

Дифференциация субгеномов среди *StY*-геномных видов рода *Elymus* (Triticeae, Poaceae) с территории России по данным секвенирования ядерного гена *GBSSI* (*waxy*)

Агафонов А.В.^{1*}, д.б.н., в.н.с.; Шабанова (Кобозева) Е.В.¹, к.б.н., н.с.; Бондарь А.А.², к.б.н., с.н.с.

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*email: agalex@mail.ru

По современным данным предковые таксоны рода *Pseudoroegneria* были донорами субгенома *St* для всех современных видов рода *Elymus*. *StY*-геномная группа видов обладает дополнительным субгеномом *Y*, который по некоторым сведениям близок к субгеному *St*. Нами было проведено изучение филогенетических взаимоотношений между *StY*-геномными видами с территории России и пятью видами рода *Pseudoroegneria* путем сравнения последовательностей ядерного гена *GBSSI*. Результаты показали приуроченность (дифференциацию) субгенома *St* у изученных видов к определенным видам *Pseudoroegneria* в связи с исходными ареалами последних. Субгеном *Y* показал низкий уровень вариабельности и относительно близкое родство с кластером субгенома *St*₂.

Ключевые слова: молекулярные маркеры, филогения, *St*-субгеном, *Elymus*, *Pseudoroegneria*.

Differentiation of subgenomes in *StY*-genomic species of the genus *Elymus* (Triticeae, Poaceae) from the territory of Russia according to sequencing data of the nuclear gene *GBSSI* (*waxy*)

Agafonov A.V.^{1*}, Shabanova (Kobozeva) E.V.¹, Bondar A.A.²

¹Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

*email: agalex@mail.ru

According to modern data, the ancestral taxa of the genus *Pseudoroegneria* were donors of the *St* subgenome for all modern species of the genus *Elymus*. The *StY* genome group of species has an additional *Y* subgenome, which, according to some information, is close to the *St* subgenome. We studied the phylogenetic relationships between *StY*-genomic species from Russia and five species of the genus *Pseudoroegneria* by comparing the sequences of the *GBSSI* nuclear gene. The results showed the association (differentiation) of the *St* subgenome in the studied species with certain *Pseudoroegneria* species in connection with the original ranges of the latter. The *Y* subgenome

*showed low level of variability and relatively close relation to the **St**₂ subgenome cluster.*

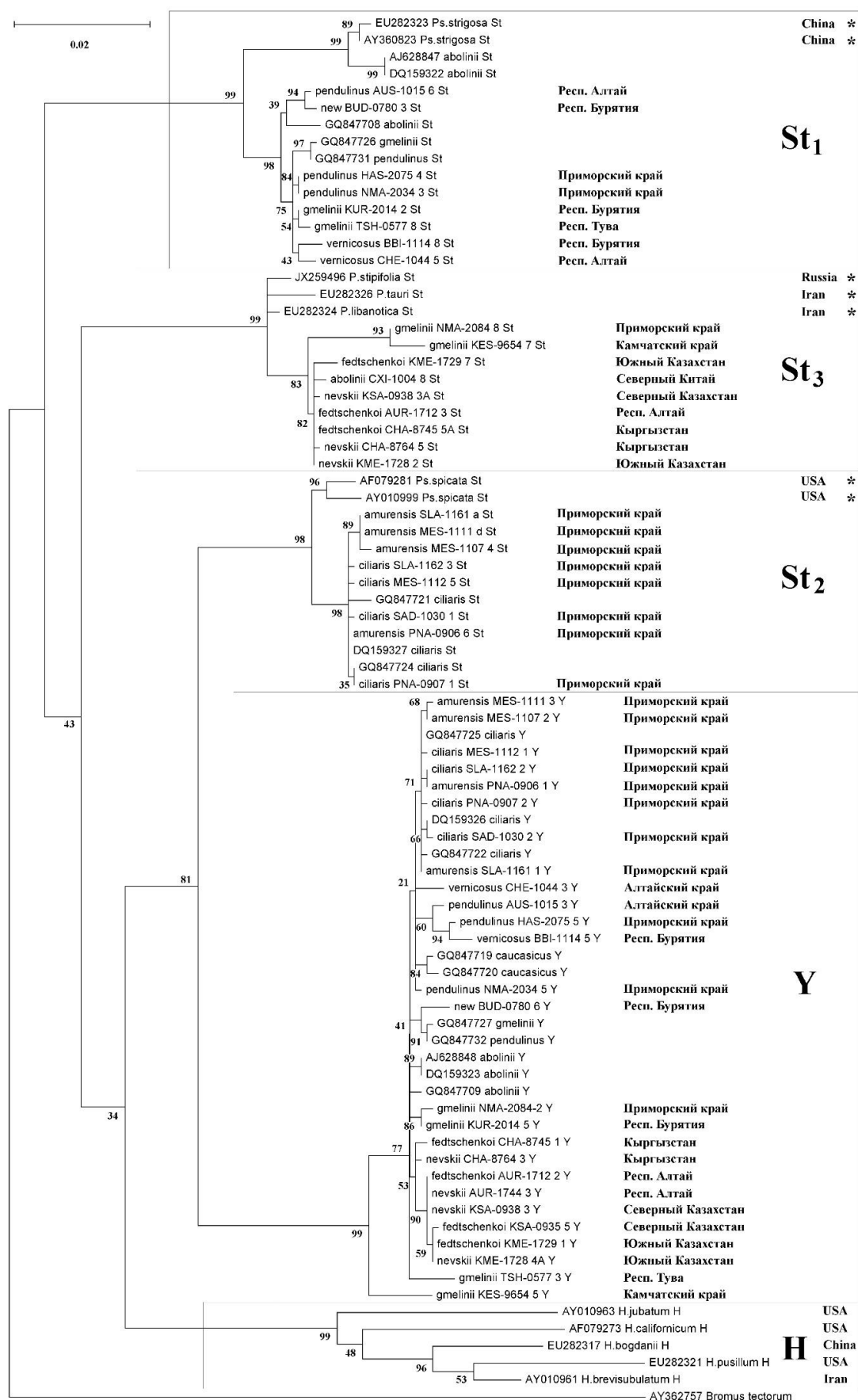
*Key words: molecular markers, phylogeny, **St**-subgenome, *Elymus*, *Pseudoroegneria*.*

Род многолетних трав *Elymus* L. является крупнейшим в трибе Triticeae Dumort (Poaceae). В мире насчитывается от 150 до 200 видов с различной геномной конституцией (субгеномы **St**, **H**, **Y**, **P**, **W** предковых таксонов трибы в разных комбинациях). Поскольку род относится к третичному генпулу (GP-3) основных хлебных культур, его представители часто включались в детальные цитогенетические исследования [1]. В последние десятилетия цитогенетический метод определения геномной конституции видов стал дополняться и даже вытесняться более технологичными методами секвенирования последовательностей ДНК [2, 3]. Центр внимания исследователей сдвигается в сторону происхождения и филогенетических отношений между базисными субгеномами и таксонами разных рангов с использованием молекулярно-генетических методов.

Поскольку основное разнообразие видов с этой группы приходится на территории Китая, Кореи и Японии, опубликован ряд данных об исторических связях между **St**- и **Y**-субгеномами, которые носят достаточно противоречивый характер. Так, по более ранним сведениям, субгеномы **St** и **Y** могли происходить от одного и того же предка [4, 5]. По другим данным, субгеном **Y** возник у диплоидного предка и имеет иное происхождение в сравнении с геномом **St** [6, 7]. Кроме того, предложен вариант автотетраплоидного происхождения субгенома **Y** в процессе рекуррентной гибридизации [8].

По последним данным [9] на территории РФ распространены 55 видов рода *Elymus*, которые по нашему предположению относятся к трем субгеномным комбинациям **StStHH**, **StStYY** и **StStHHYY**. Среди них **StY**-геномная группа насчитывает всего 10 видов с разной степенью изученности эволюционных связей. Как было неоднократно показано в работах исследовательской группы Dr. R. J. Mason-Gamer с 1998 по 2013 г., одним из эффективных генетических маркеров макро- и микроэволюционных взаимоотношений между таксонами разных уровней может служить ядерный ген **гранул-связанная синтаза крахмала 1** (*GBSSI*, *waxy*). Нами была подтверждена целесообразность использования гена в качестве индикатора микроэволюционных процессов среди видов рода *Elymus* [10, 11]. В рамках данной работы поставлена цель проследить эволюционные связи между **St**-субгеномами, а также оценить местоположение **Y**-субгенома на эволюционном древе среди **StY**-геномных видов *Elymus* с территории России при сравнении нуклеотидных последовательностей фрагментов гена с 9 по 14 экзон.

В исследование включено 26 природных образцов 8 видов из нашей коллекции с подтвержденным таксономическим рангом согласно Н.С. Пробатовой



Дендрограмма ML, построенная по результатам анализа последовательностей гена *GBSSI* (экзоны 9–14 вместе с интронами) у *StY*-геномной группы видов с территории России в сравнении с реперными видами. Звездочками отмечены моногеномные носители субгенома *St*

и Н.Н. Цвелеву [9]. Два европейских вида *E. caucasicus* (С. Koch) Tzvelev и *E. panormitanus* (Parl.) Tzvelev отсутствуют в нашей коллекции. Центральноазиатский вид *E. abolinii* (Drob.) Tzvelev включен в сравнительный анализ, поскольку есть предположение о его произрастании в пределах в России.

Кроме того, в более широком охвате взяты из NCBI клоны двух **StY**-геномных видов *E. ciliaris* и *E. abolinii*, последний из которых пока не отмечен на территории России. В отличие от коллекционных образцов, инвентарные номера клонов из NCBI приведены на дендрограмме впереди видовых названий. Амплификацию, клонирование и секвенирование фрагментов *GBSSI* с 9 по 14 экзон выполняли по стандартным методикам с нашими модификациями [10, 11].

По полученным результатам субгеномы **St** изученных видов подразделяются на три кластера сообразно трем маркерным группам клонов рода *Pseudoroegneria* (см. рисунок): центральноазиатской (**St₁**), североамериканской (**St₂**) и ближневосточной (**St₃**). При этом остается ряд вопросов, связанных с местоположением клонов некоторых видов в разных кластерах. Но в целом, виды **StY**-геномной группы с территории России имеют три филогенетических вектора происхождения, что согласуется с нашими представлениями о микроэволюционных комплексах внутри рода *Elymus*. При этом субгеном **Y** проявил низкий уровень вариабельности, как эволюционно молодой, а также относительно близкое родство с кластером североамериканского субгенома **St₂**.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда № 23-24-00260, <https://rscf.ru/project/23-24-00260/>. Использованы материалы биоресурсных научных коллекций ЦСБС СО РАН УНУ № 440534 и УНУ № 440537 (Гербарии NS, NSK). Секвенирование ДНК выполнено в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск).

Список литературы

- 1 Dewey D.R. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial *Triticeae* // Gene manipulation in plant improvement (Ed. Gustafson J.P.). N. Y., Plenum Publ. Corp. 1984. P. 209–279.
- 2 Mason-Gamer R.J. Origin of North American *Elymus* (Poaceae: Triticeae) allotetraploids based on granule-bound starch synthase gene sequences // Systematic Botany. 2001. Vol. 26. P. 757–768.
- 3 Baum B.R., Bailey L.G., Johnson D.A., Agafonov A.V. Molecular diversity of the 5S rDNA units in the *Elymus dahuricus* complex (Poaceae, Triticeae) supports the genomic constitution of St, Y, and H haplomes. // Can. J. Bot. 2003. Vol. 81. P. 1091–1103.
- 4 Liu Q., Ge S., Tang H., Zhang X., Zhu G., Lu B.-R. Phylogenetic relationships in *Elymus* (Poaceae: Triticeae) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences // New Phytologist. 2006. Vol. 170. P. 411–420. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01665.x
- 5 Okito P., Mott I.W., Wu Y., Wang R.R. A Y genome specific STS marker in *Pseudoroegneria*

- and *Elymus* species (Triticeae: Gramineae) // Genome. 2009. Vol. 52. № 4. P. 391–400.
- 6 Sun G., Komatsuda T. Origin of the Y genome in *Elymus* and its relationship to other genomes in Triticeae based on evidence from elongation factor G (EF-G) gene sequences // Mol. Phylogenet Evol. 2010. Vol. 56. № 2. 727–733. doi:10.1016/j.ympev.2010.03.037.
- 7 Lei Y.-X., Liu J., Fan X., Sha L.-N., Wang Y., Kang H.-Y., Zhou Y.-H., Zhang H.-Q. Phylogeny and molecular evolution of the *DMC1* gene in the polyploid genus *Roegneria* and its affinitive genera (Poaceae: Triticeae) // Bot. J. Linnean Society. 2018. Vol. 186. P. 129–142.
- 8 Liu Q., Liu L., Ge S., Fu L., Bai S.-Q., Lu X., Wang Q., Chen W., Wang F., Wang L., Yan X., Lu B.-R. Endo-allopolyploidy of autopolyploids and recurrent hybridization — a possible mechanism to explain the unresolved Y-genome donor in polyploid *Elymus* species (Triticeae: Poaceae) // J. Syst. Evol. 2020. doi: 10.1111/jse.12659. (early on-line publication).
- 9 Цвелёв Н.Н., Пробатова Н.С. Злаки России / М. Товарищество научных изданий КМК. 2019. 646 с.
- 10 Агафонов А.В., Асбаганов С.В., Шабанова (Кобозева) Е.В., Морозов И.В., Бондарь А.А. Геномная конституция и дифференциация субгеномов эндемичных сибирских и дальневосточных видов рода *Elymus* (Poaceae) по данным секвенирования ядерного гена *waxy* // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23. № 7. С. 817–826. doi: 10.18699/VJ19.555.
- 11 Agafonov A.V., Shabanova E.V., Emtseva M.V., Asbaganov S.V., Morozov I.V., Bondar A.A., Dorogina O.V. Phylogenetic and taxonomic relationships between morphotypes related to *Elymus caninus* (Poaceae) based on sequence of a nuclear gene *GBSSI* (*waxy*) and sexual hybridization // J. Syst. Evol. 2023. doi: 10.1111/jse.13006 (early on-line publication).

DOI 10.18699/GPB2024-03

Молекулярный анализ козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) с использованием SSR- и SRAP-маркеров

Антонов А.А. *, н.с.; Шамустакимова А.О., н.с.; Клименко И.А., к. с.-х. н., в.н.с.

Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса, МО, Лобня, Россия

*email: antonov4B@yandex.ru

*Представлены результаты исследований по оценке межсортового ДНК-полиморфизма козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) с помощью комбинаций праймеров, разработанных к SSR- и SRAP-маркерам. Испытанная техника маркирования оказалась эффективной для установления межсортовых различий. Определены маркеры, выявляющие сортоспецифичные фрагменты ДНК. Полученные данные можно использовать для оценки генетического разнообразия, ДНК-идентификации, отбора генетически дивергентного материала для использования в селекции новых сортов козлятника восточного.*

Ключевые слова: козлятник восточный, ПЦР-анализ, полиморфизм ДНК, микросателлитные маркеры, SRAP-маркеры.