

Исследование изменчивости хлоропластного генома секалотритикум методом NGS

А.В. Соколюк*, Н.И. Дубовец

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

* a.sokolyuk@igc.by

С открытием универсальности феномена геномных дупликаций в эволюции живых систем существенно возрос интерес к исследованию аллополиплоидии, сыгравшей решающую роль в становлении большинства таксонов высших растений. В результате многочисленных исследований, выполненных с применением молекулярных технологий, было установлено, что генезис аллополиплоидных форм сопровождается кардинальными преобразованиями и модификациями ядерного генома (Soltis, Soltis, 2000; Wendel, 2000; Adams, Wendel, 2005; Feldman, Levy, 2005). Между тем образование аллополиплоидных форм всегда сопряжено с нахождением одного или более ядерных геномов в чужеродной цитоплазме, из чего следует, что структурным модификациям в ходе становления полиплоида может подвергаться не только ядерный геном, но и пластом. Запланированное нами сопоставление первичной структуры хлоропластной ДНК у синтезированных ржано-пшеничных гибридов и доноров их цитоплазмы предоставляет возможность прояснить этот аспект, дополнив тем самым наши знания о генезисе аллополиплоидных форм злаков. В данном сообщении приводятся результаты первого этапа исследований, посвященного выявлению изменчивости хлоропластного генома линий секалотритикум.

Цель: Провести полногеномное секвенирование и сборку хлоропластных ДНК линий секалотритикум и путем сопоставления полученных данных оценить уровень межлинейной изменчивости пластома у данного типа гибридов пшеницы с рожью.

Материалы и методы: Материалом для исследований послужили 12 линий секалотритикум, полученных в результате гибридизации тетраплоидной ржи (RRRR, $2n = 4x = 28$) с гексаплоидными тритикале (AABBRR, $2n = 6x = 42$) и однократного беккроссирования полученных ржано-тритикальных гибридов F1 (RRABR, $5x = 35$) на тритикале (Гордей И.А. и др., 2011). Для предварительного типирования цитоплазмы секалотритикум по видоспецифическим локусам применялся ПЦР-ПДРФ анализ. Выделение хлоропластов осуществляли методом дифференциального центрифугирования (Jansen R.K.). Хлоропластную ДНК выделяли методом СТАВ. NGS проводили с использованием ISeq Illumina. Биоинформатическая обработка данных осуществлялась с использованием программ: FastQC, Trimmomatic-0.39, Spades 3.13.1, Bowtie2-2.5.1, combinator-FQ-v1.6a.

Результаты: В ходе предварительного типирования цитоплазмы гексаплоидных ржано-пшеничных гибридов (секалотритикум) по двум видоспецифическим локусам (*ndhH*-локус хлоропластной ДНК и *18S/5S*-повтор митохондриальной ДНК) установлено, что у всех линий оба локуса соответствуют плазмотипу ржи. Исходя из этого сборку полных последовательностей хлоропластных геномов после проведенного NGS секвенирования осуществляли путем выравнивания контигов на референсный хлоропластный геном *Secale cereale* (код доступа GenBank – NC_021761.1). В ходе сопоставления пластома линий секалотритикум с референсным хлоропластным геномом *Secale cereale* были выявлены такие изменения нуклеотидных последовательностей, как делеции и SNP. Большинство найденных полиморфизмов расположено в некодирующих областях хп-геномов, но были обнаружены изменения и в кодирующих районах. Наибольшей изменчивостью у всех 12 линий характеризуются гены рибосомальных белков, гены семейства АТФ-синтазного комплекса и гены, кодирующие синтез субъединицы НАДФ дегидрогеназы. Делеции в исследованном материале были обнаружены в 6 позициях, принадлежащих генам *matK*, *rpoB*, *rbcL*, *rpl22*, *ycf2*. Из них делеции в гене *rpl22* у трех линий и в гене *rbcL* у двух линий вызывали утрату stop-кодона, что может приводить к отсутствию остановки экспрессии этих генов и синтезу неверных аминокислот. Замены, приводящие к образованию stop-кодонов, были выявлены в гене *atpA* (у всех линий, кроме одной), и гене *rpl14* (у всех линий). При сравнении хп-геномов между собой установлено, что исследованные линии существенно различаются по уровню изменчивости хп-геномов, при этом наличие одинаковых мутаций, как правило, отмечается у линий, имеющих в родословной одного или двух одинаковых родителей.

Выводы: Для хлоропластного генома секалотритикум характерна высокая изменчивость генов рибосомальных белков и генов АТФ-синтазного и НАДФ дегидрогеназного комплексов. Уровень изменчивости хп-генома находится в обратной зависимости от степени родства линий.

Финансирование: Исследование финансируется ГПНИ «Биотехнологии-2», подпрограмма «Геномика, эпигеномика, биоинформатика» на 2021–2025 годы, задание 2.10.4.