

УДК 575.116.4:575.222.7:575.853'3:576.316.7

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДИПЛОИДНЫХ ВИДОВ
РОДА *Avena* L. С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ
И БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ: *Avena canariensis* Baum et Fedak
И *A. longiglumis* Dur.**

© 2008 г. О. Ю. Шелухина¹, Е. Д. Бадаева^{1,2}, Т. А. Брежнева¹,
И. Г. Лоскутов³, В. А. Пухальский¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва 119991;
e-mail: sheluhina_olga@mail.ru

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва 119991

³Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова,
Санкт-Петербург 190000

Поступила в редакцию 12.09.2007 г.

Диплоидные виды овса, содержащие два типа А-генома (Al и As), были исследованы методами электрофореза запасных белков зерна (авенинов), С-окрашивания хромосом и гибридизации *in situ* с пробамми рТа71 и рТа794. Кариотипы видов характеризовались сходными рисунками С-окрашивания, но отличались друг от друга по размеру и морфологии ряда хромосом, являющихся, возможно, результатом структурных перестроек, происходивших в процессе дивергенции А-геномов от общего предка. Методом гибридизации *in situ* показано, что *A. canariensis* и *A. longiglumis* имели идентичное расположение локусов 45S и 5S рРНК генов, сходное с таковым у *A. strigosa*, но в геноме *A. longiglumis* наблюдалось значительное снижение размера локуса 5S рДНК (*5S rDNA1*) в длинном плече хромосомы 3Al. В ходе анализа выявлено сходство видов по компонентному составу авенинов, хотя отдельные образцы отличались по электрофоретической подвижности компонентов. Показано значительное сходство *A. canariensis* и *A. longiglumis* с исследованными ранее диплоидными видами *Avena*, несущими As-вариант генома.

Род *Avena* L. включает 12 диплоидных видов, восемь из которых несут А-геномы в разной модификации – As, Al, Ac, Ap и Ad [1, 2]. Геном As присутствует у четырех видов: культурного *Avena strigosa* Schreb. и дикорастущих *A. hirtula* Lagas., *A. wiestii* Steud. и *A. atlantica* Baum. Второй вариант А-генома – Al – идентифицирован у диплоидного вида *A. longiglumis* Dur. [3]. Обособленность этого вида от видов As-геномной группы была впервые обнаружена при анализе конъюгации хромосом в гибридах *A. strigosa* и *A. longiglumis* [4–6]. Модификацию генома данного вида подтвердили исследования [7, 8] по результатам анализа запасных белков зерна, а также работа [9], в которой проводился кариологический анализ *A. longiglumis*. На основании изучения мейотической конъюгации хромосом было высказано предположение, что *A. strigosa* отличается от *A. longiglumis* наличием по крайней мере 5 хромосомных перестроек [10, 11]. Филогенетическую обособленность *A. longiglumis* от других видов А-геномной группы подтверждают также данные AFLP-, RFLP- и RAPD-анализов [12, 13].

Avena canariensis Baum как новый биологический вид был впервые описан в работе Баума с соавт. [14]. Эти же авторы установили, что вид об-

ладает особым вариантом А-генома, который был обозначен As. Дальнейшее исследование канарского овса показало его высокую внутривидовую вариабельность по ряду морфологических признаков и изоферментов, по числу спутничных хромосом и хромосомным перестройкам [15]. В соответствии с морфологическими признаками *A. canariensis* более сходен с тетраплоидными видами овса *A. magna* Murphy et Terr. и *A. murphyi* Ladiz. и гексаплоидным *A. sterilis* L., чем остальные диплоидные виды А-геномной группы [16]. На основании анализа кариотипа *A. canariensis* Murphy [17] предположил, что он мог послужить донором А-генома гексаплоидного овса и, возможно, тетраплоидных видов, т. е. канарский овес можно рассматривать как предполагаемого прародителя основного хозяйственного вида этой культуры [14].

В настоящей работе для подробного сравнительного описания Al- и As-геномов видов рода *Avena* L. и эволюционного анализа этих диплоидных овсов были использованы биохимические (запасные белки зерна) и цитогенетические (С-окрашивание, гибридизация *in situ*) методы.

Таблица 1. Исследованные образцы овса и их происхождение

| Вид | № по каталогу ВИР | Происхождение и место сбора |
|-----------------------|-------------------|---|
| <i>A. canariensis</i> | к-1917 | Канарские о-ва |
| | к-1916 | Канарские о-ва, о. Фуэртевентура, Tiscamanita |
| | к-1915 | Канарские о-ва, о. Фуэртевентура, Vista de Toto |
| | к-1914 | Канарские о-ва, о. Фуэртевентура, Cassillas del Angel |
| | к-293* | Канарские о-ва, о. Фуэртевентура, Betancuria |
| | к-292 | Канарские о-ва |
| | к-2077 | Канарские о-ва |
| <i>A. longiglumis</i> | к-1874 | Марокко, Кенитра, 10 км южнее |
| | к-1811 | Марокко |
| | к-1810* | Марокко |
| | к-87 | Израиль |
| | к-1881 | Происхождение неизвестно, получен из США |
| | к-1912 | Израиль |

* Образцы, использованные для гибридизации *in situ*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методом С-окрашивания хромосом были изучены 10 образцов двух диплоидных видов овса, представляющих варианты Ас- и АI-геномов и имеющих различное географическое происхождение (табл. 1). Материал был получен из коллекции Государственного научного центра РФ Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР, Санкт-Петербург). Для гибридизации *in situ* были отобраны два типичных образца, представляющих разные варианты А-геномов, а также один образец *A. strigosa* с Аs-геномом. Сравнительное исследование спектров запасных белков зерна проводили на 24 образцах, относящихся к пяти видам А-геномной группы, содержащей три варианта А-геномов: *A. strigosa*, *A. wiestii*, *A. hirtula* – Аs (16 образцов), *A. longiglumis* – АI (4 образца), *A. canariensis* – Ас (6 образцов).

ДНК-пробы и гибридизация *in situ*. При гибридизации *in situ* использовали две клонированные последовательности 45S и 5S рРНК генов: рТа794 является *VamHI*-фрагментом 5S рДНК пшеницы длиной 410 пн, клонированным в плазмиде рВR322 [18]; рТа71 представляет собой *EcoRI*-фрагмент гена 45 рРНК длиной 9 тпн, выделенный из пшеницы и субклонированный в плазмиде рUC19 [19]. Пробы метили ботином или дигокси-генином с помощью ник-трансляции в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя (“Roche”, Germany). Для гибридизации *in situ* использовали протокол, приведенный в работе [20], с небольшими модификациями.

Метод С-окрашивания. Для получения хромосомных препаратов и дифференциального окра-

шивания хромосом использовали модификацию метода С-бэндинга, разработанную ранее для хромосом пшеницы [21]. Препараты анализировали с использованием микроскопа Leitz Wetzlar, отобранные метафазные пластинки фотографировали при увеличении 100× с помощью цифровой видеокамеры Leica DFC 280. Обработку изображений проводили в программе Adobe Photoshop 7.0. Хромосомы *A. longiglumis* и *A. canariensis* классифицировали по сходству с хромосомами *A. strigosa* [22].

Метод электрофореза в полиакриламидном геле. Для одномерного электрофореза авенинов применяли стандартную методику [23] с некоторыми модификациями. Экстракцию авенинов проводили из муки, полученной из индивидуальных зерен, 70%-ным этанолом объемом от 60 до 90 мл с последующим инкубированием при 40°C в течение 30 мин. Затем в супернатант добавляли алюминий-лактатный буфер, содержащий метиленовый зеленый, 80%-ную сахарозу и 2 М мочевины. Пробы центрифугировали 5 мин при 12000 об/мин. Электрофорез проводили в вертикальных пластинах 13%-ного полиакриламидного геля (150 × 150 × 1 мм) в 0.005 М алюминий-лактатном буфере (рН 3.1) в течение 5 ч при постоянном напряжении 580 В. После окончания электрофореза гели фиксировали в 10%-ной трихлоруксусной кислоте (ТХУ) 15 мин и окрашивали Кумасси R-250 в течение ночи.

РЕЗУЛЬТАТЫ

С-окрашивание хромосом

С помощью метода С-окрашивания хромосом были исследованы виды, представляющие два ва-

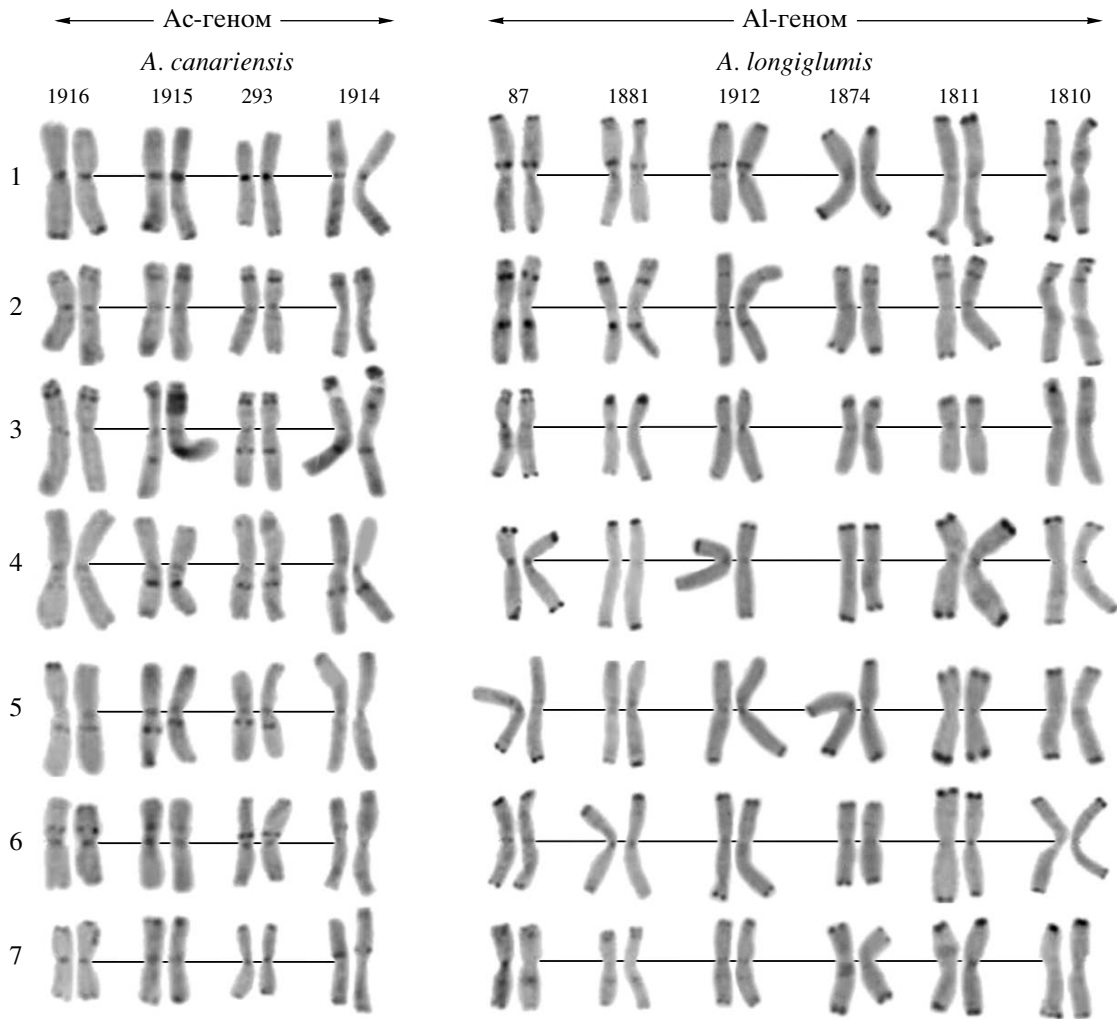


Рис. 1. Рисунки дифференциального окрашивания хромосом диплоидных видов овса с As- и Al-геномами. Цифры вверху – номера образцов, слева – номера хромосом.

рианта A-генома: As (*A. canariensis*) и Al (*A. longiglumis*). Всего с помощью этого метода было изучено 10 образцов.

Avena longiglumis Dur. считается типичным представителем Западного Средиземноморья. В Европе он встречается редко на юге Испании, а также в Португалии, Греции и Италии. Этот вид находят в Сирии, Ливии, Алжире и в Израиле. Это довольно типичное растение для Марокко, где оно часто встречается на побережье и в окрестностях г. Рабат. *A. longiglumis* часто произрастает в сообществе с *A. atlantica* Vaum и *A. agadiriana* Vaum et Fed., а также широко распространен в долинах Иордании, являясь сегетальным и рудеральным растением [2].

Отличительной особенностью *A. longiglumis* является выраженная симметричность кариотипа, причем у всех шести изученных образцов отсутствовала акроцентрическая хромосома, характерная для As-генома [22]. У *A. longiglumis* выяв-

лены две спутничные (SAT) хромосомы (2Al и 3Al), морфология которых соответствует таковой двух SAT-хромосом видов As-геномной группы (рис. 1). Характерная черта Al-генома – наличие очень крупных, темноокрашенных теломерных гетерохроматиновых (ГХ) блоков в длинном и коротком плечах большинства хромосом. В образцах к-87, к-1810, к-1881, к-1912 первая хромосома, помимо теломерных С-бэндов, несла также крупный маркерный блок в проксимальном участке короткого плеча. У *A. longiglumis* выявлен значительный внутривидовой полиморфизм по рисункам окрашивания хромосомы 2Al. В трех образцах из восточного Средиземноморья (к-87, к-1881, к-1912) она характеризовалась очень крупным С-сегментом в проксимальной части длинного плеча и отсутствием теломерных блоков. У трех марокканских линий хромосома 2Al, наоборот, содержала яркие теломерные блоки, но маркерный интерстициальный бэнд в длинном

плече отсутствовал. Марокканские формы имели более слабоокрашенный в сравнении с другими блок приядрышкового ГХ. Приспутничный С-блок в коротком плече хромосомы 3A1 имел примерно одинаковые размеры у всех изученных образцов; помимо него, марокканская популяция *A. longiglumis* характеризовалась небольшим теломерным С-сегментом в длинном плече этой хромосомы. Хромосомы 4A1 и 6A1 имели сходную морфологию и рисунки С-окрашивания; они различались наличием небольшого маркерного блока примерно в середине короткого плеча. Хромосома 5A1 у марокканских представителей *A. longiglumis* содержала теломерные С-блоки в обоих плечах, в остальных образцах теломерный блок найден только в длинном плече; помимо него, хромосома имела слабоокрашенный бэнд в субтеломерном участке длинного плеча. Наиболее значительно марокканская и восточно-средиземноморская популяции различались по хромосоме 7A1. У трех образцов из Марокко она представляла собой небольшую приблизительно метацентричную хромосому с двумя крупными теломерными блоками, практически лишенную интеркалярного ГХ. В остальных образцах хромосома 7A1 – небольшой метацентрик, содержащий четкие интерстициальные бэнды в дистальной части короткого и проксимальной – длинного плеча. Между восточно-средиземноморскими образцами наблюдался полиморфизм также по наличию и размерам теломерных блоков (рис. 1). Возможно, что различия по структуре и рисункам С-окрашивания кариотипа, выявленные между двумя популяциями *A. longiglumis*, обусловлены одной или несколькими структурными перестройками хромосом. Таким образом, хромосомный анализ выявил четкую внутривидовую дифференциацию *A. longiglumis* по географическому происхождению. Однако для подтверждения этой гипотезы требуется анализ большего количества образцов *A. longiglumis* из разных стран.

A. canariensis Baum et Fedak является эндемиком Канарских островов (Испания) и широко распространен, в частности, на островах Фуэртевентура и Ланзароте. Там он довольно широко представлен на высоте 200 м над ур. моря, иногда поднимаясь до 550 м, и произрастает в ненарушенных ассоциациях с видами *A. barbata*, *A. occidentalis* Dur. и *A. sterilis* [2].

Все хромосомы *A. canariensis* являются субметацентриками, несколько различающимися по центромерному индексу (рис. 1). Вторая и третья хромосомы несут спутники. В отличие от других видов группы А-геномов субметацентрическая SAT-хромосома 3Ac заметно короче второй – метацентрической SAT-хромосомы 2Ac. Помимо этого, спутник хромосомы 2Ac существенно меньше по размеру, чем у гомеологичных хромосом диплоидных видов овса, содержащих другие

варианты А-генома. В отличие от *A. longiglumis*, большинство хромосом *A. canariensis* лишены ярко выраженного теломерного гетерохроматина, за исключением хромосомы 1Ac, несущей крупный С-блок в теломере длинного плеча. К основным маркерным ГХ-блокам можно отнести яркий центромерный бэнд хромосомы 1Ac, отчетливые темноокрашенные блоки ГХ в проксимальной трети длинного плеча хромосом 3Ac, 4Ac и 5Ac и в проксимальной четверти короткого плеча хромосомы 6Ac. Помимо этого, во многих хромосомах наблюдались слабоокрашенные интерстициальные и реже – теломерные С-бэнды. Практически все перечисленные блоки были полиморфными по размеру. У этого вида заметно выделялся образец к-1914, отличавшийся от других представителей *A. canariensis* значительным снижением размеров маркерных интерстициальных С-бэндов на хромосомах 5Ac и 6Ac и, напротив, наличием очень заметного, отсутствующего у остальных образцов, прицентромерного С-блока в коротком плече хромосомы 7Ac (рис. 1). Возможно, что данный образец отличается от других по одной или более транслокациям.

Гибридизация in situ

Для характеристики А-геномов диплоидных видов овса была проведена гибридизация *in situ* с пробями 5S и 45S рРНК генов. Сравнение трех видов, обладающих разными вариантами А-генома (As, Al, Ac), показало полную идентичность рисунков гибридизации с пробями рибосомной ДНК (рис. 2). У всех было выявлено по две пары крупных сигналов с пробой рТа71, соответствующих двум мажорным локусам 45S рРНК генов, расположенным в районах вторичных перетяжек обеих SAT-хромосом (*45S rDNA1* и *45S rDNA2*). При гибридизации препаратов с пробой рТа794 на метафазных пластинках обнаружено четыре четких сигнала. Они располагались попарно на одной из SAT-хромосом, соответствующей по центромерному индексу хромосоме 3A. Один из сайтов локализован в спутнике (*5S rDNA2*), а другой (*5S rDNA1*) – в длинном плече той же хромосомы, причем у *A. strigosa* и *A. canariensis* локусы заметно отличались по размеру, тогда как у *A. longiglumis* они были примерно равны между собой по интенсивности сигналов.

Электрофоретический анализ запасных белков зерна (авенинов)

Для изучения внутри- и межвидового разнообразия овса в качестве генетических маркеров использовали локусы, контролируемые проламины (авенины) зерна этого растения. Известно, что у гексаплоидного овса *Avena sativa* электрофоретические компоненты авенинов наследуют

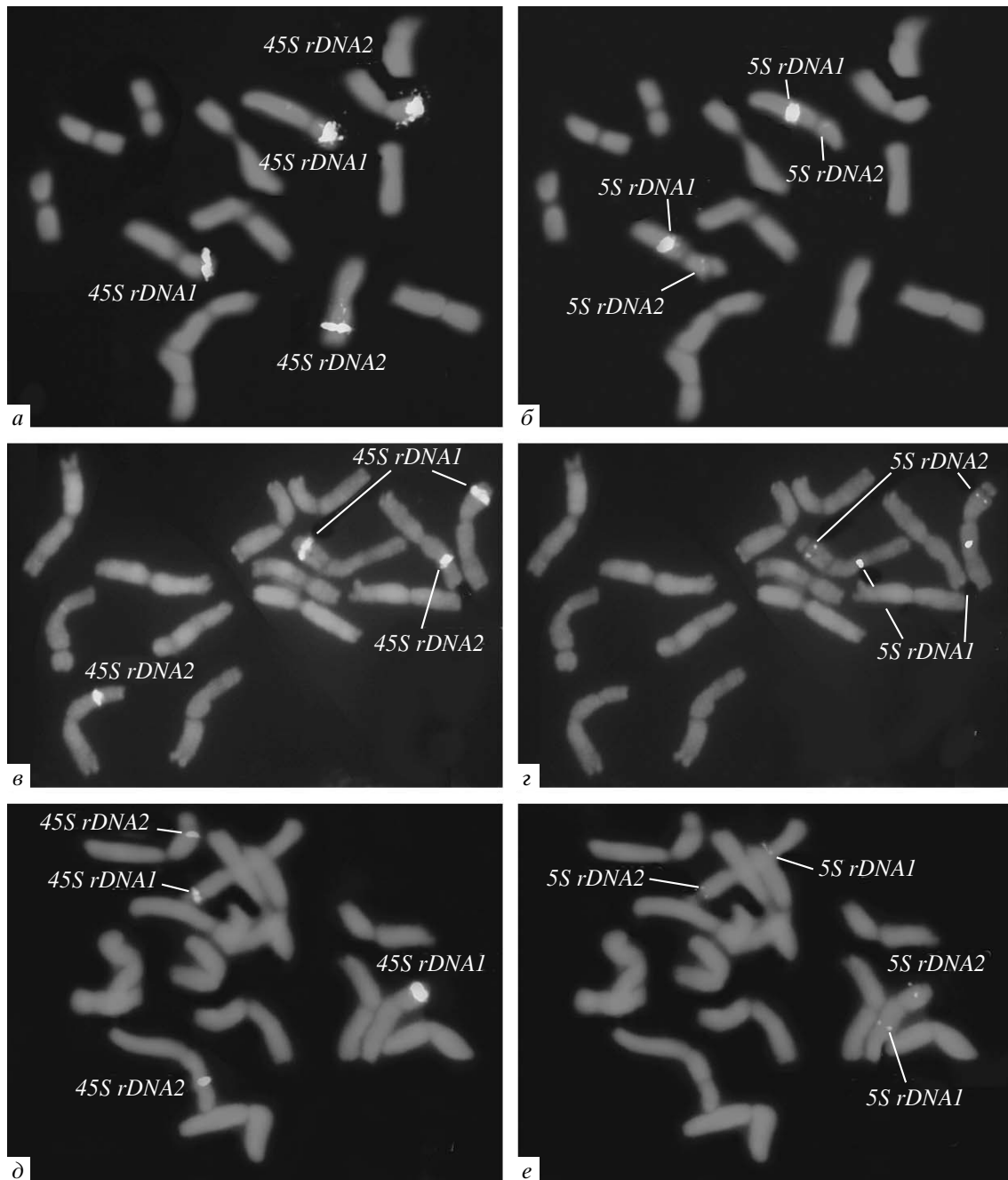


Рис. 2. Гибридизация *in situ* с пробами рТа71 (а, в, д) и рТа794 (б, з, е) на хромосомах *A. canariensis* к-293 (а, б), *A. strigosa* к-4485 (в, з) и *A. longiglumis* к-1810 (д, е). Локусы генов рРНК отмечены стрелками и обозначены 5S rDNA1-5S rDNA4 и 45S rDNA1-45S rDNA4.

ся группами (блоками) и контролируются тремя высокополиморфными локусами – *AvnA* (*Ave1*), *AvnB* (*Ave2*) и *AvnC* (*Ave3*), локализованными в трех гомеологичных хромосомах группы А (соответствует генетической группе 1 Triticeae) [23–26]. В настоящей работе был проанализирован полиморфизм по спектру авенинкодирующих локусов *AvnA*.

С помощью электрофореза в ПААГе были получены электрофореграммы 24 образцов, со-

держащих от трех до восьми компонентов разной интенсивности и электрофоретической (ЭФ) подвижности (рис. 3). Для сравнения: спектр гексаплоидного культурного овса *A. sativa* сорта Астор содержал около 10 компонентов. Всего нами было выявлено 23 варианта ЭФ-спектров авенинов (14 в группе As-геномов, 4 – Al-геномов и 5 – As-геномов). Варианты спектров, обнаруженные у видов с As-геномом, были пронумерованы

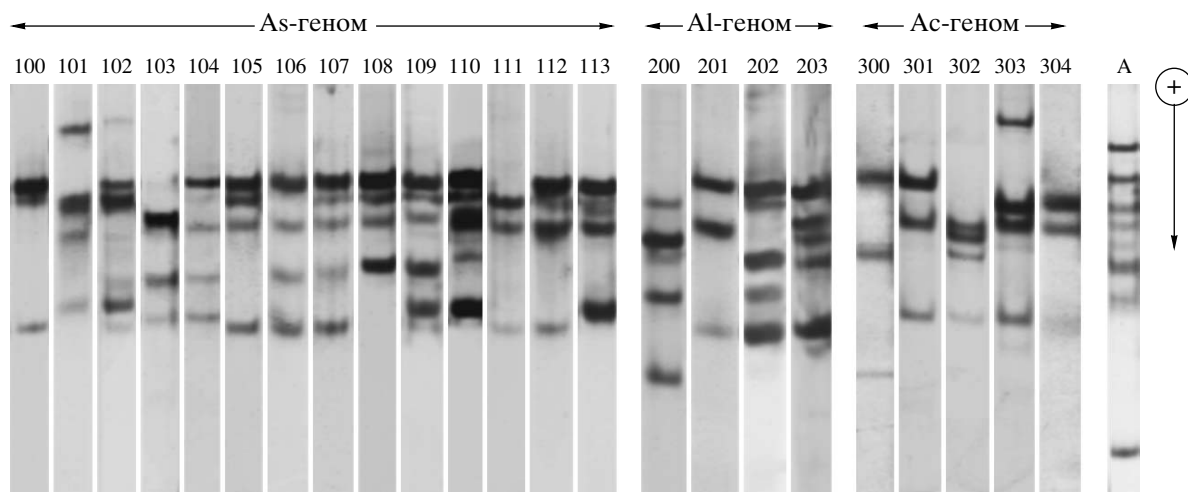


Рис. 3. Электрофореграммы разных образцов диплоидных видов овса с А-геномами. Цифрыверху дорожек – обозначение варианта спектра.

A100-A113, видов с Al-геномом – A200-A203, с As-геномом – A300-A304.

Только шесть из 24 исследованных образцов оказались гомогенными – *A. longiglumis* (к-1881), *A. canariensis* (к-292, к-1916), *A. hirtula* (к-94), *A. strigosa* (к-4481, к-14944), а у большинства выявлено по 2–3 варианта ЭФ-спектра (биотипа) (табл. 2). Иногда биотипы, обнаруженные в одном образце, отличались лишь наличием дополнительного минорного компонента (например, A106 и A107 в к-3063 *A. strigosa*), а в других случаях они значительно отличались друг от друга – варианты A200 и A202 *A. longiglumis* образца к-87. Гетерогенность такого типа может быть обусловлена или наличием механических примесей, или же следствием неоднородности исходной популяции сортообразца.

У видов с As-геномом было идентифицировано 14 вариантов спектра авенинов, отличающихся по числу, подвижности и интенсивности окрашивания отдельных компонентов (рис. 3). Частота вариантов варьировала от 1 до 16, причем идентичные спектры находили как у разных образцов одного вида (например, A100 у пяти образцов *A. strigosa* разного географического происхождения, A109 – у трех образцов *A. strigosa*), так и разных видов. Варианты последнего типа, в частности A100 и A105, относились к числу наиболее распространенных в изученной выборке. Несмотря на разнообразие спектров, ряд сходных признаков в распределении бэндов на электрофореграмме дают основания предположить, что все обнаруженные нами варианты являются родственными, образовавшимися от общего блока-основателя посредством мутаций, затрагивавших отдельные копии генов, входящие в состав кластера *AvnA*. Таким образом, варианты A100-A113 могут относиться к одному общему “семейству”

блоков компонентов, как это, например, предполагается по гордеинам ячменя [23].

При анализе четырех образцов *A. longiglumis* (Al-геном) было идентифицировано четыре варианта спектров авенинов (A200 – A203), отличающихся от таковых у видов As-геномной группы (рис. 3). Среди них доминировал вариант A202, выявленный у 60% зерновок *A. longiglumis*, вариант A201 встречался значительно реже (25%), остальные наблюдались в единичных зерновках. Варианты A201-203 по общей картине распределения компонентов авенина на электрофореграмме были сходны со спектрами, выявленными у *A. strigosa*. Возможно, они относятся к тому же семейству блоков компонентов. Вместе с тем ярко выраженные отличия в распределении компонентов варианта A200, по-видимому, свидетельствуют о том, что он относится к другому, новому семейству блоков компонентов авенинов.

Среди шести образцов канарского овса было обнаружено пять вариантов спектров запасных белков зерновки. Наиболее распространенным был вариант A301, встречавшийся более чем у половины проанализированных зерновок, относившихся к четырем из шести изученных образцов *A. canariensis* (рис. 3, табл. 2). Вариант A303, занимавший второе место по частоте (25% зерновок для этого вида), был обнаружен у трех образцов, а вариант A302 (14% зерновок), преобладавший у к-2077, нигде более не отмечен. Остальные варианты спектров были представлены лишь единичными зерновками. По общему характеру распределения компонентов спектры авенинов, идентифицированные у *A. canariensis*, были сходны с вариантами ЭФ-спектров, выявленными у других А-геномных видов.

Таблица 2. Варианты электрофоретических спектров авенинов, выявленных у диплоидных видов *Avena* (номера спектров приводятся в соответствии с рис. 3)

| № п.п. | Геном | Вариант спектра | Частота, % | Вид | Образец |
|--------|-------|-----------------|------------|-----------------------|--|
| 1 | As | A100 | 26.23 | <i>A. strigosa</i> | к-4485; к-5229; к-5184; к-5196; к-14439 |
| 2 | | A101 | 1.64 | <i>A. hirtula</i> | к-3 |
| 3 | | A102 | 1.64 | <i>A. hirtula</i> | к-3 |
| 4 | | A103 | 1.64 | <i>A. strigosa</i> | к-4485 |
| 5 | | A104 | 1.64 | <i>A. hirtula</i> | к-2032 |
| 6 | | A105 | 19.67 | <i>A. strigosa</i> | к-4035; к-14944; к-14439 |
| 7 | | A106 | 4.92 | <i>A. strigosa</i> | к-3063 |
| 8 | | A107 | 1.64 | <i>A. strigosa</i> | к-3063 |
| 9 | | A108 | 4.92 | <i>A. strigosa</i> | к-5229 |
| 10 | | A109 | 18.03 | <i>A. strigosa</i> | к-4485; к-4481; к-5184 |
| 11 | | A110 | 1.64 | <i>A. strigosa</i> | к-5244 |
| 12 | | A111 | 8.20 | <i>A. wiestii</i> | к-94 |
| 13 | | A112 | 3.28 | <i>A. wiestii</i> | к-95 |
| 14 | | A113 | 6.57 | <i>A. strigosa</i> | к-5244 |
| 15 | Al | A200 | 10 | <i>A. longiglumis</i> | к-87 |
| 16 | | A201 | 25 | <i>A. longiglumis</i> | к-1811; к-1810 |
| 17 | | A202 | 60 | <i>A. longiglumis</i> | к-87; к-1810; к-1881 |
| 18 | | A203 | 5 | <i>A. longiglumis</i> | к-1811 |
| 19 | Ac | A300 | 3.57 | <i>A. canariensis</i> | к-1914 |
| 20 | | A301 | 53.57 | <i>A. canariensis</i> | к-293; к-292; к-1916; к-1917 |
| 21 | | A302 | 14.29 | <i>A. canariensis</i> | к-2077 |
| 22 | | A303 | 25 | <i>A. canariensis</i> | к-1917; к-1916; к-293 |
| 23 | | A304 | 3.57 | <i>A. canariensis</i> | к-2077 |

Примечание. Частоту встречаемости биотипа рассчитывали для каждого варианта генома (As, Al, Ac соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ диплоидных видов *Avena* с использованием разных типов маркеров и сравнение с полученными ранее результатами [22] показали сходство А-геномов разных модификаций между собой, несмотря на то, что в каждом из них выявлены четко выраженные особенности структуры хромосом и распределения С-блоков [9]. Таким образом, наши результаты еще раз подтверждают общность происхождения всех А-геномных видов. В первую очередь об этом говорит сходство распределения локусов рРНК генов на хромосомах *A. strigosa*, *A. canariensis* и *A. longiglumis* (рис. 2, см. также [27, 28]). Проведенные ранее исследования на представителях рода *Aegilops* [29], *Hordeum* [30, 31], *Vicia* [32] и ряда других растений показали, что этот признак является высококонсервативной характеристикой геномов и

может служить показателем их эволюционного родства.

Во-вторых, генетическое сходство диплоидов с А-геномом следует из сходства структуры их кариотипов, морфологии SAT-хромосом, содержания и распределения ГХ. Следует отметить, что по этому признаку из трех представителей А-геномов *A. canariensis* был более отдален от *A. strigosa* и *A. longiglumis*, чем последние два друг от друга (см. также [9]), хотя данные молекулярных исследований не соответствуют этому предположению [13]. В целом *A. longiglumis* характеризовался наиболее “примитивным” кариотипом: большинство входящих в его состав хромосом являлись метацентриками или субметацентриками. С другой стороны, если принять гипотезу Левитского [33] о том, что более древние виды имеют соответственно более симметричный кариотип, то логично было бы предположить, что именно

A. longiglumis отделился от общего филогенетического древа раньше всех остальных видов с А-геномом. Это согласуется с мнением других авторов, считавших данный вид наиболее древним среди диплоидов [34].

Работа выполнена при поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 05-04-48406), программ Президиума РАН “Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами” и “Динамика генофондов растений, животных и человека”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baum B.R. (ed.). Oats: wild and cultivated. A monograph of the genus *Avena* L. (Poaceae). Ottawa (Ontario, Canada): Thorn Press, Ltd., 1977. 463 p.
2. Лоскутов И.Г. Видовое разнообразие и селекционный потенциал рода *Avena* L.: Автореф. дисс. ... д-ра. биол. наук. Санкт-Петербург: ВИР, 2003. 38 с.
3. Rajharthy T. Chromosomal differentiation and speciation in diploid *Avena* // Can. J. Genet. Cytol. 1961. V. 3. P. 372–377.
4. Holden J.H.W. Field studies of some wild species of *Avena* // Econ. Bot. 1969. V. 23. P. 339–345.
5. Rajharthy T., Morrison J. W. Chromosome morphology in the genus *Avena* // Can. J. Bot. 1959. V. 37. P. 331–337.
6. Holden J.H.W. Species relationships in the Avenae // Chromosoma. 1966. V. 20. № 1. P. 75–124.
7. Murray B.E., Craig I.L., Rajharthy T.A protein electrophoretic study of three amphiploids and eight species in *Avena* // Can. J. Genet. Cytol. 1970. V. 12. № P. 651–665.
8. Thomas H., Jones M.L. Chromosomal differentiation in diploid species of *Avena* // Can. J. Genet. Cytol. 1965. V. 5. P. 108–111.
9. Fominaya A., Vega P., Ferrer E. Giemsa C-banded karyotypes of *Avena* species // Genome. 1988. V. 30. P. 627–632.
10. Ladizinsky G. Genome relationships in the diploid oats // Chromosoma. 1974. V. 47. № 1. P. 109–117.
11. Ladizinsky G. The cytogenetic position of *Avena prostrata* among the diploid oats // Can. J. Genet. Cytol. 1973. V. 15. P. 443–450.
12. Drossou A., Katsiotis A., Leggett J.M. et al. Genome and species relationships in genus *Avena* based on RAPD and AFLP molecular markers // Theor. Appl. Genet. 2004. V. 109. № 1. P. 48–54.
13. Nocelli E., Giovannini T., Bioni M. et al. RFLP- and RAPD-based genetic relationships of seven diploid species of *Avena* with the A genome // Genome. 1999. V. 42. № 5. P. 950–959.
14. Baum B.R., Rajharthy T., Sampson D.R. An important new diploid *Avena* species discovery on the Canary Islands // Can. J. Bot. 1973. V. 51. P. 759–762.
15. Morikawa T., Leggett J.M. Cytological and morphological variations in wild populations of *Avena canariensis* from the Canary Islands // Genes Genet. Syst. 1996. V. 71. № 1. P. 15–21
16. Родионова Н.А., Солдатов В.Н., Мережко В.Е. и др. Овес. Культурная флора. М.: Колос, 1994. 367 с.
17. Murphy H.C., Sadanaga K., Zillinsky F.J. et al. *Avena magna* an important new tetraploid species of oat // Science (Washington D.C.). 1968. V. 159. P. 103–104.
18. Gerlach W.L., Dyer T.A. Sequence organization of the repeated units in the nucleus of wheat which contains 5S-rRNA genes // Nucl. Acid Res. 1980. V. 8. № 21. P. 4851–4865.
19. Gerlach W.L., Bedbrook J.R. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley // Nucl. Acid Res. 1979. V. 7. № 7. P. 1869–1885.
20. Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D. et al. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids // Genome. 2006. V. 49. № 8. P. 1023–1035.
21. Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S. et al. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* (Poaceae) // Pl. Syst. Evol. 1994. V. 192. № 1–2. P. 117–145.
22. Бадаева Е.Д., Лоскутов И.Г., Шелухина О.Ю., Пухальский В.А. Цитогенетическое исследование диплоидных видов рода *Avena* L., содержащих As-геном // Генетика. 2005. Т. 41. № 12. С. 1718–1724. (Badaeva E.D., Loskutov I.G., Shelukhina O.Yu., Pukhalsky V.A. Cytogenetic analysis of diploid species of *Avena* L. containing As genome // Rus. J. Genetics. 2005. V. 41. № 12. P. 1428–1433.)
23. Портянко В.А., Поморцев А.А., Калашиник Н.А. и др. Генетический контроль авенинов и принципы их классификации // Генетика. 1987. V. 23. № 5. P. 584–590.
24. Kim S.I., Saur L., Mossé J. Some features of the inheritance of avenins, the alcohol soluble proteins of oat // Theor. Appl. Genet. 1979. V. 54. № 2. P. 49–54.
25. O'Donoghue L.S., Kianian S.F., Rayapati P.J. et al. A molecular linkage map of oat // Genome. 1995. V. 38. P. 368–380.
26. Portyanko V.A., Sharopova N.R., Sozinov A.A. Characterisation of European oat germ plasm: allelic variation at complex avenin loci detected by acid polyacrylamide gel electrophoresis // Euphytica. 1998. V. 102. № 1. P. 15–27.
27. Katsiotis A., Hagidimitriou M., Heslop-Harrison J.S. The close relationship between the A and B genomes in *Avena* L. (Poaceae) determined by molecular cytogenetic analysis of total genomic, tandemly and dispersed repetitive DNA sequences // Ann. Bot. 1997. V. 79. № 2. P. 103–109.
28. Linares C., Gonzalez J., Ferrer E. et al. The use of double fluorescence *in situ* hybridization to physically map the position of 5S rDNA genes in relation to the chromosomal location of 18S-5.8S-26S rDNA and a C genome specific DNA sequence in the genus *Avena* // Genome. 1996. V. 39. P. 535–542.
29. Badaeva E.D., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species // Genome. 1996. V. 39. № 6. P. 1150–1158.
30. Taketa S., Ando H., Takeda K. et al. Physical locations of 5S and 18S-25S rDNA in Asian and American diploid

- Hordeum* species with the I genome // Heredity. 2001. V. 86. № 5. P. 522–530.
31. Taketa S., Harrison G.E., Heslop-Harrison J.S. Comparative physical mapping of the 5S and 18S-25S rDNA in nine wild *Hordeum* species and cytotypes // Theor. Appl. Genet. 1999. V. 98. № 1. P. 1–9.
32. Raina S.N., Mukai Y., Kawaguchi K. et al. Physical mapping of 18S-5.8S-26S and 5S ribosomal RNA gene families in three important vetches (*Vicia* species) and their allied taxa constituting three species complexes // Theor. Appl. Genet. 2001. V. 103. № 6. P. 839–845.
33. Левитский Г.А. Морфология хромосом // Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. 1931. P. 19–174.
34. Мальцев А.И. Овсяги и овсы. Л.: Изд. Всесоюз. ин-та прикл. ботаники и новых культур, 1930. 506 с.

Comparative Analysis of Diploid Species of *Avena* L. Using Cytogenetic and Biochemical Markers: *Avena canariensis* Baum et Fedak and *A. longiglumis* Dur.

O. Yu. Shelukhina^a, E. D. Badaeva^{a,b}, T. A. Brezhneva^a, I. G. Loskutov^c, and V. A. Pukhalsky^a

^a Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; e-mail: sheluhina_olga@mail.ru

^b Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

^c Vavilov Institute of Plant Industry, St. Petersburg, 190000 Russia

The diploid oat species containing the A genome of two types (Al and Ac) were studied by electrophoresis of grain storage proteins (avenins), chromosome C-banding, and in situ hybridization with probes pTa71 and pTa794. The karyotypes of the studied species displayed similar C-banding patterns but differed in size and morphology of several chromosomes, presumably, resulting from structural rearrangements that took place during the divergence of A genomes from a common ancestor. In situ hybridization demonstrated an identical location of the 45S and 5S rRNA gene loci in *Avena canariensis* and *A. longiglumis* similar to that in the *A. strigosa* genome. However, the 5S rDNA locus in *A. longiglumis* (5S rDNA1) was considerably decreased in the chromosome 3Al long arm. The analysis demonstrated that these oat species were similar in the avenin component composition, although individual accessions differed in the electrophoretic mobilities of certain components. A considerable similarity of *A. canariensis* and *A. longiglumis* to the *Avena* diploid species carrying the As genome variant was demonstrated.