

ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМОВ И ХРОМОСОМНЫХ НАБОРОВ ЗЛАКОВ

© А. В. Родионов,¹ В. В. Коцеруба, Е. С. Ким, Е. О. Пунина, Н. Н. Носов

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург;

¹электронный адрес: avrodionov@mail.ru

В статье кратко обсуждаются механизмы, с помощью которых в эволюции геномов злаков изменяется диплоидное ($2n$) или основное (x) число хромосом в кариотипе.

На первый взгляд хромосомная композиция геномов (субгеномов) у злаков высоко консервативна: у большинства видов злаков основное число хромосом в кариотипе (x) равно 7, в том числе у всех 500 видов *Triticeae*. Однако в некоторых систематических группах x иное: у *Bambusoideae*, *Oryzoideae* и *Arundoideae* чаще всего $x = 12$, а для *Eragrostideae* и *Panicoideae* обычны 9 и 10 соответственно. У *Poaceae* x варьирует от 2 до 19 при модальном 7 (Hilu, 2004). Существовали две гипотезы о том, каким был геном общего предка всех злаков. Авдулов (1931) предполагал, что общий предок злаков имел 12 пар хромосом, после чего число хромосом в ходе дивергенции таксонов снижалось в разных филогенетических ветвях — это так называемая редукционная гипотеза. Согласно альтернативному взгляду, получившему название «гипотезы вторичной полипloidизации», предложенной Стеббинсом (Stebbins, 1982), в геноме общего предка злаков было 5 или 6 хромосом, а большие хромосомные числа есть результат полипloidизации.

Экспериментально проверить эти гипотезы стало возможным только с развитием методов сравнительной геномики. Исследование полностью секвенированных геномов представителей разных филогенетических ветвей злаков (Salse et al., 2009; Murat et al., 2010) показало, что обе гипотезы оказались верными: сначала общий предок всех злаков имел $n = 5$, затем, еще на стадии общего предка всех злаков, произошла полипloidизация генома протозлака и появился кариотип с $n = 10$, после чего за счет транслокации между двумя парами хромосом возникли две новые группы сцепления и n стало 12. Затем, 50–60 млн лет назад, злаки разделились на 2 ветви — кладу ВЕР и кладу РАССАД. В кладе РАССАД число хромосом в геноме сначала уменьшилось до 10 за счет транслокации (такой геном сохранился у сорго), а в линии кукурузы около 5 млн лет назад произошла полипloidизация ($n = 20$), после чего вторичная дипloidизация до $n = 10$ (Murat et al., 2010). В кладе ВЕР геном с 12 хромосомами сохранился у риса, пшеницы (7 пар хромосом), *Brachypodium distachyon* (5 пар), *Zingeria biebersteiniana* и у *Colpodium versicolor* (2 пары хромосом) (Hilu, 2004).

Число хромосом в кариотипе ($2n$) у злаков, возникших в результате полипloidизации исходного гаплоидного числа хромосом (x), может сильно варьировать в

пределах рода и даже в пределах вида. По мнению Пробатовой (2007), диплоидный уровень ($2x$) организации генома у злаков оптимальен при экологически напряженных, но стабильных условиях. Обладающие высокой экологической пластичностью полиплоиды получают преимущество при естественной или искусственной нестабильности среды обитания. На филогенетическом древе диплоидные виды злаков, как правило, занимают базальное положение, а у видов с тетраплоидными, гексаплоидными и высокополиплоидными кариотипами, в общем, неслучайное распределение в разных филогенетических ветвях (Родионов и др., 2007, 2010).

Растения одного вида с разным числом хромосом в кариотипе, но, с точки зрения систематиков, несущественно различающиеся по морфологии и ареалам для того, чтобы быть выделенными в отдельные виды или подвиды, называются хромосомными расами, или цитотипами. Так, например, у обычно апомиктически размножающихся мятыков *P. ampla* $2n = 63$, и это число стабильно наследуется в апомиктических поколениях, но около 5–10 % растений этого вида — потомство от факультативно происходящих скрещиваний — имеет $2n$, равное 56, 60—63, 66, 70, 82—84, 90—93, 98—102, 126 или 147 хромосом (Clausen, 1961). *P. ampla* Merr. сейчас рассматривают как синоним *Poa secunda* subsp. *juncifolia* (Scribn.) Soreng (Soreng, 2007).

Подобное регулярное появление множества новых и новых комбинаций хромосом у полиплоидов (см., например: Пробатова, 2007), новых в разной степени несбалансированных геномов, так внешне похожее на кропотливую, но бесплодную возню природы с генетическим материалом, вероятно, можно сравнить с состоянием напряженного творческого поиска, когда природой создается множество генетических и эпигенетических вариантов с шансом, что один из вариантов окажется тем единственным, который будет качественно отличаться от родительских видов и идеально соответствовать актуальным экологическим условиям.

Считается, что цитотипы возникают в результате кратного изменения числа геномов (автополипloidии), в результате слияния гамет с нередуцированными или в разной степени несбалансированными хромосомными наборами (Clausen, 1961; Ramsey, Schemske, 1998). Однако первые же исследования по хромосомному пэнтингу у злаков (Idziak et al., 2011) показали, что наши представления об организации геномов у цитотипов, возможно,

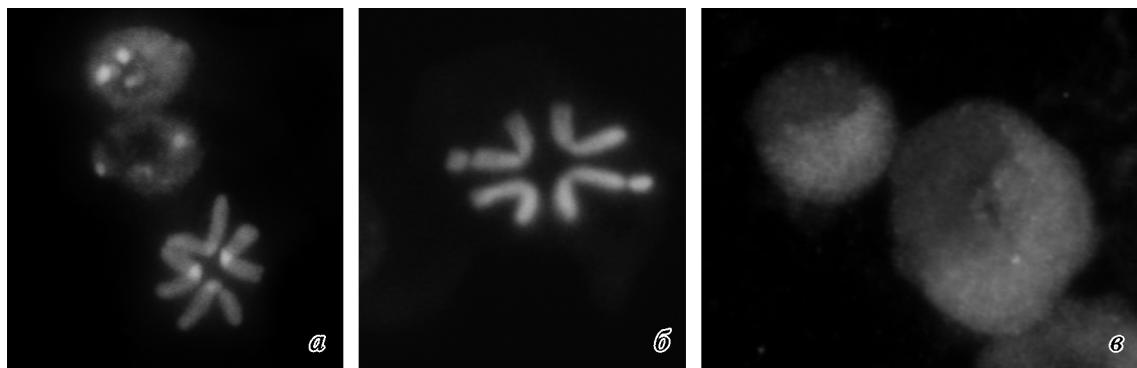


Рис. 1. Кариотип *Zingeria biebersteiniana* (а) и *Colpodium versicolor* (б).
а, б — окраска DAPI; в — интерфазное ядро *Zingeria biebersteiniana* после GISH-гибридизации с ДНК *Z. biebersteiniana* (FITC).

сильно упрощены и далеки от реальности: показано, что растения вида *B. dystachion* с цитотипами $2n$, равным 10, 20 и 30, в действительности представляют собой сложный комплекс из трех видов, в котором кариотип с $2n = 20$ (названный сейчас видом *B. stacei*) не тетраплоид, а диплоид, отличающийся от кариотипа с $2n = 10$ (*B. dystachyon sensu stricto*) сложным комплексом робертсоновских слияний и разделений хромосом и транслокаций, а цитотип с $2n = 30$ (теперь — *B. hybrida*) — аллополиплоидный гибрид между *B. dystachyon* и *B. stacei* (Catalán et al., 2012).

Сравнительная геномика показала, что редукция основного числа хромосом у злаков (дисплюидия) шла за счет транслокаций целых хромосом в центромерные районы других хромосом (Luo et al., 2009; Murat et al., 2010). Вероятно, уменьшение основного числа хромосом в кариотипе злаков может идти также путем робертсоновских слияний акроцентриков (Idzíak et al., 2011; Catalán et al., 2012; Salse, 2012), а также за счет таких реципрокных транслокаций акроцентриков, после которых одна из слившихся хромосом такая маленькая (<1 % от размера генома), что теряется при делениях, даже имея функционирующую центромеру (Schubert, Lysak, 2011). Но то, что последние два варианта дисплюидии действительно имели место в филогенении злаков, еще надо доказать. Редукция числа хромосом у полиплоидов путем транслокаций ведет к диплоидизации кариотипа. Хромосомные наборы злаков с 5 или 2 парами хромосом, как у колподиума или цингерии Биберштейна (рис. 1, а, б), совсем не похожи на эуполиплоиды, а между тем кариотип (геном) каждого из этих видов прошел в своей истории один или несколько этапов аллополиплоидизации. Такие кариотипы называют палеополиплоидами. Палеополиплоиды, как правило, уже утратили большую часть дуплицированных (триплицированных и т. д.) при полиплоидизации генов, кроме чувствительных к балансу генов — генов-регуляторов транскрипции, сигналинга, протеинкиназ и факторов элонгации трансляции (D'Hont et al., 2012; Salse, 2012).

Вышеупомянутые виды *Z. biebersteiniana* и *C. versicolor* традиционно относили к трибам Aveneae и Poeae соответственно (Цвелеев, 1976). Отсюда можно было думать, что перед нами результат двух независимых линий кардинальной редукции числа групп и сцепления, имевших место в трибах Овсовых и Мятниковых (Пробатова и др., 2000). Это выглядело вполне вероятным, поскольку в роде Цингерия известны виды *Z. trichopoda* и *Z. kochii* с $2n$, равным 8 и 12, что рассматривалось как отражение градуальной редукции числа $x = 4$ у *Z. trichopoda* и $x = 6$ у

Z. kochii (Hilu, 2004). С другой стороны, при широком понимании рода *Colpodium* к нему раньше относили 15 видов с $x = 2, 5, 6, 7$ и 9 (Цвелеев, 1964).

Используя сочетание методов молекулярной филогенетики и молекулярной цитогенетики, мы исследовали происхождение уникальных двуххромосомных геномов, изучили, происходила ли редукция числа хромосом в геноме злаков до 2, 5 и 6 независимо, или это характерно только для злаков одной или нескольких филогенетических ветвей (Ким и др., 2007, 2009; Родионов и др., 2007, 2008). Топология древа на рис. 2 показывает, что редукция хромосом у злаков происходила в разных филогенетических ветвях независимо, но при этом злаки с наиболее сильно редуцированным числом хромосом в геноме *Z. biebersteiniana* и *C. versicolor* ($n = 2$), традиционно относимые систематиками к двум разным, хотя и близким трибам, в действительности близкие родственники, представители особой ветви Poeae. Другие представители рода *Colpodium* в широком его понимании не родственны *C. versicolor*, но все они, кроме *Catabrosella araratica* (Lysky) Tzvelev, родственны друг другу и видам родов *Catabrosa*, *Sclerochloa*, *Puccinellia* и *Phippsia* (Родионов и др., 2008).

У *C. araratica* в кариотипе 42 хромосомы, т. е. $x = 7$ (Погосян и др., 1972). Если это определение числа хромосом у *C. araratica* верно, то редукция хромосом от 7 к 2 у предка *Zingeria* и *Colpodium* произошла относительно недавно, уже после дивергенции предка *Zingeria* и *Colpodium* и линии *C. araratica*. Конечно, можно представить, что у *C. araratica* $x = 2$ и в кариотипе 21 двуххромосомный геном, но предположение это кажется нам маловероятным.

Редукция числа хромосом в геноме до 5 у *Catabrosella* произошла независимо от редукции числа хромосом у *Colpodium* (Родионов и др., 2007, 2008; см. также рис. 2). Найденные нами с помощью FISH интерстициальные сайты теломерной последовательности (TTTAGGG)_n на одной паре хромосом у *Catabrosella variegata* (Ким и др., 2009), возможно, представляют собой след инсерции одной хромосомы анцестрального генома в другую или граннику тандемного слияния двух хромосом предкового 7-хромосомного кариотипа.

Результаты GISH-гибридизации показали, что гипотеза Хилу (Hilu, 2004) о том, что у разных видов рода *Zingeria* разные хромосомные числа, неверна. Вид *Z. pisidica* ($2n = 8$) оказался амфидиплоидом, межродовым гибридом, один из геномов которого происходит от *Z. biebersteiniana*, а второй, судя по морфологии хромосом и поло-

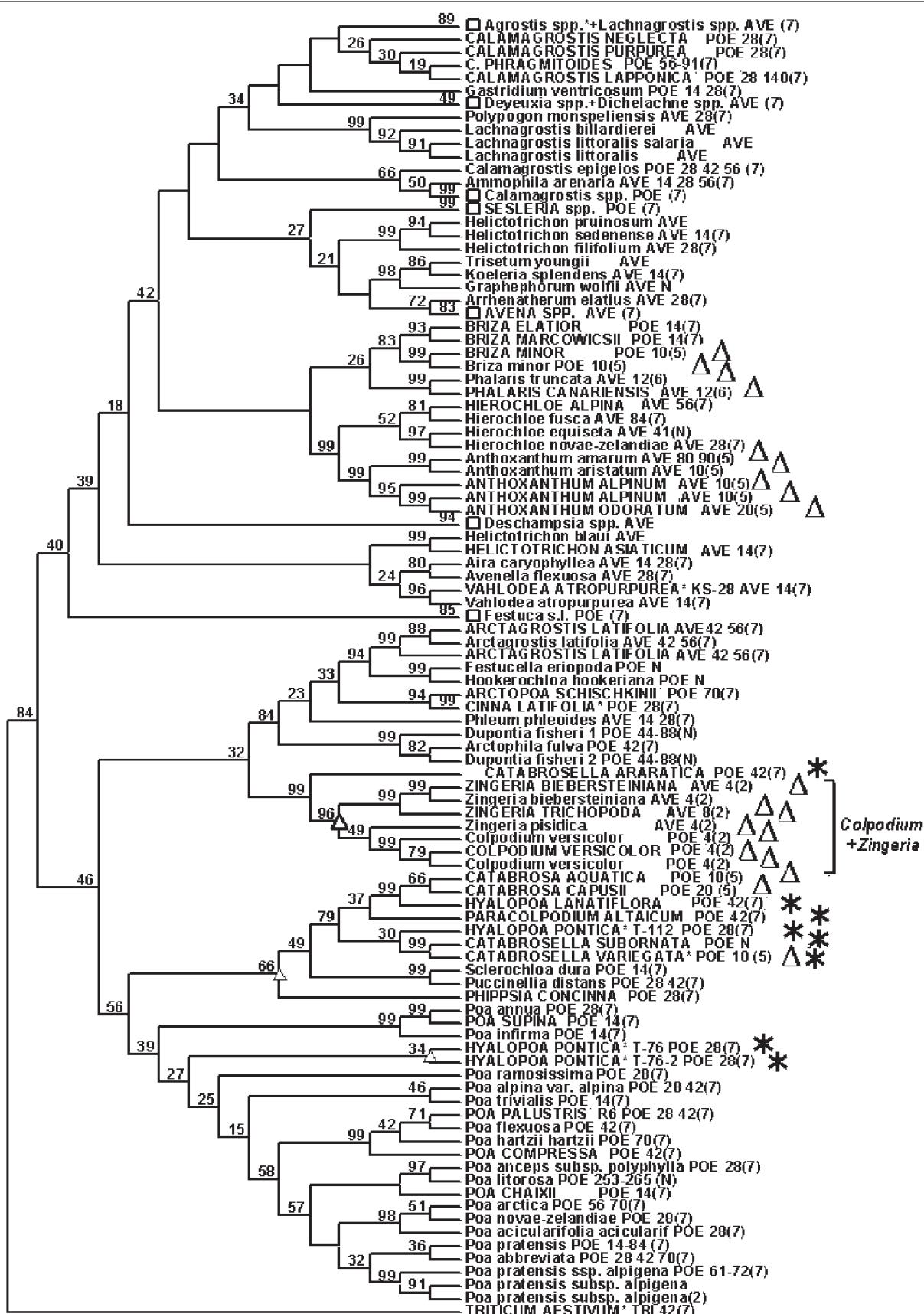


Рис. 2. Филогенетическое древо злаков, построенное на основании сравнения последовательностей района ITS1-5.8S рДНК-ITS2 методом NJ.

Виды, последовательности которых секвенированы нами, выделены прописными буквами. Трибы: AVE — Aveneae, POE — Poeae, TRI — Triticeae. После названия вида указаны хромосомные числа 2n и x (в скобках). Звездочкой отмечены виды, относимые ранее к роду *Colpodium* (Цвелев, 1964). Δ — виды с редуцированным основным числом хромосом в геноме.

жению генов 35S и 5S рРНК, возможно, отдаленно родствен *C. versicolor* (Kotseruba et al., 2003). *Z. pisidica* (Boiss.) Tutin — вид, близкий или идентичный *Z. trichopoda* (Boiss.) P. Smirn. Межродовым гибридом оказался и вид *Z. kochii* (2n = 12). GISH показала, что его кариотип включает в себя геномы *Z. biebersteiniana*, геном *C. versicolor* и третий, неидентифицированный геном, причем этот «неидентифицированный» геном *Z. kochii* определенно не родствен «неидентифицированному» геному, присутствующему у *Z. pisidica* (Kotseruba et al., 2010). После формирования гибридного генома часть последовательностей одного из родителей, в частности рДНК одного из родителей, терялась (по-видимому, терминальная стадия процесса ядрышкового доминирования). Интересно и важно, что в интерфазном ядре у аллоплетраплоида *Z. pisidica* родительские геномы пространственно разобщены и находятся в разных районах интерфазного ядра (рис. 1, e). У аллогексаплоида *Z. kochii* это явление менее выражено, но также наблюдается (Kotseruba et al., 2003, 2010). Раздельное расположение субгеномов должно способствовать концертной эволюции транспозонов в пределах субгеномов — это может объяснить феномен GISH-гибридизации даже у «старых» аллополиплоидов.

У двуххромосомного злака *Z. biebersteiniana* с помощью воздействия холодом (наши данные) и 7-аминоакридином (данные О. В. Муравенко, Т. Е. Саматадзе и А. В. Зеленина) можно выявить сегментацию хромосом, внешне похожую на G-исчерченность хромосом млекопитающих (Cremonini et al., 2003). G-подобный рисунок контрастен, но изменчив — однозначно разложить 2 пары хромосом попарно трудно. При этом после Q-окрашивания плечи хромосом флуоресцируют равномерно. Мы полагаем, что G-подобная исчерченность хромосом цингерии может быть индикатором особенностей их скэфволда, следствием недавнего происхождения этих хромосом в результате хромосомных слияний. «Светлые» сегменты при этом могут соответствовать как бывшим центромерным районам, так и границам слившихся хромосом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 12-04-01470-а и 11-04-01167-а) и программы «Динамика генофондов».

Список литературы

- Аедулов Н. П. 1931. Карио-систематическое исследование семейства злаков. Л.: Изд-во Всесоюз. акад. с.-х. наук им. В. И. Ленина. 428 с.
- Ким Е. С., Больцева Н. Л., Саматадзе Т. Е., Носов Н. Н., Носова И. В., Зеленин А. В., Пунина Е. О., Муравенко О. В., Родионов А. В. 2009. Уникальный геном двуххромосомных злаков *Zingeria* и *Colpodium*, его происхождение и эволюция. Генетика. 45 (11): 1506—1515.
- Ким Е. С., Райко М. П., Доброрадова М. А., Пунина Е. О., Носов Н. Н., Родионов А. В. 2007. Полифилетическое происхождение злаков с редуцированным основным числом из группы *Zingeria*—*Colpodium*. В кн.: Материалы конференции по морфологии и систематике растений, посвященной 300-летию со дня рождения Карла Линнея. М.: КТМ. 66—67.
- Погосян А. И., Наринян С. Г., Восканян В. Е. 1972. К карио-географическому изучению флоры массива Арагац. Биол. журн. Армении. 25 (9): 15—22.
- Пробатова Н. С. 2007. Хромосомные числа в семействе Poaceae и их значение для систематики, филогении и фитогеографии (на примере злаков Дальнего Востока России). Комаровские чтения. Владивосток: Дальнаука. 55 : 9—103.
- Пробатова Н. С., Рудька Э. Г., Громик С. Л. 2000. Карио-систематика рода *Milium* L. и близких родов злаков (Poaceae). В кн.: Комаровские чтения. Владивосток: Дальнаука. 46 : 105—145.
- Родионов А. В., Ким Е. С., Носов Н. Н., Райко М. П., Мачс Э. М., Пунина Е. О. 2008. Молекулярно-филогенетическое исследование видов рода *Colpodium* sensu lato (Poeae, Poaceae). Экологическая генетика. 6 (4) : 34—46.
- Родионов А. В., Ким Е. С., Пунина Е. О., Мачс Э. М., Тюпа Н. Б., Носов Н. Н. 2007. Эволюция хромосомных чисел в трибах *Aveneae* и *Poeae* по данным сравнительного исследования внутренних транскрибуемых сплайсеров ITS1 и ITS2 ядерных генов 45S рРНК. Ботан. журн. 92 (1) : 57—71.
- Родионов А. В., Носов Н. Н., Ким Е. С., Мачс Э. М., Пунина Е. О., Пробатова Н. С. 2010. Происхождение полиплоидных геномов мятыков (*Poa* L.) и феномен потока генов между Северной Пацифики и суб-антарктическими островами. Генетика. 46 (12) : 1598—1608.
- Цвелев Н. Н. 1964. О роде *Colpodium* Trin. Новости систематики высших растений. 1 : 5—19.
- Цвелев Н. Н. 1976. Злаки СССР. Л.: Наука. 788 с.
- Catalán P., Müller J., Hasterok R., Jenkins G., Mur L. A. J., Langdon T., Betekhtin A., Siwinska D., Pimentel M., López-Alvarez D. 2012. Evolution and taxonomic split of the model grass *Brachypodium distachyon*. Ann. Botany. 109 : 385—405.
- Clausen J. 1961. Introgression facilitated by apomixis in polyploid Poas. Euphytica. 10 : 87—93.
- Cremonini R., Ruffini Castiglione M., Grif V. G., Kotseruba V. V., Punina E. O., Rodionov A. V., Muravenko O. V., Popov K. V., Samatadze T. E., Zelenin A. V. 2003. Chromosome banding and DNA methylation patterns, chromatin organization and nuclear DNA content in *Zingeria biebersteiniana* (Claus) P. Smirnov. Biologia Plantarum. 46 : 543—550.
- D'Hont A., Denoeud F., Aury J.-M. et al. 2012. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. Nature. 488 : 213—217.
- Hilu K. W. 2004. Phylogenetics and chromosomal evolution in the Poaceae (grasses). Australian J. Botany. 52 : 13—22.
- Idziak D., Betekhtin A., Wolny E., Lesniewska K., Wright J., Febrer M., Bevan M. W., Jenkins G., Hasterok R. 2011. Painting the chromosomes of *Brachypodium* — current status and future prospects. Chromosoma. 120 : 469—479.
- Kotseruba V., Gernand D., Meister A., Houben A. 2003. Uniparental loss of ribosomal DNA in the allotetraploid grass *Zingeria trichopoda* (2n = 8). Géome. 46 : 156—163.
- Kotseruba V., Pistrick K., Blattner F. R., Kumke K., Weiss O., Rutten T., Fuchs J., Endo T., Nasuda S., Ghukasyan A., Houben A. 2010. The evolution of the hexaploid grass *Zingeria kochii* (Mez) Tzvel. (2n = 12) was accompanied by complex hybridization and uniparental loss of ribosomal DNA. Mol. Phylogen. Evolution. 56 : 146—155.
- Luo M. C., Deal K. R., Akhunov E. D. et al. 2009. Genome comparison reveal a dominant mechanism of chromosome number reduction in grasses and accelerated genome evolution in Triticeae. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 106 : 15780—15785.
- Murat F., Xu J.-H., Tannier E., Abrouk M., Guillet N., Pont C., Messing J., Salse J. 2010. Ancestral grass karyotype reconstruction unravels new mechanisms of genome shuffling as a source of plant evolution. Gen. Res. 20 : 1545—1557.
- Ramsey J., Schemske D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. Annu. Rev. Ecol. Syst. 29 : 467—501.
- Salse J. 2012. In silico archeogenomics unveils modern plant genome organisation, regulation and evolution. Curr. Opin. Plant Biol. 15 : 122—130.
- Salse J., Abrouk M., Bolot S., Guillet N., Courcelle E., Faraut T., Waugh R., Close T. J., Messing J., Feuillet C. 2009. Reconstruction of monocotelydoneous proto-chromosomes reveals faster evolution in plants than in animals. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 106 : 14 908—14 913.

Schubert I., Lysak M. A. 2011. Interpretation of karyotype evolution should consider chromosome structural constraints. Trends in Genetics. 27 : 207—211.

Soreng R. 2007. *Poa* L. In: Flora of North America. North of Mexico. Vol. 24. Magnoliophyta: Commelinidae (in part): Poaceae, part 1. New York; Oxford: Oxford Univ. Press. 486—601.

Stebbins G. L. 1982. Major trends of evolution in the *Poaceae* and their possible significance. In: Grasses and grasslands: systematics and ecology. Norman: Univ. of Oklahoma Press. 3—36.

Поступила 26 XII 2012

GRASS GENOME AND CHROMOSOME SETS EVOLUTION

A. V. Rodionov,¹ V. V. Kotseruba, E. S. Kim, E. O. Punina, N. N. Nosov

V. L. Komarov Botanical Institute RAS, St. Petersburg; ¹ e-mail: avrodionov@mail.ru

This paper briefly discusses the mechanisms by which either diploid $2n$ or basal chromosome number x change during grass karyotype evolution.