Аннотация

В настоящей работе проведена сборка геномов клеточных органелл, пластид и митохондрий, исходя из данных высокопроизводительного секвенирования ДНК, у 27 образцов гороха (род *Pisum*) в результате чего анализируемая выборка была расширена до 91 образца.. Проведен филогенетический анализ реконструированных нуклеотидных последовательностей, построены филогенетические деревья полных пластидных геномов и полных митохондриальных геномов диких представителей и культурных образцов гороха. Филогенетическое дерево, построенное на основе пластидных геномов, значительно отличалось от дерева, построенного на основе митохондриальных геномов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в ходе эволюции гороха клеточные органеллы наследовались дискордантно. Происхождение хлоропластных геномов культурного гороха в ходе его доместикации восходит к диким образцам Причерноморья, тогда как митохондриальные геномы имеют множественные источники происхождения - Юго-Восточная Европа и Западная Азия.

1. Тема работы:

Анализ филогенетических отношений в роде Горох (Pisum L.).

2. Состав коллектива:

Костерин Олег Энгельсович, д.б.н., зав. лабораторией, Институт Цитологии и генетики СО РАН, доцент кафедры цитологии и генетики ФЕН НГУ;

Булгакова (Богданова) Вера Сергеевна, д.б.н., с.н.с., Институт Цитологии и генетики СО РАН;

Соловьев Владимир Игоревич, ст. преподаватель НГУ

3. Информация о гранте:

Гос. задание FWNR-2022-0017

FWNR-2022-0016

4. Научное содержание работы.

4.1. Постановка задачи.

Целью настоящего исследования является реконструкция филогенетических отношений в роде Горох (*Pisum* L.) на основе нуклеотидных последовательностей, геномов клеточных органелл, хлоропластов и митохондрий в эволюции культурных и диких форм гороха. Выяснение происхождения хлоропластных и митохондриальных геномов культурного гороха.

4.2. *Современное состояние проблемы*

Реконструкция филогении рода Горох с использованием различных молекулярных подходов предпринималась неоднократно (Hoey et al., 1996, Theor. Appl. Genet. 92: 92-100; Lu et al., 1996, Theor. Appl. Genet. 93: 1103-1111; Tar'an et al., 2005, Genome 48: 257-272; Ellis et al., 1998, Mol. General Genet. 260: 9-19; Vershinin et al., 2003, Mol. Biol. Evol. 20, 2067-2075; Jing et al., 2007, Genetics 177, 2263-2275; 2010, BMC Evol. Biol. 10, 44; Zaytseva et al., 2012, Gene 504, 192-202; 2015, Gene 556, 235-244). При этом использовались в основном последовательности ядерной ДНК, тогда как реконструкции на основании первичной структуры органелльных геномов не проводилось. Тем более не предпринималось попыток сравнения филогенетических реконструкций, основанных на последовательностях, происходящих из разных клеточных геномов. В этом отношении

данное исследование является в достаточной степени уникальным и новаторским. К настоящему времени нами исследована большая выборка образцов дикого гороха, однако культурных форм практически не исследовано. В настоящей работе выборка исследованных образцов расширена за счет культурных форм.

4.3. Подробное описание работы, включая используемые алгоритмы.

В настоящей работе была проведена сборка пластидных и митохондриальных геномов 27 образцов гороха на основе сырых данных высокопроизводительного секвенирования с использованием программы MIRA4 (Chevreux et al., 1999. Computer Science and Biology: Proceedings of GCB, 99: 45-56). Выравнивание полученных геномов для филогенетического анализа клеточных органелл проводились с использованием программы ClustalW (Larkin, 2007. Bioinformatics 23, 2947-2948) в составе пакета MEGA 6 (Tamura et al., 2013. Mol Biol and Evolution, 30: 2725-20729). Филогенетический анализ полученных геномов был осуществлен методом MCMC в рамках Байесового подхода с использованием программы BEAST 2.4.3 (Drummond, Rambaut, 2007, BMC Evol. Biol. 7, 1). С помощью программы jModelTest 2.1.10 (Darriba et al., 2012, Nature Methods 9, 772; Guindon, Gascuel, 2003, Systematic Biology. 52, 696-704) в качестве наиболее подходящей выбрана модель замен GTR+I+G; в качестве модели молекулярной эволюции выбрана модель uncorrelated lognormal relaxed clock и модель Юла для видообразования. Анализ MCMC проводился в течение 200 миллионов поколений.

4.4. Полученные результаты.

Просеквенированы и собраны пластидный и митохондриальный геномы 27 образцов рода Горох (*Pisum* L.), представленному подвидами *P. sativum* subsp. *elatius* (дикорастущие формы) и *P. sativum* subsp. *sativum* (культурные формы). Вместе с ранее просеквенированными образцами анализируемая выборка составила 91 образец. Были получены филогенетические деревья, реконструированные на основе пластидных геномов и митохондриальных геномов. илогенетическое дерево, построенное на основе пластидных геномов, значительно отличалось от дерева, построенного на основе митохондриальных геномов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в ходе эволюции гороха клеточные органеллы наследовались дискордантно. Показаны случаи неканонического двуродительского наследования митохондрий, что является довольно редким случаем у растений, а для гороха показано впервые. Также показаны свидетельства рекомбинации митохондриальных геномов. Построенные филогенетические деревья геномов органелл позволяют проследить происхождение этих геномов у культурного гороха. Показано, что происхождение хлоропластных геномов культурного гороха в ходе его доместикации восходит к диким образцам Причерноморья (Рис. 1), тогда как митохондриальные геномы имеют множественные источники происхождения - Юго-Восточная Европа и Западная Азия (Рис. 2).

4.5. Иллюстрации.

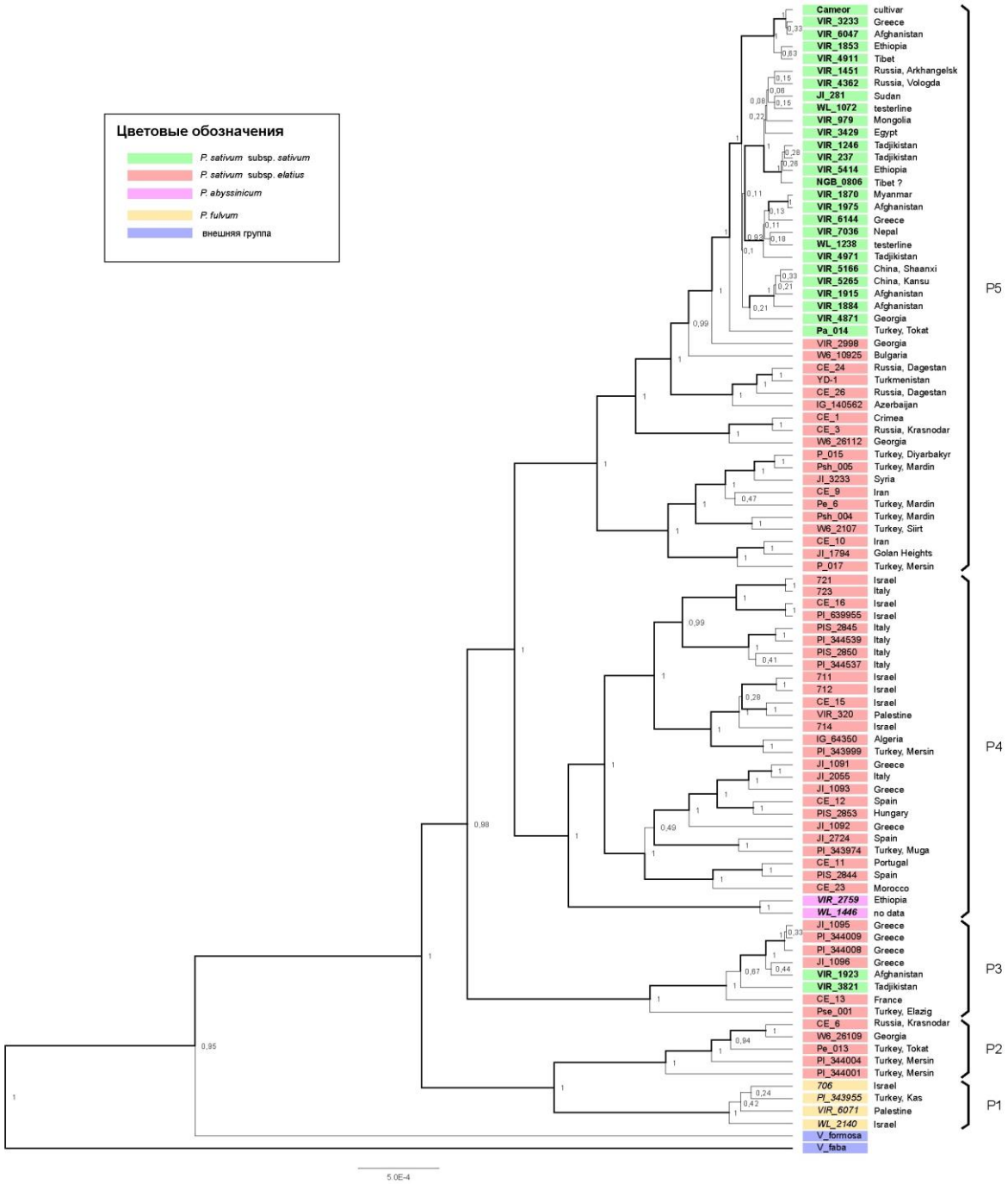

Рис. 1. Байесовская реконструкция филогении хлоропластных геномов изученных образцов гороха. Указаны постериорные вероятности узлов. Ветки, ведущие к узлам с поддержкой более 0.75, показаны жирными линиями. Основные ветви дерева обозначены как P1-P5. Масштаб соответствует среднему ожидаемому числу нуклеотидных замен на сайт. Образцы *Pisum fulvum* отмечены курсивом, *P. abyssinicum* жирным курсивом, дикого подвида *P. sativum* subsp. *elatius* s.l. обычным шрифтом, культурного подвида *P. sativum* subsp. *sativum* жирным шрифтом. *Vavilovia formosa* и *Vicia faba* служат в качестве внешней группы. Культурные образцы выделены зеленым цветом.

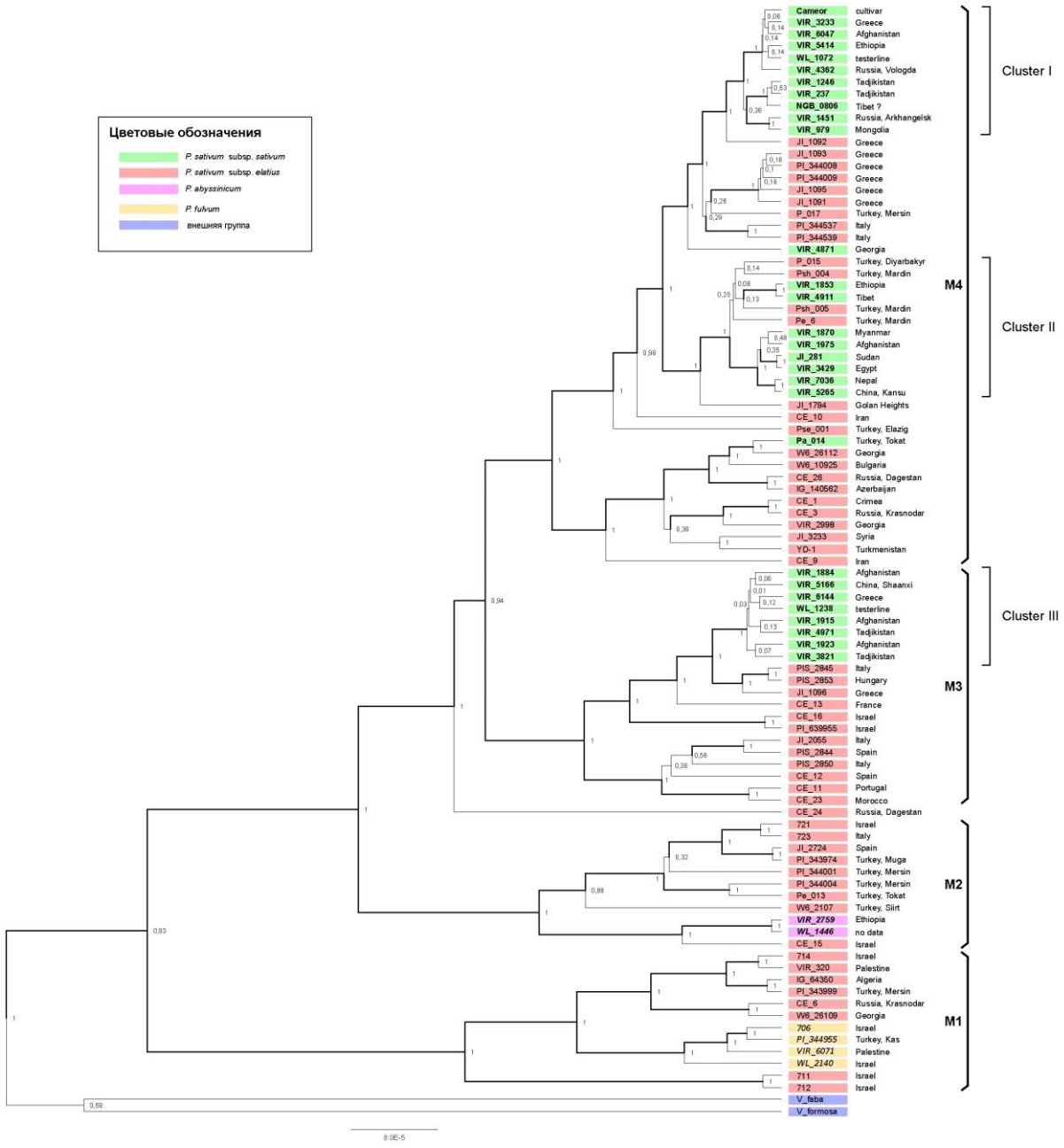

Рис. 2.. Байесовская реконструкция филогении митохондриальных геномов изученных образцов гороха.. *Vavilovia formosa* и *Vicia faba* служат в качестве внешней группы. Основные ветви дерева обозначены как M1-M4. Показаны кластеры I-III культурного гороха. Обозначения таксономических групп как на Рис. 1. Культурные образцы выделены зеленым цветом.

5. Эффект от использования кластера в достижении целей работы.

Сборка геномов органелл подразумевает попарное сравнение нуклеотидных последовательностей, входящих в массив данных, полученных путем высокопроизводительного секвенирования. Один массив включает 1 – 5 миллионов таких последовательностей в одном эксперименте, вследствие чего сборка геномов возможна лишь с использованием высокопроизводительного вычислительного оборудования. Построение филогенетических деревьев наиболее надежным Байесовым методом подразумевает сотни миллионов испытаний, в нашем случае 200 миллионов, что также делает необходимым использование высокопроизводительных компьютеров.

6. Перечень публикаций, содержащих результаты работы

Shatskaya, N.V.; **Bogdanova, V.S.**; Kosterin, O.E.; Vasiliev, G.V. New Insights into Plastid and Mitochondria Evolution in Wild Peas (Pisum L.). Diversity 2023, 15, 216. https://doi.org/10.3390/d150202

Bulgakova (Bogdanova) V. S., Shatskaya N. V., Kosterin O. E., Vasiliev G. V. Cases of paternal inheritance and recombination of mitochondrial DNA in peas (Pisum L.). Euphytica, 2023, 219:74. https://doi.org/10.1007/s10681-023-03207-z