

Сравнительная геномика трех видов уток (шилохвость, кряква и обыкновенный гоголь) и эволюция кариотипов у представителей семейства Anatidae (Anseriformes, Aves)

Проскурякова А.^{1*}, Беклемишева В.¹, Тишакова К.¹, Романенко С.¹,
Андреюшкова Д.¹, Юдкин В.^{2,3}, Интересова Е.^{2,4}, Янг Ф.⁵, Фергюсон-Смит М.⁶,
Графодатский А.¹

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴ Томский государственный университет, Томск, Россия

⁵ Школа медицины и наук о жизни, Шандонский технологический университет, Цзыбо, Китай

⁶ Кембриджский ресурсный центр сравнительной геномики, Кембриджский университет,
Кембридж, Великобритания

* andrena@mcb.nsc.ru

Ключевые слова: *Anas acuta*; *Anas platyrhynchos*; *Bucephala clangula*; *Burhinus oedicnemus*; авдотка; сравнительный хромосомный пэйнтинг; конститутивный гетерохроматин; рибосомные гены, теломера

Мотивация и цель: Курообразные (Galliformes) и гусеобразные (Anseriformes) – две ветви группы Galloanserae, базальные по отношению к остальным новонебным птицам (Neognathae). В сравнении с курообразными эволюция кариотипов гусеобразных изучена недостаточно, в сравнительные геномные исследования вовлечено небольшое количество видов [1]. Поэтому целью настоящей работы стали сравнительные геномные исследования кариотипов трех представителей отряда гусеобразные из семейства утиные (Anatidae): кряквы (*Anas platyrhynchos*), шилохвосты (*Anas acuta*) и обыкновенного гоголя (*Bucephala clangula*) при помощи цитогенетических методов.

Методы и алгоритмы: Для изучения кариотипов трех видов уток были получены первичные клеточные культуры фибробластов и суспензии фиксированных метафазных клеток [2]. Для подсчета количества и выявления морфологии хромосом кариотипы были окрашены красителем Гимза. Также для описания кариотипов были использованы различные методы дифференциального окрашивания (GTG-, CBG-, CDAG-) [3–5]. Сравнение кариотипов трех видов уток осуществлено с помощью метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с различными типами зондов [6]: содержащих сортированные хромосомы авдотки [7], гены рРНК [8] и теломерные повторы [9].

Результаты: Исследование кариотипов трех видов уток с помощью рутинной окраски и GTG-, CBG- и CDAG-методов показало, что все исследуемые виды имеют одинаковое диплоидное число хромосом ($2n = 80$). Однако кариотип обыкновенного гоголя отличается от кариотипов представителей рода *Anas* увеличенным числом макрохромосом и наличием крупных блоков гетерохроматина на большинстве макроаутосом и на половых хромосомах. Использование зондов, разработанных на основе сортированных хромосом

авдотки, выявило районы гомологии на макро- и микрохромосомах уток. Описанные ранее результаты сравнения кариотипов курицы и авдотки [7] позволили нам установить районы гомологии между хромосомами курицы, референсным геномом птиц и тремя видами уток. Кластеры генов рРНК локализованы на четырех парах микрохромосом шилохвости и на двух парах микрохромосом обыкновенного гоголя. Мы показали, что у видов Anatidae существуют микрохромосомы, обогащенные теломерными последовательностями, что ранее было описано для кариотипов представителей других семейств птиц [10, 11].

Выводы: Впервые получены подробные хромосомные карты для трех видов утиных, содержащие информацию о гомологии с хромосомами авдотки и курицы, распределении конститутивного гетерохроматина, генов рРНК и амплификации теломерных повторов. Результаты межвидовых сравнений показали, что увеличение числа макрохромосом в кариотипе обыкновенного гоголя произошло за счет разрывов двух предковых элементов. Новые данные дополнили информацию о преобразованиях макро- и половых хромосом гусеобразных в ходе эволюции.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РФФИ (№ 23-74-01016).

Comparative genomic studies in three duck's species (the Northern Pintail, Mallard, and Common Goldeneye) and karyotype evolution in the family Anatidae (Anseriformes, Aves)

Proskuryakova A.^{1*}, Beklemisheva V.¹, Tishakova K.¹, Romanenko S.¹,
Andreushkova D.¹, Yudkin V.^{2,3}, Interesova E.^{2,4}, Yang F.⁵, Ferguson-Smith M.⁶,
Graphodatsky A.¹

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS, Novosibirsk, Russian

² Institute of Systematics and Ecology of Animals, SB RAS, Novosibirsk, Russian

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian

⁴ Tomsk State University, Tomsk, Russian

⁵ School of Life Sciences and Medicine, Shandong University of Technology, Zibo, China

⁶ Cambridge Resource Center for Comparative Genomics, University of Cambridge, Cambridge, UK

* andrena@mcb.nsc.ru

Key words: *Anas acuta*; *Anas platyrhynchos*; *Bucephala clangula*; *Burhinus oedicnemus*; comparative chromosome painting; constitutive heterochromatin; ribosomal gene; telomere

Motivation and Aim: Galliformes and Anseriformes represent two branches of the Galloanserae group, basal to other Neognathae. While Galliformes have been extensively studied, the evolution of Anseriformes karyotypes remains relatively understudied, with only a few species included in comparative genomic analyses [1]. Therefore, this study aims to conduct comparative genomic analyses of the karyotypes of three representatives of the order Anseriformes from the Anatidae family: the mallard (*Anas platyrhynchos*), pintail (*Anas acuta*), and common goldeneye (*Bucephala clangula*) using cytogenetic methods.

Methods and Algorithms: To study the karyotypes of the three duck species, primary cell cultures of fibroblasts and suspensions of fixed metaphase cells were obtained [2]. Giemsa staining was employed to count the number and identify the morphology of chromosomes. Additionally, various differential staining methods (GTG-, CBG-, CDAG-) were utilized to characterize the karyotypes [3–5]. A comparison of the karyotypes of three duck species was carried out using fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with different types of probes [6], including stone curlew sorted chromosomes [7], rRNA genes [8], and telomeric repeats [9].

Results: Analysis of the karyotypes of the three duck species using routine staining and GTG, CBG, and CDAG methods revealed that all studied species possess the same diploid number of chromosomes ($2n = 80$). However, the karyotype of the common goldeneye differs from those of representatives of the genus *Anas* due to an increased number of macrochromosomes and the presence of large blocks of heterochromatin on most macroautosomes and sex chromosomes. The utilization of stone curlew chromosome specific probes revealed homologies on duck's macro- and microchromosomes. Previous studies comparing chicken and stone curlew karyotypes [7] facilitated the identification of regions of homology between chicken chromosomes, the reference genome of birds, and the karyotypes of the three duck species. Clusters of rRNA genes were found on four pairs of pintail microchromosomes and on two pairs of common goldeneye microchromosomes. Our study demonstrated that Anatidae species possess microchromosomes enriched in telomeric sequences, a characteristic previously described in the karyotypes of representatives of other avian families [10, 11].

Conclusion: This study represents the first comprehensive chromosomal mapping of three duck species, providing homologies with stone curlew and chicken chromosomes, the distribution of constitutive heterochromatin, rRNA genes, and the amplification of telomeric repeats. Our interspecific comparisons revealed that the increase in macrochromosome numbers in the common goldeneye karyotype is due to fissions in two ancestral elements. These findings contribute to understanding of the evolutionary transformations of macro- and sex chromosomes in Anseriformes.

Funding: This study is supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 23-74-01016).

Список литературы/References

1. Degrandi T.M., Barcellos S.A., Costa A.L., Garnerio A.D.V., Hass I., Gunsli R.J. Introducing the Bird Chromosome Database: An Overview of Cytogenetic Studies in Birds. *Cytogenet Genome Res.* 2020;160(4):199-205. doi 10.1159/000507768
2. Romanenko S.A., Biltueva L.S., Serdyukova N.A. et al. Segmental paleotetraploidy revealed in sterlet (*Acipenser ruthenus*) genome by chromosome painting. *Mol Cytogenet.* 2015;8(1):90. doi 10.1186/s13039-015-0194-8
3. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.* 1971;298(7731):971-972
4. Sumner A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res.* 1972;75(1):304-306
5. Lemskaya N.A. et al. A combined banding method that allows the reliable identification of chromosomes as well as differentiation of AT- and GC-rich heterochromatin. *Chromosom Res.* 2018;12(26):307-315. doi 10.1007/s10577-018-9589-9
6. Liehr T. Fluorescence in situ hybridization (FISH). Springer, 2017
7. Nie W. et al. Avian comparative genomics: Reciprocal chromosome painting between domestic chicken (*Gallus gallus*) and the stone curlew (*Burhinus oedicephalus*, Charadriiformes). An atypical species with low diploid number. *Chromosom Res.* 2009;17(1):99-113. doi 10.1007/s10577-009-9021-6
8. Maden B.E.H., Dent C.L., Farrell T.E., Garde J., McCallum F.S., Wakeman J.A. Clones of human ribosomal DNA containing the complete 18 S-rRNA and 28 S-rRNA genes. Characterization, a detailed

- map of the human ribosomal transcription unit and diversity among clones. *Biochem J.* 1987;246(2):519-527. doi 10.1042/bj2460519
9. Ijdo J.W., Wells R.A., Baldini A., Reenders S.T. Improved telomere detection using a telomere repeat probe (TTAGGG)_n generated by PCR. *Nucleic Acids Res.* 1991;19(17):4780. doi 10.1093/nar/19.17.4780
 10. Nanda I., Schrama D., Feichtinger W., Haaf T., Scharl M., Schmid M. Distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences in avian chromosomes. *Chromosoma.* 2002;111(4):215-227. doi 10.1007/s00412-002-0206-4
 11. Delany M.E., Gessaro T.M., Rodrigue K.L., Daniels L.M. Chromosomal mapping of chicken mega-telomere arrays to GGA9, 16, 28 and W using a cytogenomic approach. *Cytogenet Genome Res.* 2007;117:54-63. doi 10.1159/000103165