

УДК 575.22; 575.86; 585.52

ПОЛИМОРФИЗМ И ФИЛОГЕНИЯ D-ГЕНОМНЫХ ВИДОВ *AEGILOPS* L. ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ХЛОРОПЛАСТНОГО ГЕНОМА

С.В. Горюнова¹, Н.Н. Чикида², Е.Д. Бадаева³, В.А. Пухальский¹¹Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН;²Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова;³Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН; e-mail: orang2@yandex.ru)

14 хлоропластных микросателлитных маркеров использовано для анализа изменчивости и филогении цитоплазматического генома у 71 представителя 6 видов эгилопса с D-геномом. Наибольшее внутривидовое разнообразие выявлено у диплоидного вида *Ae. tauschii*. Среди полиплоидных видов наибольшая внутривидовая изменчивость показана для вида *Ae. ventricosa*. Гаплотипы *Ae. ventricosa* существенно отличаются от гаплотипов *Ae. tauschii*. Проанализированные образцы *Ae. cylindrica* имеют сходные гаплотипы, близкие гаплотипам *Ae. tauschii*.

Ключевые слова: хлоропластные микросателлиты, полиплоиды, филогения, *Aegilops*.

Диплоидный вид *Aegilops tauschii* (D-геном) считается родительским видом и донором цитоплазмы для аллополиплоидных видов: *Ae. ventricosa* (DN), *Ae. crassa* (DX, DXD), *Ae. juvenalis* (DXU), *Ae. vavilovii* (DXS) и *Ae. cylindrica* (CD). Однако исследование филогении и изменчивости цитоплазматического генома на внутривидовом уровне и у близких таксонов существенно ограничено из-за низкой скорости эволюции хлоропластного и митохондриального геномов. Поэтому для исследования филогенетических связей и изменчивости цитоплазматического генома у D-геномных эгилопсов мы провели анализ хлоропластных микросателлитных локусов, скорость эволюции которых на несколько порядков выше, чем частота замен в других участках хлоропластного генома (табл. 1).

Таблица 1

Образцы эгилопса, использованные в анализе

Вид	Образец	Номер по каталогу	Место сбора	Выявленный гаплотип
<i>Ae. tauschii</i> Coss	t1	к249	Туркмения	1
	t2	к259	Таджикистан	2
	t3	к772	Азербайджан	3
	t4	к671	Киргизия	4
	t5	к912	Индия (Кашмир)	5
	t6	к997	Афганистан	6
	t7	к997	Узбекистан	7
	t8	к1481	Армения	8
	t9	к1585	Израиль	8
	t10	к1585	Иран	9
	t11	TQ27	Грузия	10
	t12	к1875	Турция	11
	t13	и569818	Армения	12

Продолжение табл. 1

Вид	Образец	Номер по каталогу	Место сбора	Выявленный гаплотип
<i>Ae. cylindrica</i> Host	t14	с места сбора	Азербайджан	6
	t15	г1782	Казахстан	13
	t16	к1611	Афганистан	14
	t17	к1740	Азербайджан	15
	t18	к2194	Армения	16
	t19	к588		17
	c1	к34	Туркмения	18
	c2	к214	Кабардино-Балкария	19
	c3	к71	Узбекистан	18
	c4	к5	Крым	18
	c5	и551245	Болгария	18
	c6	с места сбора	Армения	18
<i>Ae. ventricosa</i> Tausch	c7	к3496	Турция	18
	c8	к1944	Азербайджан	18
	c9	к220	Грузия	19
	c10	и577992	Иран	18
	c11	и570368	Сирия	18
	c12	и578005	Турция	18
	v1	к2385	Италия	20
	v2	к2420	Италия (Сицилия)	21
	v3	и539434	Португалия	20
	v4	и578182	Палестина	22
<i>Ae. crassa</i> Boiss.	v5	к2217	Испания	23
	v6	к46	не известно	21
	v7	к2750	Алжир	22
	v8	к2749	Ливия	23
	v9	и571670	Испания	24
	v10	и571669	Испания	25
<i>Ae. crassa</i> Boiss.	cr1 (4x)	к2687	Ирак	26
	cr2 (4x)	к2424	Армения	27
	cr3 (6x)	к1251	Казахстан	26
	cr4 (6x)	к1268	Узбекистан	28

Окончание табл. 1

Материалы и методы

Вид	Образец	Номер по каталогу	Место сбора	Выявленный гаплотип
<i>Ae. juvenalis</i> (Thell.) Eig	cr5 (6x)	к1618	Туркмения	26
	cr6 (6x)	к1772	Киргизия	26
	cr7 (6x)	к1790	Афганистан	29
	cr8 (6x)	к1009	Афганистан	29
	cr9 (6x)	к1324	Казахстан	27
	cr10 (6x)	к1344	Туркмения	26
	j1	к50	Узбекистан	30
	j2	к867	Узбекистан + Тадж. граница	31
	j3	к1380	Узбекистан	32
	j4	и571695	Иран	33
<i>Ae. vavilovii</i> (Zhuk.) Chennav.	j5	и578008	Сирия	31
	j6	и570577	Сирия	32
	j7	и578009	Ирак	34
	j8	TA2116	не известно	35
	j9	к681	Узбекистан	36
	j10	к1722	Узбекистан	37
	va1	и571177	Ливан	29
	va2	и538841	Иордания	29
	va3	и573361	Палестина	29
	va4	и538844	Иордания	29
	va5	к2663	Сирия	29
	va6	и538844	Сирия	29
	va7	к2664	Сирия	29
	va8	к3644	Ливан	29
	va9	к3645	Сирия	29
	va10	к3640	Иордания	29

Большинство образцов получено из коллекции ВНИИР имени Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург). Также использованы образцы: TA2116 *Ae. juvenalis*, полученный из Wheat Genetics Resource Center, Kansas State University, (США); образцы *Ae. tauschii* и *Ae. cylindrica*, собранные А.Г. Гукасяном и Е.А. Назаровой в Армении, образец *Ae. tauschii* TQ27, полученный из Weizmann Institute of Science (Израиль). Выделение суммарной ДНК производили согласно работе [1]. Для анализа использованы 14 пар праймеров, разработанных ранее Т. Иши с соавт. [2] для анализа микросателлитных локусов хлоропластного генома пшеницы. PCR-реакцию проводили согласно [2]. Продукты амплификации разделяли в 6% ПААГ и окрашивали серебром. Для каждого локуса рассчитана величина генного разнообразия Н [3] (табл. 2). Анализ филогенетических взаимосвязей исследуемых видов проводили методом РСО с использованием коэффициента сходства Дайса (программа PAST).

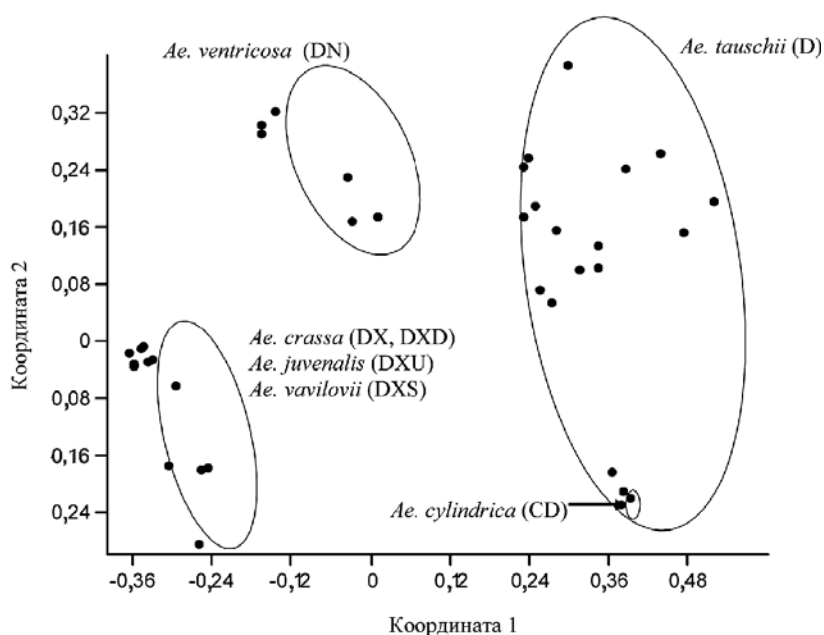
Результаты и обсуждение

Для 14 проанализированных локусов выявлено от 2 до 8 аллелей, величина генного разнообразия Н варьировала от 0,131 до 0,823 и составила в среднем 0,06. По различиям в длине аллелей выявлено 37 гаплотипов. Максимальное разнообразие выяв-

Таблица 2

Генное разнообразие видов эгилопса с D-геномом по 14 cpSSR-локусам

Праймерная пара [2]	Участок хлоропластного генома	Число аллелей	Генное разнообразие, Н						
			<i>Ae. tauschii</i>	<i>Ae. cylindrica</i>	<i>Ae. ventricosa</i>	<i>Ae. crassa</i>	<i>Ae. juvenalis</i>	<i>Ae. vavilovii</i>	общее
WCt_2	межгенный участок <i>psbI-trnS</i>	6	0,632	0,000	0,460	0,000	0,000	0,000	0,691
WCt_3	межгенный участок <i>psbC-trnS</i>	5	0,194	0,000	0,320	0,000	0,000	0,000	0,546
WCt_4	межгенный участок <i>5'trnG-trnT</i>	2	0,388	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,131
WCt_5	ORF29- <i>trnC</i>	5	0,715	0,000	0,000	0,000	0,540	0,000	0,577
WCt_6	межгенный участок <i>trnC-rpoB</i>	5	0,615	0,000	0,320	0,000	0,000	0,000	0,559
WCt_10	интрон <i>atpF</i>	4	0,643	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,451
WCt_11	интрон <i>atpF</i>	5	0,626	0,000	0,620	0,000	0,480	0,000	0,536
WCt_12	интрон <i>inf170</i>	5	0,643	0,278	0,000	0,000	0,000	0,000	0,609
WCt_13	межгенный участок <i>trnF-ndhJ</i>	2	0,499	0,000	0,500	0,000	0,420	0,000	0,498
WCt_15	межгенный участок <i>psbE-ORF31</i>	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,480	0,000	0,545
WCt_16	межгенный участок <i>psbE-ORF32</i>	4	0,100	0,000	0,000	0,000	0,480	0,000	0,561
WCt_19	межгенный участок <i>rpl36-infA</i>	4	0,000	0,00	0,620	0,000	0,000	0,000	0,564
WCt_22	межгенный участок <i>rps8-rpl14</i>	7	0,781	0,000	0,320	0,420	0,000	0,000	0,761
WCt_24	межгенный участок <i>ndhF-rpl32</i>	8	0,632	0,000	0,500	0,420	0,500	0,000	0,823
Среднее значение Н			0,46	0,02	0,26	0,06	0,20	0,00	0,60
Число гаплотипов			17	2	6	4	8	1	37
Число образцов			19	12	10	10	10	10	71



РСО-анализ результатов cpSSR-маркирования видов эгилопса с D-геномом

лено для диплоидного вида *Ae. tauschii*. Ранее была показана значительная изменчивость ядерного генома данного вида [4]. Полиплоидные виды характеризуются меньшим уровнем внутривидовой изменчивости (табл. 2). Гаплотипы образцов *Ae. crassa*, *Ae. juvenalis*, *Ae. vavilovii* заметно отличаются от гаплотипов *Ae. tauschii*. Для обозначения пластома видов комплекса *Ae. crassa* используется символ D² [5], что подчеркивает его отличие от пластома *Ae. tauschii*. Цитоплазматический геном *Ae. ventricosa* так-

же заметно отличается от цитоплазматического генома *Ae. tauschii* и на графике рассеяния образцы *Ae. ventricosa* занимают промежуточное положение между *Ae. tauschii* и видами комплекса *Ae. crassa* (рисунок). По всей видимости, для обозначения пластома *Ae. ventricosa* необходимо использовать символ D со специальным индексом, что отражало бы отличие его от геномов других видов. По данным С-бэндинга и FISH-гибридизации, D-геном *Ae. ventricosa* более сходен с D-геномом *Ae. crassa*, чем с геномом *Ae. tauschii* [4]. Все это позволяет предположить происхождение видов комплекса *Ae. crassa* и вида *Ae. ventricosa* от примитивного вида рода *Aegilops*, родственного *Ae. tauschii*. При этом для вида *Ae. ventricosa* выявлены заметно отличающиеся гаплотипы, что может быть следствием вероятного происхождения данного вида от нескольких независимых скрещиваний.

Для вида *Ae. cylindrica* выявлено всего два гаплотипа, отличающихся по одному локусу и близких к гаплотипам *Ae. tauschii*. По всей видимости, *Ae. cylindrica* имеет сравнительно недавнее происхождение от современных форм *Ae. tauschii*. Причем все образцы из различных географических регионов, включенные в наше исследование, можно считать происходящими от единичного скрещивания родительских видов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кочиева Е.З., Сунрунова Т.П. Идентификация меж- и внутрисортного полиморфизма у томатов // Генетика. 1999. Т. 35. № 10. С. 1386–1389.
2. Ishii T., Mori N., Ogihara Y. Evaluation of allelic diversity at chloroplast microsatellite loci among common wheat and its ancestral species // Theor. Appl. Genetic. 2001. Vol. 103. P. 896–904.
3. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.

4. Badaeva E.D., Amosova A.V., Muravenko O.V., Samatadze T.E., Chikida N.N., Zelenin A.V., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in Aegilops. Evolution of the D-genome cluster // Plant Systematics and Evolution. 2002. Vol. 231. P. 163–190.
5. Tsunewaki K. Plasmon analysis in the Triticum-Aegilops complex // Breeding Science. 2009. Vol. 59. P. 455–470.

Поступила в редакцию
16.04.10

DIVERSITY AND PHYLOGENY OF CHLOROPLAST GENOMES IN D-GENOME AEGILOPS L. GROUP BASED ON CPSSR-DATE

S.V. Goryunova, N.N. Chikida, E.D. Badaeva, V.A. Pukhalskiy

14 chloroplast microsatellite markers were used for analysis of diversity and phylogenetic relationships of chloroplast genomes of 71 accessions of six D-genome *Aegilops* species. The highest intraspecies variation was observed for *Ae. tauschii*. The highest haplotype diversity among polyploid species was revealed for *Ae. ventricosa* (DN). All haplotypes of *Ae. ventricosa* were remarkably different from haplotypes of *Ae. tauschii*. All accessions of *Ae. cylindrica* analyzed had closely related haplotypes similar with haplotypes of *Ae. tauschii*.

Key words: chloroplast microsatellites, polyploids, phylogeny, *Aegilops*.

Сведения об авторах

Горюнова Светлана Валерьевна — канд. биол. наук, докторант, Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Тел. 8(499)135-42-07; e-mail: orang2@yandex.ru

Чикида Надежда Николаевна — канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова. Тел. 8(812)311-99-01; e-mail: n.chikida@vir.nw.ru

Бадаева Екатерина Дмитриевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр., Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН. Тел. 8(499)135-04-60; e-mail: katerinabadaeva@gmail.com

Пухальский Виталий Анатольевич — докт. биол. наук, гл. науч. сотр., Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Тел. 8(499)135-42-07; e-mail: pukhalsk@vigg.ru