

Анализ копийности повторяющихся последовательностей *Dasypyrum breviaristatum* в геномах родственных видов методом количественной ПЦР

А.И. Юркина*, П.Ю. Крупин, Д.С. Ульянов, В.М. Соколова, М.Г. Дивашук

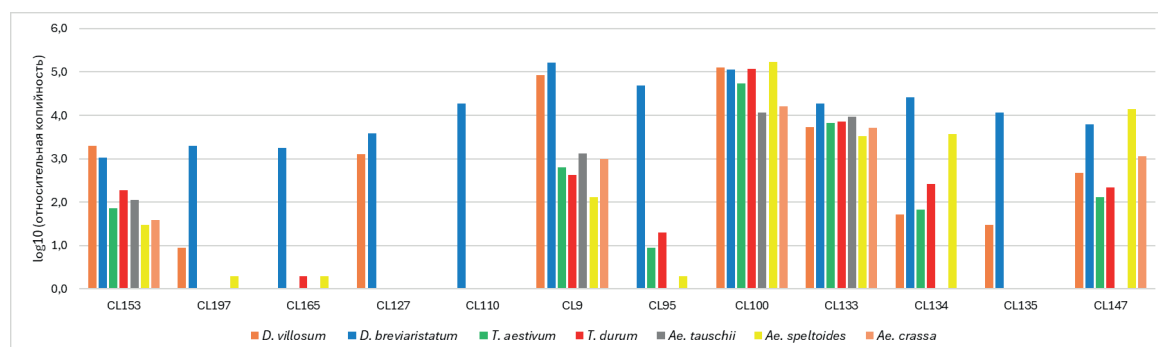
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Россия

* aaaaaa3197@gmail.com

Цель: Цель исследования состояла в сравнительной оценке копийности сателлитных повторов *Dasypyrum breviaristatum* в геномах видов *Triticeae* с помощью количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Материалы и методы: На основе данных полногеномного секвенирования *D. breviaristatum* PI516547 (2n = 28, геном VVV^bV^b) с использованием RepeatExplorer2 было найдено 12 сателлитных повторов. Праймеры на консенсусы последовательности мономеров были подобраны с помощью алгоритма Primer3. Оценка уровня копийности выявленных сателлитов проводилась при помощи ПЦР-РВ у *D. breviaristatum* и *D. villosum* W6 21717 (2n = 14, геном VV), а также у *Triticum aestivum* (BBAADD), *T. durum* (BBAA), *Aegilops tauschii* (DD), *Ae. speltoides* (SS, генетически близок субгеному В пшеницы) и *Ae. crassa* (D¹D¹X^{cr}X^c) с помощью разработанных праймеров на амплификаторе CFX (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Расчет копийности сателлитов осуществляли относительно значения порогового цикла у гена *VRN1*. Так как полученные в результате экспериментов значения копийности повторов различались между изучаемыми видами на несколько порядков, для удобства анализа их преобразовали с помощью десятичного логарифма.

Результаты: Полученные в результате ПЦР-РВ значения относительной копийности повторов выявленных сателлитных повторов представлены на рисунке. Повторы были условно классифицированы на следующие группы: с низкой (≤ 2), средней (<2 , >4) и высокой копийностью (≥ 4). Высококопийными для *Dasypyrum* являются CL9 и CL100, в свою очередь CL100 имеет самую высокую копийность у *Ae. speltoides*, а также обладает высоким числом копий у *T. aestivum* и *T. durum*. Помимо CL9 и CL100 *D. breviaristatum* характеризуется высококопийными CL110, CL95, CL133, CL134 и CL135. Сравнение копийности выявленных сателлитов между видами *Dasypyrum* и мягкой пшеницей позволило выявить видоспецифичные повторы: среднекопийные CL165 и CL110 для *D. breviaristatum*; низкокопийный для *D. villosum* и среднекопийный для *D. breviaristatum* CL197; низкокопийные для *D. villosum* и среднекопийные для *D. breviaristatum* CL127 и CL135. При этом CL197 отличается низким числом копий у *Ae. speltoides*, а наличие CL127 и CL135 в других исследуемых видах методом ПЦР-РВ выявлено не было.



Относительная копийность сателлитных повторов у изучаемых видов, выраженная через десятичный логарифм

Оценка вариабельности повторов по коэффициенту вариации между всеми изучаемыми видами *Dasypyrum*, *Triticum*, *Aegilops* показала, что разнообразием по копийности отличаются повторы (по убыванию): CL110, CL165, CL135, CL197, CL95, CL134, CL9, CL153, CL147, CL127, CL100 и CL133. Высокое сходство по числу копий было обнаружено у *D. villosum* и *D. breviaristatum* ($r = 0,87$), у *D. villosum* и *T. aestivum*, *T. durum*, *Ae. speltoides* и *Ae. crassa* ($0,80 \leq r \leq 0,87$), а *D. breviaristatum* показал наименьшее сходство с исследуемыми видами *Aegilops* и *Triticum* ($0,41 \leq r \leq 0,48$).

Выводы: Установлен уровень копийности 12 новых сателлитных повторов *D. breviaristatum* у родственных видов различного геномного состава, выявленные повторы классифицированы по уровню копийности и вариабельности между видами. Выявленные нами сателлитные повторы могут быть использованы для проведения филогенетических, эволюционных и популяционных исследований злаков в качестве молекулярно-генетических маркеров.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ 24-16-00286, <https://rscf.ru/project/24-16-00286/>.