

**Исследование геномной конституции некоторых видов
рода *Deschampsia* P. Beauv. (*Aveneae* Dumort., Poaceae)**

**Study of the genomic constitution of some species
of the genus *Deschampsia* P. Beauv. (*Aveneae* Dumort., Poaceae)**

Гнутиков А. А.¹, Носов Н. Н.², Лоскутов И. Г.¹, Муравенко О. В.³, Амосова А. В.³, Родионов А. В.²

Gnutikov A. A.¹, Nosov N. N.², Loskutov I. G.¹, Muravenko O. V.³, Amosova A. V.³, Rodionov A. V.²

¹ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, г. Санкт-Петербург, Россия.

E-mails: alexandr2911@yandex.ru, i.loskutov@vir.nw.ru

¹ N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St-Petersburg, Russia

² Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург, Россия.

E-mails: nnosov2004@mail.ru, avrodionov@mail.ru

² Komarov Botanical Institute (BIN RAS), St-Petersburg, Russia

³ Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, г. Москва, Россия.

E-mails: olgmur1@yandex.ru, amomar@mail.ru

³ Engelhardt Institute of Molecular Biology of RAS, Moscow, Russia

Реферат. Для 7 видов рода *Deschampsia* разного географического происхождения и *Avenella flexuosa* было проведено локус-специфичное секвенирование следующего поколения (NGS) на платформе Illumina последовательности района внутреннего транскрибируемого спейсера ITS1 и начала гена 5.8S рРНК. Показано, что виды родственные *D. cespitosa* формируют общую сеть риботипов, при этом *D. pamirica*, северные и субантарктические образцы *Deschampsia* обладают собственными уникальными группами риботипов. Выявлено, что риботипы *A. flexuosa* занимают обособленное положение и мало связаны с родственными видами *Deschampsia*.

Ключевые слова. Филогения, щучка, *Avenella*, NGS, Poaceae.

Summary. For 7 species of the genus *Deschampsia* of different geographical origin and *Avenella flexuosa*, a locus-specific next-generation sequencing (NGS) of the region of internal transcribed spacer ITS1 and beginning of the 5.8S rRNA gene was carried out on the Illumina platform. It has been shown that species related to *D. cespitosa* form a common network of ribotypes, while *D. pamirica* and northern and subantarctic specimens of *Deschampsia* have their own unique ribotype groups. It was revealed that the ribotypes of *A. flexuosa* occupy a separate position and have little relation to related species *Deschampsia*.

Key words. *Avenella*, *Deschampsia*, NGS, phylogeny, Poaceae.

Выдающийся отечественный ботаник Р. В. Камелин в своих работах отмечал, что видообразовательные процессы у цветковых растений разнообразны, а «систематика должна ... обогащаться знанием о молекулярных основах биосинтеза и о возможных изменениях этих основ в ходе эволюции видов» (Камелин, 2004, с. 216).

Объектами для нашего исследования мы выбрали хорошо известные ботаникам виды *Deschampsia* P. Beauv. (щучка) – рода дикорастущих злаков, широко распространенного в Евразии. Этот род относят к подтрибе *Airinae* Fr. (триба *Aveneae* Dumort.), отличающейся уникальным филогенетическим положением. По материнской линии (по хлоропластным генам) виды этой подтрибы, и *Deschampsia*, в частности, близки к роду *Festuca* L. из подтрибы *Loliinae* Dumort., трибы *Poeae* R. Br. s. str. (“*Poeae* chloroplast type” – Soreng et al., 2015). По ядерным генам они группируются вместе с трибой *Aveneae* (Quintanar et al., 2007). К тому же род щучка (*Deschampsia*) отличается необычным для злаков триб *Aveneae* и *Poeae* хромосомным числом $2n = 26$ (Gnutikov et al., 2020) и чрезвычайной полиморфно-

стью входящих в этот род видов. Общий объем рода составляет около 60 видов, произрастающих практически во всех внетропических странах обоих полушарий, а также в высокогорьях тропиков (Цвелев, Пробатова, 2019). При этом вполне возможно, что видов *Deschampsia* гораздо больше из-за происходящих в роде процессов гибридизации.

Наши недавние исследования выявили случаи межполюсной дизъюнкции среди видов щучек, например, близкое родство арктических и субантарктических видов (феномен, уже описанный нами ранее при исследовании северопацифических и субантарктических видов мятликов (*Poa* L.) – (Rodionov et al., 2010). Данный феномен пока не может быть точно объяснен, но он обнаружен у довольно большого числа видов растений. Вероятно, он связан с большей древностью изучаемых таксонов, чем предполагалось раньше. Род *Deschampsia* считается одним из самых интересных и загадочных среди овсовых злаков, поэтому мы исследовали виды этого рода методом NGS, взяв для анализа и субантарктические виды. Секвенирование внутреннего спейсера – ITS1 – ген 5.8S рРНК методом NGS (секвенирование следующего поколения) было выполнено на платформе Illumina в Центре коллективного пользования «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ). Набор секвенированных ITS-последовательностей был обработан с помощью программы TCS 1.2 (Clement et al., 2000). Результаты TCS-расчетов были обработаны и визуализированы в программе TCS BU (Múrias dos Santos et al., 2016).

Виды группы родства *D. cespitosa*, включая *D. cespitosa* (L.) P. Beauv. из Великобритании и Аляски, алтайские *D. pamirica* Roshev., *D. sukatschewii* (Popl.) Roshev., образец Alt 15-434 (вид неясного родства, требующий специального изучения), родственные арктическим видам и *D. brevifolia* R. Br. из Российской Арктики формируют общую сеть риботипов с общими наиболее представленными последовательностями (рис.).

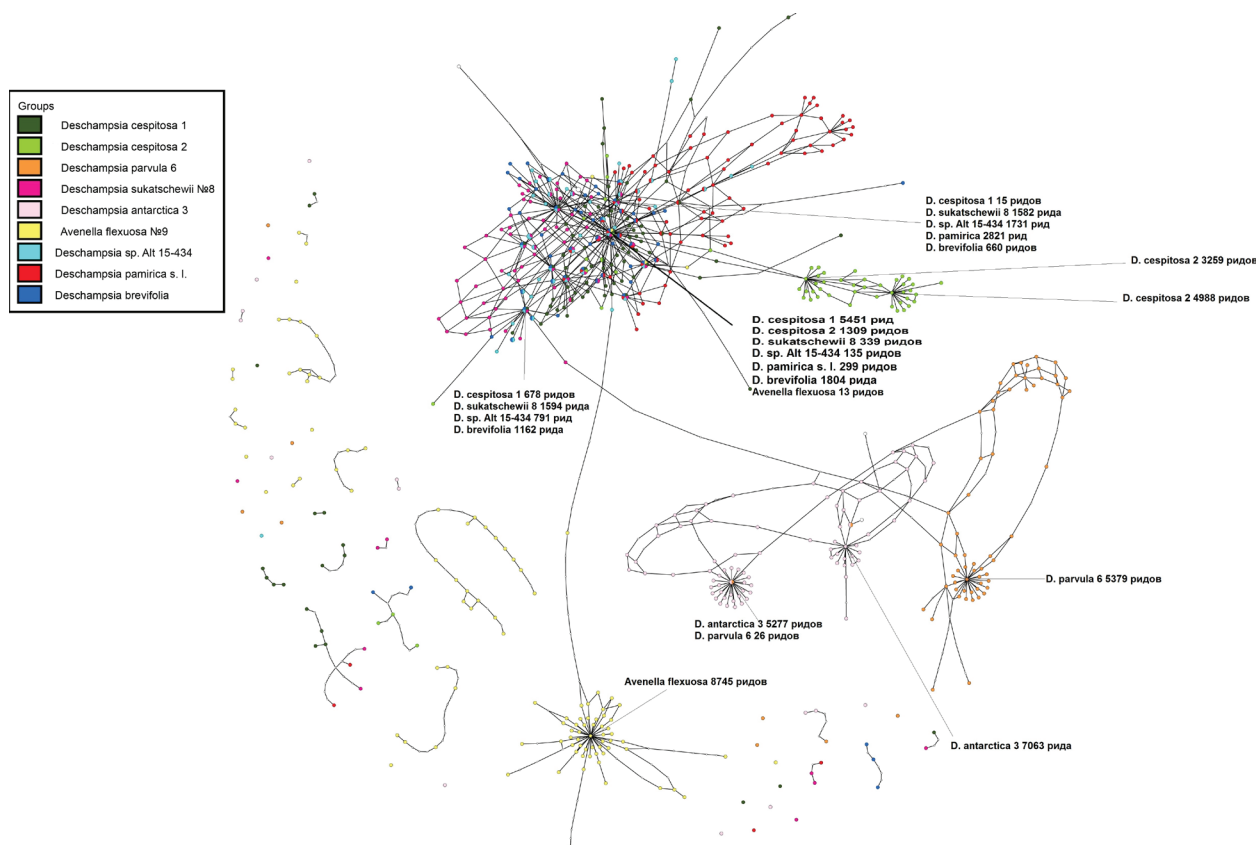


Рис. Схема, отражающая разнообразие и родство риботипов аллополиплоидных видов рода *Deschampsia* и *Avenella flexuosa*, построенная с помощью программы TCS 1.2 и визуализированная в программе TCS BU.

Но любопытно, что образец *D. cespitosa* из Аляски обладает еще одним, отдельным от не-антарктических видов *Deschampsia* субгеномом, в который входят как раз самые представленные ITS1-сиквенсы (8247 ридов). Еще один отдельный риботип выявляется у *D. pamirica*, собранной в Рос-

сийском Горном Алтае, хотя в него входит минорный компонент общего геномного пула. Аляскинская *D. Cespitosa*, вероятно, проходила в своем эволюционном развитии этапы интрогрессивной гибридизации, накапливая геномы от родственных таксонов. Здесь уместно вспомнить предположение Р.В. Камелина о существовании в природе интрогрессивно-межвидовых комплексов (Камелин, 2009). Происхождение уникальной композиции риботипов генома *D. cespitosa* из Аляски, отличающейся от остальных щучек, требует дальнейшего, более тщательного изучения.

D. pamirica – среднеазиатский вид, встречающийся в Горном Алтае на северной границе ареала. Возможно, это обстоятельство обусловило более интенсивные процессы аллополиплоидизации и гибридизации этого вида, причем отличающийся от остальных комплексов риботипов может быть как раз среднеазиатского происхождения.

Кроме видов *Deschampsia*, мы включили в анализ и *Avenella flexuosa* (L.) Drejer (ранее *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin.) – вид из близкого рода. До недавнего времени в систематике оставался нерешенным вопрос о целесообразности выделения *Avenella Bluff* ex Drejer в отдельный род.

Необходимо отметить, *A. flexuosa* имеет отличное от видов рода *Deschampsia* число хромосом $2n = 28$ (Krahulcová, 2003), и кариотипическая структура сильно отличается от кариотипов видов *Deschampsia* (Amosova et al., 2017). Нами было обнаружено, что самые представленные по числу ридов риботипы (8745 ридов) *A. flexuosa* принадлежат к единому субгеному, весьма отдаленному от видов рода *Deschampsia*. Это в целом подтверждает выводы J. Chiarella (2007) о необходимости разделения двух родов, полученные на основании анализа сиквенсов, прочитанных методом Сэнгера.

Среди пула ITS1-последовательностей в образце *A. flexuosa* (Великобритания) совершенно неожиданно оказались минорные компоненты (около 20 ридов), родственные видам *Deschampsia cespitosa* s. l. Это может говорить о том, что генетические барьеры межродовой гибридизации, вероятно, не такие строгие. В то же время очень незначительное количество сиквенсов *Deschampsia* в геномном наборе *Avenella flexuosa* может указывать на то, что гибридизация прошла в очень далеком прошлом, возможно, еще до разделения этих родов.

Интересно также, что взятые в анализ субантарктические щучки *D. antarctica* E. Desv. и *D. parvula* (Hook. f.) Desv. (Фолклендские о-ва) образуют совершенно уникальные группы, лишь отдаленно связанные с риботипами *Deschampsia* умеренного пояса, но каждый из видов в своем наборе содержит по два хорошо отличающихся друг от друга семейства риботипов.

Наше исследование демонстрирует сложность процессов видообразования в роде *Deschampsia*, а результаты могут послужить основой для дальнейших филогенетических исследований.

Благодарности. Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» в рамках гос. задания по проекту № 0662-2019-0006 и при поддержке грантов РФФИ № 20-516-10002 КО_а и СПбГУ PURE ID 60256916.

ЛИТЕРАТУРА

Камелин Р.В. Лекции по систематике растений. Главы теоретической систематики растений. – Барнаул: Издательство «Азбука», 2004. – 228 с.

Камелин Р.В. Особенности видообразования у цветковых растений // Труды Зоологического института РАН, 2009. – Приложение № 1. – С. 141–149.

Родионов А.В., Гнутиков А.А., Коцинян А.Р., Коцержуба В.В., Носов Н.Н., Пунина Е.О., Райко М.П., Тюпа Н.Б., Ким Е.С. Последовательность ITS1–5.8S рДНК–ITS2 в генах 35S рРНК как маркер при реконструкции филогении злаков (сем. Poaceae) // Успехи современной биологии, 2016. – Т. 136, № 5. – С. 419–438.

Цвелев Н.Н., Пробатова Н.С. Злаки России. – СПб–Владивосток: Товарищество научных изданий КМК, 2019. – 646 с.

Amosova A. V., Bolsheva N. L., Zoshchuk S. A., Twardovska M. O., Yurkevich O. Yu., Andreev I. O., Samatadze T. E., Badaeva E. D., Kunakh V. A., Muravenko O. V. Comparative molecular cytogenetic characterization of seven *Deschampsia* (Poaceae) species // PLoS ONE, 2017. – Vol. 12(4). – e0175760. DOI: 10.1371/journal.pone.0175760

Chiarella J. A molecular phylogenetic study of *Deschampsia* (Poaceae: Aveneae) inferred from nuclear ITS and plastid trnL sequence data: Support for the recognition of *Avenella* and *Vahlodea* // Taxon, 2007. – Vol. 56(1). – P. 55–64. DOI: 10.2307/25065735

Clement M., Posada D., Crandall K. A. TCS: a computer program to estimate gene genealogies // Molecular Ecology, 2000. – Vol. 9, No 10. – P. 1657–1660. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x

Gnutikov A. A., Myakoshina Ju. A., Nosov N. N., Punina E. O., Rodionov A. V. IAPT chromosome data 32/5 (K. Marshall & J. Kučera (eds.), & al.) // Taxon, 2020. – Vol. 69, No 5. – P. 1128–1129. E9–E10. DOI:10.1002/tax.12322

Krahulcová A. Chromosome numbers in selected monocotyledons (Czech Republic, Hungary, and Slovakia) // *Preslia*, 2003. – Vol. 75. – P. 97–113.

Múrias dos Santos A., Cabezas M. P., Tavares A. I., Xavier R., Branco M. TCS BU: A tool to extend TCS network layout and visualization // *Bioinformatics*, 2016. – Vol. 32, No 4. – P. 627–628. DOI:10.1093/bioinformatics/btv636

Quintanar A., Castroviejo S., Catalán P. Phylogeny of tribe Aveneae (Pooideae, Poaceae) inferred from plastid trnT-F and nuclear ITS sequences // *American Journal of Botany*, 2007. – Vol. 94. – P. 1554–1569.

Rodionov A. V., Nosov N. N., Kim E. S., Machs E. M., Punina E. O., Probatova N. S. The origin of polyploid genomes of bluegrasses *Poa* L. and gene flow between northern Pacific and Sub-Antarctic islands // *Russian Journal of Genetics*, 2010. – Vol. 46, No 12. – P. 1407–1416. DOI: 10.1134/S1022795410120021

Soreng R. J., Peterson P. M., Romaschenko K., Davidse G., Zuloaga F. O., Judziewicz E. J., Filgueiras T. S., Davis J. I., Morrone O. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae) // *J. Syst. Evol.* 2015. – Vol. 53. – P. 117–137.