

ქართული ენდემური ხორბლების ქლოროპლასტური დნმ-ის სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა, B და D პლაზმონების ევოლუცია

მარი გოგნიაშვილი

მოლეკულური გენეტიკის ინსტიტუტი, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი, საქართველო, თბილისი

ანოტაცია. ჰექსაპლოიდური ხორბალი (*Triticum aestivum* L., გენომი AABBDD) წარმოიშვა სამხრეთ კავკასიაში კულტურული ემერის ხორბლის *T. dicoccum* (გენომი AABB) ალოპოლიპლოიდიზაციით კავკასიურ *Ae. tauschii* ssp *strangulata*-თან (გენომი DD). *Ae. tauschii*-ის გენეტიკური ვარირება წარმოადგენს მნიშვნელოვან ბუნებრივ რესურსს, რის გამოც ძალიან მნიშვნელოვანია შესწავლილ იქნას ეს ვარიაციები *Ae. tauschii*-ის ევოლუციური ისტორიის პერიოდში და დადგინდეს იქნას როგორ არის იგი წარმოდგენილი სახეობის გავრცელების არეალში. მოცემულ გამოკვლევაში მოცემულია *Ae. tauschii*-ის ცხრა ფორმისა და *Ae. cylindrica*-ს ორი ფორმის პლაზმონ D-ს სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა (ქლოროპლასტური დნმ). ფილოგენეტიკური ხე გვიჩვენებს, რომ TauL1 და TauL2 წარმოიშვნენ TauL3-გან. TauL1 უფრო ძველია ვიდრე TauL2. *Ae. cylindrica*-ს პოზიცია *Ae. tauschii*-ის ფილოგენიის ხესთან გვიჩვენებს, რომ ის შუალედურია TauL1 და TauL2 შორის.

გვარ *Triticum*-ში წარმოდგენილია სამი სახის პლაზმონი (A, B და G). პლაზმონი B ნაპოვნია პოლიპლოიდურ სახეობებში - *Triticum turgidum* L. და *Triticum aestivum* L. განსაზღვრულ იქნა 11 ქართული პოლიპლოიდური ხორბლის ქლოროპლასტური დნმ-ის სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა. ფილოგენეტიკური ხე გვიჩვენებს რომ ქვესახეობები macha, durum, carthlicum და palaeocolchicum იკავებენ განსხვავებულ პოზიციებს. SNP და ინდელის მონაცემებზე დაფუძნებული გამარტივებული სქემის მიხედვით ყველა შესწავლილი პოლიპლოიდური ხორბლის დედა მშობელი არის უცნობი X წინამორბედი.

შესავალი.

ქართველმა ხალხმა და საქართველომ მნიშვნელოვანი როლი შეასრულა ხორბლების ჩამოყალიბების პროცესში. ფილოგენეტიკური კვლევის საშუალებით საქართველოს სოფლის მეურნეობაში გამოვლინდა ხორბლის ჯიშების ძირითადი მრავალფეროვნება. ზოგიერთი სახეობა ევოლუციურად ახლოსაა ველურ სახეობებთან ან შენარჩუნებული აქვს მათი თვისებები.

გვარ ტრიტიკუმში შედის ხორბლის 6 სახეობა, რომლებიც სამ სექციად ჯგუფდება: სექცია Monococcon (რომელშიც შედის დიპლოიდური სახეობები: *Triticum monococcum* L. და *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan); სექცია Dicoccoidea (რომელშიც შედის ტეტრაპლოიდური სახეობები: *Triticum turgidum* L. and *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk.); და სექცია Triticum (რომელშიც შედის ჰექსაპლოიდური სახეობები: *Triticum aestivum* L. and *Triticum zhukovskyi* Menabde & Ericzjan). ტრიტიკუმის გვარისთვის დამახასიათებელია სამი ტიპის პლაზმონი, A, B და G. A პლაზმონი აღწერილია დიპლოიდურ ხორბალ *T.monococcum*-ში, G პლაზმონი ტიმოფეევის ხორბალში. B პლაზმონი კი დეტექტირებულია პოლიპლოიდურ სახეობებში: *Triticum turgidum* L. and *Triticum*

aestivum L. პოლიპლოიდური ხორბლების D პლაზმონის დონორად აღიარებულია *Aegilops speltoides* (Wang et al., 1997).

Ae. tauschii გავრცელებულია თურქეთიდან ყირგიზეთამდე. განსაკუთრებულ ყურადღებას იქცევს საქართველო. მიუხედავად იმისა, რომ ეს ტერიტორია ძალიან პატარაა, მნიშვნელოვანია *Ae. tauschii*-ს გენეტიკური მრავალფეროვნება. (Dudnikov 2000, 2012; Pestsova et al. 2000). აქედან გამომდინარე, საქართველო ერთადერთი ქვეყანაა, სადაც *TauL3* ფორმა საკმაოდ ხშირად გვხვდება.

ამჟამად მსოფლიოში ინტენსიურად ისწავლება D გენომის წინამორბედი - *Aegilops tauschii* ssp. *strangulata*. ეს ფორმა, რომელიც არის D გენომის დონორი, ფართოდ არის გავრცელებული სამხრეთ კავკასიაში და, კერძოდ, საქართველოში.

ბუნებაში გავრცელებულია სახეობა *Aegilops tauschii*-ს ორი ქვესახეობა: *tauschii* და *strangulata*, ქლოროპლასტური დნმ-ის მიხედვით სახეობა *Aegilops tauschii* დაყოფილია სამი გენეტიკურ ხაზად, ესენია ტაულ1, ტაულ2 და ტაულ3. (Matsuoka et al. 2013, 2015) სადაც , ტაულ1 ფორმა მოიცავს *Ae. tauschii* ssp *tauschii*-ს ნიმუშებს, ხოლო ტაულ2 და ტაულ3 ფორმები *Ae. tauschii* ssp *strangulata*-ს ნიმუშებს, სწორედ ის ქვესახეობა, რომელმაც მონაწილეობა მიიღო რბილი ხორბლის წარმოქმნაში. ტაულ3-ის ნიმუშები მხოლოდ საქართველოშია გავრცელებული.

ხორბლების სრული ქლოროპლასტური გენომის სეკვენირებამ ნათელი მოჰგინა ხორბლების წარმოშობასა და ევოლუციას. ტრადიციულად, ბირთვსგარე დნმ, როგორც არის ქლოროპლასტური დნმ, წარმოადგენს ეფექტურ საშუალებას გენეალოგიურ კვლევაში (Yamane and Kawahara, 2005; Matsuoka et al., 2005; Tabidze et al., 2014). დნმ-ის ახალი თაობის სეკვენირების ტექნოლოგიები, რომლებიც ბოლო წლებში განვითარდა, საშუალებას იძლევა უმაღლეს მცენარეებში და, მათ შორის, ხორბალში განვსაზღვროთ ქლოროპლასტური დნმ-ის სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა. ცხადია, რომ ხორბლების გენეტიკური სტრუქტურა უფრო ზუსტად და დეტალურად დგინდება ქლოროპლასტული დნმ-ის სრული თანმიმდევრობის ანალიზით. ქლოროპლასტური დნმ-ის სეკვენირების ახალი ტექნოლოგია შექმნილი ჩვენს მიერ 2014 წელს (იხილეთ Tabidze et al., 2014). ეს ტექნიკა საშუალებას იძლევა, რომ ერთდროულად დავასეკვენიროთ სხვადასხვა კულტურების დნმ-ის ნიმუშები Illumina პლატფორმაზე.

ეს ტექნოლოგიები გამოყენებული *Triticum*-ებისა და *Aegilops-ების* G და D პლაზმონების ანალიზში (Gogniashvili et al., 2015; 2016). ზანდურის ხორბლების (*T.timopheevii*, *T.zhukovskyi*, *T.monococcum* var.*hornemanni*) სამი სახეობისა და ველური სახეობის *T.araraticum*-ის (პლაზმონი D), ასევე, ცხრა *Aegilops tauschii*-სა და ორი *Ae. Cylindrica*-ს ნიმუშის ქლოროპლასტური დნმ-ის სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა იყო დეტექტირებული. ეგილოპსის სახეობებისა და ტიმოფევის ხორბლების ქლოროპლასტური დნმ-ის სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის განსაზღვრამ საშუალება მოგვცა დაგვედგინა G და D პლაზმონების ევოლუცია. კვლევაში ასევე წარმოდგენილია *Triticum*-ის ქართული პოლიპლოიდური სახეობების 11 ქლოროპლასტური დნმ-ის (B პლაზმონი) და სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა.

კვლევის მეთოდოლოგია.

Ae. tauschii-სა და *Ae. cylindrica*-ს ნიმუშები შევაგროვეთ დასავლეთ საქართველოში. მცენარეები გავზრდეთ წყალში ოთახის ტემპერატურაზე. ჯამურ გენომურ დნმ-ს გამოვყავით ხორბლის ახალგაზრდა ფოთლებიდან. დნმ-ის გამოყოფას მოვახდენთ ინსტრუქციის მიხედვით, რომელიც მოცემულია თ. ბერიძისა და თანაავტორების 2011 წლის ნაშრომში (Beridze et al. 2011).

ქლოროპლასტური დნმ-ის სეკვენირება და აწყობა.

დნმ-ის ნიმუშების ხარისხის შეფასება ხდებოდა სხვადასხვა მეთოდით (გელი, სპექტროფოტომეტრი, ნანოდროპი, აგილენტ ბიოანალიზერი). გენომის ფრაგმენტული ბიბლიოთეკის შექმნა სწარმოებდა TruSeq კიტით (Illumina, San Diego, CA).

1 მგ გენომური დნმ-ის ფრაგმენტირება ხდებოდა სონიკატორზე (Diagenode, NJ) 20 ციკლის განმავლობაში 30 ON და 90 OFF პირობებში. დახლეჩვის შემდეგ ხდებოდა ჯაჭვის გაგლუვება, 3'- ბოლოზე A-კუდის მიზმა და ინდექსირებული ადაპტორის ლიგირება. შემდგომ ხდებოდა ადაპტორმიზმული გენომური დნმ-ის ზომითი გადარჩევა ნიმუშის მომზადების მეთოდიკაში

მომზადების მეთოდიკაში აღწერილი პროტოკოლის მიხედვით. ზომით შერჩეული დნმ-ის ამპლიფიკაცია სწარმოებდა პჯრ-ით იმ ფრაგმენტების გამდიდრების მიზნით, რომლებსაც ადაპტორი ორივე ბოლოდან ჰქონდათ მიზმული. ამპლიფიკაცია სწარმოებდა 6 ციკლის განმავლობაში Kapa HiFi პოლიმერაზით (Kapa Biosystems, Woburn, MA). საბოლოო ბიბლიოთეკის შერჩევა ხდებოდა რაოდენობრივი პჯრ-ით ABI 7900-ზე (Life Technologies, Grand Island, NY). საბოლოო ამპლიფიცირებული ბიბლიოთეკა მოწმდებოდა ასევე Agilent bioanalyzer DNA 7500 LabChip-ზე (Agilent, Santa Clara, CA) ფრაგმენტების ზომისა და მოსალოდნელი ზომის დნმ-ის არსებობის დასადასტურებლად.

სეკვენირება Illumina HiSeq 2000-ზე.

თითოეული ბიბლიოთეკა თავსდებოდა 8-ბილიკიანი უჯრედის ერთ ბილიკზე და სეკვენირდებოდა Illumina HiSeq 2000-ზე. ბიბლიოთეკა სეკვენირდებოდა 100 ნუკლეოტიდის

ზომით ორივე ბოლოდან. bcl ფაილების გადაყვანა fastq ფაილებში სწარმოებდა პროგრამით Casava 1.8.2 (Illumina).

ქლოროპლასტური დნმ-ის აწყობა.

FASTAQ ფაილების ჩასწორება ხდებოდა კომპიუტერული პროგრამით Sickle. რიდების ფილტრაცია ხდებოდა სტანდარტული პარამეტრებით (რიდის ხარისხი - 20, მოჭრის სიგრძე - 20). "N"-შემცველი რიდები არ გამოიყენებოდა. გაფილტრული ქლოროპლასტების რიდების აწყობა სწარმოებდა კომპიუტერული პროგრამით SOAPdenovo2 (version 127mer) (Li et al. 2009). რიდების de novo აწყობა კონტიგებში ხდებოდა k-mer 83-93 პირობებში. ყველა კონტიგის ურთიერთ განლაგება ხდებოდა BLASTN-ით. დიდი გადაფარვადი კონტიგების გადაბმა სწარმოებდა პროგრამით EMBOSS 6.3.1: merger (Rice et al. 2000).

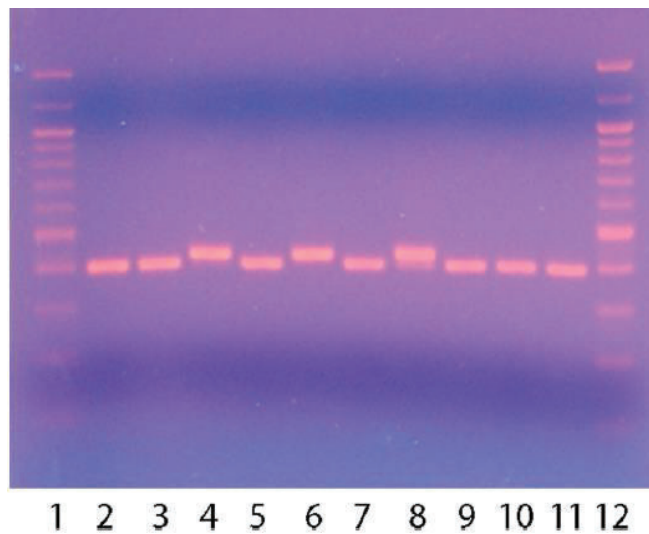
ქლოროპლასტური დნმ-ის ავტომატური ანოტაცია სწარმოებდა პროგრამით CpGAVAS (Liu et al. 2012). სნიპებისა და ინდელების დეტექცია და ფილოგენეტიკური ხის შექმნა სწარმოებდა კომპიუტერული პროგრამებით Mafft და Blast (Katoh et al. 2002; Altschul et al. 1990).

კვლევის შედეგები.

ჩვენ დავასეკვენირეთ დასავლეთ საქართველოში შეგროვებული *Aegilops tauschii*-ს 9 (Gt_14, Gt_17, Gt_30, Gt_32, Gt_34, Gt_15, Gt_19, Gt_24, Gt_40) და *Ae. cylindrica* -ს 2 ნიმუშის ქლოროპლასტის სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა იმისათვის, რომ შეგვედგინა მისი განვითარების ევოლუციური სქემა. *Ae. tauschii*-ის ტაულ3 ფორმის ნიმუშის მიმართ ტაულ1 და ტაულ2 ფორმის ნიმუშებს აქვთ 33 SNP, ხოლო 28 SNP არის დამახასიათებელი ტაულ1 და ტაულ2 ნიმუშებისთვის ერთად. 4 SNP-თი გამოირჩევა ტაულ2-ის ნიმუშები. 20 SNP არის გენთაშორის უბანში და 5 ინტრონში, 8 SNP კი ლოკალიზებულია გენებში, აქედან 3 მდებარეობს *ndhF* გენში, 2 *rpoB* გენში და თითო-თითო *matK*, *psbZ* და *petA* გენებში. 5

კოდირებადი ჩანაცვლება წარმოადგენს სინონიმებს, რის გამოც არ იცვლება ამინომჟავა, *matK* და *ndhF* გენებში კი აღწერილია ამინომჟავის ცვლილება. 19 ფუძეთა წყვილი სიგრძის ინვერსიის აღწერილი *psbA-trnL-UUU* გენთაშორის უბანში 3 ფუძეთა წყვილი მარყუქითა და 8 ფუძეთა წყვილი ღერძით.

აღწერილია 8 მცირე ზომის ინდელი, რომლების მდებარეობს როგორც გენთაშორის სპეისერებში, ისე ინტრონებში. ყველაზე საინტერესოა 27 წუძეთა წყვილის სიგრძის ინდელი, რომელიც ტაუმის ყველა ნიმუშის ქლოროპლასტის სრული გენომის გაანალიზებისას აღმოვაჩინეთ ტაულ3-ის ნიმუშებში, რაც არ არის დამახასიათებელი ტაულ1-სა და ტაულ2 ნიმუშებისთვის. ანუ ჩვენ აღმოვაჩინეთ ტაულ3-ის ნიმუშების მარტივი იდენტიფიცირების მეთოდი, რომლის საშუალებითაც მხოლოდ დნმ-ის გაანალიზება საკმარისი აგაროზის გელზე სეკვენირების გარეშე (ნახ.1). იგი მდებარეობს *rps15-ndhF* გენთაშორის სპეისერში. გელზე კარგად ჩანს ის ნიმუშები, რომელთა დნმ უფრო გრძელია და ისინი გელზე უფრო ზევით დგანან, ვიდრე ის ნიმუშები, ვისი დნმ-იც უფრო მოკლეა, ეს ზევით მდგომი სამი ნიმუში სწორედ ტაულ3-ის ნიმუშებია.

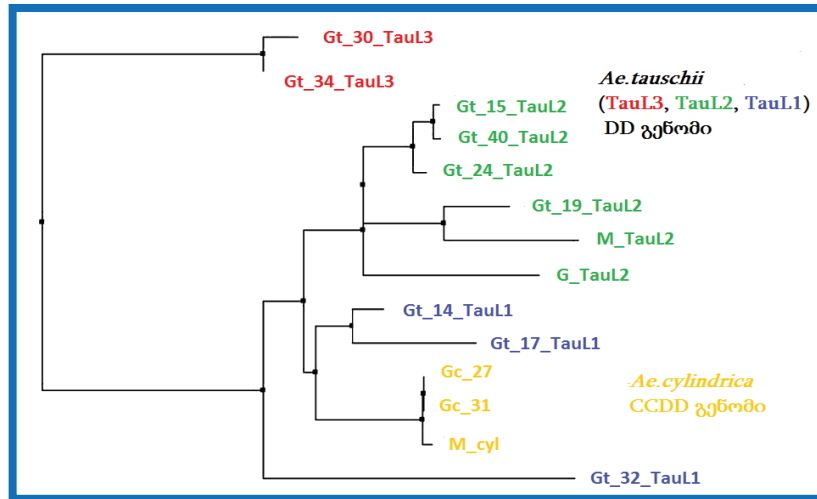


ნახ. 1. *Ae. tauschii* -ს ნიმუშების ქლოროპლასტური დნმ-ის მოლეკულის 101,130–101,548 უბნის გელ-ელექტროფორეზი 2 %-იან აგაროზის გელში: 2 Gt_25, 3 Gt_26, 4Gt-28, 5 Gt_29, 6 Gt_30, 7Gt_33, 8 Gt_34, 9 Gt_35, 10 Gt_36, 11 Gt_37; პირველი და ბოლო ბილიკი: 100 ფწ დნმ მარკერი გენ ბანკში არსებული ყველა *Aegilops-ის Triticum-ის* (D, B, G, S, A, M პლაზმონები) პლაზმონის გაანალიზებისას და აღმოჩნდა, რომ *rps15-ndhF* გენთაშორის სპეისერში არსებული 27 ფწ თანმიმდევრობა აქვს ყველა მათგანს, გარდა *Ae. tauschii ssp tauschii-ს*, *Ae. tauschii ssp strangulata-ს* და *Ae. cylindrica-ს* (ყველა არის D პლაზმონის შემცველი). *Ae. cylindrica-ს* ნიმუშებისთვის დამახასიათებელია 7 SNP, აქედან 4 მდებარეობს გენთაშორის სპეისერებში და 3 გენებში (*matK*, *rpoB* და *rpoC2*). ამინომჟავის ცვლილება დაფიქსირებულია *matK* გენში, ხოლო ისეთი ნუკლეოტიდით ჩანაცვლება, რომელმაც არ გამოიწვია ამინომჟავის ცვლილება, *rpoB* და *rpoC2* გენებში. კიდევ დაფიქსირებულია 18 ფწ დუპლიკაცია *infA-rps8* გენთაშორის უბანში.

Ae. Cylindrica-ს შემთხვევაში საბოლოოდ 7 SNP-ია აღწერილი, აქედან 4 გენთა შორის თანმიმდევრობაში და სამი გენებში (*matK*, *rpoB* და *rpoC2*). *infA-rps8* გენთაშორის თანმიმდევრობაში კი აღწერილია 18 ფწ დუპლიკაცია.

მოცემულ კვლევაში დასეკვენირებული 9 *Ae. tauschii-ს* და 2 *Ae. cylindrica-ს* ნიმუშების ევოლუციური კავშირების დასადგენად, ქლოროპლასტის სრული ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობებზე დაყრდნობით მოვახდინეთ ფილოგენეტიკური ხის კონსტრუირება ჯალვიუ, ვერსია2-ის მიხედვით (Waterhouse et al. 2009) (ნახ. 2). ჩვენს მიერ

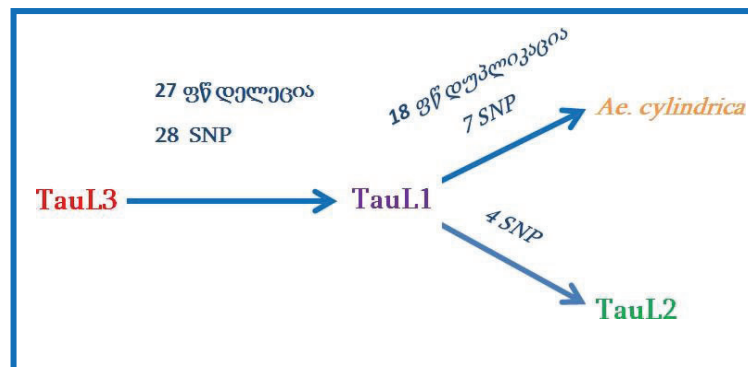
შესწავლილი *Ae. tauschii*-ს ნიმუშები დაჯგუფდნენ 3 ჯგუფად: ტაულ1, ტაულ2 და ტაულ3 (Matsuoka et al. 2015). ხის აგების დროს ასევე გამოვიყენეთ გენ ბანკში არსებული 2 ssp *strangulata*-ს ნიმუში (Middleton et al. 2014; Gornicki et al. 2014). ფილოგენეტიკური ხე აჩვენებს, რომ ტაულ3 ფორმის ნიმუშები უფრო ადრე გამოეყო დანარჩენ *Ae. tauschii*-ს ნიმუშებს, ტაულ1 ფორმა კი უფრო ძველია, ვიდრე ტაულ2 ფორმა და ასევე ტაულ1 ფორმა ტაულ2 ფორმის წინაპარია.



ნახ.2. *Ae. tauschii*-სა და *Ae. Cylindrica*-ს ნიმუშების ფილოგენეტიკური ხე

დასკვნა.

ჩვენს მიერ გაანალიზებულ მუტაციებზე დაყრდნობით შევადგინეთ სქემა (ნახ.3). ამ სქემაზე დაყრდნობით ტაულ1 პლაზმონი (ქლოროპლასტური დნმ) დგას ერთის მხრივ, ტაულ2-სა და *Ae. cylindrica*-სა და მეორეს მხრივ, ტაულ3 პლაზმონს შორის. ცნობილია, რომ *Ae. cylindrica* წარმოიშვა *Ae. tauschii*-საგან (Maan 1976; Tsunewaki 1989). სქემაზე ნაჩვენებია, რომ *Ae. cylindrica* წარმოიშვა *Ae. tauschii*-ს ტაულ1 ფორმისგან. *Ae. Tauschii*-სა და *Ae. Cylindrica*-ს ქლოროპლასტის სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის ცოდნა საშუალებას გვაძლევს დაიხვეწოს წარმოდგენა გვარი *Aegilops*-ის D პლაზმონის ევოლუციაზე.



ნახ. 3. *Aegilops tauschii*-ს ევოლუციური სქემა, რომელიც ეყრდნობა ერთეულ ნუკლეოტიდურ პოლიმორფიზმსა და ინსერცია-დელეციებს B პლაზმონი.

ქართულ ენდემურ პოლიპლოიდურ ხორბლებში 5 SNP-ს იდენტიფიცირება მოვახდინეთ, M_6 (*Triticum aestivum* L. subsp. *macha* (Dekapr. & Menabde) გამოვიყენეთ,

როგორც რეფერენსი. დავაფიქსირეთ 2 არაკოდირებადი ჩანაცვლება, 3 კოდირებული ჩანაცვლება. ერთი კოდირებადი ჩანაცვლება ნანახია ndhF გენში და სინონიმურია, რომელიც არ იწვევს ამინომჟავის ცვლილებას. დანარჩენი კოდირებადი ჩანაცვლება დეტექტირებულია rps15 გენში, რომელიც მდებარეობს ინვერტიულ განმეორებაში.

M_6-ის დნმ-თან (*Triticum aestivum* L. subsp. *macha* (Dekapr. & Menabde) მიმართებაში P_1 ნიმუშს (*Triticum turgidum* L. subsp. *palaeocolchicum* Á. & D. Löve var. *chvamlicum* (Supat.) Menabde) აქვს ორი, 38 ფწ და 56 ფწ ინვერსია; 38 ფწ ინვერსია 56121-56158 პოზიციაში (გენთაშორისი უბანი: rbcL-rpl23) და 56 ფწ ინვერსია 135896-52 პოზიციაში (გენთაშორისი უბანი: rps19-psbA). 38 ფწ თანმიმდევრობა არის პალინდრომი 4 ფწ მარყუჭით და 17ფწ ღერძით. 56 ფწ ინვერსია კი არის პალინდრომი 5 ფწ მარყუჭით და 25 ფწ ღერძით. ქართულ პოლიპლოიდურ ხორბლებში კიდევ აღწერილია ექვსი 1ფწ სიგრძის ინდელი, ყველა არის მიკროსალიტურ უბანში.

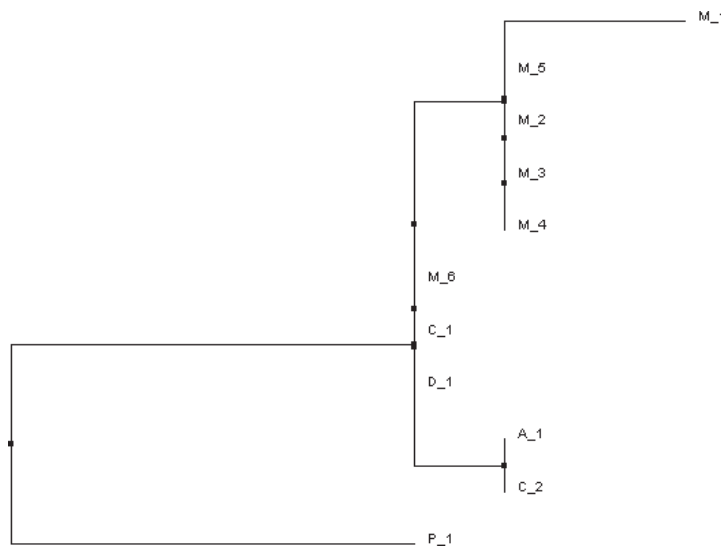
2014 წელს გორნიცკიმ თანაავტორებთან ერთად გაშიფრა B პლაზმონის შემცველი ხორბლის 8 ნიმუში (Gornicki et al.2014). მცირე განსხვავება იქნა ნანახი მათ სეკვენსებსა და ჩვენს მიერ

წარმოდგენილ თანმიმდევრობებს შორის 75978-92 პოზიციაში (infA-rps8 გენთაშორისი უბანი):

მოცემული კვლევა : TTTTTTTTTTCTCTCC

Gornicki et al., 2014 : TTTTTTTTTTCTCTCCC

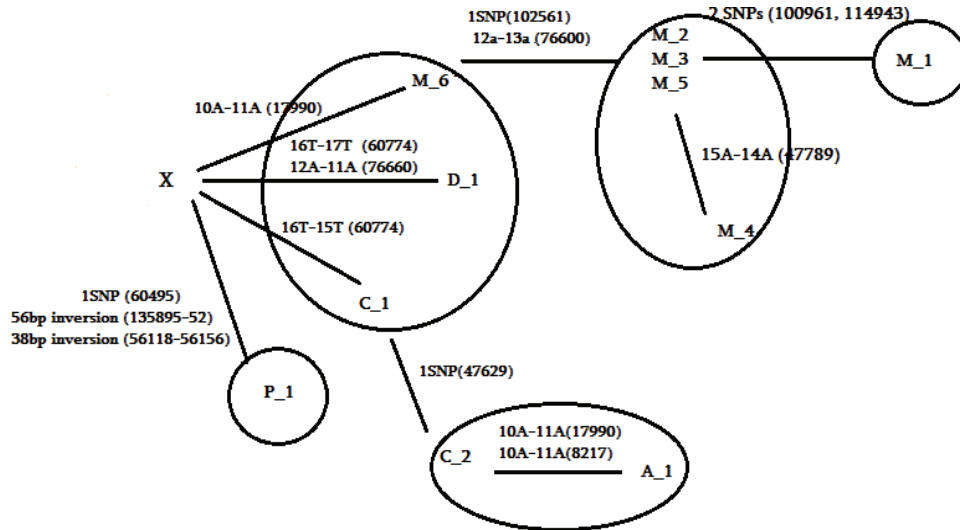
კვლევაში მოცემული კულტურების ევოლუციური კავშირების წარმოსადგენად ავაგეთ ფილოგენეტიკური ხე ჟალვიუს მეორე ვერსიის გამოყენებით (Waterhouse et al. 2009). ფილოგენეტიკური ხე აჩვენებს, რომ ქვესახეობები *macha*, *carthlicum*-ი და *palaeocolchicum*-ი იკავებენ განსხვავებულ პოზიციებს (ნახ.4).



ნახ. 4. ქართული პოლიპლოიდური ხორბლების სრული ქლოროპლასტური გენომის ფილოგენეზი. „Neighbour joining tree“ PID-ის გამოყენებით (Waterhouse et al. 2009). აბრევიატურა - P -*palaeocolchicum*; M - *macha*; C - *carthlicum*; A - *aestivum*; D - *durum*.

SNP-ბსა და ინსერცია-დელეციებზე დაყრდნობით ავაგეთ ქართული პოლიპლოიდური ხორბლების ევოლუციის გამარტივებული სქემა (ნახ.5). ამ სქემის მიხედვით ქართული პოლიპლოიდური ხორბლების B პლაზმონის (ქლოროპლასტური დნმ) წინაპარი არის უცნობი X წინაპარი. X წინაპრიდან მოხდა 4 ხაზის ფორმირება. ერთმა

SNP-მ და ორმა ინვერსიამ (38 ფწ და 56 ფწ) გამოიწვია ქვესახეობა *palaeocolchicum*-ის ფორმირება. დანარჩენი სამი ხაზია: მეორე-მახას ხაზი; მესამე-დურუმის ხაზი; მეოთხე-ქართლიკუმის ხაზი. მახას ხაზი იყოფა ორ ქვეხაზად (M_1 და M_4). ქართლიკუმის ხაზი შეიცავს ქვესახეობა *carthlicum*-ს და *T.aestivum*-ს - C_1 - C_2 - A_1. ყველა შესწავლილი ხორბლის მდედრობითი ხაზის წინაპარი არის უცნობი X წინაპარი.



ნახ. 5. ფილოგენეტიკური სქემა, რომელიც ყვრდნობა ქართული პოლიპლოიდური ხორბლების ქლოროპლასტური დნმ-ის ერთეულ ნუკლეოტიდურ პოლიმორფიზმსა და ინსერცია-დელეციებს.

ლიტერატურა.

1. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:403–410;
2. Beridze T, Pipia I, Beck J, Hsu SC, Gamkrelidze M, Gogniashvili M, Tabidze V, This P, Bacilieri R, Gotsiridze V, Glonti M, Schaal B (2011) Plastid DNA sequence diversity in a worldwide set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*). *Bull Georgian National Acad Sc* 5:98–103;
3. Dudnikov AJ (2000) Multivariate analysis of genetic variation in *Aegilops tauschii* from the world germplasm collection. *Genet Resour Crop Evol* 47:185–190;
4. Dudnikov AJ (2012) Chloroplast DNA non-coding sequences variation in *Aegilops tauschii* Coss.: evolutionary history of the species. *Genet Resour Crop Evol* 59:683–699;
5. Gogniashvili M, Naskidashvili P, Bedoshvili D, Kotorashvili A, Kotaria N, Beridze T (2015) Complete chloroplast DNA sequences of Zanduri wheat (*Triticum* spp.). *Genet Resour Crop Evol* 62:1269–1277. doi:10.1007/s10722-015-0230-x;
6. Gornicki P, Zhu H, Wang J, Challa GS, Zhang Z, Gill BS, Li W (2014) The chloroplast view of the evolution of polyploid wheat. *New Phytol* 204:704–714;
7. Katoh K, Misawa K, Kuma KI, Miyata T (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucl Acids Res* 30:3059–3066;
8. Liu C, Shi Y, Zhu Y, Chen H, Zhang J, Lin X, Guan X (2012) CpGAVAS, an integrated web server for the annotation, visualization, analysis, and GenBank submission of completely sequenced chloroplast genome sequences. *BMC Genom* 13:715;
9. Li R, Yu C, Li Y, Lam TW, Yiu SM, Kristiansen K, Wang J (2009) SOAP2: an improved ultrafast tool for short read alignment. *Bioinformatics* 25:1966–1967;
10. Maan SS (1976) Cytoplasmic homology between *Aegilops squarrosa* L., and *A. cylindrica*

- Host. *Crop Sci* 16:757–761;
11. Matsuoka Y, Mori N, Kawahara T (2005) Genealogical use of chloroplast DNA variation for intraspecific studies of *Aegilops tauschii* Coss. *Theor Appl Genet* 111:265–271;
 12. Matsuoka Y, Nasuda S, Ashida Y, Nitta M, Tsujimoto H, Takumi S, Kawahara T (2013) Genetic basis for spontaneous hybrid genome doubling during allopolyploid speciation of common wheat shown by natural variation analyses of the paternal species. *PLoS One* 8:e68310;
 13. Matsuoka Y, Takumi SH, Kawahara T (2015) Intraspecific lineage divergence and its association with reproductive trait changed during species range expansion in central Eurasian wild wheat *Aegilops tauschii* Coss. (Poaceae). *BMC Evol Biol* 15:213;
 14. Middleton CP, Senerchia N, Stein N, Akhunov ED, Keller B, Wicker T, Kilian B (2014) Sequencing of chloroplast genomes from wheat, barley, rye and their relatives provides a detailed insight into the evolution of the Triticeae tribe. *PLoS One* 9:e85761;
 15. Pestsova E, Korzun V, Goncharov NP, Hammer K, Ganal MW, Roder MS (2000) Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. *Theor Appl Genet* 101:100–106;
 16. Rice P, Longden I, Bleasby A (2000) EMBOSS: the European molecular biology open software suite. *Trends Genet* 16(6):276–277;
 17. Tabidze V, Baramidze G, Pipia I, Gogniashvili M, Ujmajuridze L, Beridze T, Hernandez AG, Schaal B (2014) The complete chloroplast DNA sequence of eleven grape cultivars. Simultaneous resequencing methodology. *J Int Sci Vigne Vin* 48(2):99–109;
 18. Tsunewaki K (1989) Plasmon diversity in *Triticum* and *Aegilops* and its implication in wheat evolution. *Genome* 31:143–154;
 19. Wang G-Z, Miyahita NT, Tsunewaki K (1997) Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR–single-strand conformational polymorphism (PCR–SSCP) analyses of organellar DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 14570–14577;
 20. Waterhouse AM, Procter JB, Martin DMA, Clamp M, Barton GJ (2009) Jalview version 2: a multiple sequence alignment and analysis workbench. *Bioinformatics* 25(9):1189–1191;
 21. Yamane K, Kawahara T (2005) Intra- and interspecific phylogenetic relationships among diploid *Triticum*-*Aegilops* species (Poaceae) based on base-pair substitutions, indels, and microsatellites in chloroplast noncoding sequences. *Am J Bot* 92(11):1887–189.

COMPLETE CHLOROPLAST DNA SEQUENCES OF GEORGIAN INDIGENOUS WHEATS, *B* AND *D* PLASMON EVOLUTION

Mari Gogniashvili

Institute of Molecular Genetics, Agricultural University of Georgia,
Tbilisi, Georgia

Summary

Hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L., genomes AABBDD) originated in South Caucasus by allopolyploidization of the cultivated Emmer wheat *T. dicoccum* (genomes AABB) with the Caucasian *Ae. tauschii* ssp *strangulata* (genomes DD). Genetic variation of *Ae. tauschii* is an important natural resource, that is why it is of particular importance to investigate how this variation was formed during *Ae. tauschii* evolutionary history and how it is presented through the species area. The plasmon diversity that exists in *Triticum* and *Aegilops* species is of great significance for understanding the evolution of this genera. In the present investigation the complete nucleotide sequence of plasmon D (chloroplast DNA) of nine accessions of *Ae. tauschii* and two accessions of *Ae. cylindrica* are presented. The phylogeny tree shows that chloroplast DNA of TauL1 and TauL2 diverged from the TauL3 lineage. TauL1 lineage is relatively older than TauL2. The position of *Ae. cylindrica* accessions on *Ae. tauschii*

phylogeny tree constructed on chloroplast DNA variation data is intermediate between TauL1 and TauL2.

Three types of plasmon (A, B and G) are present for genus *Triticum*. Plasmon B is detected in polyploid species - *Triticum turgidum* L. and *Triticum aestivum* L. Complete nucleotide sequences of chloroplast DNA of 11 representatives of Georgian wheat polyploid species were determined. The phylogeny tree shows that subspecies macha, durum, carthlicum and palaeocolchicum occupy different positions. According to the simplified scheme based on SNP and indel data the ancestral, female parent of all studied polyploid wheats is an unknown X predecessor, from which four lines were formed.