

УДК: 582.572.225

ПОИСК АДАПТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ, СВЯЗАННЫХ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ОБИТАНИЮ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРИЙ: ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОМОВ ИЗ НЕСКОЛЬКИХ ВИДОВ РОДА *ALLIUM*

М.С. Беленикин, А.А. Криницына, М.Д. Логачева, С.В. Купцов, А.С. Сперанская

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, hanna.s.939@gmail.com

В настоящей работе описаны результаты экстракции хлоропластной ДНК (хпДНК), высокопроизводительного секвенирования и сборки генома хлоропласта видов рода *Allium*: *A. elatum* Regel., *A. obliquum* L., *A. paradoxum* (M. Bieb.) G. Don. Сравнительный анализ хпДНК этих видов и *A. cepa* L. позволяет лучше понять дивергенцию рода *Allium*. В частности, сравнение сиквенсов хпДНК выявило предполагаемые функционально значимые вставки в гене *ycf3* *A. elatum* и *A. paradoxum*, а также потерю гена *infA* в хпДНК *A. elatum*.

Ключевые слова: *Allium*, адаптивная эволюция, хлоропластный геном, сравнительный анализ.

Род *Allium* L. (Alliaceae) является одним из крупнейших родов мировой флоры. Его представители произрастают в Северном полушарии, среди них довольно большое количество редких и эндемичных видов. Наличие экономически важных растений этого рода объясняет необходимость исследований их диких родичей, в том числе, приспособившихся в процессе эволюции к выживанию в неблагоприятных для сельскохозяйственной деятельности условиях, например, подверженных воздействию повышенной дозировки УФ излучения, недостаточного увлажнения, резким перепадам суточных температур.

В настоящей работе мы провели сравнительный анализ последовательностей хлоропластных (хп) геномов четырех видов рода *Allium*, отличающихся в природе ареалом и экологическими условиями обитания: *A. cepa* L., *A. elatum* Regel. (syn. *A. macleanii* Baker.), *A. obliquum* L. и *A. paradoxum* (M. Bieb.) G. Don. Целью работы являлся поиск нуклеотидных полиморфизмов или перестроек, отражающих эволюционную адаптацию вида к особенностям занимаемой им экологической ниши. Последовательности хпДНК посевного лука *A. cepa* L. были ранее установлены в работе von Kohn et al., 2013 и представлены в базе данных RefSeq. Мы произвели выделение хпДНК, высокопроизводительное секвенирование и сборку последовательностей хп геномов *A. elatum*, *A. obliquum* и *A. paradoxum*.

A. elatum высокогорный вид, обитающий в безлесных долинах с выраженным сухим летним периодом. Этот вид произрастает в Центральной Азии, Пакистане, Афганистане, западном Непале и северо-западной Индии (Кашмир, Уттар-Прадеш).

A. obliquum обитает на относительно влажных лугово-степных участках и в редколесьях лесостепного типа. Произрастает на западе Монголии, северо-западе Китая, Средней Азии, Монголии, Закарпатской Украине, Венгрии, южной части Западной Сибири, на Алтае, на Урале, юго-западном Предуралье и на юге европейской части России.

A. paradoxum обитает в нижнем ярусе сезонно-влажных листопадных лесов нижнего и среднего горного пояса, в особенности на влажной почве вдоль временных водотоков, избегает открытых мест. Широко распространен в Западной Европе и части Азии.

Нами получена информация о полных последовательностях хп-геномов видов *A. obliquum*, длина которой составила 153049 п.о, а также о 90% последовательностей хп-геномов видов *A. elatum* и *A. paradoxum*. Сравнительный анализ последовательностей исследованных видов и *A. cepa* показал, что в хп-геноме *A. elatum* содержится значительное количество инсерций/делеций (107–702 п.о.), локализованных в межгенных спейсерах. В хп-геноме *A. obliquum* также имеется ряд заметных делеций в межген-

ных спейсерах, однако их локализация, как правило, не совпадает. Эти результаты соответствуют данными систематики, т.к. перечисленные виды относятся к различным подродам: *A. elatum* – подрод *Melanocrommyum* (Webb et Berth.) Rouy, *A. obliquum* – подрод *Polypyrason* Radic по классификации N. Friesen с соавт. [2006, цит. по Серегин, 2007]. Вероятнее всего, инсерции/делеции в межгенных спейсерах не связаны с особенностями экологии произрастания видов и отражают лишь их независимую эволюцию. Наибольшие отличия были обнаружены в хп-геноме *A. paradoxum*: найден ряд существенных структурных отличий (в том числе, делеций с суммарным размером около 3 500 п.н.), локализованных, в основном, в пределах одного участка генома размером около 10 000 п.н.

В хп-геноме *A. elatum* обнаружена делеция гена *infA*, кодирующего фактор инициации трансляции 1. Большинство (но не все) изученные виды покрытосеменных несут функциональный ген *infA* в хп-геноме. Существует предположение, что наличие мутаций в этом гене может быть ассоциировано с формированием мутантного (хлорофилл-недостаточного) фенотипа, в частности у ячменя [Landau et al., 2007]. При этом, на примере нескольких видов показано, что отсутствие функционирующего гена

infA в хп-геноме может компенсироваться экспрессией его копии в ядерном геноме.

У двух видов, *A. elatum* и *A. paradoxum*, были найдены инсерции в последовательностях интрона I генов *ycf3*: 5 п.о. для *A. elatum* и 11 п.о. для *A. paradoxum*. Ген *ycf3* найден в хп-геномах зеленых водорослей и сосудистых растений, кодирует белок, участвующий в сборке белкового ансамбля фотосистемы I и состоит из 3х экзонов, разделенных двумя интронами. Наличие первого интрона необходимо для сплайсинга белка *ycf3*. На примере мутантных растений табака было показано, что делеция первого интрона гена *ycf3* приводит у растений, выращиваемых в условиях недостаточной освещенности к образованию мутантного фенотипа (недостаток хлорофилла, отставание в росте) [Petersen, 2011]. В работе Landau et al., 2009 показано, что в ячмене формирование мутантного фенотипа может быть обусловлено двумя точечными мутациями в интроне I гена *ycf3*, он проявляется при повышенных температурах выращивания, а также зависит от характера освещения. Можно предположить, что обнаруженные инсерции в *ycf3* у *A. elatum* и *A. paradoxum* могут быть ассоциированы с особенностями его экспрессии при различных условиях произрастания.

Библиографический список (References)

- Серегин А.П. Род *Allium* L. (Alliaceae) во флоре восточной Европы. // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Москва: 2007. 27 с.
- von Kohn C., Kielkowska A., Havey M.J. Sequencing and annotation of the chloroplast DNAs and identification of polymorphisms distinguishing normal male-fertile and male-sterile cytoplasm of onion. // *Genome*, 2013. V. 56. P. 737–742.
- Landau A, Paleo A.D., Civitillo R., Jauregui-alzo M., Prina A.R. Two *infA* gene mutations independently originated from a mutator genotype in barley // *Journal of Heredity*, 2007. V. 98. N 3. P. 272–276.
- Petersen K., Schöttler M.A., Karcher D., Thiele W., Bock R. Elimination of a group II intron from a plastid gene causes a mutant phenotype // *Nucleic Acids Res.* 2011. V. 39. N 12. P. 5181–5192.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 23–24

THE QUEST FOR EVOLUTIONARY CHANGES IN PLANTS ADAPTED TO HIGH-ALTITUDE HABITATS: THE NEXT-GENERATION SEQUENCING AND COMPARATIVE ANALYSIS OF CHLOROPLAST GENOMES OF SOME ALLIUM SPECIES

M.S. Belenikin, A.A. Krinitsina, M.D. Logacheva, C.V. Kuptsov, A.S. Speranskaya

Lomonosov Moscow State University, hanna.s.939@gmail.com

In this study, the chloroplast DNA (cpDNA) extraction, next-generation sequencing and chloroplast genome assembly reported for *Allium* species: *A. elatum* Regel., *A. obliquum* L., *A. paradoxum* (M. Bieb.) G. Don. Comparative analysis cpDNA of these species to *A. cepa* L. provides insights to the divergence of chloroplast sequences of *Allium* species. Comparison of protein-coding regions of cpDNA sequences reveals potentially functional significant insertions in *ycf3* of *A. elatum* and *A. paradoxum*, and *infA* gene loss in cpDNA of *A. elatum*.