

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующая кафедрой
_____ В.А. Кратасюк
«___» _____ 2021 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Сборка, аннотация хлоропластных геномов и поиск нуклеотидных
замен в разных видах пихт

Руководитель

подпись, дата

Д-р физ.-мат. наук

М.Г. Садовский

Выпускник

подпись, дата

А.А. Баронина

Красноярск 2021

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа содержит 36 страниц текстового документа, 3 приложения, 27 использованных источников, 12 рисунков, 7 таблиц.

ХЛОРОПЛАСТНЫЙ ГЕНОМ, СБОРКА ГЕНОМА, НУКЛЕОТИДНЫЕ ЗАМЕНЫ, ПОИСК SNP.

Целью данного исследования является сборка хлоропластных геномов пихт, поиск SNP в разных образцах *Abies sibirica*, сравнение и анализ полученных геномов разных видов пихт.

Объектом исследования являются хлоропластные геномы *A.sibirica*, *A.amabilis*, *A.bracteata*, *A.pinsapo*, *A.fraserii*, *A.arisonica*.

Получены последовательности хлоропластного генома *Abies sibirica*, проведено их аннотирование, выравнивание и поиск SNP. Было найдено 50 однонуклеотидных полиморфизмов, преимущественно находившихся в некодирующих областях. Также были собраны хлоропластные геномы 5 видов пихт, проведена их аннотация, сравнение и поиск нуклеотидных замен. Всего было найдено 1279 нуклеотидных замен. Полученные геномы были фрагментированы, но близки к референсному геному *Abies sibirica*. В полученных хлоропластных геномах было найдено от 113 до 119 генов.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 Обзор литературы.....	6
1.1 <i>Abies sibirica</i>	6
1.2 Применение пихты сибирской	6
1.3 Массовое усыхание <i>Abies sibirica</i>	8
1.4 Уссурийский полиграф	8
1.5 SNP (Single nucleotide polymorphism).....	10
1.6 Характеристика рода <i>Abies</i> Mill.	11
1.7 Распространение рода пихт	12
1.8 Хлоропластный геном.....	13
1.9 Хлоропластные геномы разных видов пихт	14
1.10 Хлоропластные геномы хвойных.....	15
1.11 Особенности ядерных геномов хвойных	16
2 Материалы и методы.....	Ошибка! Закладка не определена.
2.1 Сборка, аннотация и поиск SNP в хлоропластном геноме <i>Abies sibirica</i>	Ошибка! Закладка не определена.
2.2 Выравнивание	Ошибка! Закладка не определена.
2.2 Аннотация	Ошибка! Закладка не определена.
2.3 Поиск SNP	Ошибка! Закладка не определена.
2.4 Сборка, аннотация и поиск нуклеотидных замен среди разных видов пихт	Ошибка! Закладка не определена.
2.5 Объекты исследования.....	Ошибка! Закладка не определена.
2.6 Сборка хлоропластных последовательностей ..	Ошибка! Закладка не определена.
2.7 Аннотация полученных геномов	Ошибка! Закладка не определена.
2.8 Поиск нуклеотидных замен	Ошибка! Закладка не определена.
3 Результаты.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.1 Сборка хлоропластных геномов <i>Abies sibirica</i> .	Ошибка! Закладка не определена.
3.2 Поиск SNP в хлоропластных геномах <i>Abies sibirica</i>	Ошибка! Закладка не определена.
3.3 Сборка хлоропластных геномов пихт	Ошибка! Закладка не определена.
3.4 Поиск нуклеотидных замен	Ошибка! Закладка не определена.
3.5 Построение филогенетического дерева	Ошибка! Закладка не определена.
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	19
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Ошибка! Закладка не определена.
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	Ошибка! Закладка не определена.
ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	Ошибка! Закладка не определена.
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	21

ВВЕДЕНИЕ

Бореальные леса имеют большое значение для сферы экономики, имеют экологическую и эстетическую ценность. Объем кислорода, вырабатываемый лесами, является важным стимулом для сохранения данного ресурса. Говоря о ресурсах, нельзя не отметить значение хвойных лесов в заготовительной, деревообрабатывающей, бумажно-целлюлозной и лесохимической промышленности. Огромные массивы леса являются домом для разнообразной флоры и фауны нашей страны. Также, нельзя не упомянуть то, что массивы леса зачастую являются одной из главных особенностей территории нашей страны. Поэтому, проблемы, связанные с сохранением, восстановлением бореальных лесов и поддержанием их генетического разнообразия, будут актуальны еще долгое время.

Молекулярно-генетические маркеры — это полиморфный признак, выявляемый на уровне нуклеотидной последовательности ДНК для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении различных генотипов. ДНК органелл являются нерекombинирующими и наследуются с гаметами одного пола [1]. У хвойных хлоропластный геном имеет строго отцовское наследование через пыльцу, в отличие от покрытосеменных, где он имеет материнское наследование через семена [2]. Помимо этого, структура хлоропластного генома весьма консервативна и имеет гораздо меньше высокоповторяющихся элементов, чем ядерная ДНК [3].

Отсутствие рекомбинации у хлоропластной ДНК позволяет при определенных условиях анализировать генеалогию вариантов, содержащую информацию об истории вида [1]. Последовательности ДНК хлоропластов также широко используются в реконструкции эволюционных связей между растениями и в популяционной генетике. Эти исследования включают филогению и филогеографию [4].

В связи с вышеизложенным, становится актуальным поиск генетических маркеров в хлоропластных геномах пихт.

Целью данного исследования является сборка хлоропластных геномов пихт, поиск SNP в разных образцах *Abies sibirica*, сравнение и анализ полученных геномов разных видов пихт.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Сборка хлоропластных геномов пихт;
2. Сравнение разных образцов *Abies sibirica* с референсной последовательностью из GenBank и поиск SNP;
3. Аннотирование полученных геномов;
4. Поиск нуклеотидных замен в собранных хлоропластных геномах различных видов пихт.

1 Обзор литературы

1.1 *Abies sibirica*

Пихта сибирская (*Abies sibirica* Ledeb.) является одним из самых широко распространенных в России видов пихт. Этот вид занимает огромную территорию, включая северо-восток европейской части России, Урал и большую часть Сибирской лесной зоны. *Abies sibirica* является одной из лесообразующих пород темнохвойной тайги. Обычно формы *A. sibirica* смешаны с другими хвойными породами (сибирская ель, сосна сибирская). Чаще всего площади *A. sibirica* произрастают на равнинах к югу от зоны вечной мерзлоты. Кроме того, *A. sibirica* также присутствует в горах, где она простирается до верхних границ (1200 - 2000 м над уровнем моря), образуя значительную часть горных лесов в Южной Сибири [5].

Пихты требовательны к влажности воздуха, плохо переносят высокие и низкие температуры, избегают местообитания с застойным увлажнением, что определяет их ценоотическое положение в качестве элементов преимущественно верхней части горнолесного пояса, где они формируют темнохвойные леса, обычно вместе с видами *Picea*, *Tsuga*, *Pseudotsuga*, *Pinus* [6].

1.2 Применение пихты сибирской

В древесине пихт отсутствуют смоляные ходы, она лёгкая, мягкая, светло-жёлтого цвета, легко обрабатывается.

Пихта является источником пиломатериалов для производства мачт, столов и свай. Кряжи: палубный (для изготовления шлюпок и палуб судов), резонансный (для музыкальных инструментов), клёпочный (для выработки деталей заливных и сухотарных бочек), шпальный, фанерный и даже авиационный. Рудничное долготье и рудничная стойка необходимы для крепления сводов горных выработок. Из живицы получают скипидар. Кора свежесрубленных деревьев содержит эфирное масло и дубильные вещества.

Эфирное пихтовое масло получают из хвои молодых веток и шишек с помощью перегонки, данное масло наполовину состоит из борнилацетата. Фракция борнилацетата используется для полусинтеза медицинской камфоры, применяемой как средство, усиливающее деятельность сердца, и как наружное (спирт камфорный, камфорное масло). Используется также в парфюмерной и мыловаренной промышленности.

Пихтовый бальзам, содержащийся в крупных смолоносных вместилищах, называемых «желваками», содержит до 30 % эфирного масла и 70 % смолы, перерабатывается и используется в медицине (для приготовления ряда препаратов) и в оптике для склеивания элементов оптических систем. Для добывания бальзама желваки прокалываются и сдавливаются.

Одна из ценнейших хвойных пород для садово-паркового строительства в условиях севера. Выделяется среди других хвойных пород красотой узкопирамидальной кроны с острой вершиной, сохраняющейся и у старых деревьев. Период особой декоративности — весна, когда молодые шишечки имеют пурпурную окраску, а мужские овальные соцветия — буровато-красную или ярко-жёлтую с красноватым налётом.

В садово-парковой культуре распространена в северной и средней частях лесной, а также лесостепной зоны (Орловская, Воронежская, Курская области). На севере европейской части (Екатеринбург, Нижний Тагил, Пермь, Киров) в 80—100-летнем возрасте достигает высоты 20—23 метров. В центральной лесостепной области в 20-летнем возрасте высота 9 метров.

Используется для одиночных посадок, в небольших группах, а также для создания аллей и высоких живых изгородей.

Районы использования: северо-восток европейской части России, Сибирь (кроме степных районов), восточные горные районы Средней Азии, северная и центральная часть Дальнего Востока.

1.3 Массовое усыхание *Abies sibirica*

Массовое усыхание хвойных видов наблюдается с 1950-х гг. в европейских лесах и с начала 1980-х гг. во всем мире, пространственное его распределение не всегда связано с теми причинами повреждения лесов, которые вызваны климатическим стрессом, временное распределение, как правило, не связано с хорошо идентифицируемыми климатическими событиями.

Усыхание охватывает широкий спектр условий произрастания, при этом повреждаются, как правило, определенные виды, часто усыхание проявляется в древостоях с высокой концентрацией поллютантов. В большинстве случаев к деградации лесных экосистем приводит комплекс причин и определяющий фактор установить достаточно сложно [7].

Процессы усыхания деревьев пихты начинаются либо в переходной зоне от верхнего, женского генеративного яруса к следующему за ним мужскому, либо на верхней границе мужского генеративного, т.е. в обоеполом ярусе. Усыхание побегов мужского генеративного яруса сопровождается нарушениями функционирования мужских репродуктивных органов деревьев. Состав и распределение химических веществ между органами и частями растений определяется генетически, зависит от условий питания, состояния, возраста и способности к адаптации.

Условия стресса, при загрязнении среды, нарушения биохимических реакций и физиологических процессов у хвойных растений могут приводить к дисбалансу элементного состава хвои.

1.4 Уссурийский полиграф

Пихта сибирская испытывает на себе множественные атаки насекомых, в Западной и Восточной Сибири встречаются 24 вида короедов. Один из них – уссурийский полиграф.

Уссурийский полиграф – жук из подсемейства короедов (Scolytinae) семейства долгоносиков (Curculionidae), размером не более 3 мм.

Предпочитает район толстой и переходной коры, может встречаться и на толстых ветвях. Больное дерево выдают мелкие отверстия по всему стволу. После зимовки с одного дерева вылетает до 40 тысяч особей, готовых к размножению.

Впервые очаги размножения уссурийского полиграфа были замечены в пихтарниках кемеровской области в начале 21 века, но на тот момент не была определена видовая принадлежность насекомого.

В Сибирь уссурийского полиграфа завезли с Дальнего Востока по Транссибирской железной дороге около десяти лет назад при транспортировке древесины – дальневосточной пихты.

В настоящий момент наиболее крупные очаги полиграфа находятся в Красноярском и Алтайском крае, в Кемеровской и Новосибирской областях. Там насекомое наносит огромный вред и ущерб лесам.

Ранее считалось, что уссурийский полиграф не может развиваться на пихте сибирской, но находки насекомого в Московской области а потом и в Сибири, говорят об обратном. В Томской области особи полиграфа были обнаружены летом 2008 г. в феромонных ловушках на короеда-стенографа *Ips sexdentatus* Военг., вывешенных в участках припоселковых кедровников с примесью пихт. В июне 2009 г. лубоед был обнаружен в Боготольском и Козульском районах Красноярского края, где образовал очаги общей площадью в 1,9 тыс. га.

В очагах размножения полиграфа наблюдается снижение биологического разнообразия, продуктивности лесов, изменение состава и структуры древесного и подчиненных ярусов. Также уссурийский полиграф переносит агрессивные фитопатогенные грибы, оказывает влияние на сукцессии.

Появление инвазивного вида-дендрофага в охраняемых природных территориях с произрастающими там пихтарниками создает опасность исчезновения не только пихты сибирской, но и ландшафта.

1.5 SNP (Single nucleotide polymorphism)

Single nucleotide polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм) – отличия последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С) в геноме (или в другой сравниваемой последовательности) представителей одного вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом.

Однонуклеотидные полиморфизмы широко используются как молекулярно-генетические метки (маркеры) для построения кладограмм молекулярно-генетической систематики на основе расхождения гомологичных участков ДНК в филогенезе.

SNP располагаются в кодирующих участках, некодирующих областях генов, или в межгенных участках (участки между генами). Изменение одного нуклеотида в кодирующей области не обязательно меняет структуру гена.

Довольно часто SNP может приводить к замене аминокислоты белка в процессе трансляции, но это не всегда означает, что белок потеряет свойства или же совсем лишится своей функции.

Однонуклеотидные полиморфизмы в областях, кодирующих белки, тРНК и рРНК бывают несинонимичными и синонимичными. Синонимичные полиморфизмы не оказывают влияния на аминокислотную последовательность белка, в свою очередь несинонимичные SNP изменяют последовательность белка. Несинонимичные полиморфизмы вызывают два типа мутаций: миссенс-мутации и нонсенс-мутации.

Однонуклеотидные полиморфизмы, которые не находятся в белок-кодирующих областях, способны влиять на сплайсинг РНК, могут приводить к деградации последовательности некодирующей РНК.

Таким образом, с учетом вышеизложенного, можно сделать следующие выводы:

Пихта сибирская – важный экологический вид Сибири, имеет множество важных функций: экологическая, эстетическая, экономическая. Но данный вид подвержен усыханию и атакам уссурийского полиграфа в значительной мере

больше, чем другие виды хвойных на территории Сибири. Вследствие этого охрана данного вида является важной задачей человека.

Поиск генетических маркеров имеет широкое использование в филогенетических исследованиях и также способен стать одним из способов сохранения *A. sibirica*, но в силу особенностей генома хвойных растений, логичнее проводить поиск маркеров в хлоропластном геноме, имеющем меньшие размеры и строго отцовское наследование. Однонуклеотидные полиморфизмы – один из видов генетических маркеров, представляющий собой замену одного нуклеотида в выравненных последовательностях геномов или гомологичных локусов.

Найденные SNP могут являться важной составляющей комплекса мероприятий по сохранению вида, а проделанная в процессе работа может предоставить данные для дальнейших исследований другим ученым.

1.6 Характеристика рода *Abies* Mill.

Род пихта *Abies* Mill. – второй по размерам род хвойных, который включает примерно 48 видов, произрастающих в бореальных и умеренных лесах северного полушария. Большинство представителей рода требовательны к влажности воздуха, имеют высокую морозостойкость. Пихты чувствительны к загазованности воздуха, поэтому они плохо приспособлены к промышленным районам. Дерево способно расти как на освещенных участках, так и в тени, не устойчиво к слишком высоким и низким температурам. Преимущественно дерево растет вместе с такими видами как представители родов *Tsuga*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudotsuga* в горнолесном поясе.

Род *Abies* Mill. экономически важен своей древесиной и широко выращивается в качестве чистых насаждений в Северной Америке и Европе. Также пихты экологически важны для лесов холодного умеренного климата, характеризующих высокогорные и бореальные районы Севера [8].

Биогеография пихт, динамика видообразования и расселения представляют собой сложный процесс, включающий межконтинентальные

миграции, вымирания и быстрые, в том числе недавние диверсификации. Кроме большой пластичности морфологических признаков, пихты слабо изолированы репродуктивно и относительно легко образуют гибриды.

1.7 Распространение рода пихт

Распределение покрытосеменных рассматривается как расселение и миграция из Евразии в Америку, голосеменные же мигрировали в другом направлении- из Америки в Евразию. Предполагается, что это произошло по причине того, что хвойные леса были обширнее в Северной Америке.

На сегодняшний день основными участками распространения пихт являются Северная и Центральная Америка (14 видов), Восточная Азия (23 вида) и Средиземноморье (9 видов), Сибирь с Центральной Азией (2 вида) и восток Северной Америки (2 вида).

Тем не менее, классификация рода *Abies* имеет несколько вариаций по числу и составу видов, включающих от 40 до 65 таксонов. Это происходит из-за высокой пластичности, слабой репродуктивной изолированности и высокой способности к формированию гибридов. Также изменения видообразования пихт включают в себя вымирания, диверсификации и межконтинентальные миграции.

Рассматривая филогению рода, стоит отметить, что филогения ядерной ДНК пихт отличается от филогении митохондриальной ДНК, в случае сравнения ядерной ДНК и ДНК хлоропластов, отмечено, что их филогении повторяют друг друга. Это указывает на ретикулярную эволюцию рода, предполагающую интрогрессию мтДНК при гибридном замещении видов в ходе гибридизации.

Сходство хлоропластной и ядерной филогений связано с наследованием цитоплазматической ДНК у сосновых. Для хлоропластов, имеющих отцовское наследование, генетический поток, как и для ядерных генов, обеспечивается высокой подвижностью пыльцы, уменьшая возможность интрогрессии и делая

схожими их филогении. Наследование митохондриальной ДНК по материнской линии, через семена, имеет более низкую скорость внутривидового генетического потока, что приводит к интрогрессии при гибридизации [8].

1.8 Хлоропластный геном

Основная теория появления хлоропластов в эукариотической клетке – теория симбиогенеза. Данная теория заключается в том, что хлоропласты произошли от фотосинтезирующих цианобактерий, которые обеспечивали клетку-хозяина продуктами фотосинтеза. В результате данного симбиоза, клетка-хозяин получила эволюционные преимущества.

В процессе эволюции из-за эндосимбиоза хлоропластами было утеряно около 95% генов по сравнению со свободно живущими цианобактериями. Гены, в которых больше не было необходимости были утрачены, а жизненно важные гены перенесены в ядерный геном клетки-хозяина.

Большинство белковых комплексов тилакоидных мембран хлоропластов и мультисубъединичных ферментов содержат белки, кодируемые как ядерным, так и пластидным геномами. Это привело к невозможности полноценного существования и деления хлоропластов и митохондрий вне клетки-хозяина [9].

Также ДНК пластид резко отличается от ДНК ядра. Основные различия заключаются в том, что ДНК хлоропласта представлена кольцевой двухцепочечной молекулой длиной до 40-60 мкм. В одном хлоропласте может быть множество копий ДНК. Помимо этого, длительность цикла и скорость репликации ядерной и хлоропластной ДНК не совпадают и ДНК пластид не состоит в комплексе с гистонами.

Для генома хлоропластов характерны как эукариотические, так и прокариотические признаки. Часть генов объединена в опероны как у прокариот, но от 15 до 17 генов имеют интроны, что предполагает наличие

процесса сплайсинга, что уже является эукариотическим признаком. Кроме того, для пластид характерно редактирование их транскриптов.

Хлоропластный геном можно разделить на три функциональные категории: гены, кодирующие белок, интроны и межгенные участки. Последние два не кодируют белки и могут быть использованы для филогении растений, молекулярной эволюции и популяционной генетики.

Геномы хлоропластов содержат в среднем около 120 генов. К хлоропластному геному относятся:

- гены тРНК;
- гены рРНК (rRNA)-4.5S; 5S; 16S; 23S;
- ген трансляционного фактора IF1;
- часть генов, кодирующих белковые компоненты фотосистемы I и II;
- гены белков электрон-транспортной системы;
- ген субъединицы никотинаминадениннуклеотид (NADH)-дегидрогеназы.

1.9 Хлоропластные геномы разных видов пихт

На сегодняшний день опубликованы данные об 11 хлоропластных геномах представителей рода *Abies*. В таблице 1 представлены характеристики опубликованных последовательностей.

Таблица 1 – Характеристики хлоропластных геномов представителей рода *Abies*

Вид	Длина, п.н.о.	Количество генов	Гены, кодирующие пептиды	рРНК гены	тРНК гены	Псевдогены	Ареал
<i>A. alba</i> [10]	121243	114	74	4	35	1	Европа
<i>A. chensiensis</i> [11]	121329	120	81	4	35	1	Китай
<i>A. balsamea</i> [12]	121574	114	74	4	35	1	Восток Сев. Америки
<i>A. fanjingshanensis</i> [13]	120057	114	74	4	35	1	Вьетнам
<i>A. beshanzuensis</i>	121399	114	74	4	35	1	Китай

[14]							
<i>A. kawakamii</i> [15]	121290	114	74	4	35	1	Тайвань
<i>A. fargesii</i> [16]	121799	114	74	4	35	1	Китай
<i>A. koreana</i> [17]	121373	114	74	4	35	1	Южная Корея
<i>Abies georgei</i> var. <i>Smithii</i> [18]	121213	113	74	4	35	-	Китай
<i>Abies</i> <i>yuanbaoshanensis</i> [19]	121795	114	74	4	35	1	Китай

Из таблицы видно, что характерная длина хлоропластного генома составляет 121 тыс. п.н.о., в большинстве геномов обнаружено 114 генов, из которых 68 относятся к белок-кодирующим, 4 к рибосомальным РНК-генам и 35 генов, кодирующих транспортную РНК.

1.10 Хлоропластные геномы хвойных

Отдел хвойные (Pinophyta) является самым многочисленным из современных голосеменных и включает более 600 видов из 68 родов 8 разных семейств.

Хвойные имеют разнообразную организацию хлоропластных геномов с двумя типичными инвертированными повторами (IRs), кодирующих четыре рибосомные РНК (16S, 23S, 4.5 S и 5S), которые, как полагают, сохранили геномные особенности предковых цианобактерий. При этом у хвойных сохранилась только редуцированная пара инвертированных повторов (236-495 bp), содержащая гены *3'psbA* и *trnI-CAU*, в отличие от бобовых, полностью потерявших IRs.

Вследствие этого, геномы хлоропластов хвойных имеют гораздо больше перестроек по сравнению с большинством высших растений. Это происходит из-за того, что большие IRs имеют важное значение в поддержании консервативного расположения и стабилизации генома, поэтому при уменьшении или делеции IR, геном способен стать менее стабильным [20].

Но при исследовании трансформации генома хлоропластов хвойных было выяснено, что их пластиды имеют новый тип повторов, которые являются эффективными субстратами для гомологичной рекомбинации и

имеют размер >200 п.н.о., что позволяет поддерживать консервативность геномов *Pinaceae*. Из этого следует, что после того, как IRs были потеряны из геномов хлоропластов *Pinaceae*, эволюция наделила эту хвойную кладу специфическими повторами, чтобы дополнить остаточные IRs [21].

Также интересно, что отцовски унаследованные геномы хлоропластов значительно меньше, чем материнские. Поэтому вполне вероятно, что сокращение IRs коррелирует со сдвигом к отцовскому наследованию хлоропласта у хвойных [22].

1.11 Особенности ядерных геномов хвойных

Ядерные геномы голосеменных растений относятся к числу наиболее сложных и крупных геномов любых живых организмов. Сосны, хвойные деревья, принадлежащие к роду *Pinus*, являются отличными объектами для анализа процессов, участвующих в эволюции генома [23].

Предполагается, что изменения размеров генома определяются глобальными воздействиями окружающей среды, мутагенеза и естественного отбора на генетические элементы или их совокупность.

Но сложность и размеры, полученных последовательностей голосеменных, всегда препятствовали проектам секвенирования полных геномов, особенно для экономически важных видов сосновых. На сегодняшний день проводится множество исследований размера генома хвойных и механизмов, которые предшествовали такому результату.

Недавние усилия по секвенированию позволили прояснить некоторые из геномных характеристик, связанных с большим размером генома представителей *Pinus*. В работе «Evolution of genome size and complexity in *Pinus*» идентифицировано большое семейство ретротранспозонов¹ у сосновых, что с другими семействами повторяющихся последовательностей, составляет большую часть геномной сложности [24].

¹ Ретротранспозоны- генетические элементы, которые могут самовоспроизводиться в геноме и являются вездесущими компонентами ДНК многих эукариотических организмов.

Ученые Ahuja и Neale выдвинули гипотезу о том, что сосны, возможно, являются древними полиплоидами, возникшими в результате реализации следующих сценариев:

1. Гибридизация между некоторыми предковыми видами, близкородственными соснам, такими как *Pseudoaraukaria* и *Pityostrobus* (размер генома которых оценивается в 10 000 млн. п.н.о.), или другими древними хвойными с последующим одним циклом полиплоидизации и, затем, диплоидизацией).
2. Один цикл автополиплоидизации в предполагаемом сосновом предке с последующей диплоидизацией.
3. Крупные сегментные дупликации в предполагаемом сосновом предке, приводящие к расширению генома, с последующим расхождением последовательностей ДНК.

Из трех теорий две основываются на том, что древняя полиплоидия имела вес в эволюции сосновых [25].

Помимо полиплоидии, в процессе эволюции хвойные приобрели способность к резким изменениям генома при стрессовом лимитировании или смене параметров жизнеобеспечения [26].

Изъято с 18 по 35 страницы в связи с авторскими правами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В ходе исследования проведено сравнение трёх сборок хлоропластных геномов *A. sibirica*. Найдено 50 однонуклеотидных полиморфизмов, которые могут быть использованы как маркеры для проведения генетических исследований.

2. В результате аннотации сборки из уральских данных найден 101 ген, что меньше количества генов аннотированных в референсном геноме. Это можно объяснить тем, что некоторые части этой последовательности могли быть не ассемблированы или потеряны.

3. В процессе работы были впервые получены последовательности хлоропластных геномов видов *A. amabilis*, *A. bracteata*, *A. pinsapo*, *A. fraserii*, *A. arisonica*, проведено их аннотирование, сравнение и поиск нуклеотидных замен. Всего было найдено 1279 замен.

4. Полученные геномы могут служить источником генетических маркеров для дальнейших исследований.

Изъято с 36 по 43 страницы в связи с авторскими правами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семерикова С. А., Семериков В. Л. Изменчивость хлоропластных микросателлитных локусов у пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) и двух дальневосточных видов пихт *A. nephrolepis* (Trautv.) Maxim. и *A. sachalinensis* Fr. Schmidt // Генетика. – 2007. – Т. 43. – №. 12. – С. 1637-1646.
2. Bondar E. I. et al. Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) chloroplast genome and development of polymorphic chloroplast markers // BMC bioinformatics. – 2019. – Т. 20. – №. 1. – С. 38.
3. Bock R. (ed.). Cell and molecular biology of plastids. – Springer Science & Business Media, 2007. – Т. 19.
4. Provan J., W., Hollingsworth P. M. Chloroplast microsatellites: new tools for studies in Powell plant ecology and evolution // Trends in ecology & evolution. – 2001. – Т. 16. – №. 3. – С. 142-147.
5. Ларионова А. Ю., Экарт А. К., Кравченко А. Н. генетическое разнообразие и популяционная структура пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) в Средней Сибири, Россия // Евразийский научно-Лесной журнал. – 2007. – Т. 10. – №. 2. – С. 185-192.
6. Семерикова С. А., Семериков В. Л. Молекулярно-филогенетическая характеристика рода *Abies* (Pinaceae) на основе анализа нуклеотидных последовательностей хлоропластной ДНК // Генетика. – 2014. – Т. 50. – №. 1. – С. 12.
7. Бажина Е. В. Состояние древостоев пихты сибирской (*Abies sibirica*) и распределение химических элементов по ярусам ее кроны в лесных экосистемах ООПТ юга Красноярского края, Россия // Nature Conservation Research. Заповедная наука. – 2018. – Т. 3. – №. Приложение 2.
8. Семерикова С. А., Семериков В. Л. Филогения пихт (род *Abies*, Pinaceae) по данным мультилокусных ядерных маркеров (AFLP) // Генетика. – 2016. – Т. 52. – №. 11. – С. 1287-1299.

9. Кузнецов В. В. Хлоропласты. Структура и экспрессия пластидного генома // Физиология растений. – 2018. – Т. 65. – №. 4. – С. 243-255.
10. Mosca E. et al. A reference genome sequence for the european Silver Fir (*Abies alba* Mill.): a community-generated genomic resource //G3: Genes, Genomes, Genetics. – 2019. – Т. 9. – №. 7. – С. 2039-2049.
11. Zhao Y. et al. Characterization of the complete chloroplast genome of *Abies chensiensis* (Pinaceae), an endemic to China //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 1. – С. 23-24.
12. Wu S. et al. Next-generation sequencing yields the complete chloroplast genome of *Abies balsamea* //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 1. – С. 1445-1446.
13. Guo Z. N. et al. Next-generation sequencing yields the complete chloroplast genome of *Abies fanjingshanensis*, an Endangered species from South China //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 1. – С. 880-881.
14. Su L. et al. The complete chloroplast genome sequence of *Abies chensiensis* (Pinaceae) //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 2. – С. 3262-3263.
15. Shao Y. Z. et al. Next-generation sequencing yields the complete chloroplast genome of *Abies kawakamii* //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 1. – С. 29-30.
16. Guo C., Xu Y. Next-generation sequencing yields the complete chloroplast genome of *Abies fargesii* //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 1. – С. 1273-1274.
17. Yi D. K. et al. The complete plastid genome sequence of *Abies koreana* (Pinaceae: Abietoideae) //Mitochondrial DNA Part A. – 2016. – Т. 27. – №. 4. – С. 2351-2353.
18. Li J. R. et al. The complete chloroplast genome of *Abies georgei* Orr var. *smithii*, a species endemic to the Qinghai-Tibet Plateau, China //Mitochondrial DNA Part B. – 2020. – Т. 5. – №. 3. – С. 2553-2554.

19. Yang J. et al. The complete chloroplast genome of the *Abies yuanbaoshanensis*, an endangered Pinaceae species in Southern China //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 2. – С. 3386-3387.
20. Hao Z. et al. The complete chloroplast genome sequence of a relict conifer *Glyptostrobus pensilis*: comparative analysis and insights into dynamics of chloroplast genome rearrangement in cupressophytes and pinaceae //PloS one. – 2016. – Т. 11. – №. 8. – С. e0161809.
21. Wu C. S. et al. Comparative chloroplast genomes of Pinaceae: insights into the mechanism of diversified genomic organizations //Genome biology and evolution. – 2011. – Т. 3. – С. 309-319.
22. Wu C. S. et al. Comparative chloroplast genomes of Pinaceae: insights into the mechanism of diversified genomic organizations //Genome biology and evolution. – 2011. – Т. 3. – С. 309-319.
23. Morse A. M. et al. Evolution of genome size and complexity in *Pinus* //PLoS One. – 2009. – Т. 4. – №. 2.
24. Burleigh J. G. et al. Exploring diversification and genome size evolution in extant gymnosperms through phylogenetic synthesis //Journal of Botany. – 2012. – Т. 2012.
25. Ahuja M. R., Neale D. B. Evolution of genome size in conifers //Silvae genetica. – 2005. – Т. 54. – №. 1-6. – С. 126-137.
26. Седельникова Т. С. Изменчивость размера генома хвойных в экстремальных условиях произрастания //Успехи современной биологии. – 2015. – Т. 135. – №. 5. – С. 514-528

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующая кафедрой

 В.А. Кратасюк

«21» июня 2021 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Сборка, аннотация хлоропластных геномов и поиск нуклеотидных замен в
разных видах пихт

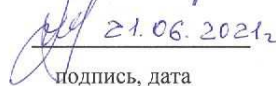
Руководитель


подпись, дата

21.06.21. Д-р физ.-мат. наук

М.Г. Садовский

Выпускник


подпись, дата

21.06.2021

А.А. Баронина

Красноярск 2021