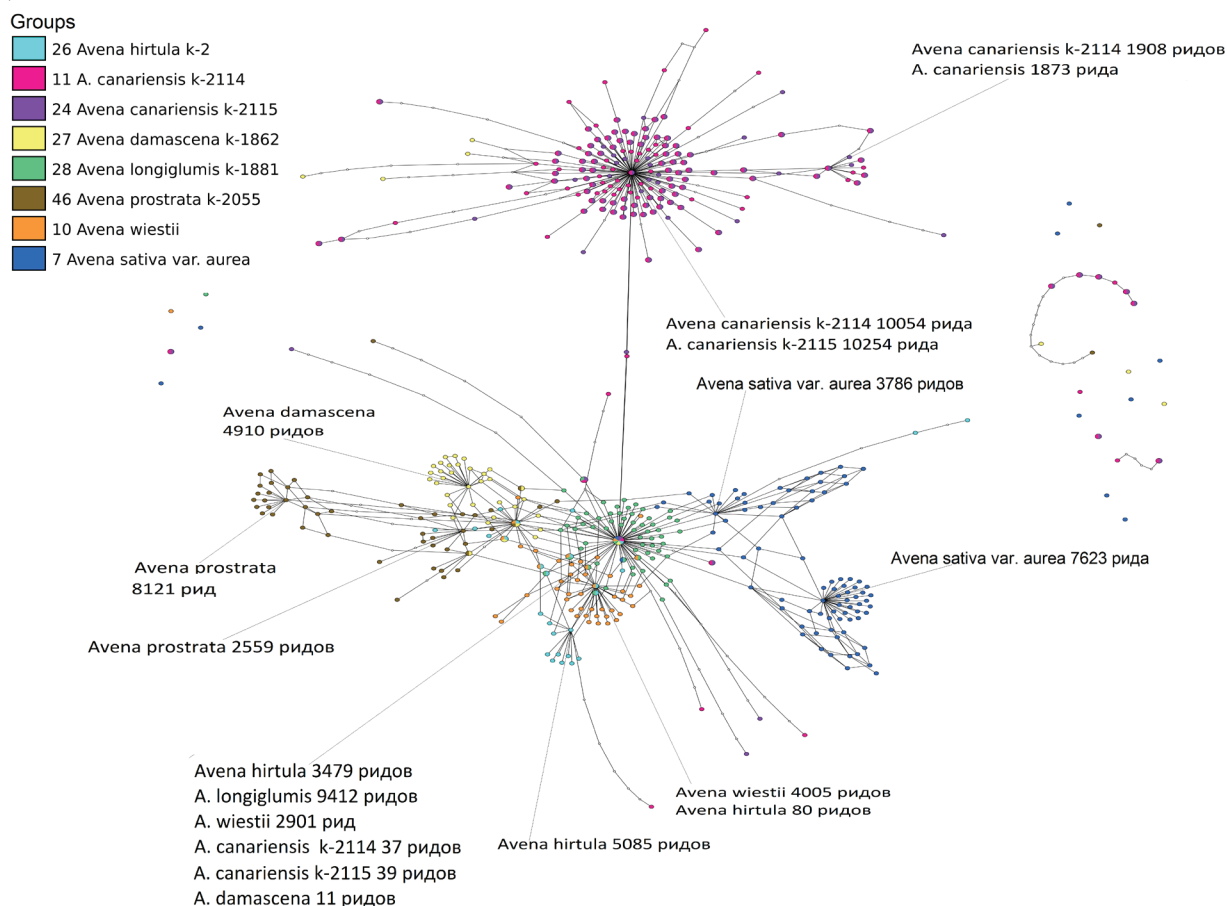


Рис. 1. Схема, отражающая родство риботипов диплоидных видов овса с геномами Ac, Ad, Al, Ap, и As, а также гексаплоидного *A. sativa* var. *aurea* с геномом ACD, построенная с помощью программы TCS 1.2 и визуализированная в программе TCS BU.

Наши исследования показали, что диплоидный вид *A. canariensis*, судя по риботипам, занимает обособленное положение среди диплоидов (Рис. 1) и лишь очень отдаленно связан с остальными диплоидами – носителями А-гена. *A. canariensis* – это эндемик Канарских островов (Испания). Вид характеризуется своеобразным морфотипом – осыпается целыми колосками и обладает нижней цветковой чешуей с двумя зубцами, что не характерно для остальных диплоидных видов рода *Avena* (Лоскутов, 2007). Кроме того, у растений этого вида лодикулы и эпибласт такого же типа, как у видов-гексаплоидов культурного типа (Baum, 1977). Анализ рДНК вида *A. canariensis* показывает, что в его формировании принимали участие два предковых вида с близкими, но не идентичными риботипами, однако при этом в его геноме есть минорные последовательности рДНК (37 и 39 ридов), идентичные рДНК диплоидам *A. hirtula* и *A. wiestii* (геномы As) и рДНК *A. longiglumis* (Al). Ранее *A. canariensis* считался донором А-гена для полиплоидных видов (Лоскутов, 2007), в частности, для широко распространенного в культуре *A. sativa* L. На рис. 1 видно, что последовательности рДНК гексаплоидного *A. sativa* var. *aurea* (геном ACD) можно разделить на два мажорных риботипа (7623 ридов и 3786 ридов),

отдаленно связанных с *A. longiglumis*. При этом представляется весьма любопытным, что в общем пуле риботипов диплоидных видов с разными вариациями А-генома обнаружился минорный компонент (всего 129 ридов), найденный и в геноме *A. sativa* var. *aurea*. Остальные диплоидные виды с А-геномом формируют общую сеть, в которой можно различить некоторые общие для них семейства риботипов. Так, обособленный риботип характерен для *A. longiglumis* (9412 ридов), этот же вариант рДНК второй по массовости в геноме у видов с As-геномами – *A. hirtula* (3479 ридов), *A. wiestii* (2901 рид), и, как минорная фракция, он представлен в геноме вида с геномом Ad *A. damascena* (11 ридов). Редкий эндемичный вид с геномом Ap *A. prostrata*, отличающийся очень небольшими размерами нижних цветковых чешуй и всего растения, имеет набор рибосомных генов, в котором присутствует помимо основного еще и второй риботип, родственный вторым по массовости последовательностям рДНК *A. hirtula* (2959 ридов), *A. wiestii* (2589 ридов), *A. damascena* (3939 ридов). Таким образом, по результатам наших исследований представляется возможным, что геном узкого эндемика *A. canariensis* мог принимать участие в формировании аллополиплоидного генома современных культурных гексаплоидных видов рода *Avena* как один из предковых таксонов. Тем не менее вклад этого вида в геномную конституцию гексаплоидов (ACD) незначителен, о чем говорит малая доля риботипов, характерных для *A. canariensis*, в геноме гексаплоидов в сравнении с риботипами иного происхождения. Наличие общих риботипов у видов с разными типами А-геномов можно объяснить тем, что это остатки рДНК их общего предка. Вторая гипотеза – это могут быть следы спорадически происходящей гибридизации *A. canariensis* (геном Ac) с диплоидными видами *A. hirtula* и *A. wiestii* (геномы As) и *A. longiglumis* (геном Al). По-видимому, виды *Avena*, носители Al, Ap и As-геномов, являются, в действительности, не первичными диплоидами, репродуктивно изолированными друг от друга, а своеобразным средиземноморским интрогрессивно-гибридизационным комплексом видов (Камелин, 2009), спорадически вступающих в межвидовые гибридизации.

Так же при сравнении геномов диплоидных и гексаплоидных видов оказалось, что геномы диплоидов достаточно далеко отстоят от геномов гексаплоидов. Это может быть связано с тем, что внутри геномов полиплоидов происходят процессы изогенизации последовательностей ITS в полиплоидном геномном наборе (концертной эволюции), в результате которой субгеномы претерпевают так называемое усреднение, то есть становятся более похожими друг на друга, а не на предполагаемых предков (согласно модели эволюции повторенных генов «рождение-и-смерть» (Родионов и др., 2016)).

Таким образом, наше исследование методом секвенирования следующего поколения (NGS) на платформе Illumina показало высокое разнообразие и разнородность геномов диплоидных видов рода, не выявляемая ранее секвенированием по методу Сэнгера.

Благодарности. Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» в рамках гос. задания по проекту № 0662-2019-0006 и при поддержке гранта РФФИ № 20-516-10002 КО_а.

ЛИТЕРАТУРА

- Камелин Р. В. Особенности видообразования у цветковых растений // Труды Зоологического института РАН, 2009. – Приложение № 1. – С. 141–149.
- Лоскутов И. Г. Овес (*Avena* L.). Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность. – СПб.: ГНЦ РФ ВИР, 2007. – 336 с.
- Лоскутов И. Г. Межвидовые скрещивания в роде *Avena* L. // Генетика, 2001. – Т. 37. – С. 581–590.
- Родионов А. В., Гнутиков А. А., Коцинян 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.
- Baum B. R. Oats: wild and cultivated. A monograph of the genus *Avena* L. (Poaceae). – Canada. monogr., 1977. – 463 pp.
- Clement M., Posada D., Crandall K. A. TCS: a computer program to estimate gene genealogies // Molecular Ecology, 2000. – Vol. 9, № 10. – P. 1657–1660. DOI:10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x
- Ladizinsky G. Studies in Oats Evolution. – Heidelberg e.a.: Springer, 2012. – 87 p.
- Loskutov I. G., Rines H. W. *Avena* L. In: Kole C. (ed) Wild crop relatives: genomic and breeding resources. – Heidelberg: Springer, 2011. – P. 109–184.
- Múrias dos Santos A., Cabezas M. P., Tavares A. I., Xavier R., Branco M. TCS BU: A tool to extend TCS network layout and visualization // Bioinformatics, 2016. – Vol. 32, № 4. – P. 627–628. DOI:10.1093/bioinformatics/btv636