

**Заседание Координационного совета RUS-BOL  
Москва, ИОГен  
11.11.2016**

**ДНК-штрихкодирование в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН  
Санкт-Петербург  
2016**

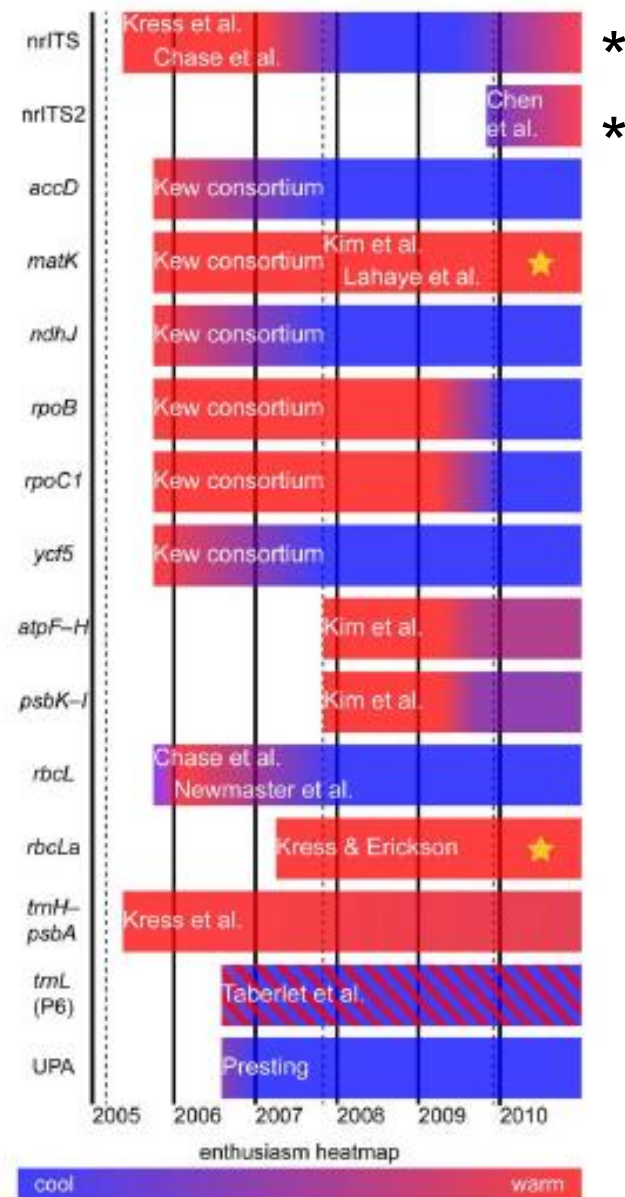
## Особенности ДНК-штрихкодирования у растений:

1. Ген цитохром С оксидазы 1 (CO1) не используется в работах по ДНК-штрихкодированию цветковых растений из-за низкой скорости накопления нуклеотидных замен – в 10-100 раз меньшей, чем у млекопитающих и разной у разных объектов.

2. Разные последовательности хлоропластного генома и ITS-последовательности генома ядра пытались использовать в качестве маркера для ДНК-штрихкодирования у растений.

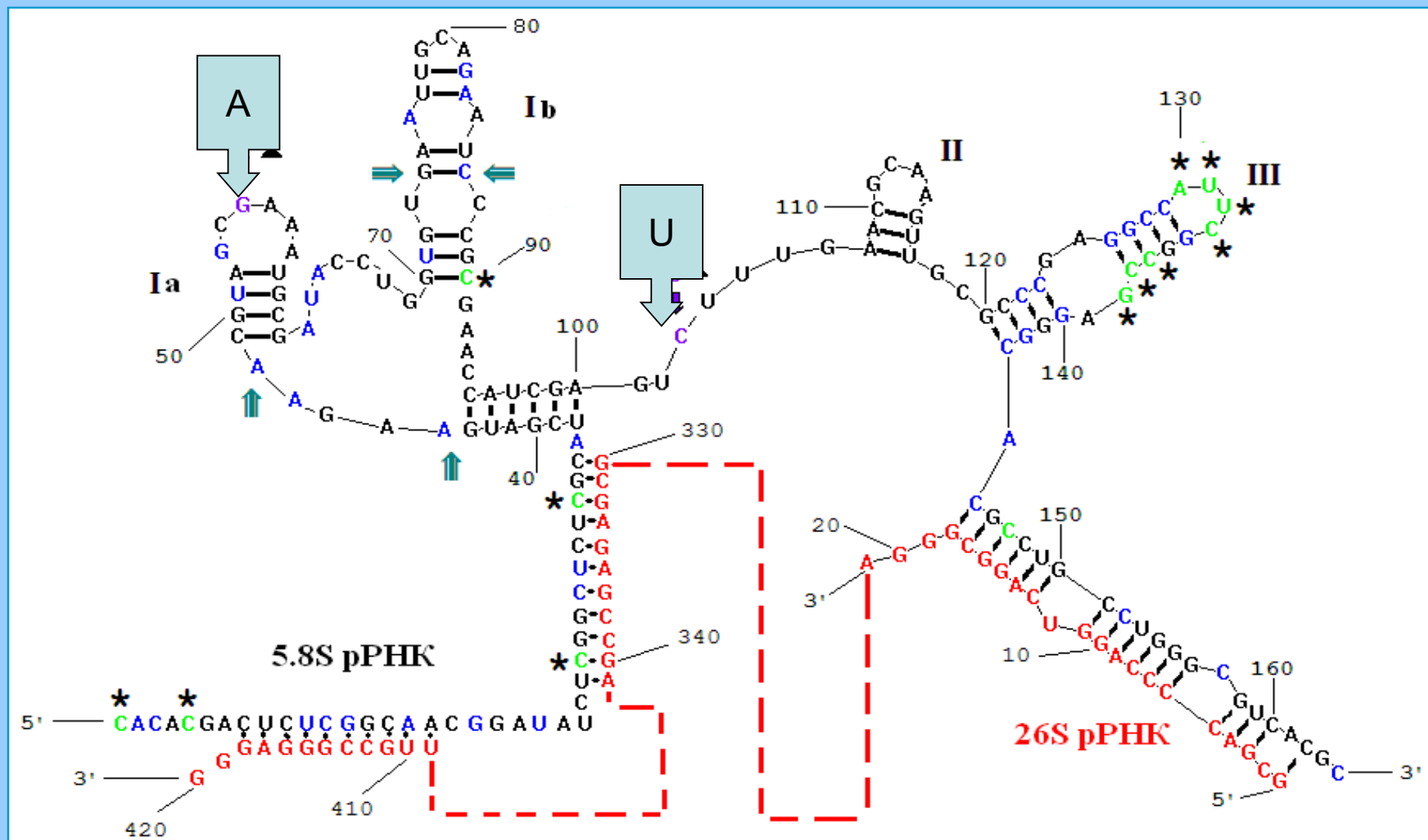
Наиболее используемые ITS1-5.8SrDNA-ITS2 (\*), интрон гена *trnL*, межгенный спейсер *trnH-psbA*, гены *matK* и *rbcL*.

Энтузиазм в использовании разных ДНК-штрихкодов (по Hollinsworth et al., 2011):





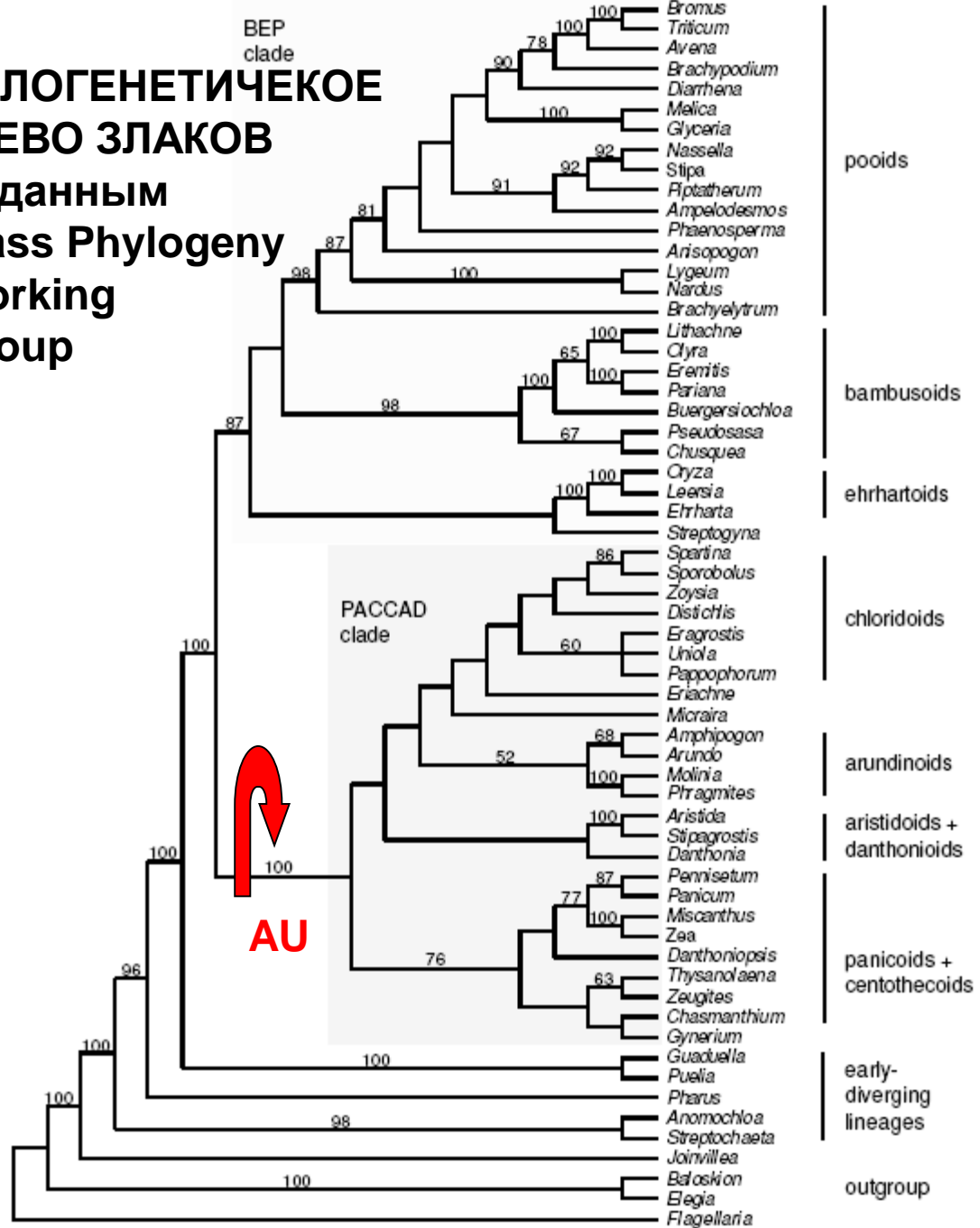
# Изменчивость 5.8S рРНК у 24 видов рода *Avena* и кладоспецифичные замены для ВЕР и РАССАД



\* -позиции, мутации по которым возникают неоднократно в разных трибах *Poaeseae*;

▲ - синапоморфные замены, характерные для всех злаков клады РАССАД

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДРЕВО ЗЛАКОВ**  
 по данным  
**Grass Phylogeny Working Group**



**Клада ВЕР**

(*Bambusoideae*,  
*Ehrhartoideae*,  
*Pooideae*)

**у всех в 5.8S рДНК**  
**G** в положении 55  
 и **C** в положении 103  
 как у примитивных  
 злаков и у *Joinvillea*

**Клада PACCAD**

(*Panicoideae*, *Aristidoideae*,  
*Centothecoideae*, *Chloridoideae*,  
*Arundinoideae*, *Danthonioideae*)

**У всех в 5.8S рДНК**  
**A** в положении 55  
 и **U** в положении 103

*Pharus*, *Streptochoeta*

**G** в положении 55  
**C** в положении 103

*Joinvillea* **G** в положении 55  
**C** в положении 103

**P-расстояния между видами по ITS  
на примере рода *Colpodium sensu lato* и рода *Zingeria***

**(% нуклеотидов, по которым различаются сравниваемые ДНК)**

**Разница между ITS *Zingeria trichopoda* и *Z. biebersteiniana* - 1.2–3.7%.**

**между *Colpodium versicolor* и *Zingeria* spp. – 3.1–4.2%,**

***Colpodium versicolor* – *Catabrosella variegata* – 10%**

***Colpodium versicolor* – *Paracolpodium altaicum* – 11%**

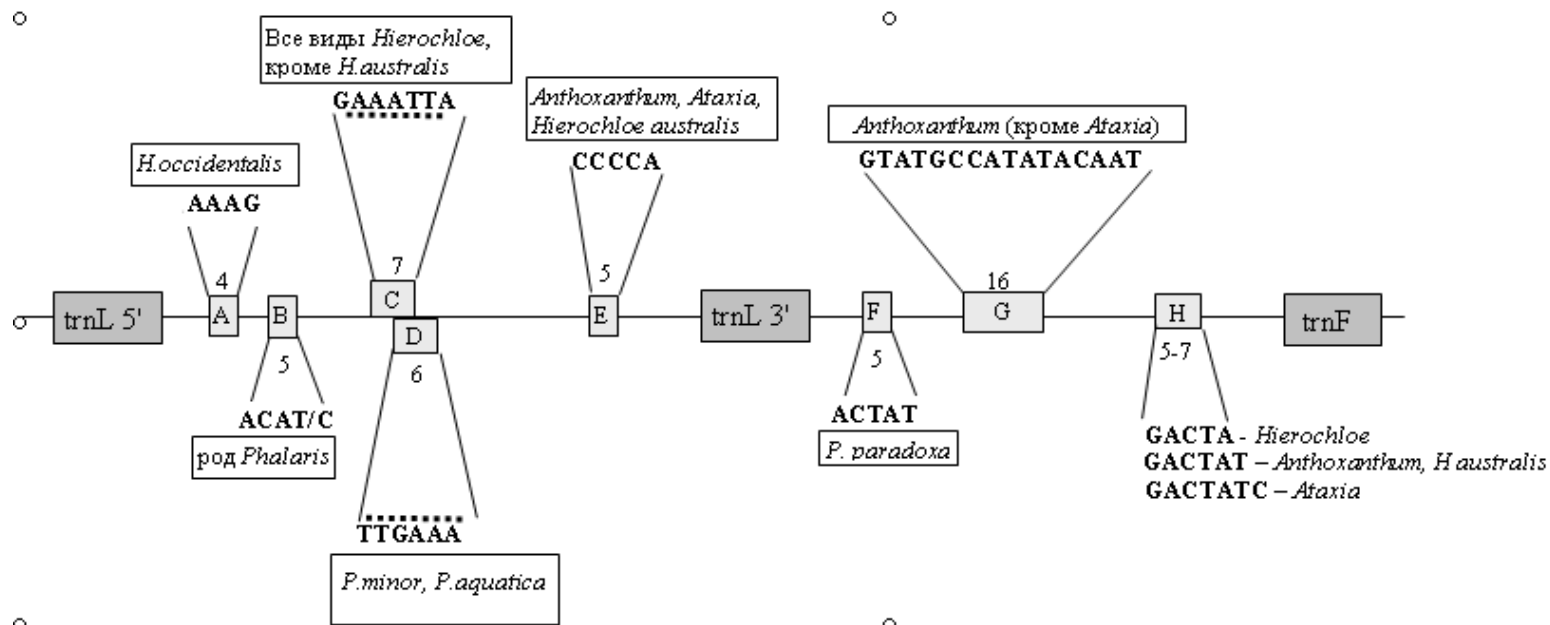
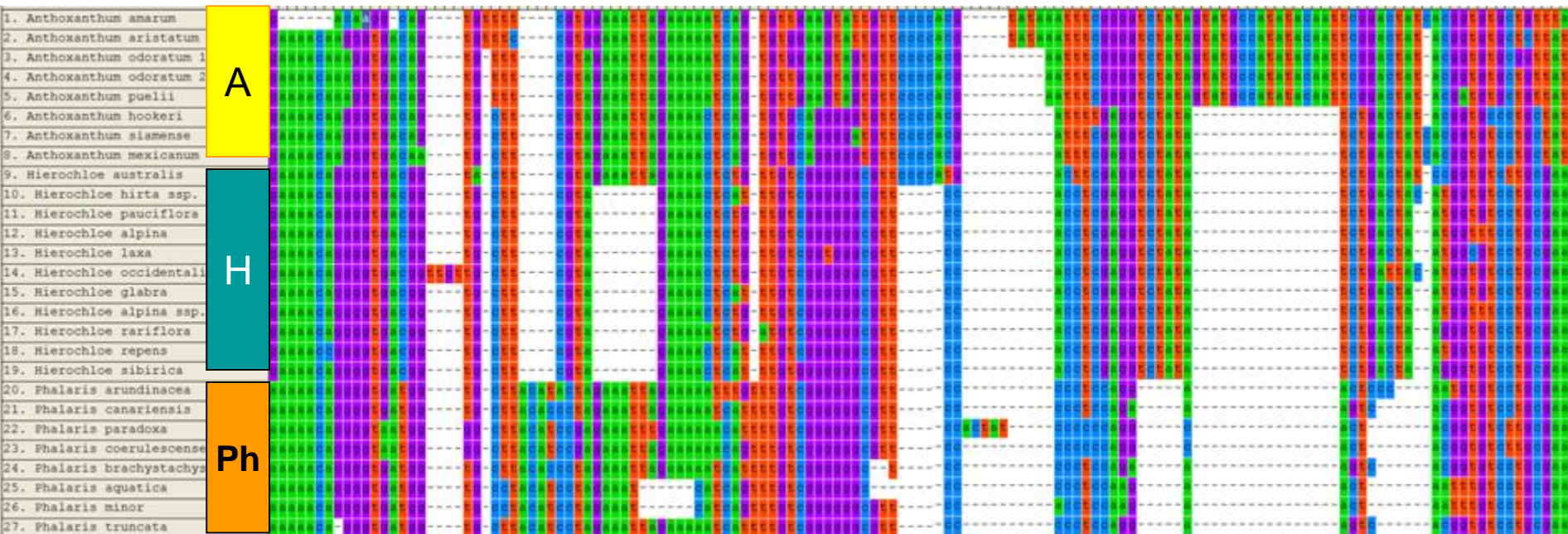
***Colpodium versicolor* – *Hyalopoa* spp. – 11-12%**

---

**Для сравнения: *Colpodium versicolor* - *Poa* spp. 11-17%**

***Colpodium versicolor* – *Avena* spp. 13-15%**

# Делеции и вставки в интроне гена *trnL* и спейсере *trnL-trnF* у *Phalarideae*





Проект «ЗЛАКИ АЛТАЯ» (рук. Е.О. Пунина)»



**4 подсемейства, 11 триб:**

Подсем. **ERHARTHOIDEAE** Jacq.- Fel. ex Caro

**Триба ORYZEAE** Dumort.

**1 род 1 вид**

Подсем. **POOIDEAE** Benth.

**Триба BRACHYPODIEAE** Harz

**1 род 2 вида**

**Триба HORDEEAE** Martinov.

**7 родов 52 вида**

**Триба BROMEAE** Dumort.

**2 рода 5 видов**

**Триба POEAE** R. Br.

**26 родов 124 вида**

**Триба MELICEAE** Link ex Endl.

**4 рода 6 видов**

**Триба STIPEAE** Dumort.

**3 рода 20 видов**

**Триба ARUNDINEAE** Dumort.

**1 род 1 вид**

---

Подсем. **CHLORIDOIDEAE** Kunth ex Beilschm.

**Триба AELUROPODEAE** Nevski ex Bor

**1 род 1 вид**

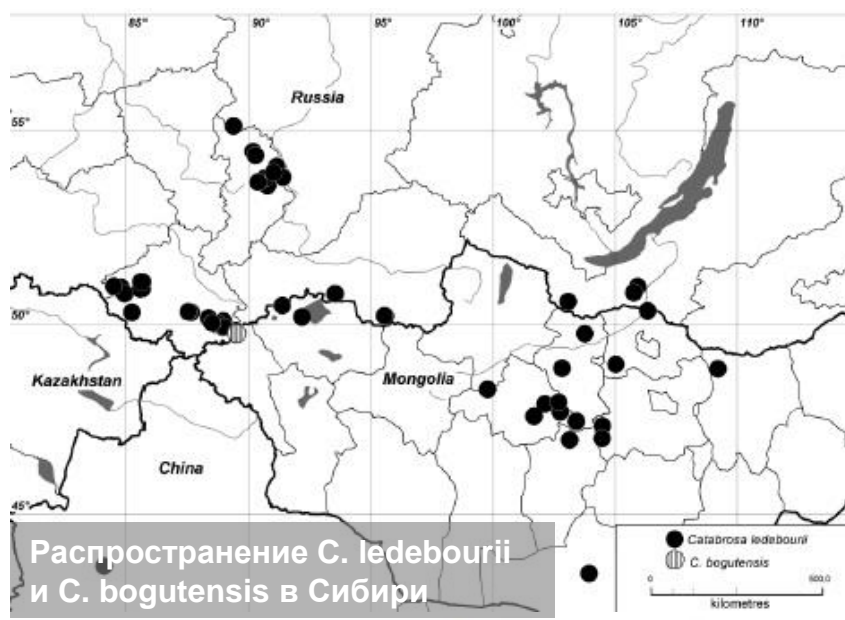
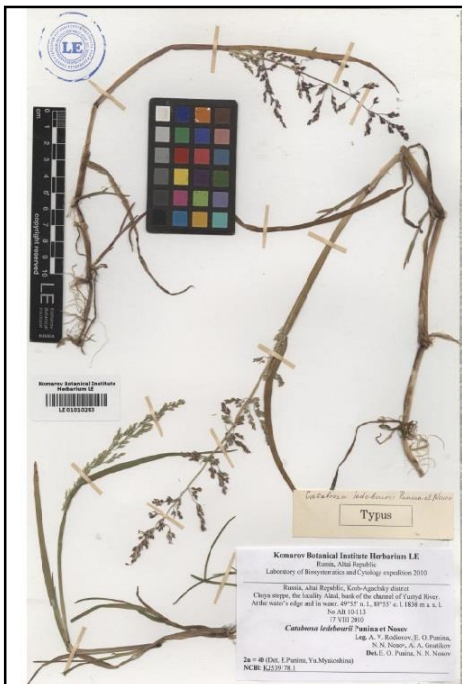
**Триба ERAGROSTIDEAE** Stapf

**3 рода 7 видов**

**Итого в Алтайском крае и республике Алтай около 48 родов, 208 видов**

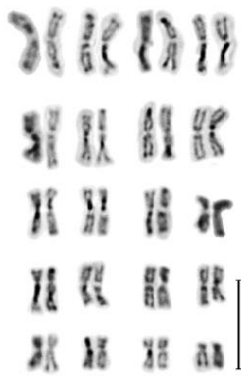
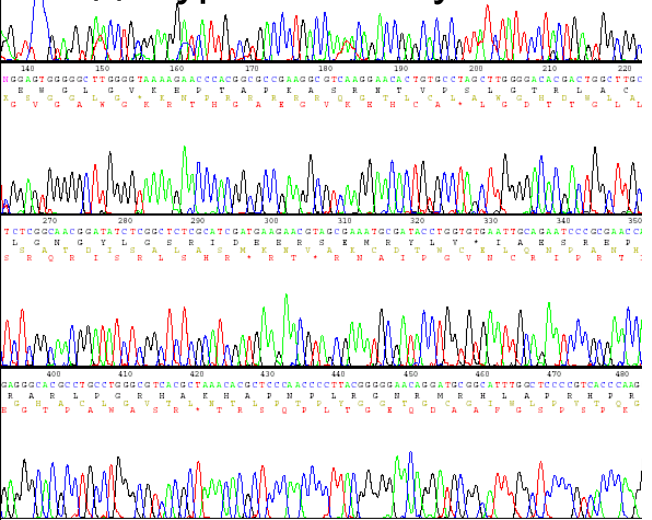
**Из них на сегодняшний день секвенированы нами  
ITS-последовательности и районы trnL-trnF :  
53 вида из 19 родов и 13 ранее неописанных  
видов, подвидов и предполагаемых гибридов.**

# ДНК-штрихкодирование, молекулярная филогения и цитогенетика для верификации НОВЫХ ВИДОВ

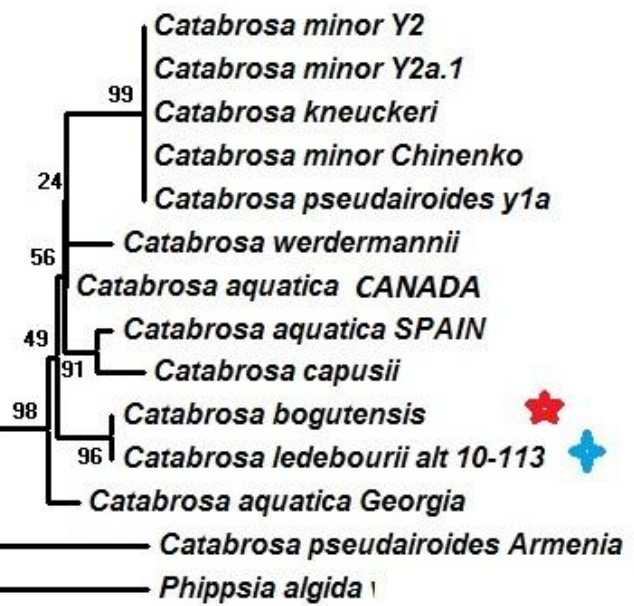
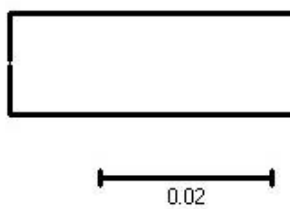


Распространение *C. ledebourii* и *C. bogutensis* в Сибири

## Два новых вида: Катаброза Ледебура и К. богутинская



Кариотип *Catabrosa ledebourii*  
 $2n=40$  – первый октоплоид, найденный в роде *Catabrosa*



## Филогения рода *Catabrosa*.

Звездочками отмечены 2 новых вида



Два новых вида *Catabrosa* – Катаброза Ледебура и Катаброза богутинская описаны. Их самостоятельность подтверждена кариологически и секвенированием ITS и trnL-trnF

***Zaroslil Catabrosa ledebourii* на разливе р. Балхаш в Чуйской степи.**

**Июль 2015 г.**



***Poa x navashinii* Nosov**

ГЕРБАРИЙ БОТАНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА  
им. В. Л. Комарова  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Алт507  
Респ. Алтай, Кош-Агачский р-н  
Чувская степь, ур. Актал  
Берег р. Юстыг, на урете воды  
49°55' 88°55' 1836 м н.ум.

27.08.2006 Leg.: А.В.Родионов, Е.О.Пунина,  
М.П.Райко, С.А.Дьяченко  
Det.: Н.Н.Носов, Н.Н.Цвелёв

№ NCBI

HERBARIUM INSTITUTI BOTANICI  
ACADEMIAE SC. ROSSIAE (LE)



Сравнение ITS и района trnL-trnF генома хлоропластов позволило показать, что несколько новых и ранее описанных видов *Poa* возникли в результате межсекционной, а в некоторых случаях даже межродовой гибридизации.

Установлено также филогенетическое положение новых, описанных нами видов мятликов гибридного происхождения, найденных на Алтае.

***Poa x levitskyi* Nosov**

ГЕРБАРИЙ БОТАНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА им. В. Л. Комарова  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Алт 10-100  
Респ. Алтай, Кош-Агачский р-н  
Южный склон г. Бошту, окрестности с. Кокоря  
49°55' с.ш., 89°00' в. д. h=1992.  
17.08.2010

Leg. А. В. Родионов, Е. О. Пунина, А. А. Глутиков  
Det. Н. Н. Носов, Н. Н. Цвелёв

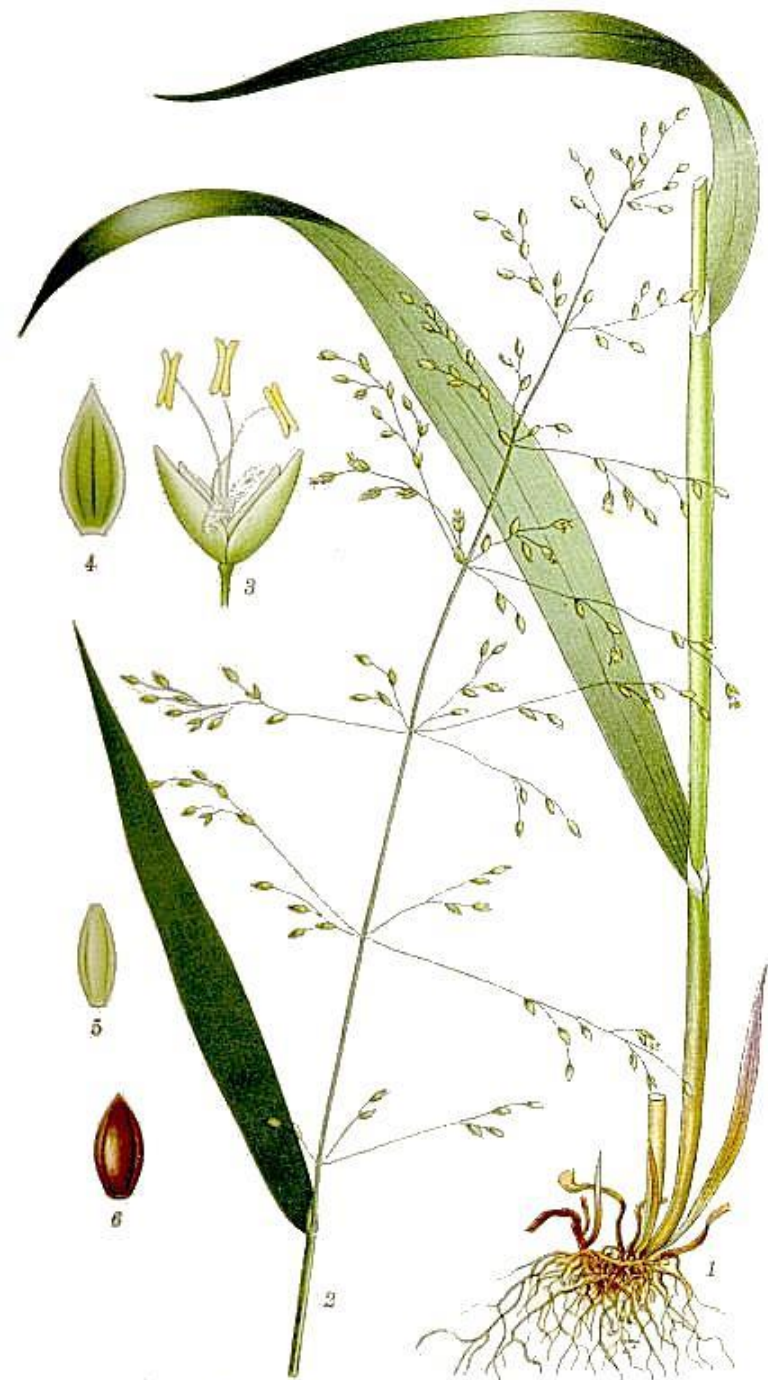
2n= \_\_\_\_\_ № NCBI \_\_\_\_\_

HERBARIUM INSTITUTI BOTANICI ACADEMIAE SC. ROSSIAE (LE)

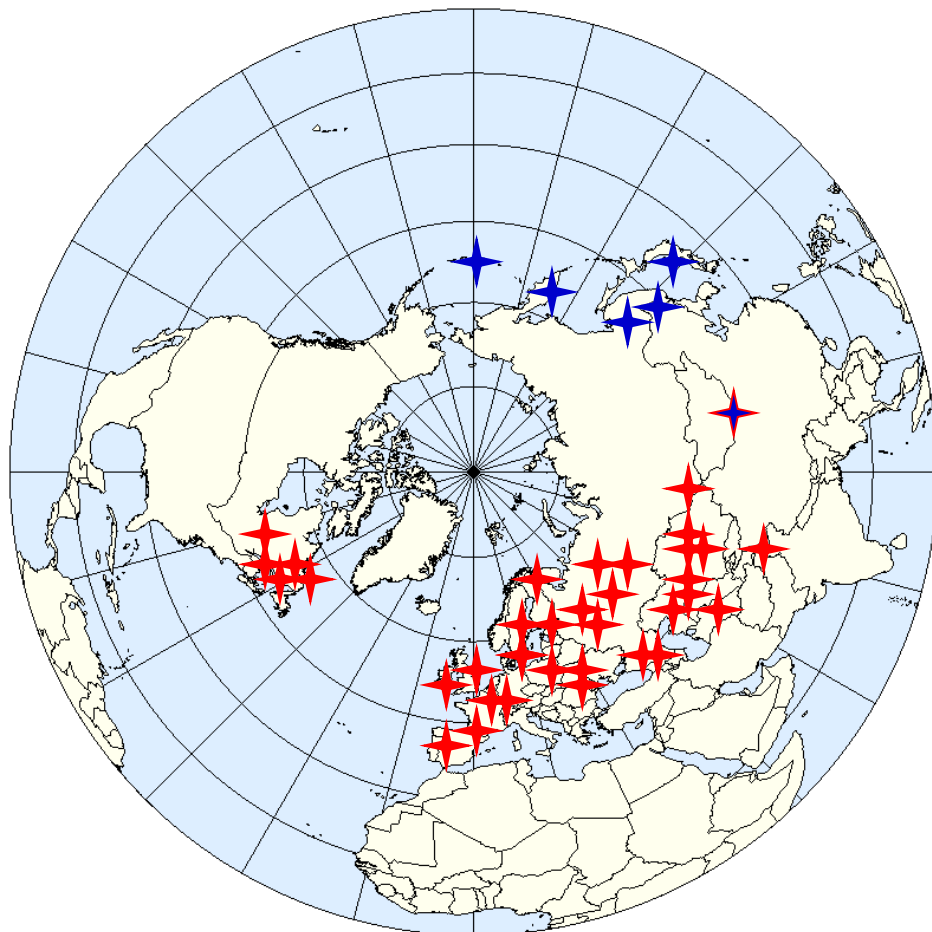
Исследование внутривидовой  
вариабельности последовательностей ITS у  
*Milium effusum* L. (бор развесистый)

(Коцерауба и соавт.)

Были секвенированы ITS-последовательности  
*Milium effusum* из 45 местообитаний...



HÄSLEBRODD, MILIUM EFFUSUM L.





КРИПТИЧЕСКИЙ ВИД СРЕДИ МОРФОЛОГИЧЕСКИ НЕРАЗЛИЧИМЫХ РАСТЕНИЙ, ОТНОСИМЫХ СИСТЕМАТИКАМИ К КОСМОПОЛИТНОМУ ВИДУ СЕВЕРНОГО ПОЛУШАРИЯ *Millium effusum*  
 (отличия по 35 позициям в районе ITS1-5.8S рДНК-ITS2, в том числе 3 мутации в консервативном гене 5.8S рРНК)

Вариабелные сайты в ITS *Milium effusum* из разных эколого-географических зон

1111112**233**4444444445555555

234445670066992**457**01455678902234468

623670280567184**606**25768565861346918

Остальной мир

ТТТСТТСАТТАТТТ**СТТ**-ТТАТТТТАТАТТССТ-С

Китай\*

. . СС . СТGCCCCCC . . **ССCGGGCGCCGC** . С . ССGT

Япония

СССТССТGCCCCCCСТ . **ССCGGGCGCCGCCСТТ**СGT

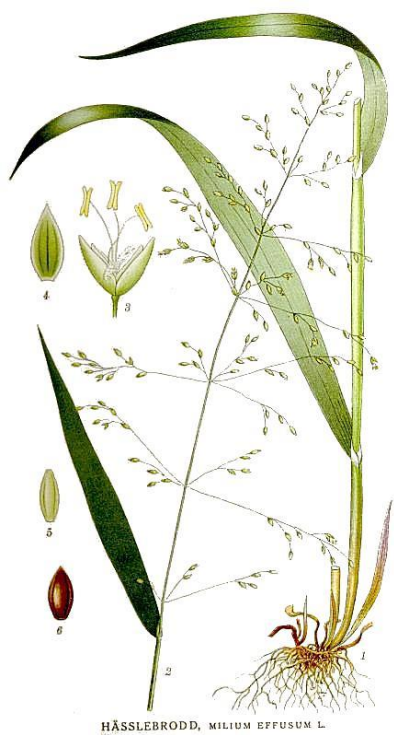
Рос. Дальний Восток#

ССС . ССТGCCCCCCСТ**ТСС**CGGGCGC . GCCСТТСGT

Примечание: цветом выделены замены в гене 5.8S рРНК

# - Камчатка, Сахалин, Курильские острова, Хабаровск

\*- сборы Н.М.Пржевальского в Тангутском царстве (1886)



- M.transcaucasicum.mt1
- M.transcaucasicum.mt3
- M.transcaucasicum.mt5
- M.transcaucasicum.mt2
- M.transcaucasicum.mt4
- M.transcaucasicum.mt6

*Milium transcaucasicum*

- 480 Altai Sarlyk Mount
- 0 482 Germany Gatersleben 1
- 439 Dania N-of Copenhagen
- 0 451 Vladimir region
- 0 438 Quebec Bon-Desir
- 0 444 Kaliningrad region
- 435 Polonia Krakov
- 0 458 Lipetsk region
- 0 90 Krasnojarsky region
- 433 Silesia
- 0 475 Balkaria 1925
- 448 White See Solovetsky Islend
- 456 Rjazan region
- 427 England
- 0 436 Spain prov. Huesca
- 428 W-Gimalai Kashmir
- 446 Poljarnij Ural
- 8 424 Mounting Kazakhstan
- 91 Saiberia West Sajany Mount
- 443 Murmansk region
- 434 Quebec Boischatel
- 457 Moscow
- 0 455 Belorussia
- 437 Finland Tavastia borealis
- 472 Balkria Elbrus
- 89 Ukraine Kiev
- 450 Smolensk region
- 93 Moldavia
- 64 426 St-Petersburg
- 445 Ryazan region
- 423 Ili-Pribalkhashie
- 92 Fergana Mount Ridge
- 447 Karelia
- 64 422 S-Kazakhstan
- 425 Kirgizia
- 453 Kostroma region
- 66 454 Nizhni Novgorod region
- 0 416 Kabardino-Balkaria
- 0 441 British Isles Berkshire
- 126 M.schmidtianum
- 99 M schmidtianum ms2
- 81 M.schmidtianum.ms1
- 94 M schmidtianum ms3

Европейские,  
западно-сибирские,  
северо-американские  
популяции  
*Milium effusum*

*Milium schmidtianum*

- 88 440 China occidentalis
- 99 94 Kurily Islands
- 68 431 Japan, North Honshu
- 66 459 Nizhy-Amur region 1859
- 414 Habarovsk
- 465 Kamchatka 1909
- 123 Milium vernale

дальневосточные популяции «*Milium effusum*» - морфологически растения не отличаются от европейских, канадских и западно-сибирских образцов.

0.005

# Злаки трибы Phalarideae

III, 2.

24. Gramineae

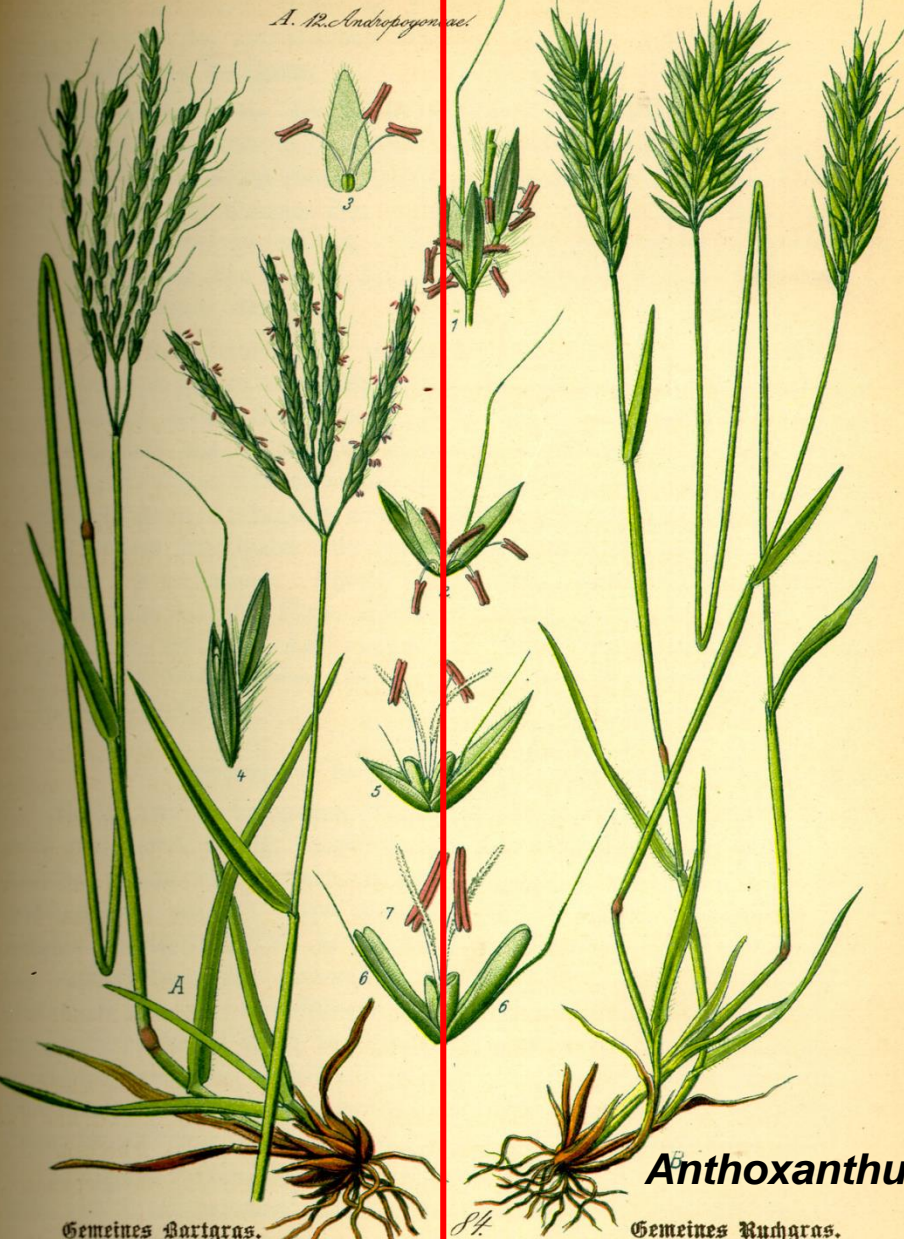
A. 12. Andropogonaceae.

B. 12. Phalarideae.

III, 2.

24. Gramineae.

13. Phalarideae.



**Anthoxanthum**

Gemeines Hartgras.

Gemeines Ruchgras.

A. Andropogon Ischaemum L. B. Anthoxanthum odoratum L.



**Hierochloa**

**Phalaris**

A. Hierochloa odorata Willdenberg.

B. Phalaris arundinacea L.

C. Phalaris canariensis L.

Wohlriechendes Mariengras.

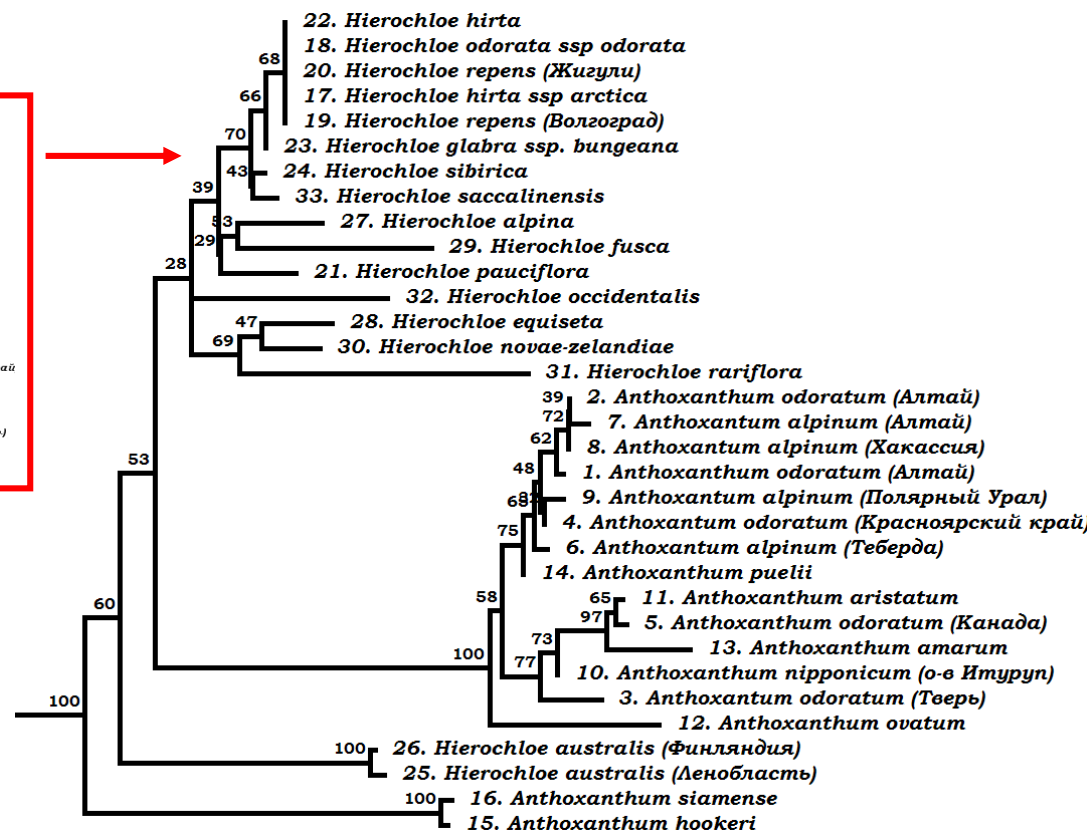
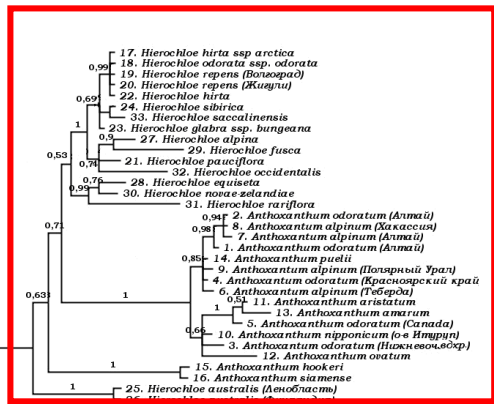
Rohrartiges Glanzgras.

Kanariengras.

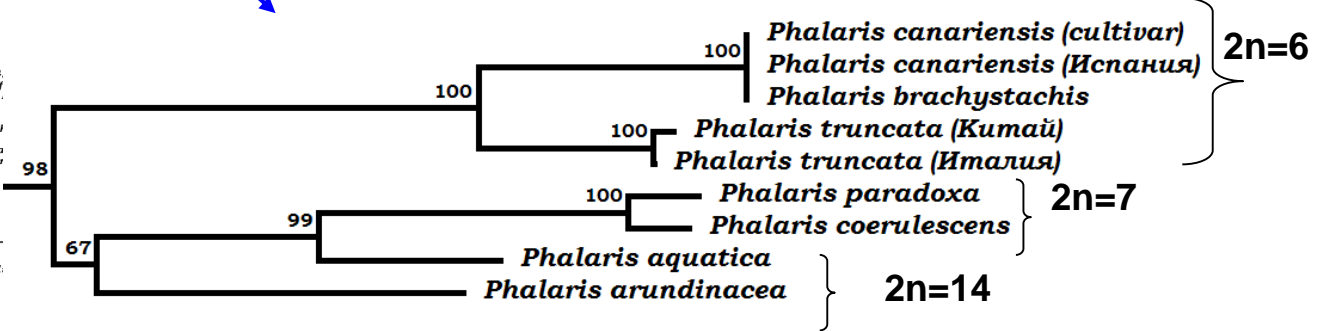




**Robert Brown**  
(1773 –1858)



Три рода, составляющие эту кладу, Anthoxanthum, Hierochloe и Ataxia были объединены в один род Anthoxanthum.



Нет сомнений, что триба Phalarideae полифилетична

Анцестральная последовательность

АТТААГТА AGCCATATACAАТГСГТАГ

*Grapphophorum wolffii*  
Дупликация 18 нуклеотидов

*Anthoxantinae*  
1 замена

АТТААГТА TGCCATATACAАТГСГТАГ

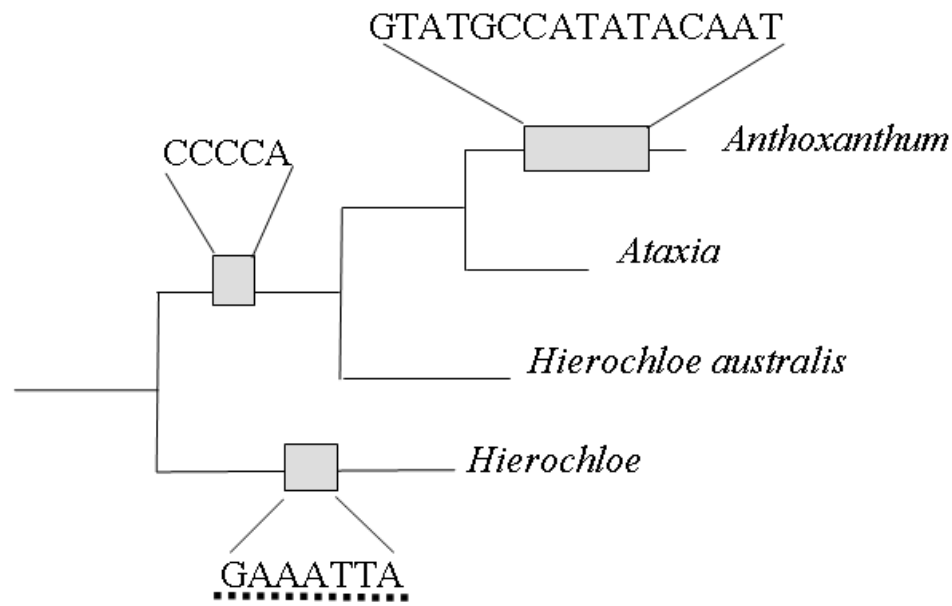
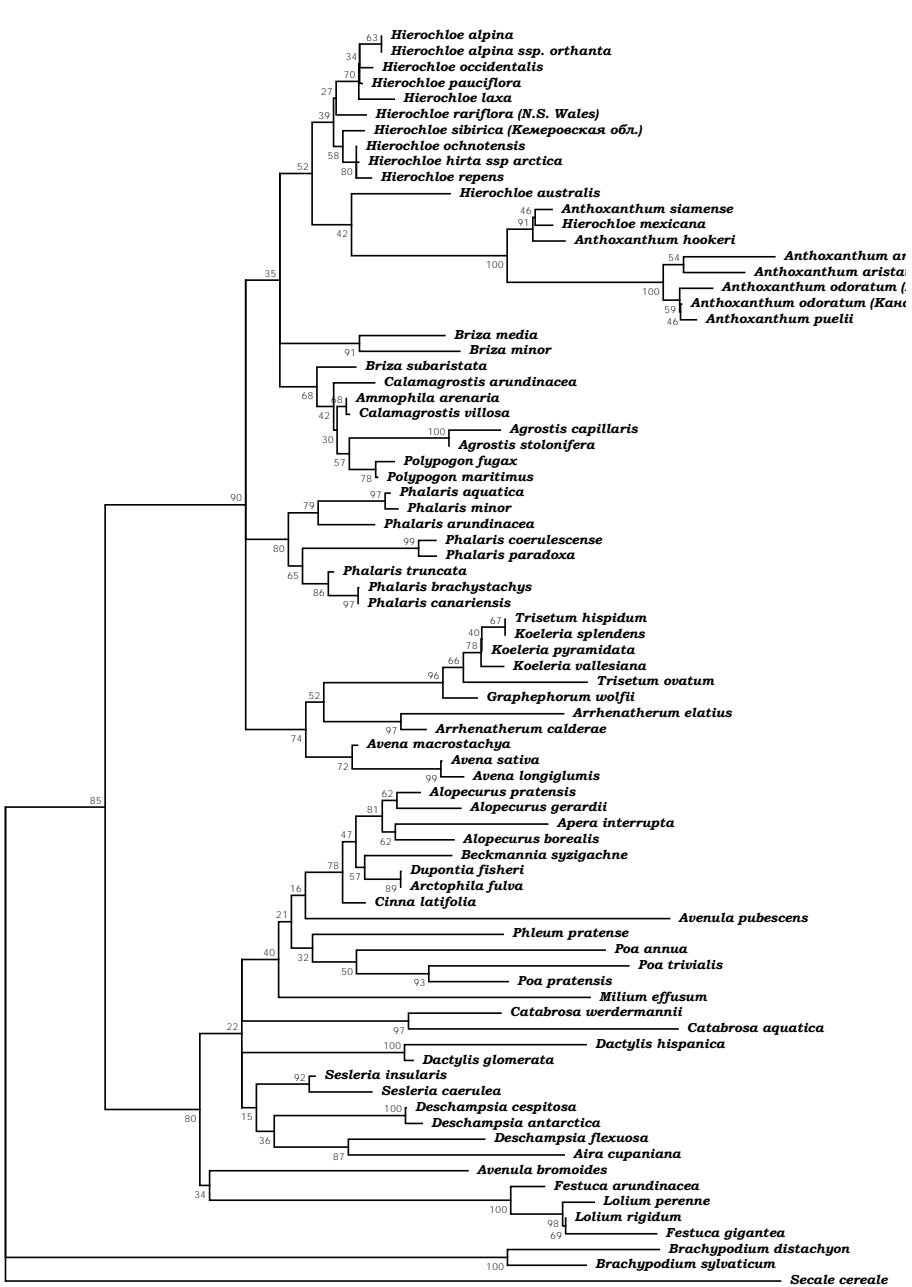
«Продвинутые» *Anthoxanthum*  
Дупликация 16 нуклеотидов.

ТААГТА TGCCATATACAАТГТА TGCCATATACAАТГСГТАГ

Этой дупликации нет у видов *Anthoxanthum*,  
выделяемых ранее в род *Ataxia* Brown, нет  
ее и у *Hierochloe*

АТТААГТА AGCCATATACAАТТААГТА AGCCATATACAАТГСГ

Дупликации в спейсере trnL-trnF.

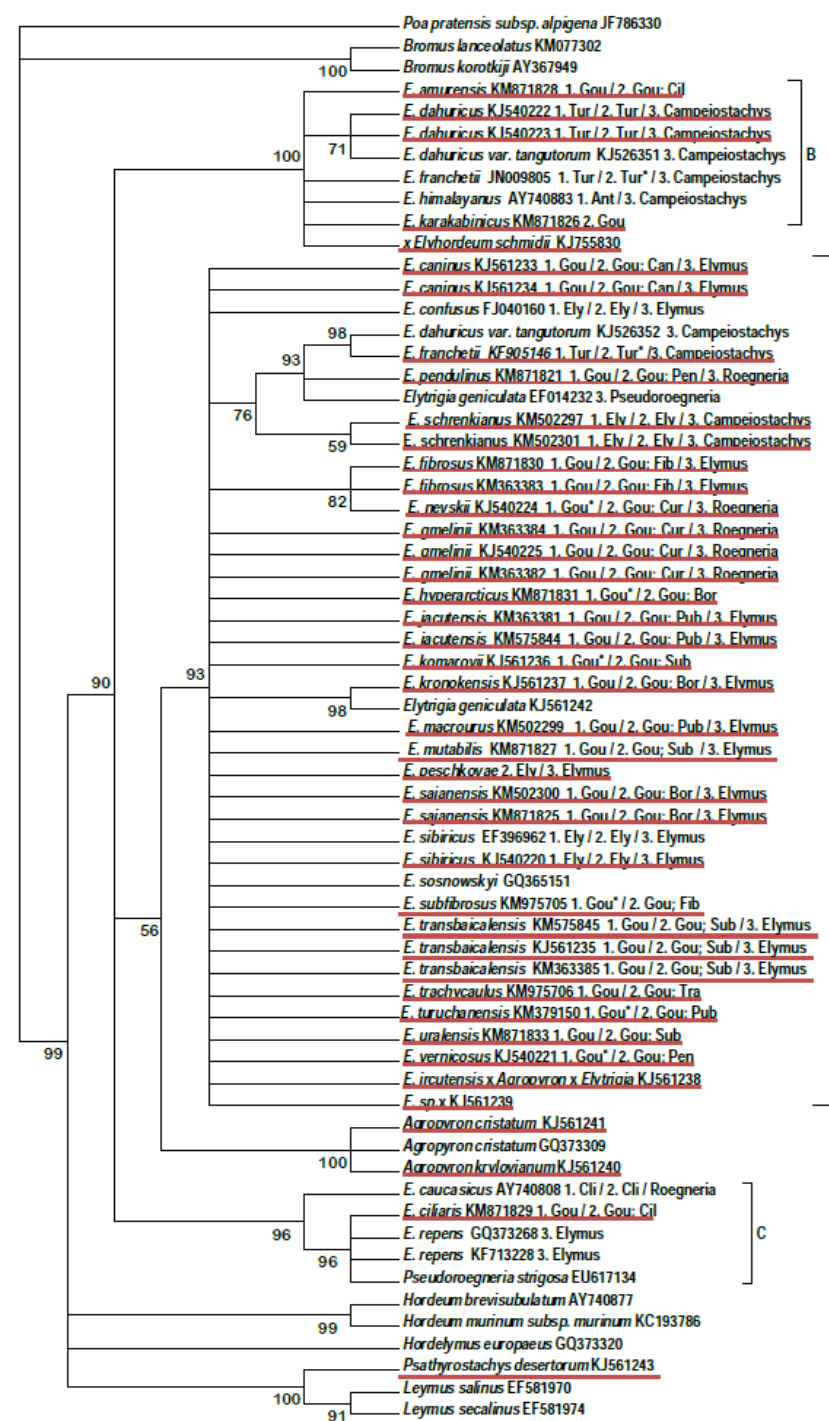


Делеции и дупликации в *trnL-trnF*, сопровождавшие дивергенцию родов и видов Anthoxanthinae

**Диплоидный вид *H. austarlis* – криптический таксон, по морфологии – *Hierochloa*, но филогенетически лежащий на ветви, давшей *Ataxia* и *Anthoxanthum***

Род *Ataxia* Brown следует восстановить, это естественным образом приведет к восстановлению рода *Anthoxanthum* и рода *Hierochloa* в прежнем объеме.

Филогенетическое древо, построенное на основании сравнительного анализа района *trnL-trnF* методом Neighbor-Joining.



Секвенированы 45 последовательностей района ITS и 17 последовательностей района trnL-trnF видов рода *Elymus*.

Все виды полиплоиды. Как у всех Пшеницевых, очень низкий уровень межвидовых различий по секвенированным маркерам (0.0-3.5%).  
Распространена межвидовая гибридизация.

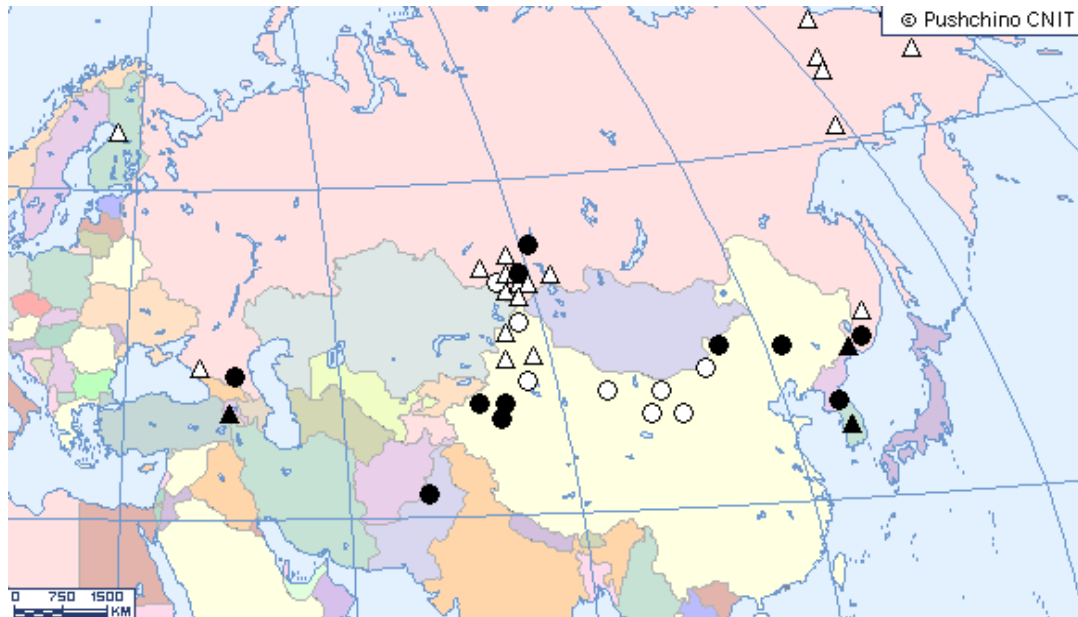


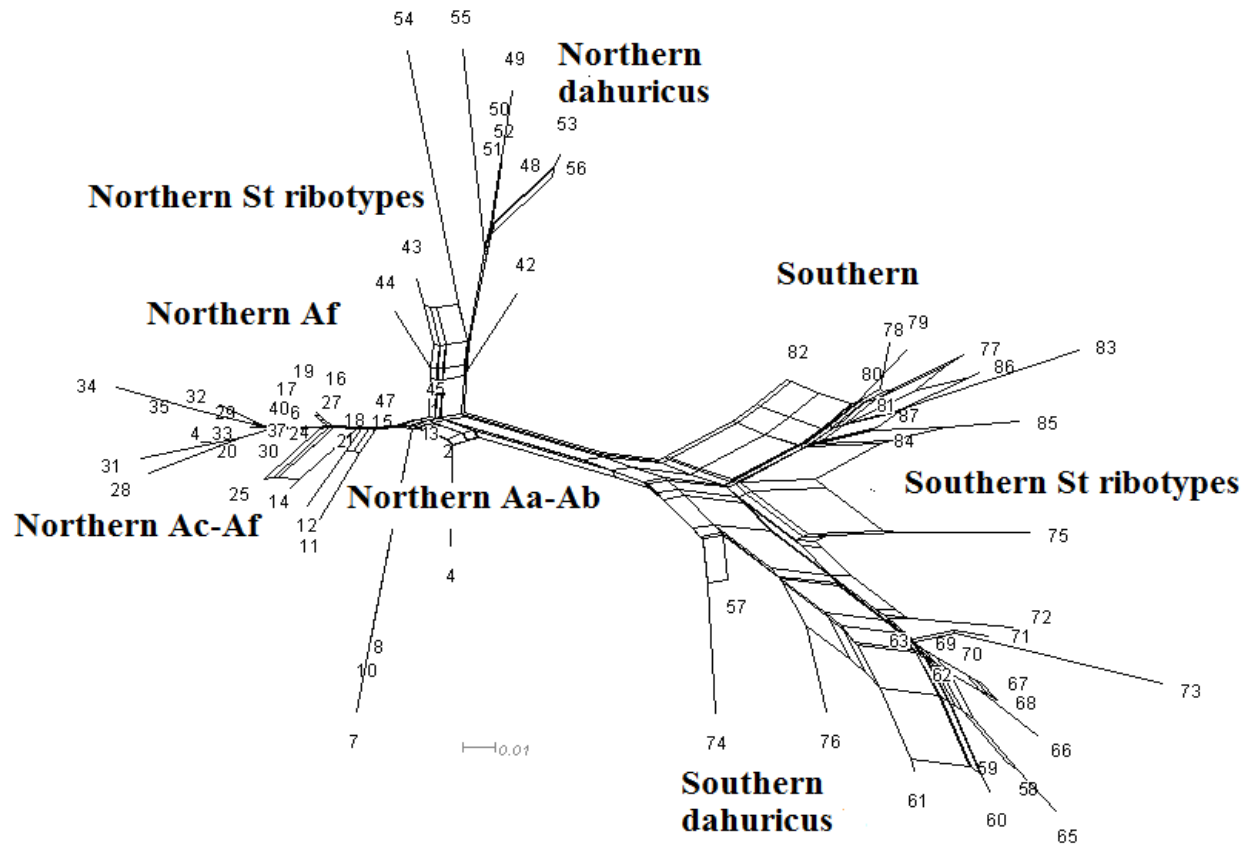
1860497481234282795608674  
 133445567783589995990002884446677889  
 10929084785111111333444444555555555  
 GCCTGCCGTGCCTTAGTCGCACCTGCCCAACACGG

Ab .....T.....A  
 Ac .....T.....  
 Ad .....W.....A.....WR.....  
 Ae .....A.....A.....  
 Af .....R.....M.....

Northern St-rDNA jccTgCCgTGcCTtaGTCgCaCCTgcCCCAAcAcgG  
 Northern dahuricus  
 St-rDNA .....TT.....A.....A.....  
 Southern dahuricus ..C...GT.D...CT...D...TT...T...  
 St-rDNA  
 Southern St-rDNA ccTgCCgGTccTtaGCCgTaTDTgcCTCAAcAcgG

2 семейства риботипов,  
 Northern St-rDNA и  
 Southern St-rDNA, в каждом  
 из которых можно  
 выделить минорные  
 варианты





**Сеть NeighbourNet (программа SplitsTree4) последовательностей ITS видов *Elymus*.**

**Анализ парсимонично значимых сайтов в ITS видов рода *Elymus* флоры России и сопредельных стран выявил два семейства рДНК (4 основных варианта): характерные для Южной Сибири, Якутии, Северного Кавказа и северо-восточной Евразии, встречающиеся также в Северном Китае риботипы Northern St-rDNA и Northern dahuricus St-rDNA, а также распространенные в Приморье, в восточном и западном Китае, Корее, Иране, относительно редкие в Южной Сибири риботипы Southern St-rDNA и Southern dahuricus St-rDNA.**

ДНК-штрихкодирование субгеномов полиплоидов.





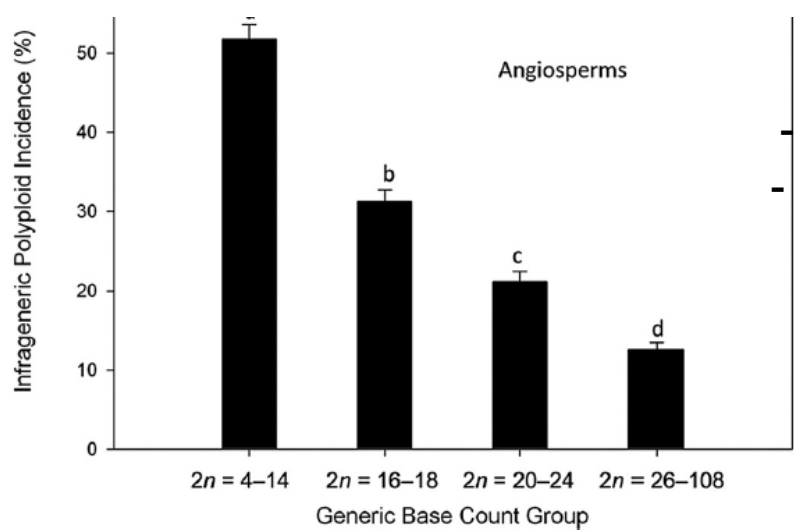
## ***Как часто встречаются полиплоиды у растений ?***

**Munzing (1936) и Darlington (1937) полагали, что около половины цветковых растений – полиплоиды.**

**Stebbins (1950) - 30-35% кариотипированных растений полиплоиды.**

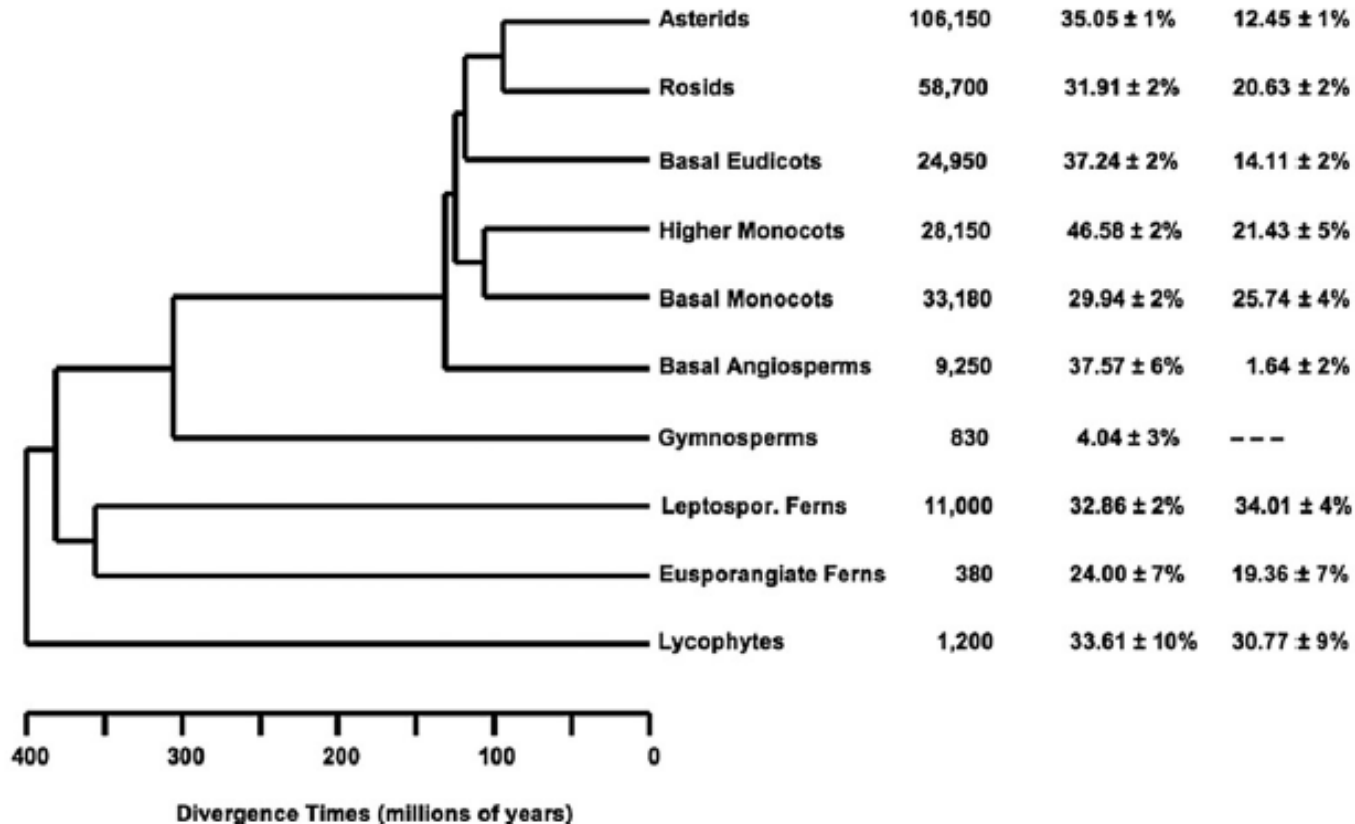
**Grant (1963) предложил считать все растения в кариотипе которых 28 и более хромосом полиплоидами – такой расчет дал 47% полиплоидов.**

**Goldblatt (1980) предложил считать полиплоидами все растения, в кариотипах которых более 18 хромосом – таких около 70%.**

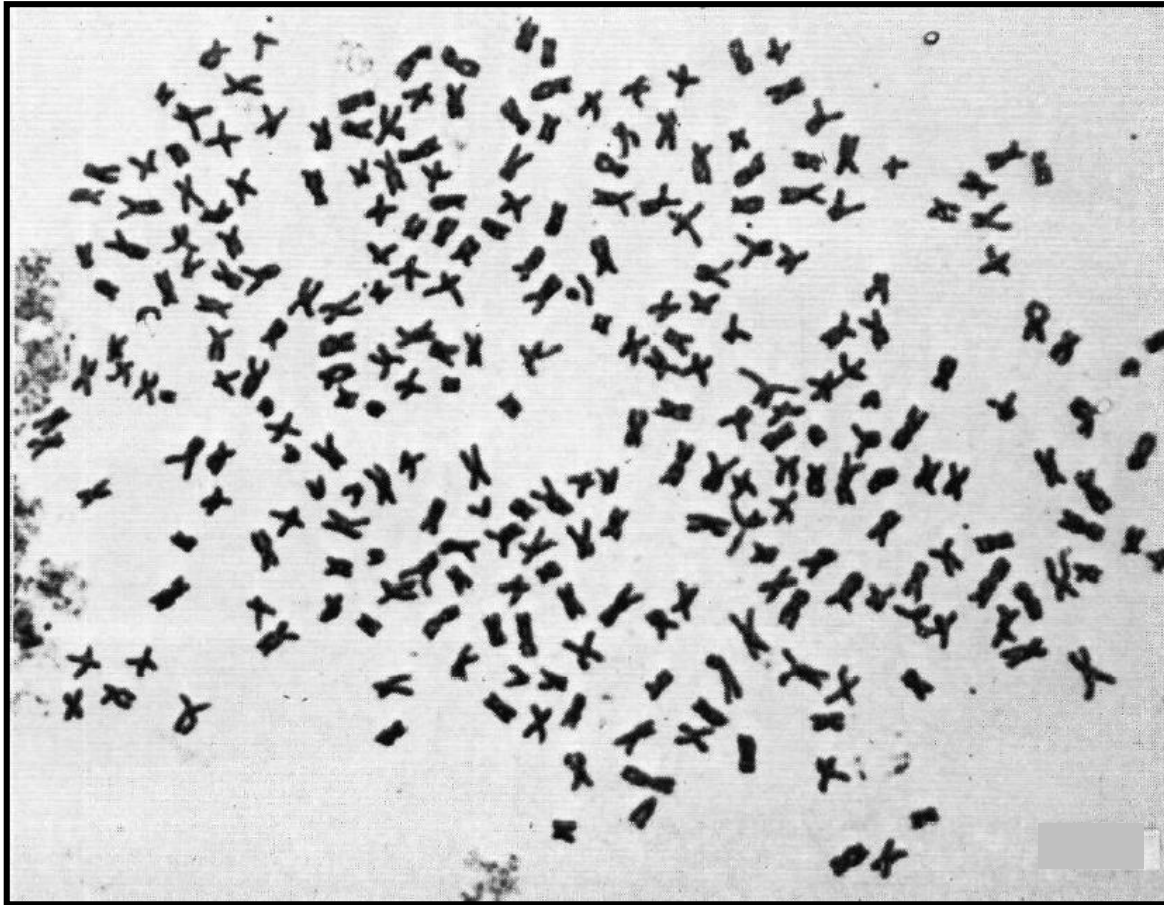


**Wood et al., 2009 – 15% видов полиплоиды – рассчитывали % полиплоидов в родах, где выявлялись полиплоидные ряды. В родах, - основное число  $x$  у которых было низким (2-7) доля полиплоидных видов было 50%**

Fig. 2. Dependence of infrageneric polyploid incidence on the minimum number of chromosomes reported for angiosperm genera (generic base



ОТСЮДА СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЗАДАЧА:  
ДНК-штрихкодирование субгеномов полиплоидов. Это путь в  
определению происхождения полиплоидов.



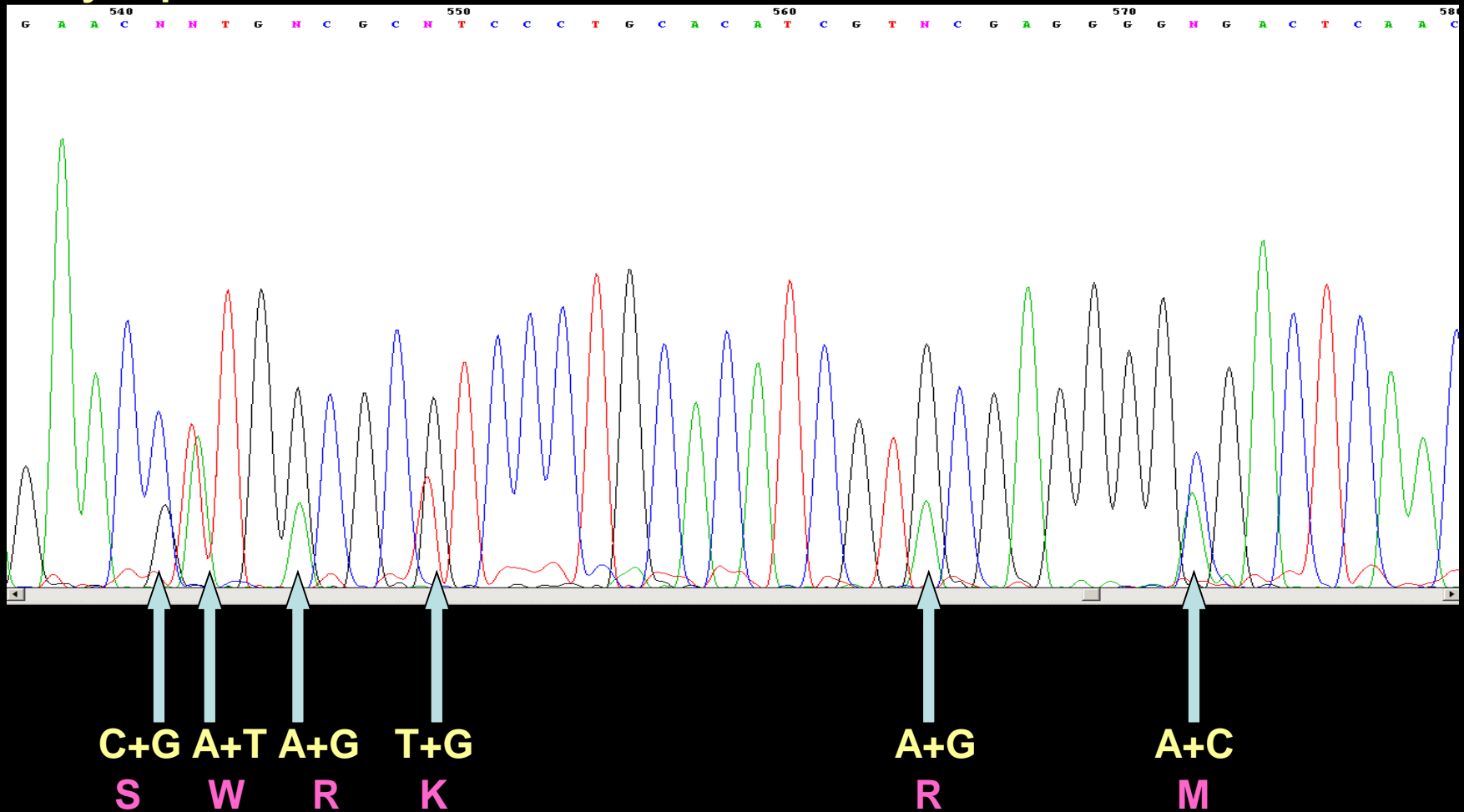
Кариотип  
*Poa litorosa*,  
 $2n \approx 265$ ,  $x=7$   
около 38 субгеномов  
Из Hair, 1968

Быстрая потеря анеуплоидами рДНК одного из «родителей» в большинстве  
Филогенетических линий цветковых растений чрезвычайно затрудняет  
исследование происхождения субгеномов полиплоидов



Особый механизм эволюции геномов полиплоидов обнаружен в роде *Paeonia*. Показано, что как у недавно возникших спонтанных природных и искусственных гибридов пионов, так и у полиплоидных видов пионов в большинстве случаев не происходит изогенизации генов 35S рРНК.

**Пионы: Sang et al. (1995) и Пунина и соавт. (2012)**  
показали, что у пионов в геномах некоторых видов в одной позиции ДНК  
могут присутствовать два разных нуклеотида –  
**ГИПОТЕЗА: у гибридных таксонов пионов сохраняются рДНК**  
**двух «родителей»**



**Фрагмент хроматограммы, содержащий двойные пики - в  
этих позициях в геноме видны два разных нуклеотида**



*P. anomala*

X



*P. tenuifolia*



*P. anomala* x *P. tenuifolia* ?

Спонтанный  
гибрид *P. anomala*  
и *P. tenuifolia* в  
Ботаническом саду  
БИН РАН

# Полиморфные позиции в ITS1-5.8S rDNA-ITS2

## спонтанного гибрида *P. anomala* x *P. tenuifolia*

	74	97	105	108	138	139	202	207	231	403	407	530	534	620	621	639	Σ
<i>P.anomala</i> Сарлык	C	G	A	T	A	G	G	T	T	T	C	T	G T	A	T	T	1
<i>P.anomala</i> Кемерово	C	G	A	T	A	G	G	T	T	T	C	T	G T	A	T	T	1
<i>P.anomala</i> Тува	C	G	A	T	A	G	G	T	T	T	C	T	G T	A	T	T	1
<i>P.anomala</i> Онгудай	C	G	A	T	A	G	G	T	T	T	C	T	G T	A	T	T	1
<i>P.anomala</i> x <i>tenuifolia</i>	C T	G	A G	K	A T	G T	G	G T	T C	T C	C	T C	G T	A G	T A	T C	13
<i>P.tenuifolia</i> Маркотх	T	T	G	G	T	T	A	G	T C	C	A	C	T	G	A	C	2
<i>P.tenuifolia</i> PTU27694	T	T	G	G	T	T	A	G	C	C	A	C	T	G	A	C	0

# Сравнение последовательностей ДНК ITS1-5.8s rRNA-ITS2

у *P. tenuifolia*, *P. caucasica*, их гибрида *P. x majkoe* и *P. hybrida*

	ITS1															ITS2						количество PS			
	49	81	83	97	108	131	138	139	153	163	169	182	226	227	241	244	462	467	469	589	594	610	ITS1	ITS2	всего
<i>Paeonia consensus</i>	G	A	G	G	G	A	A	G	C	C	A	G	A	T	A	G	C	C	C	T	T	A			
<i>P.tenuifolia</i> Маркотх 10	A			T			T	T			C	A	G	Y			A	T	T	K	G	G	1	1	2
<i>P.tenuifolia</i> 10	A			T			T	T			C	A	G	C			A	T	T		G	G	0	0	0
<i>P. x majkoe</i>	R			K	K	M	W	K			M	R	R	Y	R	R	M	Y	Y		K	R	12	6	18
<i>P.caucasica</i> Kr13 10	S				K	M	W								R								5	0	5
<i>P.caucasica</i> Kr22 10					K	M	W	S							R	R							6	0	6
<i>P.hybrida</i> 10	A	R								C				C				T	T		G		1	0	1
<i>P.intermedia</i> XJ044 10	A	G	T							T	C			C				T	T		G		0	0	0
<i>P.intermedia</i> INT-XJ 10	A	R	T						T	T	C			C				T	T		G		1	0	1

**M = A и C, R = A и G, W = A и T, S = C и G, Y = C и T, K = G и T**



*P. caucasica*



*P. X majkoe*



*P.tenuifolia*



# Полиморфные сайты у садовых гибридов пионов

Среди исследованных нами 27 сортов 10 - предположительно происходят от *P. lactiflora*, 1 – от *P. officinalis*, 13 – от гибридизации *P. lactiflora* и *P. peregrina*, или *P. officinalis*, и 3 – это Itoh-гибриды (гибриды кустарниковых и травянистых пионов).

Образец	ITS1α							5.8S	ITS2α							∞
	65α	69α	93α	125α	135α	217α	226α	394α	458α	523α	530α	544α	546α	595α	622α	∞
U27682 (Sang et al., 1995)*	G*	C*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	T*	G*	∞
JN622184 (Пунина и др., 2012)α	Gα	Tα	Cα	Cα	Cα	Cα	Aα	C+Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Aα	Gα	Tα	G+Tα	∞
JQ743067 (Пунина и др., 2012)α	Gα	Tα	Cα	Cα	Cα	Cα	Aα	C+Gα	A+Cα	Tα	Cα	Aα	Gα	Tα	G+Tα	∞
AY328313*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	A*	T*	C*	A*	G*	T*	G*	∞
KC821538 (Wang et al., 2014)*	G*	C*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	C*	C*	C*	C*	A*	G*	T*	∞
KC821527; KC821528 (Wang et al., 2014)*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	A*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
KC821531; KC821532 (Wang et al., 2014)*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	C*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
KC821533*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	C*	C*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
KC821534*	C*	T*	G*	C*	T*	C*	A*	G*	A*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
KC821535*	G*	C*	A*	C*	C*	C*	G*	G*	C*	C*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
KC821536*	G*	T*	A*	C*	C*	C*	A*	G*	C*	C*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
KC821537 (Wang et al., 2014); KR082772*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	A*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
KC821530*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	C*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
JN572147 (Sun, Hong, 2011)*	G*	T*	G*	A*	C*	C*	A*	G*	A*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
JN572150 (Sun, Hong, 2011); FJ514501-FJ514503*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	A*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
EU926491 (Cai et al., 2009)*	G*	T*	G*	T*	C*	C*	A*	G*	A*	T*	T*	C*	A*	G*	G*	∞
LAC-AB692955-AB692964; AB934995-AB935026 (Zhu et al., 2015)*	G*	T*	G*	C*	C*	C*	A*	G*	A+C*	T*	C*	C*	A*	G*	G*	∞
SKR*	SKR*	Y*	A+G*	C+T*	C+T*	C+T*	A+G*	G*	A+C*	C+T*	C*	C*	A*	A+G*	G+T*	∞
WHITE-CAPα	Gα	Tα	Cα	Cα	Cα	C+Tα	Aα	Gα	A+Cα	Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	Gα	∞
FLORENCE-BONDα	Gα	Tα	Gα	Cα	Cα	C+Tα	Aα	C+Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	G+Tα	∞
PRESIDENT-TAFTα	Gα	Tα	Gα	Cα	Cα	C+Tα	Aα	C+Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	Gα	∞
DO-TELL; ...AKRONα	Gα	Tα	Gα	Cα	Cα	C+Tα	Aα	Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	Gα	∞
ALBERT-CROUSSEα	Gα	Tα	Gα	Cα	Cα	C+Tα	Aα	Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	G+Tα	∞
Paul-M.-Wildα	Gα	Tα	Cα	Cα	Cα	C+Tα	Aα	Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	Gα	∞
GOLD-STANDARDα	Gα	Tα	Gα	Cα	Cα	Cα	Aα	Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	Gα	∞
TORCH-SONGα	Gα	Tα	Gα	Cα	Cα	Cα	Aα	Gα	A+Cα	C+Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	G+Tα	∞
Жемчужная-Россыпьα	Gα	Tα	Gα	Cα	Cα	Cα	Aα	Gα	A+Cα	Tα	Cα	Cα	Aα	Gα	Gα	∞

## Сравнение последовательностей ДНК ITS1-5.8s rRNA-ITS2 у *P. macrophylla*, *P. lactiflora* и гибрида «Ballerina»

	ITS1															5.8S			ITS2					количество PS			
	49	69	104	108	116	131	138	139	155	169	182	226	227	241	244	391	435	436	462	469	513	523	610	ITS1	5,8S	ITS2	всего
<i>Paeonia consensus</i>	G	C	A	G	C	A	A	G	C	A	C	G	A	G	A	A	C	C	G	C	C	C	T				
<i>P. macrophylla</i> 20	G	C	A/T	G	C/T	A/C	A/T	C/G	C/T	A	C/T	G	A	G/A	G/A	G/A	A/C	C/T	G	C	C	C	T	9	3	0	12
"Ballerina"	G/A	C/T	A	G/T	C	A/C	A/T	C/G	C	A/C	C/T	G/A	G/A	G	G/A	G/A	A/C	C/T	G/T	C/T	C/T	C/T	G/T	11	3	5	19
<i>P. lactiflora</i> 10	A	T	A	T	C	A	A	G	C	C	C	A	G	G	A	A	C	C	T	T	T	T	G	0	0	0	0



*P. macrophylla*



"Ballerina"



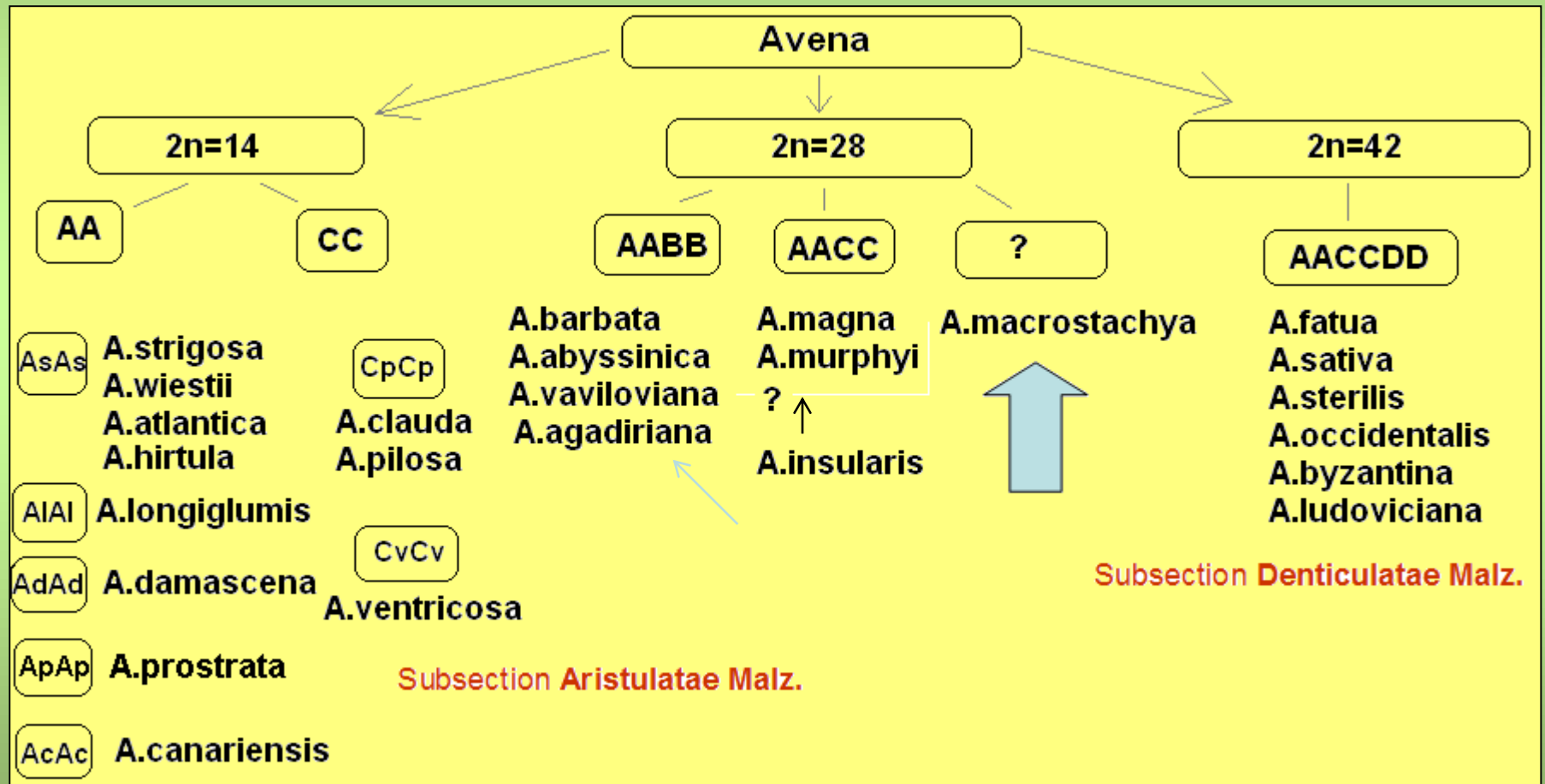
*P. lactiflora*

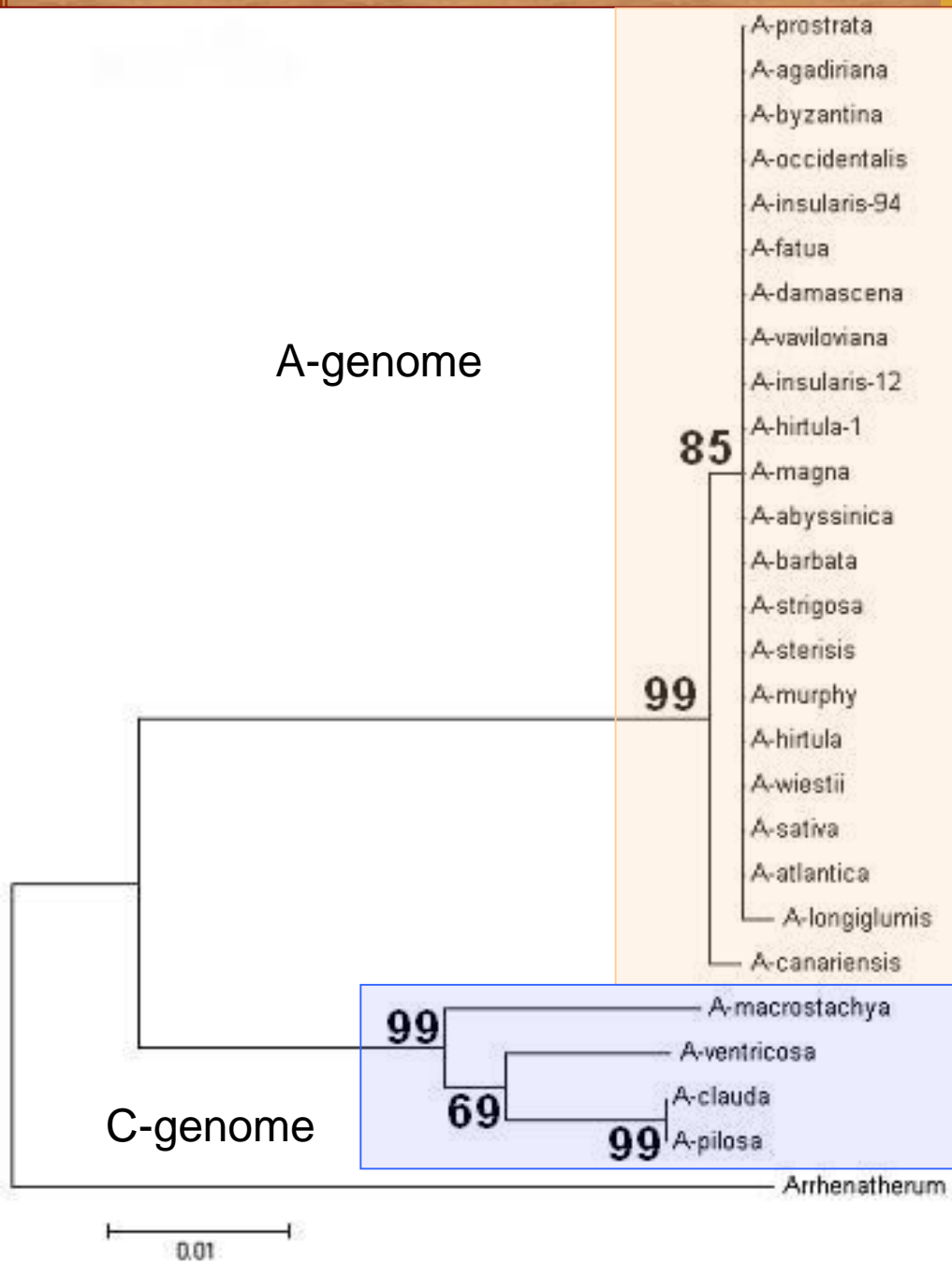
**The origin of few polyploid  
*Avena*  
species inferred from  
ITS polymorphism study**



# Traditional view on the genus *Avena*

## Section *Euavena* Griseb.





Sanger sequencing show only A-genome specific rDNA sequences in polyploid *Avena* species. It is appeared that there is an elimination of the C-genome rDNA in the polyploid genomes.

Phylogenetic tree of *Avena* species inferred by the analysis of the sequences ITS1 and ITS2:

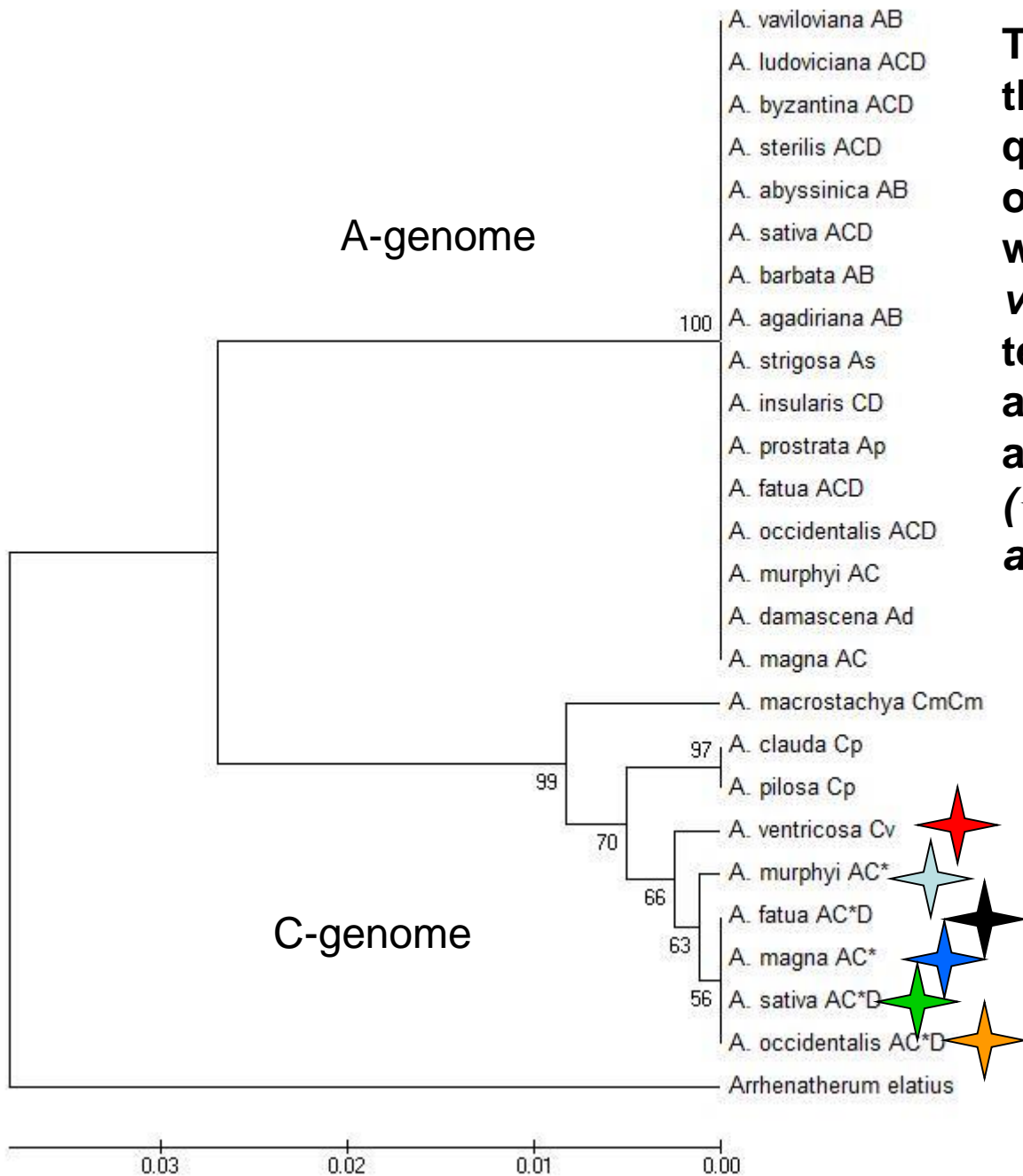
Perrenial oat *A. macrostachya* carries a C-genome ribotype

56. <i>A. eriantha</i> _gi212004411 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
57. <i>A. eriantha</i> _gi212004410 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
58. <i>A. clauda</i> _gi212004394 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
59. <i>A. clauda</i> _gi212004393 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
60. <i>A. clauda</i> _gi212004392 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
61. <i>A. ventricosa</i> _gi212004508 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
62. <i>A. ventricosa</i> _gi212004507 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
63. <i>A. ventricosa</i> _gi212004506 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
64. <i>A. ventricosa</i> _gi212004505 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
65. <i>A. ventricosa</i> _VIR_k-1909_gi41394443 (2)	AGCCGCGCACGCGTT-ATCT-ATCC--GCTGGCGGG
66. <i>A. wiestii</i> _gi28932773 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
67. <i>A. prostrata</i> _7197_gi119514749 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
68. <i>A. damascena</i> _gi212004402 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
69. <i>A. damascena</i> _gi212004401 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
70. <i>A. longiglumis</i> _VIR_k-1811_gi41394442 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
71. <i>A. longiglumis</i> _9071_gi119514697 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
72. <i>A. canariensis</i> _gi212004386 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
73. <i>A. canariensis</i> _gi212004385 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
74. <i>A. hirtula</i> _gi212004427 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
75. <i>A. hirtula</i> _gi212004426 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
76. <i>A. strigosa</i> _VIR_K-9888_gi89275077 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
77. <i>A. strigosa</i> _19531-1_gi119514705 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
78. <i>A. atlantica</i> _VIR-1894_gi85062658 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG
79. <i>A. atlantica</i> _gi212004363 (2)	AGCCGAGCAGCGCGTT-ATCT-ATTCCTGCTGGTGG

To reveal the origin of the C-genome in polyploid oats we, based on the sequences of ITS1 and ITS2 of *Avena* species, (Rodionov et al., 2005), designed C-genome ITS specific primers M13R-cAvenaITS1F and M13R-cAvenaITS2R.

14. <i>A. macrostachya</i> _gi223006478	ATGGCCCTCG-TAGACCCCTT--TGAACGG--TGC
15. <i>A. eriantha</i> _VIR_k-201_gi42563598	ATGGCCCTCG-TAGACCCCTT--TGAACGG--TGC
16. <i>A. eriantha</i> _gi212004411	ATGGCCCTCG-TAGACCCCTT--TGAACGG--TGC
17. <i>A. clauda</i> _gi212004394	ATGGCCCTCG-TAGACCCCTT--TGAACGG--TGC
18. <i>A. clauda</i> _gi212004393	ATGGCCCTCG-TAGACCCCTT--TGAACGG--TGC
19. <i>A. ventricosa</i> _gi212004508	ATGGCCCTCG-TAGACCCCTT--TGAACGG--TGC
20. <i>A. ventricosa</i> _gi212004506	ATGGCCCTCG-TAGACCCCTT--TGAACGG--TGC
21. <i>A. prostrata</i> _7191_gi119514747	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
22. <i>A. prostrata</i> _7060_gi119514688	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
23. <i>A. damascena</i> _gi212004402	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
24. <i>A. damascena</i> _gi212004401	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
25. <i>A. longiglumis</i> _VIR_k-1811_gi41394442	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
26. <i>A. longiglumis</i> _9071_gi119514697	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
27. <i>A. canariensis</i> _gi212004386	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
28. <i>A. canariensis</i> _gi212004385	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
29. <i>A. wiestii</i> _gi28932773	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
30. <i>A. hirtula</i> _gi212004427	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
31. <i>A. hirtula</i> _gi212004426	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
32. <i>A. atlantica</i> _VIR-1894_gi85062658	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT
33. <i>A. atlantica</i> _gi212004363	ATGGCCCTAGAAAAGACCCCTT--GTAAACGGTIS--GCGCAT

This approach has yielded the presence of minor quantities of C-genomic rDNA of an ancestor species, that was related to *Avena ventricosa* in the tetraploids *A. magna* and *A. murphyi* as well as in the hexaploids *A. sativa* and *A. occidentalis*.



This approach has yielded the presence of minor quantities of C-genomic rDNA of an ancestor species, that was related to *Avena ventricosa* (★) in the tetraploids *A. magna* (★) and *A. murphyi* (★) as well as in the hexaploids *A. sativa* (★), *A. occidentalis* (★) and *A. fatua* (★).

Our results correspondent with the results N.Nikoloudakis & A.Katsiotis (2008) who used another pair of C-genome specific primers

**NGS: There are only 1-3% of C-genome specific rDNA loci in allopolyploid *Avena* genomes**

	General number of sequenced ITS1	C-genome specific	A-genome specific
<i>Avena insularis</i> (2067, Sicily);	827 100%	24 2.9%	803 97.1
<i>Avena ludoviciana</i> (389, Venesuella); 1-41	790 100%	14 1.8%	776 98.2%
<i>Avena ludoviciana</i> (389, Venesuella); 2-42	757 100%	13 1.7%	744 98.3%
<i>Avena fatua</i> (30, Tuva);1-45	873 100%	21 2.4%	852 97.6%
<i>Avena fatua</i> (30, Tuva);2-46	777 100%	19 2.4%	759 97.6%
<i>Avena sterilis</i> (511, Israel);1	766 100%	10 1.3%	756 98.7%
<i>Avena sterilis</i> (511, Israel);2	827 100%	13 1.6%	814 98.4%

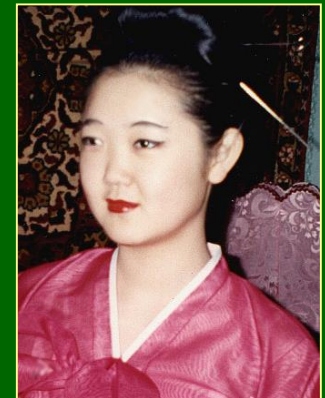
%



- Много лет мы пользовались консультациями и
- советами выдающегося агролога
- Николая Николаевича Цвелева (1925-2015)



В докладе использованы данные, полученные при непосредственном участии моих сотрудников Эдуарда Мачса, Елизаветы Пуниной, Елены Ким, Виолетты Коцеруба, Михаила Райко, Николая Носова, Александра Гнутикова, Ксении Добряковой.





**Особая благодарность проф. А.И. Шмакову и всем сотрудникам  
Ю.Сибирского ботсада (Барнаул)  
за помощь в организации и проведении экспедиционных работ.**

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ









**Н.Н. Цвелев  
(1925-2015)**

Много лет мы пользовались  
консультациями и советами  
выдающегося агростолога  
Николая Николаевича  
Цвелева