

Исследование филогенетических связей диких и культурных видов овса (*Avena* L.)

Study of phylogenetic relationships between wild and cultivated oat species (*Avena* L.)

Гнутиков А. А.^{1,3}, Носов Н. Н.^{2,3}, Лоскутов И. Г.^{1,3}, Блинова Е. В.¹, Родионов А. В.^{2,3}

Gnutikov A. A.^{1,3}, Nosov N. N.^{2,3}, Loskutov I. G.^{1,3}, Blinova E. V.¹, Rodionov A. V.^{2,3}

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

E-mails: alexandr2911@yandex.ru; i.loskutov@vir.nw.ru; e-blinova.blinova2017@yandex.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 V. L. Komarov Botanical Institute (BIN RAS), St. Petersburg, Russia

³ Биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

³ Biological faculty, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Реферат. Проведено секвенирование следующего поколения (NGS) на платформе Illumina последовательности ITS1 и начала гена 5.8S рРНК образцов диких и культивируемых видов рода *Avena* L. Впервые методом NGS проведен филогенетический анализ путей одомашнивания трех культурных видов овса: тетраплоидного *A. abyssinica* (AB) и гексаплоидных *A. sativa* и *A. byzantina* (ACD). Нами выявлено, что наиболее массовый по количеству ридов (прочтений) геном *A. abyssinica* – это А-геном, а у *A. sativa* – D-геном. Изучены также предполагаемые пути получения геномов полиплоидов от диплоидных видов. По данным NGS-секвенирования было выявлено, что наиболее массовый риботип *A. sativa* унаследован от *A. ludoviciana*, *A. byzantina* обладает двумя уникальными семействами риботипов, а *A. abyssinica*, вероятно, происходит от дикорастущего *A. vaviloviana*, при этом А-геном получен этим видом от диплоидного *A. atlantica* (As-геном). Предполагаемый предок *A. abyssinica*, тетраплоид *A. agadiriana*, формирует уникальные семейства риботипов, к которым принадлежит самый массовый риботип. Скорее всего, он не был прямым предком *A. abyssinica*. С-геномный вид *A. clauda* оказался родственным D-геному *A. sativa*, он также мог принимать участие в формировании гексаплоида *A. ludoviciana*.

Ключевые слова. Доместикация, овес, филогения, ITS, NGS.

Summary. We performed next generation sequencing (NGS) of wild and cultivated oat species (*Avena* L.) ITS1 sequence and the beginning of the gene 5.8S rRNA on the Illumina platform. For the first time, the NGS method was used to carry out a phylogenetic analysis of the domestication pathways of three cultivated oat species: tetraploid *A. abyssinica* (AB), hexaploid *A. sativa* and *A. byzantina* (ACD). We found that the *A. abyssinica* genome with the most massive number of reads is the A-genome, while in *A. sativa*, it is the D-genome. Also, we studied the putative ways of obtaining polyploid genomes from diploid species. According to NGS sequencing data, it was revealed that the most widespread *A. sativa* ribotype is inherited from *A. ludoviciana*, *A. byzantina* has two unique families of ribotypes, and *A. abyssinica* probably comes from the wild *A. vaviloviana* (A-genome was obtained by this species from the diploid *A. atlantica* (As-genome)). Putative ancestor of *A. abyssinica*, tetraploid *A. agadiriana*, forms unique families of ribotypes, to which the most widespread ribotype belongs. It most likely was not a direct ancestor of *A. abyssinica*. C-genome species *A. clauda* turned out to be related to the D-genome of *A. sativa*; it could also be involved in the formation of the hexaploid *A. ludoviciana*.

Key words. Domestication, ITS, NGS, oats, phylogeny.

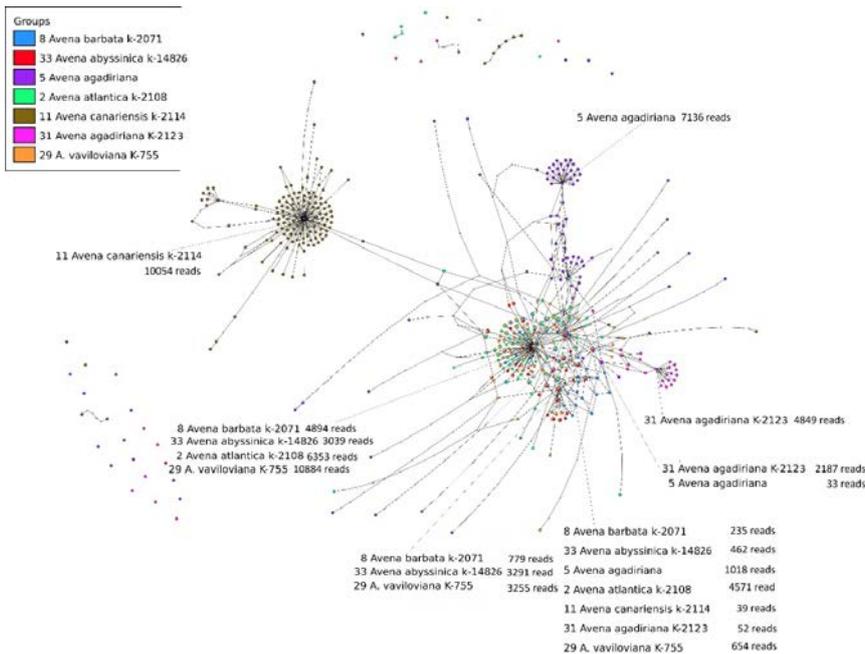


Рис. 1. Схема родства риботипов культурного *A. abyssinica* и дикорастущих видов, построенная с помощью программы TCS 2.1.

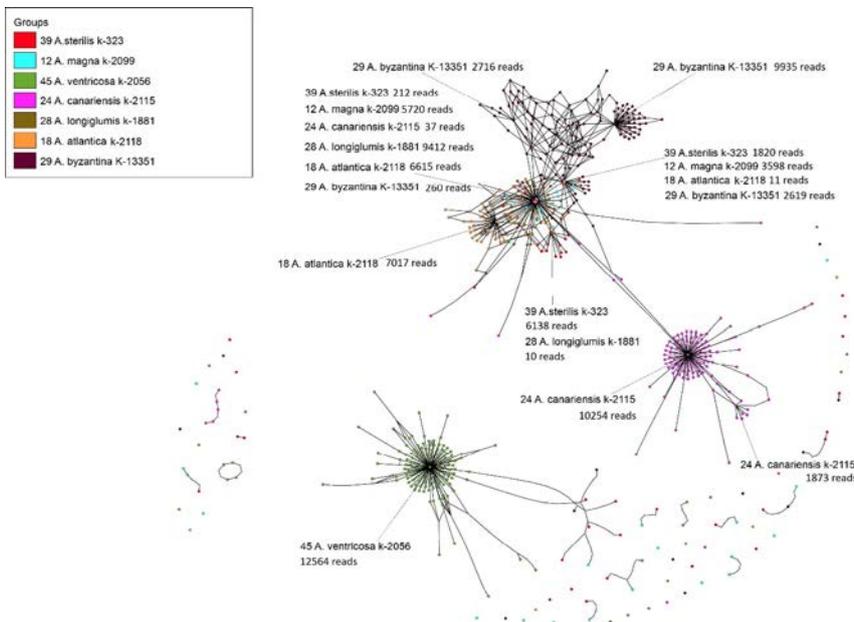


Рис. 2. Схема родства риботипов культурного *A. byzantina* и дикорастущих видов, построенная с помощью программы TCS 2.1.

Род *Avena* L. довольно разнообразен; виды, входящие в него, имеют три уровня плоидности ($2n = 14, 28, 42$) и сильно различаются по геномному составу (геномы A, C, AB, AC, ACD) и эколого-географическому происхождению. Большинство этих видов является дикими, произрастающими либо в ненарушенных фитоценозах, либо как сепетальные сорняки (Ladizinsky, Zohary, 1971; Лоскутов, 2007). В то же время нет единого мнения о происхождении видов овса, доместикации, их систематическом положении и родственных связях. Для выявления путей эволюции и одомашнивания овса, а также прояснения филогенетических связей между культурными (*A. abyssinica* Hochst., *A. sativa* L., *A. byzantina* K. Koch) и дикими видами нами был проведен анализ внутригеномного полиморфизма последовательностей рДНК видов овсов и овсюгов.

В работе был использован метод локус-специфичного секвенирования следующего поколения (NGS) на платформе Illumina. NGS проводили в ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ).

Результаты targeted-секвенирования «популяции» ITS-последовательностей полиплоидных геномов *Avena* были обработаны с помощью программы TCS (Clement et al., 2000). Алгоритм TCS основан на вероятностном методе статистической парсимонии и позволяет определять вероятность связи между всеми гаплотипами с индикацией числа мутаций, по которым различаются исследуемые гаплотипы. Результаты TCS-расчетов были обработаны в программе tcsBU (Múrias dos Santos et al., 2016).

Результаты TCS-расчетов были обработаны в программе tcsBU (Múrias dos Santos et al., 2016).

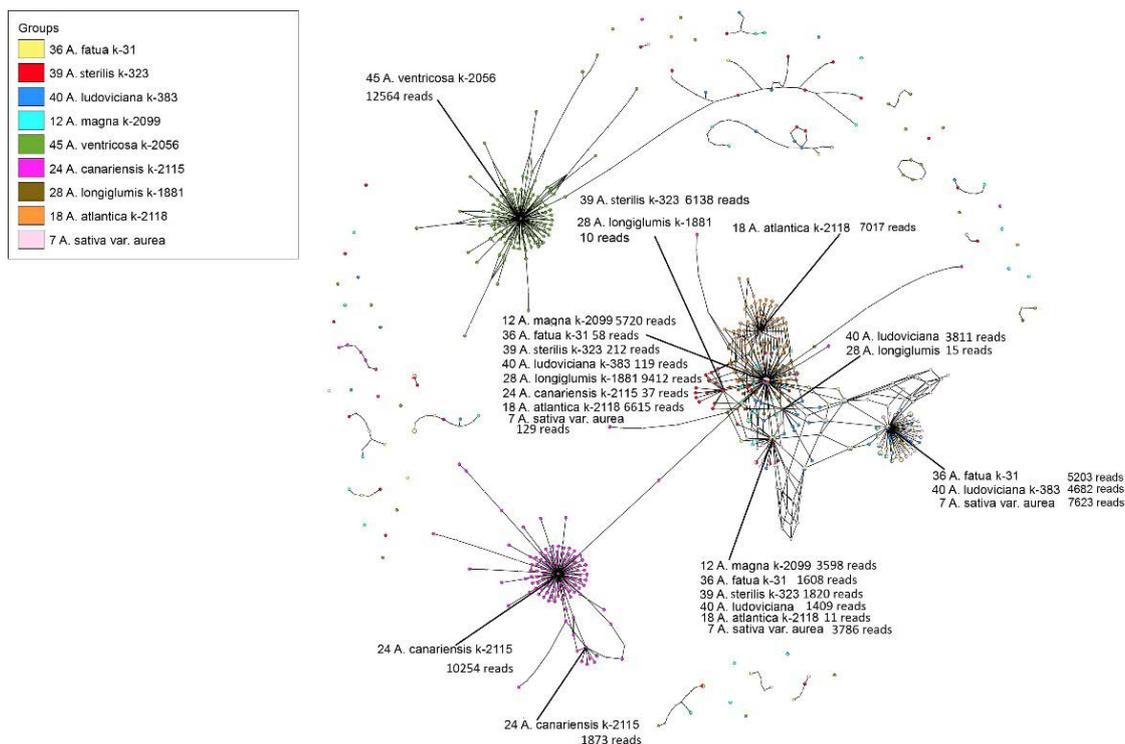


Рис. 3. Схема родства риботипов культурного *A. sativa* и дикорастущих видов, построенная с помощью программы TCS 2.1.

Наши данные по исследованию геномной структуры тетраплоида (AB) *A. abyssinica* подтверждают ранее предложенную схему эволюции вида (Лоскутов, 2007). А-геном получен этим видом от диплоидного *A. atlantica* V. R. Baum et Fedak (As, 6353 рида) через тетраплоидный *A. vaviloviana* (Malzev) Mordv. (10884 рида) (рис. 1). Предположительно В-геном включает вторые по массовости риботипы *A. abyssinica* (3291 рид) и *A. vaviloviana* (3255 ридов). Однако тетраплоид *A. agadiriana* V. R. Baum et Fedak, считавшийся предком для *A. vaviloviana* и *A. abyssinica*, формирует уникальное семейство риботипов, к которому принадлежат самые массовые варианты последовательностей. Второй по представленности риботип *A. agadiriana* гомологичен второму по численности последовательностей риботипу *A. atlantica*.

Культурный гексаплоид *A. byzantina* (ACD-геном) рядом исследователей считается близким к *A. sativa* (Лоскутов, 2007). Наш анализ NGS показал, что наиболее массовые риботипы (9935 и 2716 ридов) являются уникальными, образуя собственную сеть (рис. 2). В то же время третий по представленности риботип объединяется со вторыми по массовости риботипами *A. magna* H. C. Murphy et Terrell и *A. sterilis* L. (3598 и 1820 ридов соответственно). *A. ventricosa* Balansa ex Coss. (Cv), ранее считавшийся донором С-генома для гексаплоидов, не вносит свои риботипы в общий набор для *A. byzantina*. Согласно ранее предложенным схемам, *A. byzantina* получил AC-геном от *A. magna*, а D-геном (вариант А-генома) – от *A. sterilis*. Но мы видим, что самые представленные последовательности *A. byzantina*, по нашим данным, имеют независимое происхождение: вероятно, от ныне вымершего предка либо в результате постгибридизационной трансформации. Лишь третий по представленности в геноме *A. byzantina* риботип гомологичен *A. magna* и *A. sterilis*, но при этом самый массовый риботип *A. sterilis* также уникален и формирует собственное семейство. На нашей схеме сложно выделить геном D, данные NGS говорят, скорее, о разных вариантах генома А. Сами риботипы А-генома, вероятнее всего, были унаследованы *A. byzantina* от диплоидного вида *A. atlantica* (As-геном), но были также серьезно изменены, поскольку массовому риботипу *A. atlantica* (6615 ридов) гомологична лишь минорная фракция *A. byzantina* (260 ридов).

A. sativa (в анализ взята разновидность *A. sativa* var. *aurea*) – гексаплоид с геномным набором ACD. Наши данные отчасти подтверждают ранее предложенную схему филогении этого вида (Лоскутов, 2007). А-геном *A. sativa* (3786 ридов) получен от тетраплоида *A. magna* (3598 ридов) (рис. 3). Но самым массовым по количеству прочтений (ридов) является риботип, соответствующий геному

D (7623 ридов). Он гомологичен таковому у гексаплоида *A. ludoviciana* Durieu (4682 ридов). Тем не менее второй по представленности риботип *A. ludoviciana* (3811 ридов) не гомологичен предполагаемому А-геному у *A. sativa*. Чтобы выявить происхождение С-субгенома в геномном наборе гексаплоида *A. sativa*, нами были взяты в анализ диплоидные виды с С-геномом *A. ventricosa* (Cv) и *A. clauda* Durieu (Cp) (рис. 4). Риботипы С-геномного *A. ventricosa* не принимали участия в формировании генома полиплоидного *A. sativa*. *A. clauda* дает неожиданную картину родства. Его С-геном, в который входит самый массовый риботип (5320 ридов), также удален от *A. sativa* и родственных видов. Однако в геномном составе диплоида *A. clauda* оказываются и семейства риботипов, гомологичные А-геномам. Второй по массовости риботип *A. clauda* (3195 ридов) гомологичен А-геному *A. ludoviciana* (3811 ридов). Также один из массовых риботипов *A. clauda* (1305 ридов) входит и в предполагаемый D-субгеном *A. sativa*. Можно предположить, что *A. clauda* – это либо палеополиплоид с диплоидным хромосомным набором, либо гомоплоидный гибрид С- и А-геномного овса. Вполне возможно также, что мы видим здесь на примере *A. clauda* акт эволюционного преобразования от С-генома, который, по некоторым данным, наиболее примитивен в роде *Avena* (Loskutov, Rines 2011) к А-геному.

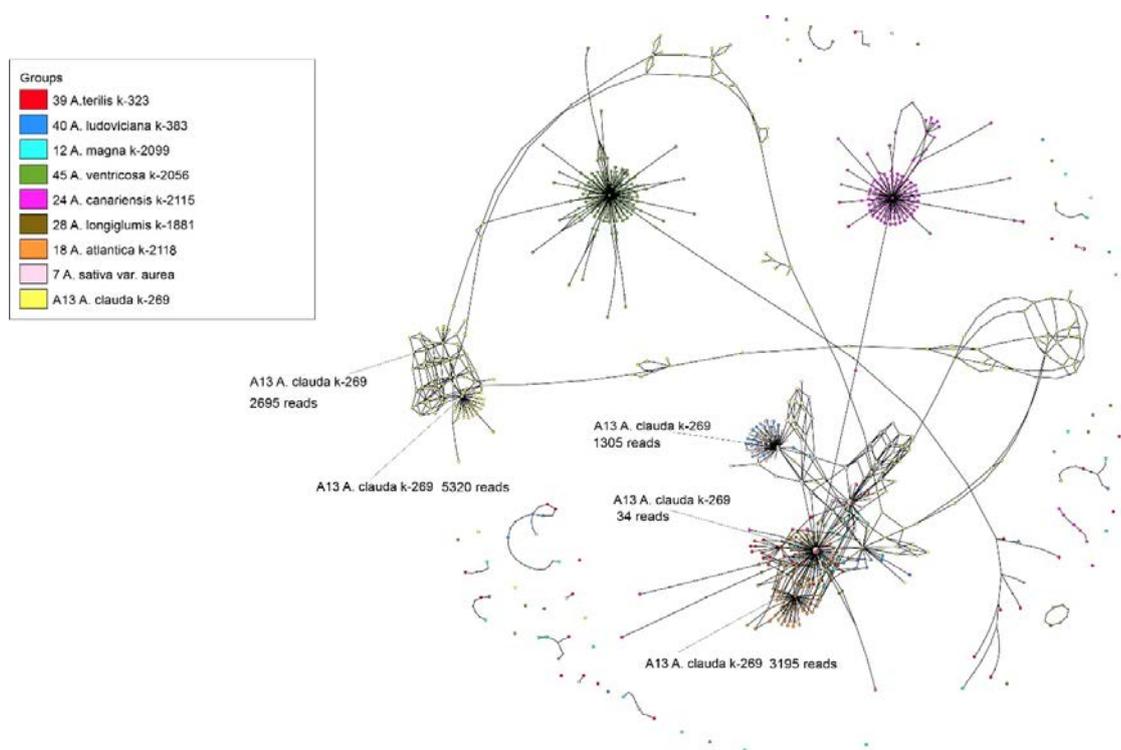


Рис. 4. Схема, показывающая вклад генома диплоида (Cp) *A. clauda* в общий геномный набор гексаплоида (ACD) *A. sativa* и родственных видов.

Таким образом, впервые методом NGS проведен филогенетический анализ путей одомашнивания трех культурных видов овса: *A. abyssinica*, *A. sativa*, *A. byzantina*. Показано, что наиболее массовый риботип гексаплоида *A. sativa* унаследован от *A. ludoviciana*, а второй по массовости – от *A. magna*. *A. byzantina* обладает двумя уникальными семействами риботипов, скорее всего, унаследованными от вымершего вида овса или криптовида, до сегодняшнего момента не обнаруженного. Тетраплоид *A. abyssinica*, вероятнее всего, происходит от дикорастущего *A. vaviloviana*. При этом *A. agadiriana*, считавшийся ранее предковым для *A. abyssinica* и его группы родства, формирует отдельные уникальные субгеномы (семейства риботипов).

Благодарности. Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» в рамках гос. задания по проекту № 0481-2022-0001 и при поддержке грантов РФ № 22-24-01085 и СПбГУ PURE ID 60256916.

ЛИТЕРАТУРА

Лоскутов И. Г. Овес (*Avena L.*). Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность. – СПб.: ГНЦ РФ ВИР, 2007. – 336 с.

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

Ladizinsky G., Zohary D. Notes on species delimitation species relationships and poliploidy in *Avena L.* // *Euphytica*, 1971. – Vol. 20, № 3. – P. 380–395.

Loskutov I. G., Rines H. W. *Avena L.* // *Wild crop relatives: genomic and breeding resources* / Kole C. (ed). – Heidelberg: Springer, 2011. – P. 109–184.

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