

коллекции оказались – С3/М1 (сорта Легенда, Щара) и С1/М5 (сорт Optimus) плазматипы. Полученные нами данные о делении на группы сортов сои по геномам органелл отчасти аналогичны результатам работы Yue с коллегами, 2023 [5].

Проведенное исследование показало, что для дифференциации сортов сои из данного генного пула на плазматипы достаточно проведения ПЦР и секвенирования по Сэнгеру по 5 ДНК маркерам к геномам органелл (в данный момент проводится изучение расширенной выборки сортов сои - более 100 сортов).

Выводы. Уровень изменчивости органелльных геномов сои, используемых в практической селекции - низкий. Особенно он сужен для хлоропластной ДНК.

Получена информация о геномах органелл 48 сортов сои. Разработан набор ДНК маркеров для идентификации типа геномов органелл сои. Проведенное исследование и полученные нами данные будут полезны при подборе родительских пар в селекции данной культуры, расширения генофонда, используемых при гибридизации форм.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Биотехнологии 2», 2021–2025 г., подпрограмма «Геномика, эпигеномика, биоинформатика», задание 2.1.3.

Список литературы

1. Оценка изменчивости хлоропластных и митохондриальных геномов ячменя методом NGS-анализа органелльных смесей / Ермакович А. Е. [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. 2020. Т. 65. № 3. С. 358–364.
2. Sequencing of Chloroplast Genomes from Wheat, Barley, Rye and Their Relatives Provides a Detailed Insight into the Evolution of the Triticeae Tribe / C. P. Middleton [et al.] // PLoS ONE. 2014. № 9. P. e85761.
3. Triboush S. O., Danilenko N. G., Davydenko O. G. A method for isolation of chloroplast DNA and mitochondrial DNA from sunflower // Plant molecular biology reporter. 1998. № 16. P. 183–189.
4. The study of organelle DNA variability in alloplasmic barley lines in the NGS era // M. G. Siniauskaya [et al.] // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2020. № 24. P. 12–19.
5. Polymorphism analysis of the chloroplast and mitochondrial genomes in soybean / Yue Y. [et al.] // BMC Plant Biology. 2023. № 23. P. 1–12.

УДК 575.13:575.22

Изменчивость хлоропластного генома культивируемых в республике Беларусь сортов тритикале

Соколюк А.В., Варфоломеева Т.Е., Дубовец Н.И.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Ключевые слова: тритикале, хлоропластный геном, нуклеотидные замены, NGS

Введение. Специфика селекции тритикале обусловлена отсутствием естественного центра формо- и видообразования, вследствие чего генетическое разнообразие пшенично-ржаных гибридов ограничено видовым и в значительно большей степени сортовым разнообразием пшеницы и ржи. Поскольку генофонд обоих хлебных злаков в последнее время подвергся значительной эрозии, проблема его расширения в равной степени касается и тритикале. Для её решения используются такие, направленные на реконструкцию ядерного генома, подходы, как создание хромосомно-замещенных форм, интрогрессия чужеродного генетического материала с целью передачи ценных признаков от диких видов. Следует, однако, отметить, что ядерный геном ответственен лишь за 75% общей генотипической изменчивости растений, в то время как остальные 25% контролируются цитоплазматическими генами [1]. Из этого следует, что геномы органелл можно рассматривать как источник дополнительного генетического разнообразия, причем источник весьма ценный, поскольку исследования

последних лет указывают на существенную роль цитоплазматических генов в адаптации растений [2]. В условиях наблюдаемого изменения климата этот аспект приобретает особую важность. Все это свидетельствует о необходимости детальной характеристики на молекулярном уровне генетического разнообразия геномов органелл зерновых злаковых культур.

Цель настоящего исследования – провести полногеномное секвенирование и осуществить сборку нуклеотидных последовательностей хлоропластных ДНК сортов тритикале и путем сопоставления их между собой оценить уровень межсортовой изменчивости пластома данной зерновой культуры.

Материалы и методы. Материалом для исследований служили 10 культивируемых в Республике Беларусь сортов тритикале, из которых 6 (Благо 16, Динамо, Ковчег, Устье, Заречье, Гродно) озимого типа развития, остальные 4 (Узор, Лана, Матейко, Садко) – ярового.

Хлоропласты выделяли путем дифференциального центрифугирования и модифицированного СТАВ метода из 7-ми дневных проростков. ДНК из хлоропластов выделяли с помощью набора «АРТ-ДНК растения» согласно протоколу. Качество полученных образцов проверяли рестрикционным анализом с использованием эндонуклеазы EcoRI. Продукты идентифицировали с помощью электрофореза в 1% агарозном геле.

Высокопроизводительное секвенирование осуществлялось с использованием технологии Illumina, с использованием секвенатора MiSeq System. В качестве набора для приготовления библиотеки использовался NexteraXT, а набора для секвенирования – MiSeq Reagent Kit v.3.

Процесс обработки данных секвенирования включал следующие этапы: очистка FASTQ-файлов (Trimmomatic-0.39), выравнивание прочтений на референсный хлоропластный геном *Triticum aestivum* (код доступа GenBank – KJ592713) (Bowtie2-2.3.3), визуализацию выравнивания прочтений (Tablet), сборка FASTA-последовательностей (SPAdes, SnapGene 6.2.2).

Результаты. При сопоставлении полученных полных нуклеотидных последовательностей хлоропластных геномов сортов тритикале с референсным хп-геномом *Triticum aestivum* выявлены изменения в их структуре, включающие одно-, ди- и тетрануклеотидные замены, а также делеции. В ген-кодирующих областях структурным изменениям подверглись 16 генов, которые условно можно разделить на три основные группы. В первую группу входят гены, кодирующие белки, связанные с фотосинтезом: ген *atpA*, ответственный за синтез α -субъединицы H^+ АТФазы, ген *psaA*, кодирующий белковый комплекс А фотосистемы I, а также гены *ndhB* и *ndhB2*, отвечающие за синтез НАДН-дегидрогеназы. Вторую группу составляют гены, связанные с работой генетического аппарата пластид: гены *rpl23* и *rpl23-A*, кодирующие белки большой субъединицы рибосом и ген *rps7-A*, ответственный за синтез белков малой субъединицы. К третьей группе мы отнесли 5 генов, кодирующих неохарактеризованные белки.

При сравнении пластома сортов тритикале между собой обнаружены различия как в количественном, так и качественном составе структурных изменений. Исключение составляют два яровых сорта Матейко и Садко, у которых типированы 42 идентичные модификации ДНК.

Максимальное количество модификаций (52) выявлено у озимого сорта Динамо. Пять из них (три однонуклеотидных замены и делеция одного нуклеотида в гене *atpA*, а также тетрануклеотидная замена в гене *psaA*), являются индивидуальными, не обнаруженными у других сортов. Минимальное количество модификаций (18), затрагивающих лишь 5 генов: *atpA*, *psaA*, *rpl23-A*, *rpl23* и *ndhB2*, обнаружено у озимого сорта Устье. Интересно отметить тот факт, что аналогичные структурные изменения хп-ДНК в идентичных позициях (14 позиций для гена *atpA*, для остальных генов - по одной) типированы у всех исследованных сортов, причем одна из нуклеотидных замен в гене *atpA* приводит к образованию stop-кодона.

Среди остальных озимых сортов наиболее близки по структуре хп-генома сорта Благо 16 и Гродно, у которых при сравнении с референсным геномом выявлено соответственно 39 и 40 модификаций ДНК. При этом у второго сорта дополнительно присутствует несинонимичная

нуклеотидная замена в гене *atpA*. Сорты Заречье (37 модификаций) и Благо 16 различаются между собой четырьмя модификациями хп-ДНК, которые касаются гена *atpA* и генов, кодирующих неохарактеризованные белки. При сравнении сортов Ковчег (29 модификаций) и Благо 16, имеющих идентичные изменения в гене *atpA*, обнаруживаются 11 различий, связанных преимущественно с геном *ndhB*.

Что касается яровых сортов, то, как уже отмечалось выше, Матейко и Садко идентичны по структуре хп-генома. Сорт Узор (38 модификаций хп-ДНК) отличается от них по 14 позициям, из которых 6 приходится на ген *atpA*, а сорт Лана (46 модификаций) - лишь по 6, причем 5 из них касаются этого же гена.

Учитывая имеющиеся в литературе примеры, свидетельствующие о существенной роли внутривидовой изменчивости цитоплазмы в адаптивной дифференциации растительных популяций [3-4], мы ожидали обнаружить различия в структуре пластов между тритикале ярового и озимого типов развития, однако этого не произошло. Из выявленных в общей сложности 52 модификаций хп-ДНК у яровых форм не отмечены лишь индивидуальные для озимого сорта Динамо полиморфизмы, однако они не выявлены и у других озимых сортов. Остальные модификации в равной мере были характерны для обоих типов сортов.

Выводы. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о низком уровне межсортовой изменчивости хп-генома у культивируемых в Республике Беларусь сортов тритикале, что находится в соответствии с литературными данными, согласно которым в процессе одомашнивания и последующей селекции культурных растений произошло существенное снижение уровня полиморфизма не только ядерных, но и органелльных геномов [5-6]. Из этого следует, что искать источник дополнительного генетического разнообразия среди органелльных геномов сортового материала не имеет смысла. Как и в случае с ядерным геномом для расширения изменчивости пласта с целью дальнейшего использования этой изменчивости для разработки новых селекционных стратегий следует использовать генпул диких сородичей культурных растений.

Список литературы

1. Геномы органелл клетки и их роль в эволюции и селекции растений / О.Г. Давыденко [и др.] // Генетические основы селекции растений - Нац. Акад. Наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии. - 2-е изд. - Минск : Беларуская наука, 2018. - Т. 1 - Гл.7. - С. 316-356.
2. Budar, F. The role of organelle genomes in plant adaptation Time to get to work! / F. Budar, F. Roux // Plant Signaling & Behavior. - 2011. - Vol. 6, № 5. - P. 635-639.
3. Galloway, L.F. Nuclear and cytoplasmic contributions to intraspecific divergence in an annual legume / L.F. Galloway, C.B. Fenster // Evolution. - 2001. - Vol. 55. - P. 488-497.
4. Leinonen, P.H. Local adaptation, phenotypic differentiation and hybrid fitness in diverged natural populations of *Arabidopsis lyrata* / P.H. Leinonen, D.L. Remington, O. Savolainen // Evolution. - 2010. - Vol. 65- P. 90-107.
5. Polymorphic chloroplast simple sequence repeat primers for systematic and population studies in the genus *Hordeum* / J. Provan [et al.] // Molecular Ecology. - 1999. - Vol. 8.- P. 505-511.
6. An extreme cytoplasmic bottleneck in the modern European cultivated potato (*Solanum tuberosum*) is not reflected in decreased levels of nuclear diversity / J. Provan [et al.] // Genetics. - 1999. - Vol. 266. - P. 633-639.

УДК 577.21:633.111.1

ДНК-ТИПИРОВАНИЕ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ПО ГЕНАМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ЗИМОСТОЙКОСТЬЮ

Шимко В.Е.¹, Матиевская О.С.¹, Бондаревич Е.Б.¹, Гордей С.И.², Дубовец Н.И.¹

¹ ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь

² РУП «Научно-практический центр НАНБ по земледелию» Минск, Республика Беларусь