

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ТЕТРАПЛОИДНЫХ ВИДОВ ОВСА С АС-ГЕНОМНЫМ СОСТАВОМ:
Avena insularis, *A. magna* И *A. murphyi***

© 2007 г. О. Ю. Шелухина¹, Е. Д. Бадаева^{1,2}, И. Г. Лоскутов³, В. А. Пухальский¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва 119991;
факс: (495) 135-04-60; e-mail: sheluhina_olga@mail.ru

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

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

Поступила в редакцию 03.11.2006 г.

С помощью С-метода дифференциального окрашивания хромосом и гибридизации *in situ* с пробями рТа71 и рТА794 проведено сравнительное цитогенетическое исследование трех тетраплоидных видов овса с геномным составом АС: *Avena magna*, *A. murphyi* и *A. insularis*. Виды были сходны по структуре и рисункам С-дифференциального окрашивания ряда хромосом, а также локализации локусов 5S рРНК генов и основных сайтов NOR, однако отличались по числу и локализации минорных локусов 45S рДНК и морфологии и распределению гетерохроматина на некоторых хромосомах. В соответствии с полученными данными, в филогенетическом отношении *A. insularis* более близок к *A. magna*, тогда как *A. murphyi* несколько обособлен от двух других видов. Можно предположить, что все три изученных вида ведут происхождение от одного общего тетраплоидного предка, а их дивергенция связана с различными видоспецифическими хромосомными перестройками. Эволюция *A. murphyi*, по-видимому, проходила независимо от двух других видов.

Тетраплоидные виды рода *Avena* делятся на четыре группы, отличающиеся по геномному составу. В состав первой группы входят виды, содержащие А- и В-геномы: *A. barbata* Pott., *A. vaviloviana* (Malz.) Mordv. и *A. abyssinica* Hochst. [1]. Все они генетически близки, о чем свидетельствует фертильность межвидовых гибридов [2].

Во вторую группу входит единственный многолетний автополиплоидный вид *A. macrostachya* Balan. [3]. На основании анализа структуры кариотипа было высказано предположение, что он имеет геномную формулу АА [2], однако, согласно данным мейотического анализа, уровень гомологии хромосом этого вида с диплоидными *A. damascena* Rajh. et Baum (Ad), *A. prostrata* Ladiz. (Ap), *A. atlantica* Baum (As) и *A. canariensis* Baum (Ac) очень мал [4, 5]. Результаты сравнительного исследования внутригенных транскрибируемых последовательностей ITS1 и ITS2 генов рибосомной РНК и последовательности 5.8S ядерных рРНК указывали на более близкое родство геномов *A. macrostachya* с группой С-геномов и соответственно ему была присвоена геномная формула СmСm [6].

Третью группу составляет эндемичный марокканский вид *A. agadiriana* Baum et Fedak, систематическое положение которого окончательно не установлено [7]. Анализ мейотической конъюгации хромосом в гибридах *A. agadiriana* с другими видами рода *Avena* [7], а также исследование его кариотипа с помощью метода С-дифференциаль-

ного окрашивания хромосом [8] свидетельствуют о более близком родстве *A. agadiriana* с представителями первой группы, хотя их геномы структурно дифференцированы в результате хромосомных перестроек.

В четвертую группу входят виды: *A. magna* Murphy et Terr. (син. *A. maroccana* Gdgr.), *A. murphyi* Ladiz. [9–12] и недавно открытый тетраплоидный вид *A. insularis* Ladiz. [13]. Виды этой и других групп либо не скрещиваются друг с другом, либо дают полностью или частично стерильное потомство, что свидетельствует о низком родстве их геномов [2]. Эти данные подтверждают результаты исследования кариотипов с помощью методов дифференциального окрашивания хромосом.

Анализ распределения гетерохроматина на хромосомах тетраплоидных видов овса показал, что у видов с АВ-геномным составом эухроматические участки хромосом окрашены равномерно, а мелкие гетерохроматические блоки локализованы преимущественно в центромерных и теломерных участках. У видов с А- и С-геномами хромосомы характеризуются двумя типами окрашивания: семь пар хромосом показали слабое окрашивание эухроматических участков с мелкими ГХ блоками, локализованными теломерно и прицентромерно, другие же хромосомы выглядят более конденсированными и темными, что напо-

Таблица 1. Исследованные образцы овса и их происхождение

Вид	№ по каталогу ВИР	Место сбора	Координаты сбора	
			широта	долгота
<i>A. insularis</i>	к-2067	Италия, Сицилия, Gela	37°10' с.ш.	14°20' в.д.
<i>A. insularis</i>	к-2102*	Италия, Сицилия, Gela	37°10' с.ш.	14°20' в.д.
<i>A. murphyi</i>	к-1986	Испания, Zahara de los Atunes	36°17' с.ш.	5°86' з.д.
<i>A. murphyi</i>	к-2088*	Испания, Gaucin	36°53' с.ш.	5°15' з.д.
<i>A. murphyi</i>	к-2101	Испания, Tarifa	36°01' с.ш.	5°50' з.д.
<i>A. magna</i>	к-144	Марокко, Quazzane	34°58' с.ш.	5°23' з.д.
<i>A. magna</i>	к-161	Марокко, Khemisset	33°70' с.ш.	6°31' з.д.
<i>A. magna</i>	к-1786	Марокко, Maazia	35°20' с.ш.	5°53' з.д.
<i>A. magna</i>	к-1787*	Марокко, Maazia	35°20' с.ш.	5°53' з.д.
<i>A. magna</i>	к-1852	Марокко, Ar Rommani	33°53' с.ш.	6°48' з.д.
<i>A. magna</i>	к-1863	Марокко, Tiflet	33°72' с.ш.	6°30' з.д.
<i>A. magna</i>	к-1896	Марокко, Tetouan	34°81' с.ш.	6°13' з.д.
<i>A. magna</i>	к-2100	Марокко, Maazia	35°20' с.ш.	5°53' з.д.

*Образцы, использованные для проведения гибридизации *in situ*.

минает характер окрашивания хромосом диплоидных видов – носителей С-геномов [14, 15].

Характер мейоза пентаплоидных гибридов *A. magna* × *A. sativa* позволил предположить, что *A. magna* мог участвовать в образовании гексаплоидных видов овса [16]. Значение видов этой группы в эволюции полиплоидного овса подтверждают данные изоферментного анализа [17], исследования сателлитной ДНК [18] и изучения мейоза гибридов других видов этой группы с *A. sativa* L. [19–21]. Так, в мейозе гибридов *A. insularis* × *A. sativa* образуется до 23.2 хиазм, что существенно превышает число хиазм в мейозе гибридов культурного овса с *A. magna* (21.0) или *A. murphyi* (16.8) [13]. Эти данные предполагают более близкое родство *A. insularis* с возделываемым видом *A. sativa* в сравнении с *A. magna* или *A. murphyi*.

Анализ мейотической конъюгации хромосом у межвидовых гибридов *A. murphyi*, *A. magna* и *A. insularis* показал, что эти виды произошли от единого тетраплоидного предка и впоследствии дивергировали друг от друга в результате нескольких крупных хромосомных перестроек и других изменений хромосом, приведших к снижению уровня их гомологии [14, 22, 23]. Роль хромосомных перестроек в эволюции *A. murphyi* и *A. magna* подтверждают и результаты геномной гибридизации *in situ* [24, 25]. Несмотря на то, что до сих пор не удалось идентифицировать диплоидные овсы, участвовавшие в образовании АС-геномных видов, наиболее вероятными предками их геномов считаются *A. canariensis* – носитель АС-гена и *A. ventricosa* Balan. – донор С-гена [26, 27]. Не исключено, однако, что эти тетраплоиды мог-

ли образоваться независимо друг от друга от одних и тех же или разных диплоидных предков.

В настоящем исследовании с помощью С-метода дифференциального окрашивания хромосом был проведен сравнительный цитогенетический анализ нескольких образцов трех тетраплоидных видов овса с АС-геномным составом для уточнения их филогенетического родства и оценки внутривидового полиморфизма. Помимо этого, геномы *A. magna*, *A. insularis* и *A. murphyi* были охарактеризованы методом гибридизации *in situ* с пробями 45S и 5S рРНК генов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были изучены два образца *Avena insularis*, три образца *A. murphyi* и восемь – *A. magna* различного происхождения из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова (табл. 1).

Пробы ДНК. Клон рТа794 является BamHI-фрагментом 5S рДНК пшеницы длиной 410 пн, клонированным в плазмиде рBR322 [28]. Клон рТа71 представляет собой EcoRI-фрагмент генов 18S–26S рДНК длиной 9 тпн, выделенных из пшеницы и субклонированных в плазмиде рUC19 [29]. Пробы ДНК метили биотином или дигоксигенином с помощью ник-трансляции в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя (“Roche”, Germany). Для гибридизации *in situ* использовали протокол, приведенный в работе [30], с небольшими модификациями.

Исследование кариотипов проводили с помощью стандартного метода С-дифференциального

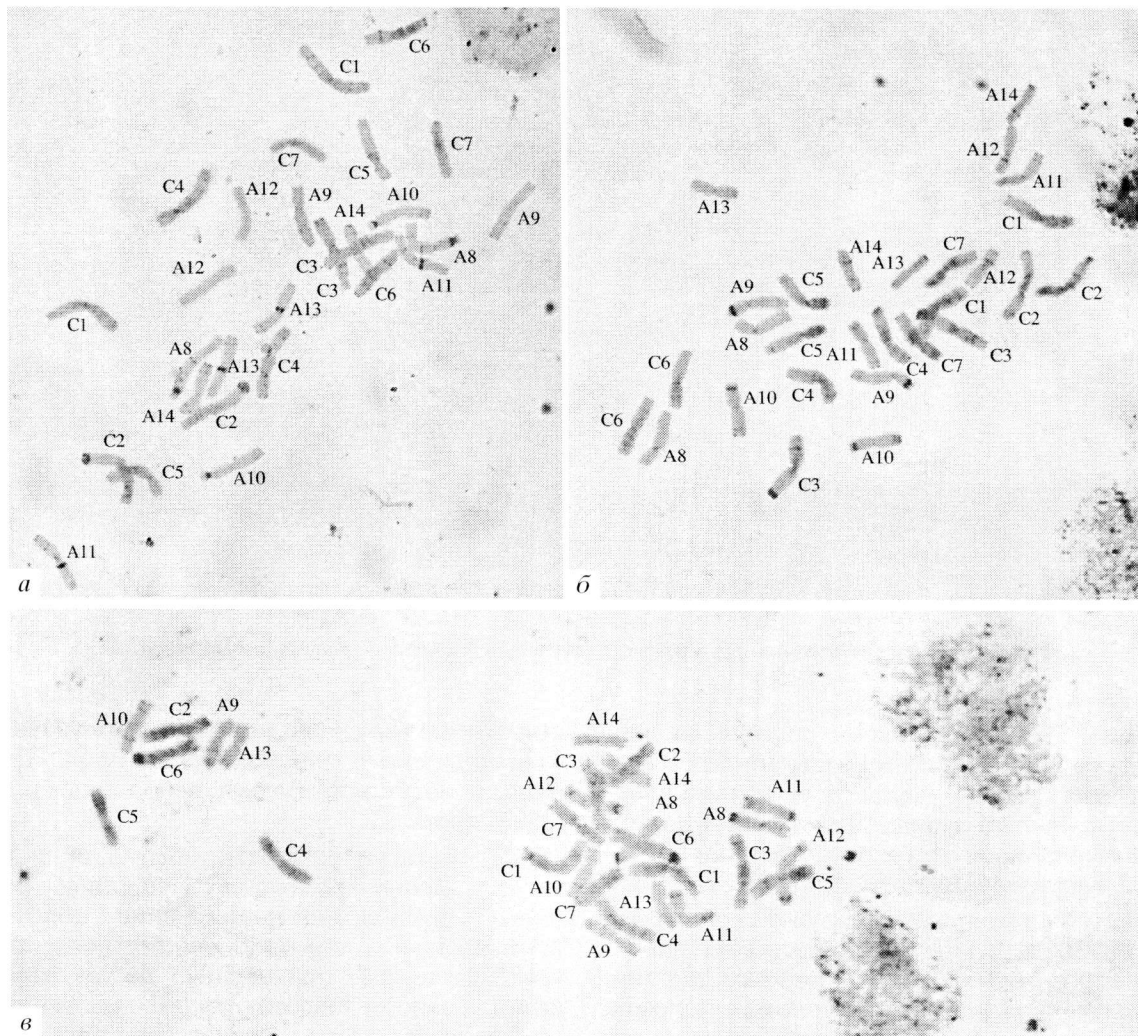


Рис. 1. Дифференциально окрашенные метафазные пластинки видов овса: а – *A. magna* (к-1787), б – *A. murphyi* (к-2088), в – *A. insularis* (к-2102).

окрашивания хромосом [31]. Поскольку гомеология индивидуальных хромосом овса неизвестна, классификацию хромосом каждого из исследованных нами видов проводили по цитологической номенклатуре. Известно, что хромосомы А- и С-геномов отличаются по содержанию и характеру распределения гетерохроматина, в связи с чем их можно легко дифференцировать по этому признаку. На первом этапе мы разделяли хромосомы видов по А- и С-геномам, а затем в пределах каждого из них хромосомы ранжировали по длине.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Цитогенетическое исследование подтвердило, что все исследованные образцы *A. murphyi*, *A. magna* и *A. insularis* являются тетраплоидами $2n = 4x = 28$ с геномным составом АС. Хромосомы генома А характеризуются невысоким содержанием гетерохроматина, представленного мелки-

ми, но четкими С-блоками, расположенными в интерстициальных участках хромосом. Хромосомы генома С, как правило, крупнее хромосом А-генома. Их основную часть составляет так называемый “диффузный” гетерохроматин (дифГХ), имеющий более темную в сравнении с эухроматическими районами окраску и нечеткие границы. На его фоне можно наблюдать более ярко окрашенные и четко очерченные гетерохроматические блоки (рис. 1).

Avena insularis Ladiz.

Стебли восходящие. Листья вертикальные, непущенные. Междоузлия и узлы голые. Язычок удлинённый. Метелка короткая, малоколосковая, односторонняя, поникающая, рыхлая. Колоски большого размера, трехмногоцветковые. Колосковые чешуи длинные, почти равные, с 9–10 жилками. Цветковые чешуи средней длины, силь-

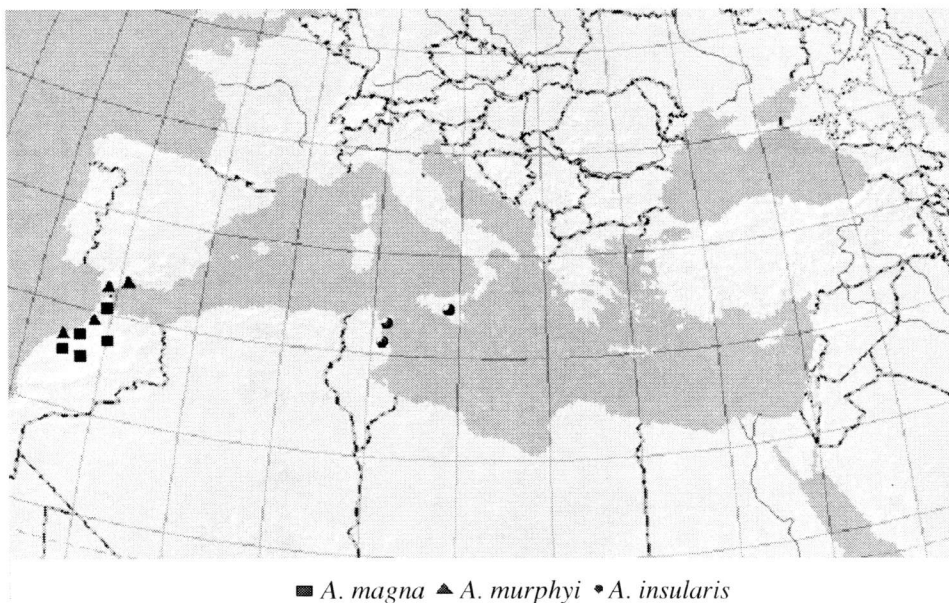


Рис. 2. Ареалы тетраплоидных дикорастущих видов *A. magna*, *A. murphyi* и *A. insularis*.

но опушены. Нижняя цветковая чешуя на верхушке с двумя шиловидными заострениями. Ость прикрепляется ниже 1/3 части от верхушки цветковой чешуи. Только один самый нижний цветок в колоске с соцветием и при созревании легко осыпается. Каллус эллиптический [32].

A. insularis был впервые обнаружен на острове Сицилия в 1996 г. Четыре популяции были найдены между городами Gela и Butera на юге Сицилии, где они произрастали в ненарушенных ценозах, на холмах на высоте 50–150 м над ур. моря на аллювиальных глинистых почвах с песчано-глинистой и конгломератно-каменистой подпочвой. Впоследствии популяции этого вида были обнаружены в Тунисе в Temime и Bargon (рис. 2).

В состав кариотипа *A. insularis* входят 14 пар хромосом, хорошо различимых по морфологии и рисункам дифференциального окрашивания (рис. 1, в), что позволило провести их точную идентификацию. По кариотипу хромосомы 1–7 были отнесены к С-геному и обозначены соответственно С1–С7, хромосомы 8–14 – к геному А (А8–А14) (рис. 3). Две пары хромосом А-генома – А11 и А12 – несут спутники в коротком плече. Ниже приводится описание всех индивидуальных хромосом данного вида (табл. 2).

С1 – крупная метацентрическая хромосома. Основную часть короткого и приблизительно две трети длинного плеча составляет дифГХ, более интенсивно окрашенный в проксимальной части хромосомы. На его фоне выявляются два маркерных ярко окрашенных блока в коротком плече, делящие его на три примерно равные части. В прицентромерном участке длинного плеча хорошо заметна серия от двух до трех небольших бло-

ков. Кроме того, в его дистальной трети наблюдается еще один четкий маркерный блок. На обоих плечах могут встречаться небольшие теломерные блоки.

С2 – метацентричная хромосома, лишь немного уступающая хромосоме С1 по длине. Диффузный ГХ расположен по всей длине короткого и проксимальной половине длинного плеча. Крупные интенсивно окрашенные блоки, характерные для этой хромосомы, расположены в теломере короткого плеча и прицентромерно, в середине и дистальной части длинного плеча, примерно на одинаковом расстоянии друг от друга. Помимо них в данной хромосоме можно наблюдать ряд более мелких интеркалярных блоков в коротком плече.

С3 – большая субacroцентричная хромосома. Диффузный ГХ занимает всю ее длину. Характерным признаком хромосомы С3 являются яркий субтеломерный блок в коротком плече и комплекс интенсивно окрашенных С-бэндов в проксимальной части длинного плеча, вблизи которого локализован яркий маркерный С-блок. В дистальной части длинного плеча выявляется интеркалярный С-сегмент, значительно варьирующий по размеру. В обоих плечах можно наблюдать более мелкие полиморфные ГХ-блоки.

С4 – субметацентричная хромосома средней величины. Диффузный ГХ локализован по всей длине хромосомы. Один крупный интеркалярный блок находится в дистальной трети короткого плеча, а в середине длинного маркерные блоки двойные. Четкий С-блок примыкает к центромере. В коротком плече иногда встречаются небольшие теломерные блоки.

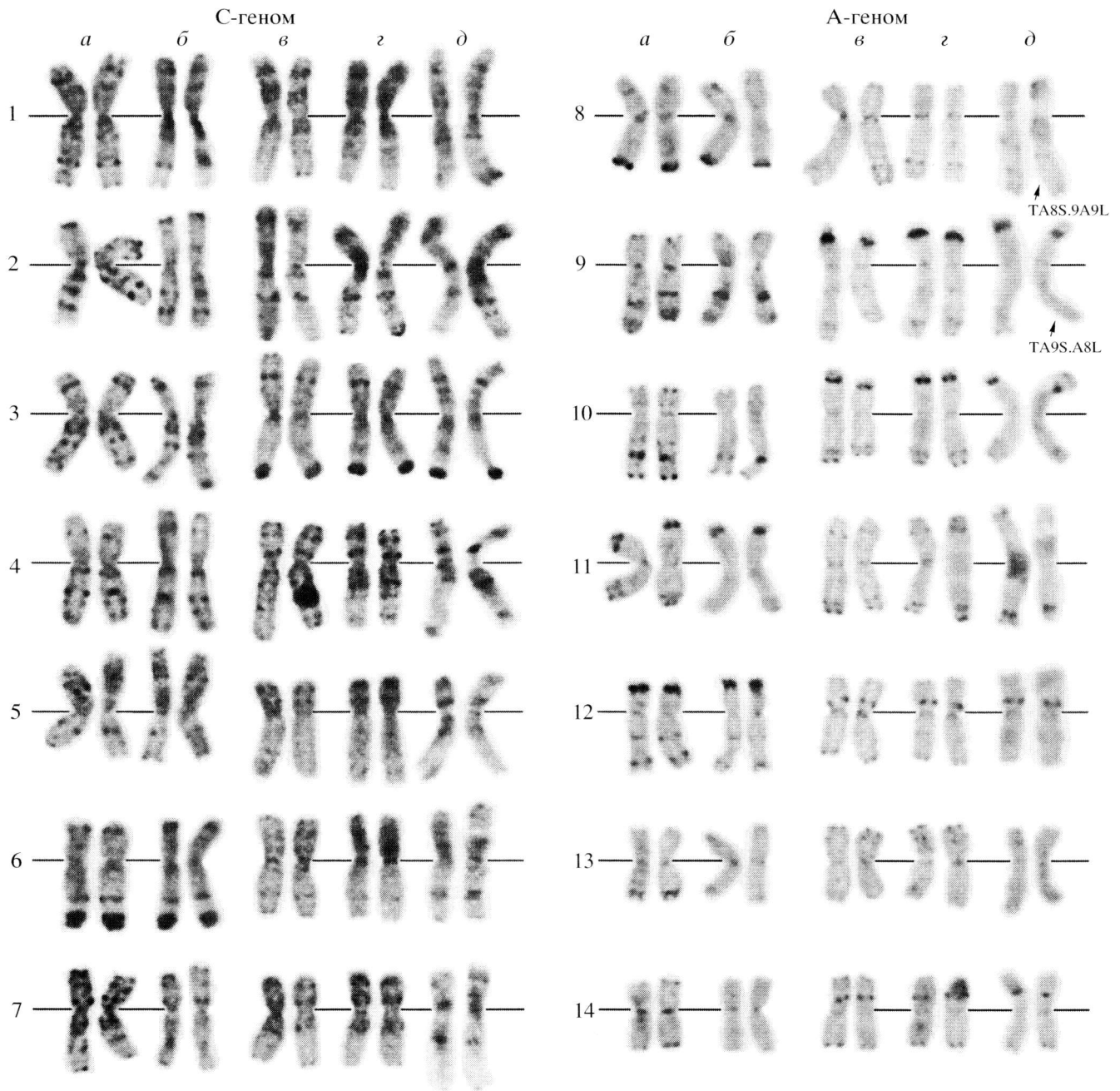


Рис. 3. Рисунки дифференциального окрашивания хромосом в кариотипах разных образцов *A. insularis* (а – к-2102, б – к-2067) и *A. murphyi* (в – к-2088, г – к-2101, д – к-1986).

С5 – субметацентрик. Диффузный ГХ расположен по всей длине хромосомы, однако в проксимальной половине короткого плеча интенсивность его окрашивания заметно выше. Яркие маркерные С-бэнды локализованы посередине длинного плеча. Ряд крупных ГХ-блоков можно наблюдать в середине короткого плеча, примерно на границе распространения дифГХ.

С6 – субметацентричная хромосома среднего размера. Она характеризуется очень крупным,

интенсивно окрашенным, двойным маркерным блоком в теломерном районе длинного плеча. Диффузный ГХ занимает все короткое плечо и большую часть длинного. Его границами служат отчетливые яркие блоки, расположенные в субтеломерном участке короткого и дистальной трети длинного плеча. На фоне дифГХ в проксимальной части хромосомы можно наблюдать ряд интерстициальных блоков, лишь незначительно отличающихся от него по интенсивности окрашивания.

Таблица 2. Морфометрические параметры хромосом тетраплоидных видов овса с AC-геномным составом (для сравнения использована классификация хромосом в работе Jellen et al. [23])

Хромосома	<i>A. insularis</i>			<i>A. murphyi</i>			<i>A. magna</i>		
	отн. длина, %	плечевой индекс	классификация по [23]	отн. длина, %	плечевой индекс	классификация по [23]	отн. длина, %	плечевой индекс	классификация по [23]
C1	9.63	1.08	M1	9.79	1.05	1	9.43	1.04	1
C2	8.55	1.08	M2	9.48	1.18	3	8.21	1.37	3
C3	8.31	1.66	SM3	8.70	1.12	2	8.04	1.19	2
C4	7.76	1.38	M3	7.53	1.81	5	7.86	1.86	4
C5	7.38	1.38	SM2	7.45	1.97	4	7.62	1.80	6
C6	7.28	1.72	SM1	6.99	1.36	6	7.04	0.99	5
C7	7.11	1.45	SM4	6.86	1.60	7	6.97	1.86	7
A8	7.05	1.18	M4	6.91	1.91	8	7.12	1.66	8
A9	7.04	1.02	SM2	6.90	1.88	9	6.81	1.57	10
A10	6.82	2.26	ST1	6.53	1.21	12	6.64	1.24	12
A11	6.50	1.07	SAT2	6.21	1.21	11	6.43	1.07	9
A12	6.06	2.08	SAT1	6.14	1.27	14	6.39	2.17	14
A13	5.54	1.16	SM6	5.57	1.18	13	6.19	1.17	11
A14	4.96	1.24	M5	4.94	1.19	10	5.25	1.24	13

C7 – субметацентрик. Диффузный GX расположен по всей длине короткого плеча и проксимальной трети длинного. Теломера короткого плеча содержит яркий GX сегмент, а два крупных C-блока делят короткое плечо на три приблизительно равные части. В проксимальной части длинного плеча выявляется серия из двух-трех GX блоков среднего размера. В середине и теломерном районе длинного плеча располагаются небольшие маркерные C-блоки.

A8 – небольшой метацентрик с характерным крупным теломерным блоком в длинном плече и слабым интерстициальным полиморфным бэндом в проксимальной трети короткого плеча. Небольшой отчетливый блок расположен в прицентромерном участке короткого плеча.

A9 – субметацентричная хромосома со слабым теломерным бэндом в коротком плече и в районе центромеры. В середине длинного плеча локализован яркий интерстициальный блок среднего размера, а дистальная четверть плеча содержит диффузный GX.

A10 – акроцентрик с четкими теломерными блоками в обоих плечах, крупным маркерным блоком в дистальной трети длинного плеча и относительно слабым C-бэндом в его середине. В проксимальной трети короткого плеча локализован небольшой маркерный GX-блок. Слабые полиморфные интерстициальные бэнды расположены прицентромерно в длинном плече.

A11 – метацентричная спутничная хромосома, характеризующаяся крупным приядрышковым GX блоком. Длинное плечо несет теломерный C-бэнд средней величины и немного более крупный субтеломерный.

A12 – субметацентрик со спутником средней величины в коротком плече. Район вторичной перетяжки содержит крупный C-блок, по размеру практически полностью соответствующий с величиной самого спутника. Отчетливые C-блоки расположены в середине длинного плеча и в его субтеломерном районе.

A13 – небольшая метацентричная хромосома, практически полностью лишенная гетерохроматина: слабые бэнды заметны лишь в районе обеих теломер и субтеломерном районе длинного плеча.

A14 – маленький субметацентрик. Теломеры и центромера несут едва заметные полиморфные блоки.

Методом двойной флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с пробами pTa71 и pTa794 на хромосомах *A. insularis* было выявлено восемь сигналов pTa794 зонда, при этом две хромосомы содержали по два ярких сигнала, а две пары других хромосом – по одному значительно более слабому сайту (рис. 4,а). Гибридизация с зондом pTa71 дала десять сигналов, из них четыре очень крупных, а шесть – точечных (рис. 4,б). Таким образом, геном *A. insularis* содержит четыре локуса 5S рДНК, а также два мажорных и три минорных локуса 45S рДНК. Одна из хромосом, несущих ма-

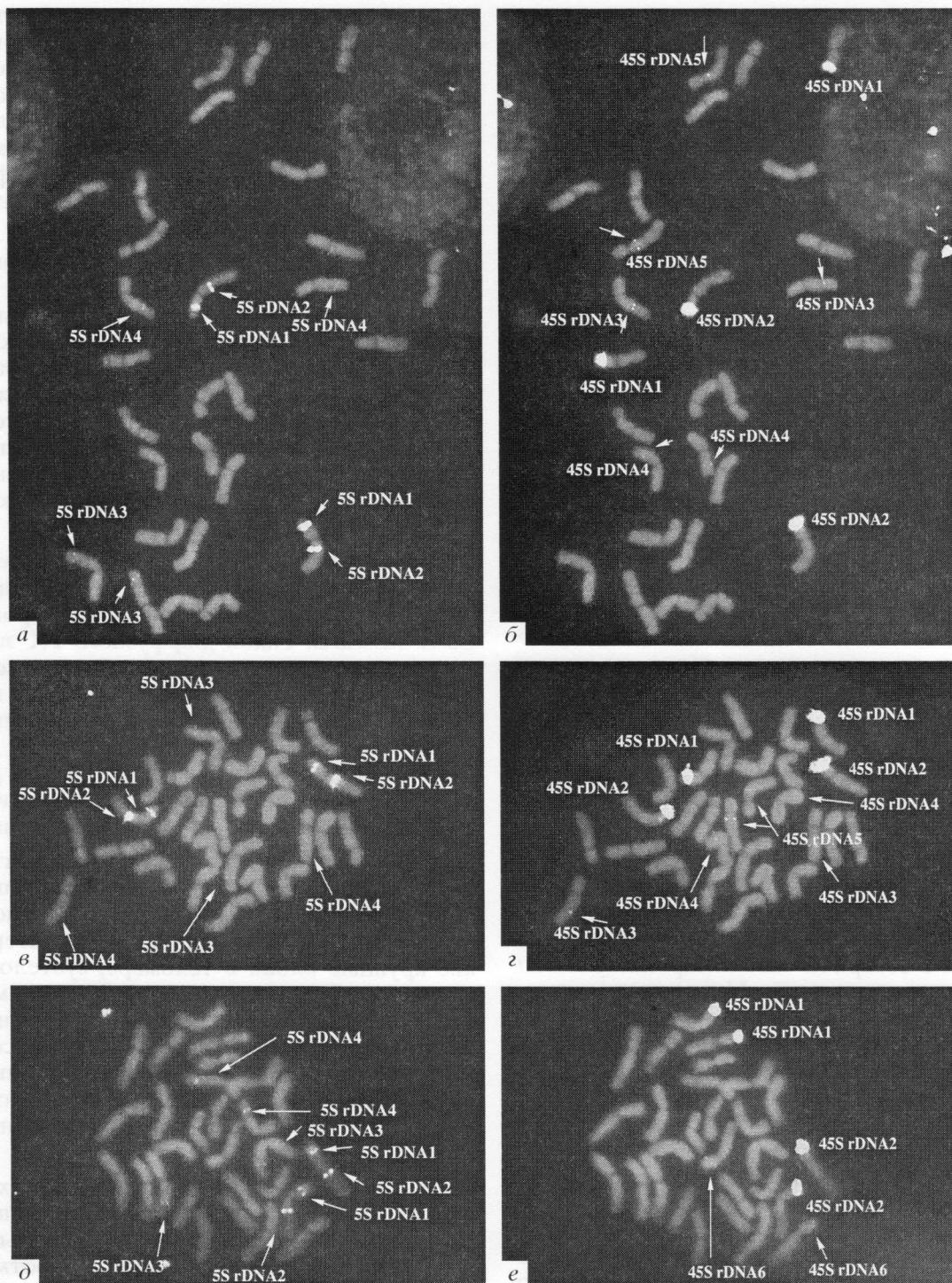


Рис. 4. Гибридизация *in situ* с пробами рТа71 (б, з, е) и рТа794 (а, в, д) на хромосомах *A. insularis* к-2102 (а, б), *A. magna* к-1787 (в, з), *A. murphyi* к-2088 (д, е). Локусы генов рРНК отмечены стрелками и обозначены 5S rDNA1–5S rDNA4 и 45S rDNA1–45S rDNA6.

жорный NOR (45S rDNA2), также содержит два крупных локуса 5S рРНК генов – в коротком плече (5S rDNA1) и в проксимальной области длинного плеча (5S rDNA2; рис. 1,а), тогда как на второй ядрышкообразующей хромосоме локусы 5S рРНК не обнаружены.

В геноме *A. insularis* еще одна хромосома несла одновременно минорные локусы как 5S, так и 45S рРНК генов. Они находились примерно в середине длинного плеча одной из субметацентрических хромосом, причем сайт 5S (5S rDNA4) располагался дистальнее минорного локуса 45S (45S rDNA3) рРНК.

Четвертый локус 5S рДНК и два минорных локуса 45S рДНК были распределены по разным хромосомам: 5S rDNA3 – в проксимальной четверти плеча крупной метацентрической хромосомы, 45S rDNA4 – примерно в середине плеча небольшой метацентрической хромосомы и 45S rDNA5 – в проксимальном участке акроцентрической хромосомы.

Avena murphyi Ladiz.

Стебли коленчатые, позднее выпрямляются. Листья горизонтальные, слегка шероховатые, опушенные или голые, листовые влагалища гладкие. Язычок укороченный или удлинённый. Метелка раскидистая, малоколосковая, с редкими длинными и широкими 2–4-цветковыми колосками. Колоски большого размера. Колосковые чешуи почти равные, с 8 жилками и широкими, равными, большей частью неопушенными цветковыми чешуями. Ость выходит в 1/4 части от верхушки нижней цветковой чешуи. Нижняя цветковая чешуя на верхушке с двумя зубцами. Только один самый нижний цветок в колоске с сочленением и при созревании легко осыпается. Каллус округлый [32].

A. murphyi происходит из локального ареала на юге Испании (между Tarifa и Vejer de la Frontera), где произрастает в типично Средиземноморском климате на мощных аллювиальных почвах в ненарушенных ассоциациях с гексаплоидным видом овса *A. sterilis*, с которыми он морфологически схож. В 1985 г. кроме сборов на юго-западе Испании (прибрежная зона), где был найден ряд образцов *A. murphyi*, немногочисленные формы были обнаружены в северной части Марокко у г. Танжер (побережье, см. рис. 2). Марокканская популяция *A. murphyi* приурочена к богатым аллювиальным почвам, где ведется интенсивная сельскохозяйственная деятельность, которая может привести к уничтожению данного вида или вытеснению его более агрессивным членом данного сообщества гексаплоидом *A. sterilis*, который интенсивно засоряет посева. В последнее время в Испании были найдены только несколько растений *A. murphyi* на юге страны в провинции Cadiz, что подтверждает предположение о резком сокращении численности или частичном исчезновении этого вида с испанской территории (см. рис. 2).

В кариотипе *A. murphyi* 14 пар хромосом, хорошо различающихся по морфологии (табл. 2) и рисункам дифференциального окрашивания (рис. 1,б). Наличие диффузного ГХ является характерным признаком хромосом С-генома (пары С1–С7), тогда как хромосомы генома А (А8–А14) его лишены (рис. 3,в–д).

С1 – крупный метацентрик. Диффузный гетерохроматин располагается по всей длине хромо-

сомы, за исключением дистальной четверти длинного плеча, но в проксимальной части хромосомы он окрашен более интенсивно. В коротком плече наблюдается крупный маркерный блок с нечеткими границами на расстоянии 1/3 от теломеры. Серия из трех сравнительно мелких блоков расположена в середине длинного плеча на фоне небольшого участка дифГХ. На теломерах обоих плеч выявляются слабые блоки.

С2 – большая метацентричная хромосома. Диффузный ГХ локализован в коротком плече и большей части длинного, за исключением его дистальной трети. На его фоне видны яркие маркерные С-бэнды в прицентромерном районе и примерно в середине длинного плеча. Между центральным блоком и теломерой выявляется относительно мелкий С-сегмент, делящий этот участок приблизительно пополам. В дистальной четверти короткого плеча расположен характерный блок ГХ с нечеткими границами.

С3 – метацентрик с характерным четким и очень крупным теломерным блоком в длинном плече, похожий на маркерный блок хромосомы С6 *A. insularis*. Район диффузного ГХ занимает проксимальную зону длинного плеча и все короткое. В коротком плече находится серия из двух-трех маркерных С-блоков, расположенных примерно на одинаковом расстоянии друг от друга, и небольшой теломерный бэнд. В середине длинного плеча выявляется сравнительно слабоокрашенный участок ГХ с нечеткими границами.

С4 – ярко выраженная субметацентричная хромосома. Диффузный ГХ расположен по всему короткому плечу и в проксимальной половине длинного. Для короткого плеча характерны яркие крупные блоки в теломере, субтеломерном участке и вблизи центромеры. В проксимальной трети длинного плеча локализована серия полиморфных по размеру С-бэндов, а в его середине заметен очень мелкий блок, ограничивающий участок расположения дифГХ. Небольшой полиморфный С-блок расположен субтерминально в длинном плече.

С5 – субметацентричная хромосома, характеризующаяся градиентным снижением интенсивности окрашивания дифГХ от теломеры короткого плеча к теломере длинного. В коротком плече встречаются два нечетко очерченных характерных блока (у центромеры и субтерминально), незначительно отличающихся от дифГХ по интенсивности окрашивания. В дистальной трети и субтеломерном районе длинного плеча имеется два слабоокрашенных небольших блока.

С6 – небольшая предположительно метацентричная хромосома. Темноокрашенный дифГХ можно наблюдать в коротком плече, за исключением субтеломерного района, и в проксимальной четверти длинного. Четкий маркерный блок рас-

положен в дистальной трети длинного плеча, а два-три мелких бэнда локализованы прицентромерно и в теломере этого же плеча. В коротком плече расположены несколько крупных, неясно очерченных блоков, незначительно отличающихся от диффузного ГХ по интенсивности окрашивания.

C7 – относительно мелкая субметацентричная хромосома. Диффузный ГХ размещается в проксимальной трети длинного плеча и в коротком плече. Маркерные блоки расположены вблизи центромеры и субтеломерно в коротком плече. Серия варьирующих по величине блоков наблюдается в проксимальной трети длинного плеча, а его теломера несет четкий С-сегмент.

A8 – субметацентричная хромосома с четко окрашенным центромерным ГХ и ярким С-бэндом в дистальной трети длинного плеча. Блок в его проксимальной трети полиморфен и явно выражен только у одного образца из трех. Оба плеча несут маленькие теломерные блоки.

A9 – субметацентрик, несущий спутник. В районе вторичной перетяжки локализован крупный, ярко окрашенный участок приядрышкового ГХ. Небольшие, но четкие блоки наблюдаются примерно в середине, в субтеломерном и теломерном участках длинного плеча. Центромера также четко окрашена.

A10 – метацентричная спутничная хромосома. В районе вторичной перетяжки присутствует крупный маркерный блок. В субтеломерном и теломерном участках длинного плеча выявляются небольшие четко окрашенные ГХ-сегменты.

A11 – метацентрик среднего размера, сходный с хромосомой A10 по распределению ГХ-блоков, но не несущий спутника. В субтерминальном и теломерном участках длинного плеча она также содержит яркие ГХ-блоки, а в коротком плече наблюдается небольшой субтеломерный С-блок, отстоящий от теломеры немного дальше по сравнению с блоком длинного плеча.

A12 – субметацентричная хромосома с ярким, сравнительно крупным бэндом в проксимальном участке короткого плеча. Обе теломеры несут небольшие ГХ-блоки. Помимо этого в середине длинного плеча наблюдается очень слабый точечный ГХ-блок.

A13 – маленький метацентрик с характерными С-бэндами в проксимальной и дистальной частях и теломере короткого плеча. Очень слабый бэнд можно заметить в субтеломерном районе длинного плеча.

A14 – маленький метацентрик с ярким блоком примерно в середине длинного плеча и отчетливыми теломерными блоками. Между маркерным проксимальным и теломерным блоками короткого плеча наблюдается очень мелкий, слабоокрашенный С-бэнд.

С помощью гибридизации *in situ* на хромосомах *A. murphyi* было выявлено четыре локуса 5S рРНК генов (на гаплоидный геном), два из которых мажорные и располагаются на одной спутничной хромосоме: вблизи вторичной перетяжки короткого (5S rDNA1) и проксимальной четверти длинного (5S rDNA2) плеч. Два других локуса являются минорными и локализованы на разных хромосомах: в дистальной трети одного из плеч крупной метацентрической (5S rDNA3) и дистальном участке длинного плеча акроцентрической хромосом (5S rDNA4). Локусы 45S рРНК генов (проба рТа71) обнаружены на трех парах хромосом. Мажорные сигналы расположены в районе NOR двух пар спутничных хромосом. Одна из них (45S rDNA2) несет также мажорные сайты 5S рДНК в коротком и длинном плечах. Минорный локус 45S рДНК очень малой интенсивности отмечен в дистальной трети короткого плеча акроцентрической хромосомы. Поскольку этот локус является уникальным для *A. murphyi*, его обозначили 45S rDNA6 (рис. 4,е).

Avena magna Murphy et Terr.

Стебли восходящие. Листья имеют различное расположение, с опушением или без. Междоузлия и узлы голые или опушены. Язычок удлинённый. Метелка малоколосковая, односторонняя, понижающая, рыхлая. Колоски большого размера 3–4-цветковые. Колосковые чешуи широкие, длинные, перепончатые, немного неравные с 8–10 жилками. Ость прикрепляется в 1/2 части от верхушки цветковой чешуи. Цветковые чешуи длинные, сильно опушены бесцветными или окрашенными в темный цвет волосками. Нижняя цветковая чешуя на верхушке с двумя зубцами. Только один самый нижний цветок в колоске с сочленением и при созревании легко осыпается. Каллус сильно опушенный, округлый [32].

Первые образцы эндемичного вида *A. magna* (син. *A. maroccana* Gdgr.) были собраны в 1964 г. на Марокканском побережье, а позднее более многочисленные популяции были найдены южнее г. Рабат на высоте 1000–1300 м над ур. моря, юго-восточнее г. Касабланка на высоте 500 м над ур. моря и северо-западнее г. Fes на склонах Атласских гор на высоте до 600 м над ур. моря (рис. 2). Во всех местообитаниях этот вид произрастает на плодородных рыхлых красновато-коричневых аллювиальных, суглинистых почвах, часто по канавам в смеси с *A. sterilis*, но, в отличие от него, в меньшей степени засоряет поля. Однако была описана большая популяция *A. magna*, растения которой достигали в высоту 2 м и с успехом засоряли зерновые культуры, образуя полог над ними. Поскольку популяция *A. magna* была приурочена к богатым аллювиальным почвам, где ведется интенсивная сельскохозяйственная деятельность,

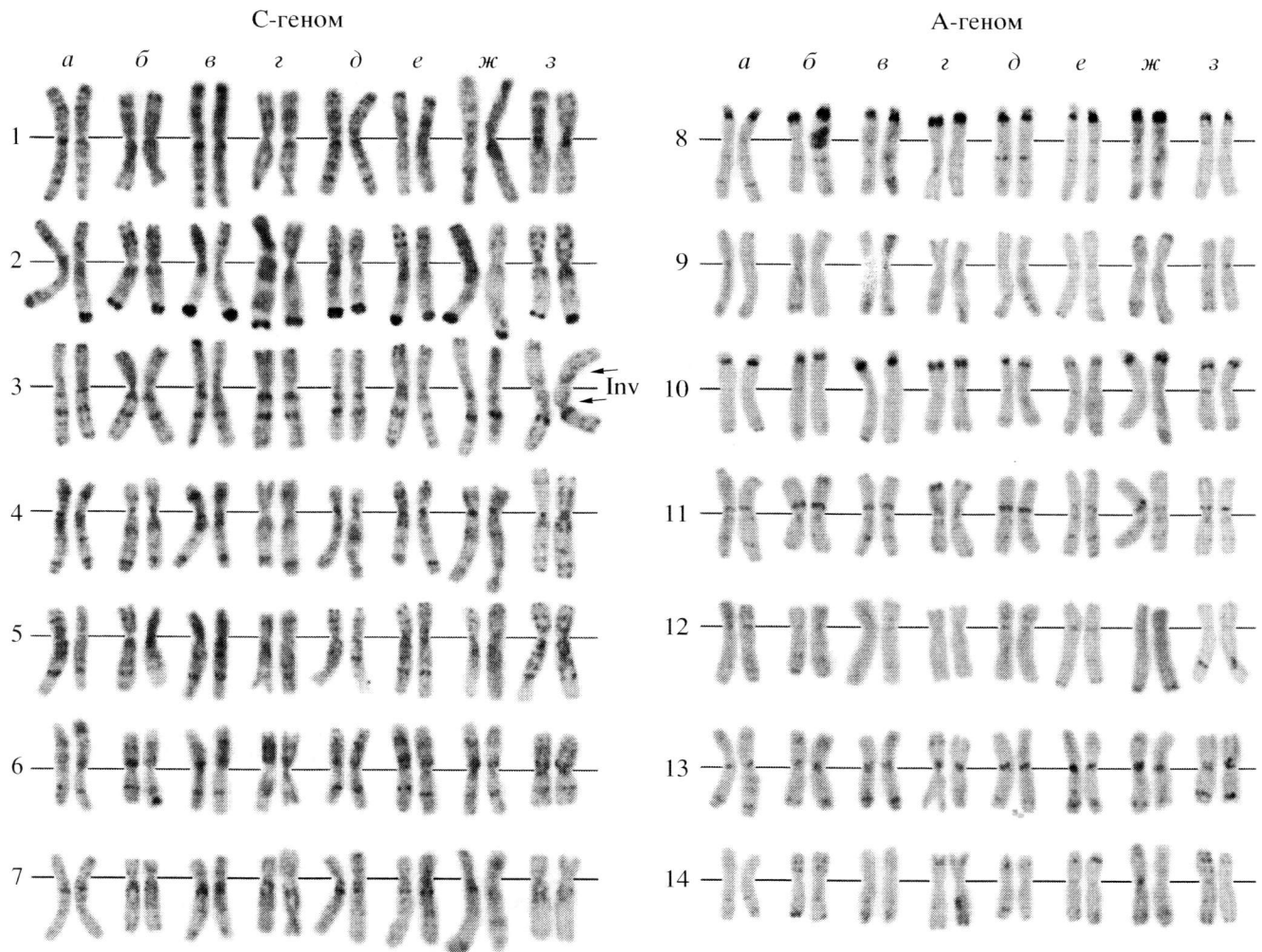


Рис. 5. Рисунки дифференциального окрашивания хромосом в кариотипах разных образцов *A. magna*: а – к-2100, б – к-1852, в – к-1786, г – к-1896, д – к-1787, е – к-144, ж – к-161, з – к-1863.

это может привести к ее уничтожению или вытеснению более агрессивным членом данного сообщества гексаплоидом *A. sterilis*. Сообщения о том, что на о. Сардиния найдены тетраплоидные образцы, похожие на *A. magna*, не подтвердились.

Avena magna, как и два вышеописанных вида, является тетраплоидом ($2n = 4x = 28$) с геномом АС. Хромосомы геномов А и С разделяли по признаку наличия дифГХ (рис. 1.а). Классификацию хромосом каждого генома проводили, ранжируя их в порядке уменьшения длины (табл. 2). Описание индивидуальных хромосом приведено ниже (рис. 5).

С1 – самая крупная метацентрическая хромосома. Диффузный ГХ расположен практически по всей длине хромосомы, однако дистальные трети обоих плеч окрашены более слабо. Яркий маркерный блок находится вблизи центромеры длинного плеча и в его дистальной трети, ограничивая участок темного диффузного ГХ. Между

этими четкими блоками имеется серия более мелких интерстициальных бэндов. В коротком плече наиболее заметны маркерные блоки: приблизительно в середине плеча и двойной – в субтеломерном районе. Кроме того, в коротком плече также встречаются более мелкие интерстициальные блоки.

С2 – субметацентрик с очень крупным, ярким маркерным блоком в теломере длинного плеча. Диффузный ГХ более интенсивно окрашен в коротком плече и проксимальном районе длинного. Два маркерных блока локализованы приблизительно в середине и дистальной трети короткого плеча. В середине длинного плеча и его прицентромерном районе можно наблюдать не крупные полиморфные блоки ГХ.

С3 – приблизительно метацентричная хромосома. Диффузный ГХ окрашен равномерно по всей длине хромосомы. Характерные крупные С-бэнды расположены прицентромерно и в середи-

не длинного плеча, постоянный блок в субтеломерной области значительно меньше их по размеру. У большинства образцов также встречается достаточно большой С-бэнд, расположенный в дистальной трети длинного плеча. Маленькие блоки выявляются приблизительно в середине и вблизи теломеры короткого плеча. У образца к-1863 выявлена парацентрическая инверсия хромосомы С3.

С4 – субметацентрик. Диффузный ГХ в проксимальной области хромосомы и дистальной трети длинного плеча окрашен более интенсивно. Четкий маркерный блок локализован приблизительно в середине короткого плеча и в районе центромеры. В длинном плече крупный блок ГХ находится в субтеломерном участке, а более мелкий С-бэнд – в его середине. Кроме этого, длинное плечо несет серию слабых интерстициальных бэндов.

С5 – метацентричная хромосома средней величины. Диффузный ГХ в прицентромерном районе короткого плеча и проксимальной трети длинного окрашен темнее, чем в дистальных районах. Яркий маркерный С-бэнд локализован приблизительно в центре короткого плеча и на его теломере. Характерный крупный блок располагается в дистальной трети длинного плеча, а в его проксимальной половине на фоне дифГХ можно наблюдать серию небольших полиморфных С-блоков.

С6 – небольшая метацентричная хромосома. Диффузный ГХ локализован преимущественно в коротком плече. Серии из нескольких крупных четких С-бэндов расположены в прицентромерном районе и в середине короткого плеча. Яркий маркерный блок локализован приблизительно в центре длинного плеча.

С7 – субметацентрик. Наиболее явная зона дифГХ находится в проксимальном районе длинного плеча. Характерный четкий блок локализован в середине короткого плеча, а в длинном плече можно выделить несколько маркерных блоков: в районе центромеры, более слабые – в середине плеча и в субтеломерном участке. Длинное плечо также несет ряд полиморфных интерстициальных блоков.

А8 – субметацентричная хромосома со спутником. В районе вторичной перетяжки находится очень крупный маркерный блок. В коротком плече к нему примыкает еще один мелкий полиморфный бэнд. В длинном плече локализованы два четких маркерных блока: в проксимальной и дистальной третях.

А9 – субметацентрик. Центромера и теломеры обоих плеч содержат небольшие, но четкие С-бэнды. Длинное плечо несет два некрупных ГХ-блока в дистальной трети.

А10 – приблизительно метацентричная хромосома, несущая спутник с крупным блоком прияд-

рышкового ГХ. В теломере и субтерминальном участке длинного плеча имеются небольшие С-бэнды.

А11 – метацентричная хромосома, отличительным признаком которой является крупный ярко окрашенный С-бэнд, прилегающий к прицентромерному ГХ, в коротком плече, и маркерные блоки в дистальной трети длинного плеча. В перицентромерной области длинного плеча также наблюдается небольшой, но четкий С-блок. Обе теломеры несут яркие ГХ-блоки.

А12 – акроцентрик. Приблизительно в середине короткого плеча можно наблюдать нечеткий маркерный ГХ-сегмент. В дистальной трети длинного плеча расположен характерный яркий С-бэнд. Теломеры обоих плеч несут небольшие блоки ГХ. В длинном плече наблюдаются также небольшие полиморфные блоки в середине и субтеломерной области.

А13 – метацентричная хромосома с характерными четкими крупными блоками, расположенными субтеломерно и вблизи центромеры короткого плеча. Субтеломерные блоки в длинном плече обычно более ярко окрашены, чем в коротком.

А14 – примерно метацентричная хромосома с серией из одного-двух небольших полиморфных блоков в коротком плече и одного-двух небольших интерстициальных бэндов в дистальной половине длинного плеча. В теломере длинного плеча иногда встречаются небольшие ГХ-сегменты.

Рисунок мечения хромосом *A. magna* рТа71 и рТа794 зондами, выявленный методом двойной FISH, был аналогичен рисунку другого вида этой группы – *A. insularis* (рис. 4, а, б), но несколько отличался от *A. murphyi*. В частности, у *A. magna* присутствовало четыре локуса 5S рДНК. Из них два более крупных были локализованы на одной хромосоме (в спутнике дистальнее основного NOR) и в проксимальном участке длинного плеча. Более мелкие сигналы рТа794 зонда найдены в двух разных парах хромосом, причем в длинном плече субметацентрической хромосомы локус 5S rDNA4 был сцеплен с минорным локусом 45S рДНК (45S rDNA3), как и у *A. insularis*. Один мажорный и два минорных локуса 45S rDNA обнаружены на трех разных парах хромосом, относительно расположение сигналов гибридизации было сходно с таковым у *A. insularis* (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Цитогенетический анализ трех тетраплоидных видов овса – *Avena insularis*, *A. magna* и *A. murphyi* – с помощью С-метода дифференциального окрашивания хромосом и гибридизации *in situ* с пробами рТа794 (5S) и рТа71 (45S рДНК) выявил их определенное сходство по структуре кариоти-

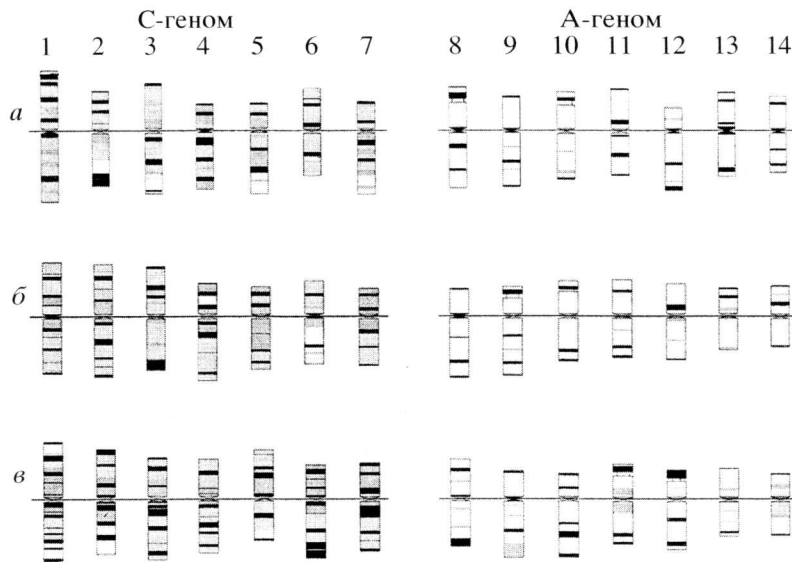


Рис. 6. Идиограмма дифференциально окрашенных хромосом видов *A. magna* (а), *A. murphyi* (б) и *A. insularis* (в).

пов, рисункам дифференциального окрашивания хромосом и частично по расположению локусов рРНК генов. Эти факты свидетельствуют о близком эволюционном родстве геномов изученных видов.

Особенности морфологии и распределения ГХ-блоков на хромосомах дали возможность проводить полную идентификацию индивидуальных хромосом *Avena insularis*, *A. magna* и *A. murphyi*. Рисунки бэндинга исследованных нами образцов в целом соответствовали опубликованным ранее [14, 23, 25, 33], несмотря на то, что нами был изучен новый материал и использован другой вариант метода С-окрашивания. Совместимость методов исследования позволила не только провести сравнение изученных нами образцов между собой, но и сопоставить полученные данные с результатами других авторов. Это особенно важно, поскольку число публикаций в этой области весьма ограничено.

Интересно отметить, что уровень полиморфизма ГХ районов хромосом *A. insularis*, *A. magna* и *A. murphyi* оказался сравнительно невысоким. Незначительную вариацию рисунков дифференциального окрашивания хромосом географически отдаленных популяций *A. insularis* отмечали ранее в других работах [33]. По-видимому, исследованные виды овса характеризуются также низкой частотой хромосомных aberrаций. Так, среди изученного нами материала выявлены лишь две хромосомные перестройки. Реципрокная транслокация между хромосомами А8 и А9 обнаружена в кариотипе линии к-1986 *A. murphyi*, а у образца к-1863 *A. magna* идентифицирована парацентрическая инверсия хромосомы С3, приведшая к значительному изменению ее морфологии

(рис. 5,з). Еще одна парацентрическая инверсия была идентифицирована у тунисского образца *A. insularis* на основании анализа мейотической конъюгации хромосом гибридов растений тунисской и сицилийской популяций [33]. В отличие от описанной нами инверсии, перестройка у *A. insularis* не привела к изменению морфологии и рисунков окрашивания хромосом, что дало авторам основание предположить, что точки разрывов при инверсии находились на одинаковом расстоянии от центромеры [33].

При сравнении дифференциально окрашенных кариотипов *A. insularis*, *A. magna* и *A. murphyi* можно отметить значительное сходство некоторых хромосом (рис. 6). В первую очередь это касается спутничных хромосом (А12 *A. insularis* – А9 *A. murphyi* – А8 *A. magna* и 11А *A. insularis* – А10 *A. murphyi* – А9 *A. magna*), отнесенных к А-геному на основании картирования на хромосомах *A. murphyi* и *A. magna* специфичной для С-генома повторяющейся последовательности рAm1 и генов рибосом ДНК [15]. Существенное сходство морфологии и рисунков С-окрашивания можно отметить и для ряда хромосом С-геномов. Так, морфологические параметры (см. табл. 2) и распределение С-бэндов на наиболее крупных хромосомах всех трех видов – 1С, были весьма сходны. Близкие рисунки распределения ГХ блоков выявлены также для крупных приблизительно метацентрических хромосом: С2 *A. insularis* – С2 *A. murphyi* – С3 *A. magna*, небольшого метацентрика: С5 *A. insularis* – С6 *A. murphyi* – С6 *A. magna*, а также мелкой субметацентрической хромосомы – С7 *A. insularis* – С7 *A. murphyi* – С5 *A. magna*. Хромосома С6 *A. insularis* содержала очень яркий, крупный теломерный ГХ-блок в длинном плече.

Подобные маркерные блоки характерны также для хромосом С2 *A. magna* и С3 *A. murphyi*, при этом они также имели сходные рисунки распределения гетерохроматина в длинном и, в меньшей степени, коротком плечах. Несмотря на то, что относительные длины и отношения плеч цитогенетически сходных хромосом у разных видов отличались, можно предположить, что каждая из перечисленных выше групп ведет происхождение от одной хромосомы общего предка, а их дивергенция связана с накоплением повторяющихся последовательностей и/или видоспецифическими хромосомными перестройками.

Близкие морфологические параметры и рисунки распределения ГХ-блоков были отмечены и для некоторых других хромосом, однако сходство между ними было менее выражено, чем у перечисленных ранее. В ряде случаев сходные хромосомы были обнаружены только у двух из трех исследованных видов, а для многих не удалось найти похожий хромосом, т.е. они уникальны для данного вида.

Ярко выраженные различия между хромосомами родственных видов, по-видимому, обусловлены хромосомными абберациями, происшедшими при их дивергенции. Присутствие межгеномных транслокаций у *A. maroccana* (= *A. magna*) и *A. muphyi* было показано методом геномной гибридизации *in situ* (GISH) [24, 25]. В этих работах у *A. maroccana* было обнаружено по крайней мере четыре транслокации хромосом С-генома на хромосомы генома А (две из них – спутничные) и одна транслокация генетического материала А-генома на хромосому генома С (7С). В ряде случаев межгеномные транслокации можно наблюдать и на С-окрашенных хромосомах. В частности, дистальные участки длинного плеча хромосомы А9 *A. insularis* и хромосом 11А *A. insularis* – А10 *A. murphyi* – А9 *A. magna* были окрашены более темно в сравнении с телом хромосомы, т.е. содержали дифГХ – признак, характерный для хромосом С-генома. Вполне вероятно, что видоспецифические перестройки также могли затрагивать и хромосомы, относящиеся к одному геному (транслокации А–А или С–С-хромосом).

Сравнение трех видов по морфологии и рисункам дифференциального окрашивания хромосом не дает однозначного ответа – произошли ли они от одного общего предка за счет хромосомных перестроек или образовались от скрещивания различных диплоидных предков. Для уточнения их филогенетического родства мы сравнили относительное расположение кластеров рибосомных генов. Оказалось, что распределение локусов 5S и 45S рДНК на хромосомах *A. insularis* и *A. magna* полностью идентично, а ранее указывалось на сходство расположения локусов 18S–26S

рДНК (45S рДНК) на хромосомах *A. magna* и *A. murphyi* [15].

Однако по нашим данным сходство между этими видами не является абсолютным. Несмотря на то, что локализация локусов 5S рДНК и мажорных NOR-сайтов у всех трех видов полностью совпала, число и положение минорных локусов 45S рДНК у них отличалось. В частности, в геноме *A. murphyi* мы выявили лишь один очень слабый сайт рТА71 пробы в коротком плече акроцентрической хромосомы, тогда как у двух других видов было выявлено по три минорных NOR, локализованных в иных, чем у *A. murphyi*, позициях.

Принадлежность хромосом, несущих мажорные локусы 45S рДНК генов, к А-геному установили на основании одновременного картирования на хромосомах *A. magna* С-геном-специфичной последовательности сателлитной ДНК (рAm1) и рДНК методом FISH [15]. Сравнение полученных нами результатов с данными по локализации проб 45S и 5S рДНК на хромосомах *A. strigosa* Schreb. [34] подтверждают данные работы [15]. В пользу данного предположения говорит и сходство распределения гетерохроматина на спутничных хромосомах всех трех исследованных тетраплоидных видов с диплоидными предками А-генома [35], выявленного С-окрашиванием.

Сходство распределения 45S и 5S рДНК генов на спутничных хромосомах *A. insularis*, *A. muphyi* и *A. magna* (рис. 4) с таковым у *A. strigosa* [33] предполагает, что два крупных локуса 5S рДНК, картированных на одной из ядрышкообразующих хромосом, ведут происхождение от А-генома. Два других локуса расположены соответственно на хромосомах С-генома. Первая хромосома, содержащая слабые сигналы в дистальной четверти плеча (5S rDNA3), по-видимому, соответствует хромосоме 1С, поскольку является очень крупным метацентриком. Вторая – небольшая субметацентрическая хромосома, содержащая локус 5S рДНК, сцепленный с минорным NOR у *A. insularis* и *A. magna*, была отнесена к С-геному по результатам одновременного картирования рAm1 последовательности и пробы 45S рДНК на хромосомах *A. magna* [15]. На основании морфологических параметров можно предположить, что это – хромосома С7. Поскольку у *A. strigosa* обнаружены только два мажорных локуса 45S рДНК [34], можно предположить, что одна или даже обе пары хромосом *A. insularis* и *A. magna*, несущих минорные NOR, относятся к С-геному.

Возможно, что единственный минорный NOR, обнаруженный в геноме *A. muphyi* – 45S rDNA6, также располагается на хромосоме С-генома. Возможно, он гомологичен локусу 45S rDNA5 *A. insularis* и *A. magna*, который был перенесен в короткое плечо хромосомы в результате парацентрической инверсии. Отсутствие двух минор-

ных сайтов 45S рДНК (45S rDNA3 и 45S rDNA4) у *A. murphyi* может быть результатом снижения числа копий рРНК генов в соответствующих локусах ниже порогового для FISH значения.

Исходя из сходства распределения локусов рРНК генов на хромосомах *A. insularis*, *A. murphyi* и *A. magna*, можно предположить, что эти виды дивергировали от одного общего тетраплоидного предка, однако различия в числе и распределении минорных локусов 45S рДНК свидетельствуют о том, что эволюция *A. murphyi* проходила несколько обособленно от других видов.

Авторы выражают искреннюю благодарность сотруднику Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Святославу Анатольевичу Зошуку за помощь в проведении экспериментов по гибридизации *in situ*.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 05-04-48406), подпрограммы “Динамика генофондов”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Radjhathy T., Morrison J.W.* Chromosome morphology in the genus *Avena* // *Can. J. Bot.* 1959. V. 37. P. 331–337.
2. *Лоскутов И.Г.* Межвидовые скрещивания в роде *Avena* L. // *Генетика*. 2001. Т. 37. № 5. С. 581–590. (*Loskutov I.G.* Interspecific crosses in the genus *Avena* L. // *Rus. J. Genetics*. 2001. V. 37. № 5. P. 467–475.)
3. *Baum B.R., Radjhathy T.* A study of *Avena macrostachya* // *Can. J. Bot.* 1976. V. 54. P. 2434–2439.
4. *Leggett J.M.* Interspecific hybrids involving the perennial oat species *Avena macrostachya* // *Can. J. Genet. Cytol.* 1985. V. 27. P. 29–32.
5. *Leggett J.M.* A further *Avena macrostachya* hybrid // *Proc. 4th Int. Oat Conference*. Adelaide (Australia), 1992. V. III. P. 152–153.
6. *Родионов А.В., Тюна Н.Б., Ким Е.С. и др.* Геномная конституция автотетраплоидного овса *Avena macrostachya*, выявленная путем сравнительного анализа последовательностей ITS1 и ITS2: к вопросу об эволюции кариотипов овсов и овсюгов на ранних этапах дивергенции видов рода *Avena* // *Генетика*. 2005. Т. 41. № 5. С. 646–656. (*Rodionov A.V., Tyuna N.B., Kim E.S. et al.* Genomic configuration of the autotetraploid oat species *Avena macrostachya* inferred from comparative analysis of ITS1 and ITS2 sequences: on the oat karyotype evolution during the early events of the *Avena* species divergence // *Rus. J. Genetics*. 2005. V. 41. № 5. P. 518–528.)
7. *Leggett J.M.* Inter- and intra-specific hybrids involving the tetraploid species *Avena agadiriana* Baum et Fedak sp. nov. ($2n = 4x = 28$) // *Proc. 3rd Int. Oat Conference*, Sweden, July 4–8 / Eds Mattson B., Layhagen R. Svalof (Sweden), 1988. P. 62–67.
8. *Jellen E.N., Gill B.S.* C-banding variation in the Moroccan oat species *Avena agadiriana* ($2n = 4x = 28$) // *Theor. Appl. Genet.* 1996. V. 92. P. 726–732.
9. *Murphy H.C., Sadanaga K., Zillinsky F.J. et al.* *Avena magna* an important new tetraploid species of oats // *Science*. 1968. V. 159. P. 103–104.
10. *Sadasivaiah R.S., Radjhathy T.* Genome relationships in tetraploid *Avena* // *Can. J. Genet. Cytol.* 1968. V. 10. P. 655–669.
11. *Rajharthy T., Sadasiviah R.S.* The chromosomes of *Avena magna* // *Can. J. Genet. Cytol.* 1968. V. 10. P. 385–389.
12. *Rajharthy T., Sadasiviah R.S.* Cytogenetics of Oats (*Avena* L.). Ottawa: Misc. Publ. Genet. Soc., 1974. P. 1–99.
13. *Ladizinsky G.* A new species of *Avena* from Sicily, possibly the tetraploid progenitor of hexaploid oats // *Genet. Resour. Crop Evol.* 1998. V. 45. P. 263–269.
14. *Fominaya A., Vega C., Ferrer E.* C-banding and nuclear activity of tetraploid *Avena* species // *Genome*. 1988. V. 30. P. 633–638.
15. *Fominaya A., Hueros G., Loarce Y., Ferrer E.* Chromosomal distribution of a repeated DNA sequence from C-genome heterochromatin and the identification of a new ribosomal DNA locus in the *Avena* genus // *Genome*. 1995. V. 38. P. 548–557.
16. *Ladizinsky G., Zohary D.* Notes on species delimitation species relationships and polyploidy in *Avena* L. // *Euphytica*. 1971. V. 20. № 3. P. 380–395.
17. *Sanchez de la Hoz P., Fominaya A.* Studies of isozymes in oat species // *Theor. Appl. Genet.* 1989. V. 77. P. 735–741.
18. *Li C., Rossnagel Brian G., Scoles G.J.* Tracing the Phylogeny of the Hexaploid Oat *Avena sativa* with satellite DNAs // *Crop Sci.* 2000. V. 40. P. 1755–1763.
19. *Leggett J.M.* Classification and speciation in *Avena* // *Oat science and technology*. Agron. Monogr / Eds Marshall H.G., Sorrells M.E. Madison: ASA and CSSA, 1992.
20. *Leggett J.M., Thomas H.* Oat evolution and cytogenetics // *The oat crop. Production and utilization* / Ed. W. Welsh. L.: Chapman & Hall, 1995. P. 121–149.
21. *Ladizinsky G.* Characterization of the missing diploid progenitor of the common oat // *Genet. Resour. Crop Evol.* 1995. V. 42. P. 49–55.
22. *Ladizinsky G.* Cytogenetic relationships between *A. insularis* ($2n = 28$) and both *A. strigosa* ($2n = 14$) and *A. murphyi* ($2n = 28$) // *Genet. Resour. Crop Evol.* 1999. V. 46. P. 501–504.
23. *Jellen E.N., Ladizinsky G.* Giemsa C-banding in *Avena insularis* Ladizinsky // *Genet. Resour. Crop Evol.* 2000. V. 47. P. 227–230.
24. *Leggett J.M., Thomas H.M., Meredith M.R. et al.* Intergenomic translocation and the genomic composition of *Avena maroccana* Gdgr. revealed by FISH // *Chromosome Res.* 1994. V. 2. P. 163–164.
25. *Jellen E.N., Gill B.S., Cox T.S.* Genomic *in situ* hybridization detects C-genome chromatin and intergenomic translocation in polyploidy oat species (Genus *Avena*) // *Genome*. 1994. V. 37. P. 613–618.
26. *Leggett J.M., Markland G.S.* The genomic structure of *Avena* revealed by GISH // *Proc. Kew Chrom. Conf. IV*. 1995. P. 133–139.

27. Leggett J.M. Chromosome and genomic relationship between the diploid species *Avena strigosa*, *A. eriantha* and the tetraploid *A. maroccana* // *Heredity*. 1998. V. 80. № 3. P. 361–367.
28. 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. P. 4851–4865.
29. Gerlach W.L., Bedrook J.R. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley // *Nucl. Acid Res.* 1979. V. 7. P. 1869–1885.
30. Badaeva E.D., Friebe B., Gill B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes of diploid species // *Genome*. 1996. V. 39. № 2. P. 293–306.
31. Badaeva E.D., Badaev N.S., Gill B.S., Filatenko A.A. Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* // *Plant Syst. Evol.* 1994. V. 192. № 1. P. 117–145.
32. Лоскутов И.Г. Овес (*Avena* L.) Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. Санкт-Петербург, 2006. Т. 162. С. 77–89.
33. Ladizinsky G., Jellen E.N. Cytogenetic affinities between populations of *Avena insularis* Ladizinsky from Sicily and Tunisia // *Genetic Res. and Crop Evol.* 2003. V. 50. P. 11–15.
34. 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. P. 103–109.
35. 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 *Avena* L. Species containing the As genome // *Rus. J. Genetics*. 2005. V. 41. № 12. P. 1428–1433.)

A Comparative Cytogenetic Study of the Tetraploid Oat Species with the A and C Genomes: *Avena insularis*, *A. magna*, and *A. murphyi*

O. Yu. Shelukhina¹, E. D. Badaeva^{1, 2}, I. G. Loskutov³, and V. A. Pukhal'sky¹

¹ Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; fax: (495) 135-04-60; e-mail: shelukhina_olga@mail.ru

² Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

³ Vavilov All-Russia Institute of Plant Industry, St. Petersburg, 190000 Russia

Differential C-banding of chromosomes and in situ hybridization with the probes pTa71 and pTa794 were used for a comparative cytogenetic study of the three tetraploid oat species with the A and C genomes: *Avena insularis*, *A. magna*, and *A. murphyi*. These species were similar in the structure and patterns of C-banding of several chromosomes as well as in the location of the loci 5S rRNA genes and main NOR sites; however, they differed in the number and localization of minor 45S rDNA loci as well as in the morphology and distribution of heterochromatin in some chromosomes. According to the data obtained, *A. insularis* is closer to *A. magna*, whereas *A. murphyi* is somewhat separated from these two species. Presumably, all the three studied species originated from the same tetraploid ancestor, and their divergence is connected with various species-specific chromosome rearrangements. The evolution of *A. murphyi* is likely to have occurred independently of the other two species.