



VIII Всероссийская микологическая школа-конференция
«КОНЦЕПЦИИ ВИДА У ГРИБОВ: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СТАРЫЕ
ПРОБЛЕМЫ». Москва, ЗБС, 30 июля – 5 августа 2017 г.

ГЕНОСИСТЕМАТИКА И КОНЦЕПЦИЯ ВИДА У ГРИБОВ

Шнырева Алла Викторовна

Кафедра микологии и альгологии МГУ имени М.В.Ломоносова

Объекты и методы исследования геносистематики

- По определению Майра, «**систематика** есть научное исследование различных организмов, их разнообразия, а также взаимоотношений между ними» (1971).
- **Систематика** призвана изучать все многообразие живого, или *биоразнообразие*, во всех его проявлениях. Из всего этого биоразнообразия систематики выделяют группы родственных организмов и предлагают схемы иерархического соподчинения этих групп – **таксонов**.
- **Геносистематика, или молекулярная филогенетика** (*molecular phylogenetics, or molecular systematics*) занимается изучением эволюционной истории организмов по отношению к их общим предкам на основе анализа молекулярных признаков.
- Цель геносистематики состоит в выяснении филогенетических связей между организмами и в создании системы **генотаксонов**.

Молекулярная систематика:

- ✓ Основывается на анализе ДНК (РНК);
- ✓ Получила развитие в начале 90-х гг. благодаря внедрению ПЦР-технологий, разработке филогенетических подходов и развитию биоинформатики;
- ✓ Основывается на сравнении гомологичных генов или признаков;
- ✓ Методы, варианты получаемых первичных данных, возможности их использования - различны;
- ✓ Наибольшую ценность представляют методы, благодаря которым эволюционные предки ныне живущих организмов могут быть реконструированы.

Молекулярные методы широко используются в микологии :

- ✓ для выяснения филогенетических связей и путей эволюции организмов, т.е. для построения филогенетических деревьев;
- ✓ для идентификации видов, определение которых на основе морфологических признаков затруднено;
- ✓ для анализа сообществ организмов в различных экотопах.

Последовательности ДНК с филогенетически значимой информацией:

- ☞ выполняют одну и ту же функцию во всех анализируемых таксонах;
 - ☞ эволюционируют приблизительно с одинаковой скоростью;
 - ☞ представлены в геноме единичными копиями, или ведут себя как однокопийные участки.
-
- !! Ни одна методика пока не может дать 100%-ного попадания в цель при реконструкции филогений, особенно, если речь идет о предковых организмах.
 - Чтобы выносить достоверные суждения об эволюции генотипов (геномов) необходимо изучать репрезентативную выборку генов или последовательностей ДНК из всего разнообразия последовательностей, слагающих геном организма.

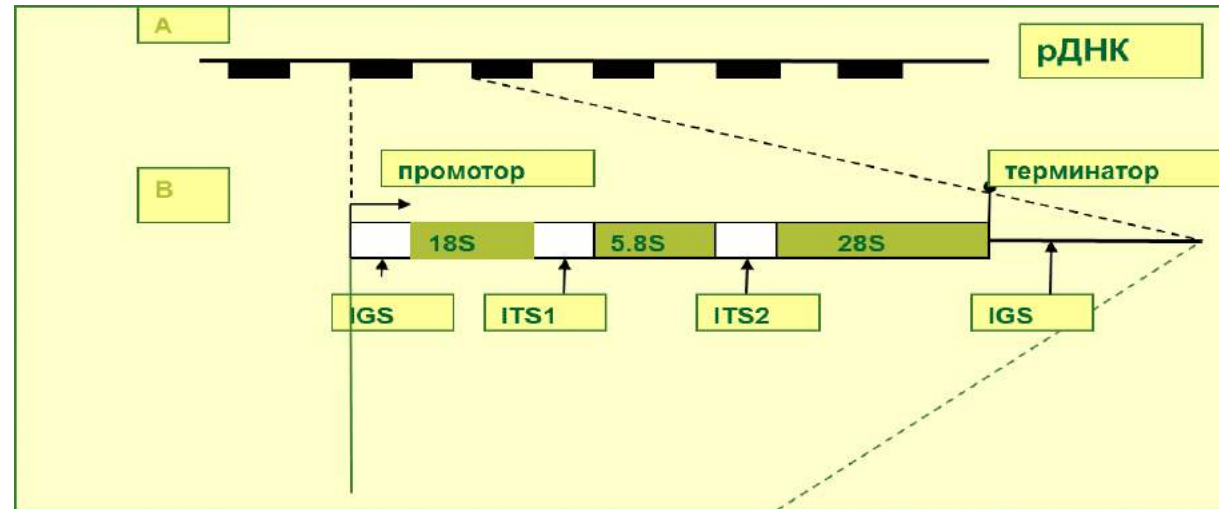
Ограничения при использовании только одной последовательности:

- Плохое или недостаточно достоверное разрешение некоторых дихотомий на филограмме;
- Недостоверное отражение филогенетических связей в некоторых группах организмов в анализе.



Используется комбинированный подход, основанный на анализе нескольких генов/
последовательностей (combined multiple genes approach).

Геносистематика на основе последовательностей кластера генов рДНК стала стандартным методом грибной таксономии.



👉 Интерес к **оперону рДНК** обусловлен наличием в его составе как эволюционно высоко **консервативных кодирующих участков**, так и быстро эволюционирующих **спейсерных последовательностей**.



Это позволяет проводить филогенетический анализ на разных таксономических уровнях.

Практически невозможно подобрать какую-нибудь определенную универсальную генную последовательность, которая позволила бы установить все таксономические и эволюционные связи организма.

Программа **AFTOL**, Accumulating/Assembling Fungal Tree of Life



Предлагает использовать **восемь** универсальных генных областей:

- ✓ гены малой и большой субъединиц рибосомальных РНК (**18S рРНК**, **28S рРНК**) и внутренний транскрибируемый спейсер **ITS** (*internal transcribed spacer*);
- ✓ ген фактора элонгации пептидов (**1 α -EF**);
- ✓ два гена, кодирующих субъединицы РНК полимеразы II (**RPB1** и **RPB2**);
- ✓ два митохондриальных гена – **SSU** и **ATP6** (*ATP syntase subunit 6*);
- ✓ ген **MCM7** (*minichromosome maintenance = DNA replication licensing factor*), кодирующий ДНК-хеликазу репликативной вилки эукариот.

Основные центры:

Duke University (F.Lutzoni и R.Vilgalys),
Clark University (D.Hibbett),
Oregon State University (J.Spatafora),
University of Minnesota (D. McLaughlin).

👉 Молекулярные данные необходимо дополнять данными о внутриклеточной организации и биохимических характеристиках

Биоинформационные интернет-ресурсы



LSU – large subunit rRNA gene

SSU – small subunit rRNA gene

Базы данных поддерживаются:

- [Max Planck Institute \(MPI\) for Marine Microbiology](#)
- [Department of Microbiology, Technical University Munich,](#)
- [Ribocon, Bremen.](#)

Три домена
органического мира:

Bacteria

Archaea

Eukarya

SILVA provides comprehensive, quality checked and regularly updated datasets of aligned small (16S/18S, SSU) and large subunit (23S/28S, LSU) ribosomal RNA (rRNA) sequences for all three domains of life (*Bacteria*, *Archaea* and *Eukarya*).

Концепции вида у грибов

Грибы из разных таксономических групп могут иметь:

- *разный ядерный статус* – быть гаплоидами, диплоидами, дикарионами;
- *разные системы размножения* – от строгой агамности до панмиксиса, т.е. размножаться бесполом путем, иметь половое воспроизведение или демонстрировать смешанный тип размножения;
- *различия в образе жизни* – сапротрофы, паразиты, симбионты.

В виду всего этого разнообразия форм существования и подходов к изучению биоразнообразия и возникли концепции морфологического, биологического и молекулярного видов.

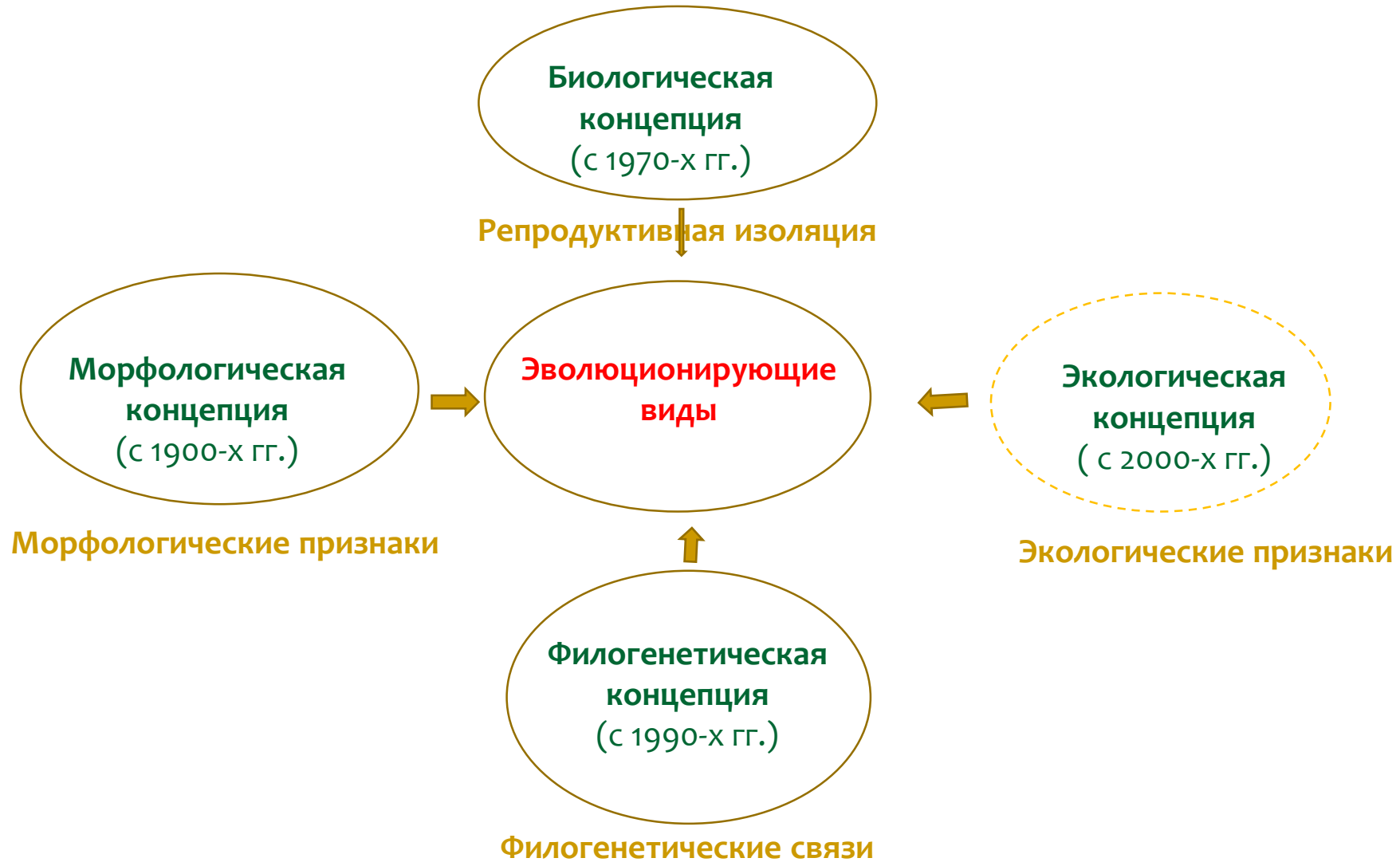
Наряду с огромным разнообразием морфологических форм грибы демонстрируют разнообразие форм размножения/воспроизведения.

Видообразование у грибов может быть обусловлено:

- 👉 расхождением по трофическим нишам
(сапротрофы-паразиты) - ***Fusarium, Verticillium***;
- 👉 расхождением по растениям-хозяевам (фитопатогены)
(специализированные формы f.sp. и расы) - ***Ustilago, Puccinia***;
- 👉 адаптацией к погодным условиям -
морфологически близкие виды ***Pleurotus pulmonarius*** и ***P.ostreatus***;
- 👉 географической изоляцией –
аллопатрическое видообразование – географически изолированные популяции с течением времени становятся репродуктивно изолированными (неспособными скрещиваться);
- 👉 генетической изоляцией –
симпатрическое видообразование – происхождение нового репродуктивно изолированного вида на одной территории с потомками родительской популяции;

Fusarium oxysporum: исходная популяция на хлопчатнике эволюционировала в двух направлениях – по пути паразитического и сапротрофного типов питания (Katan, 1988)

Концепции вида у грибов:



Концепция морфологического вида:

- ✓ Основывается на традиционных *фенетических* подходах систематики;
- ✓ Изучаются и сравниваются *видимые морфологические* и физиолого-биохимические признаки.

Недостатки подхода:

- Сходство морфологии не обязательно указывает на видовую принадлежность – *виды-двойники* у сумчатых и базидиальных грибов, у оомицетов;
 - Высокий *внутривидовой полиморфизм* (штаммовые различия) требует подбирать наиболее консервативные признаки, присущие виду, роду;
 - *Микроскопические* грибы изучают на искусственных питательных средах, которые влияют на морфолого-культуральные признаки как *эпигенетически*, так и вследствие *отбора* штаммов (мутантов), приспособленных к росту на данном субстрате и, возможно, редко встречающихся в природе;
- 
- Необходимо оценивать *размах внутривидовой изменчивости* и *коррелятивные связи* для подбора критериев при разделении видов.

Fomitopsis pinicola



1P



2P



5P

12P



Fomes fomentarius



1F



3F



6F

7F



Ganoderma applanatum



2G



3G



Морфология плодовых тел трутовых грибов может быть различной.

Концепция биологического вида:

- В основе лежит критерий репродуктивной изоляции.

Вид – это группа свободно скрещивающихся организмов, дающих жизнеспособное потомство, и репродуктивно изолированных от других таких же групп (Майр, 1971).

Группы организмов принадлежат разным видам, если половые скрещивания между ними (или популяциями) затруднены или не происходят вовсе.

А как оценивать **агамные** виды, которые размножаются бесполым способом - (митоспоровые грибы) ?

Деление на виды:

- соотносить с уровнем накапливаемой в агамных популяциях генетической изменчивостью; чем выше уровень изменчивости, тем в большей степени дивергировали (разошлись) популяции.
- по экологическим нишам, по сезонам появления;
- по хозяевам (фитопатогены, возбудители микозов).

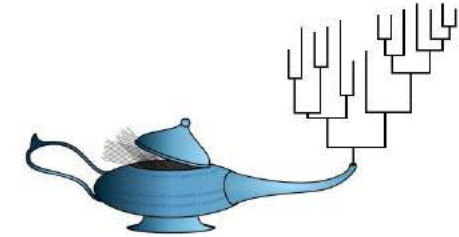
Виды-двойники:

- имеют морфологическое, физиологическое, биохимическое сходство;
- не скрещиваются между собой (репродуктивная пре-зиготическая изоляция);
- недавно дивергировали от общего предка.

!! Интерстерильные виды-двойники описаны у большого числа сумчатых и базидиальных грибов.

Филогенетическая концепция вида:

Вид – это наименьший диагностируемый кластер организмов, внутри которого соблюдаются родительские отношения предков и потомков (Cracraft, 1989).

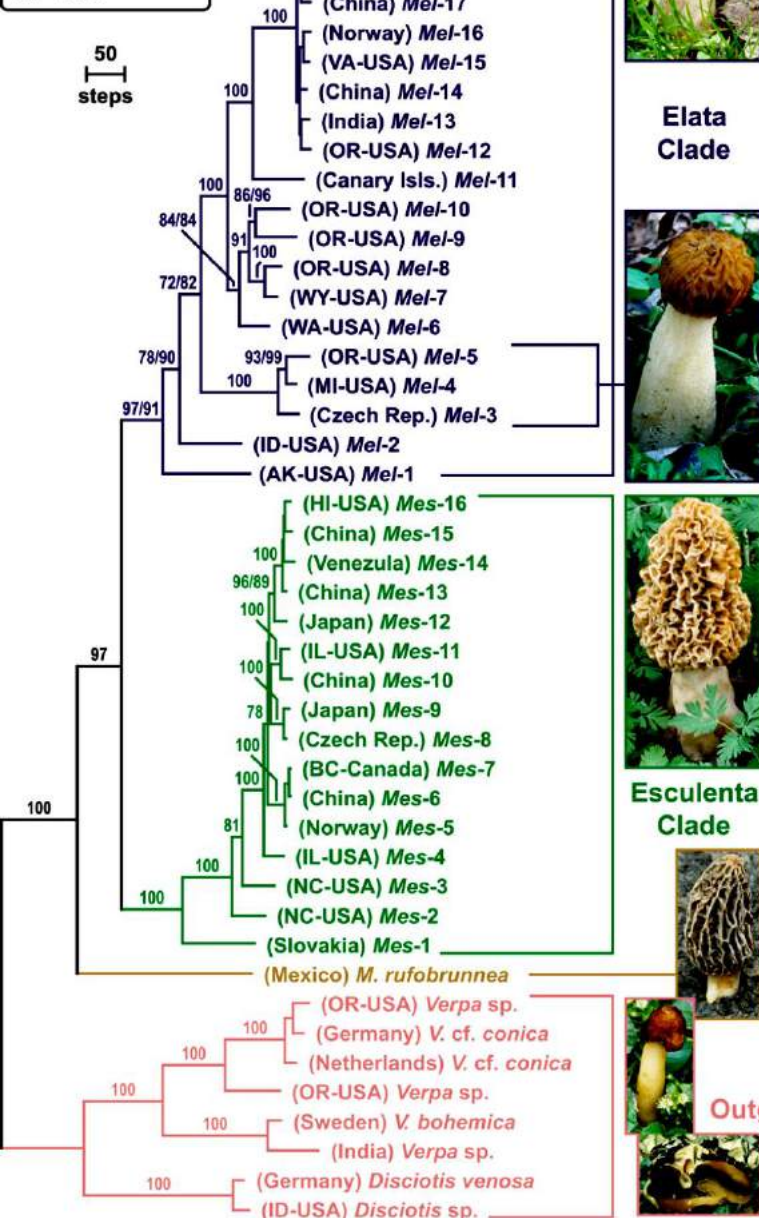


- Филогенетическая концепция вида основывается на идее **монофилии** и определяет вид как отдельную кладу, обособившуюся на дереве дивергенции подвидовых форм исходного (предкового) вида;
- отделение такой клады маркировано специфическими **апоморфными** признаками (морфологическими или молекулярными).

☞ Суть метода (*phylogenetic species recognition*) заключается в определении **наименьших терминальных монофилетических групп**, состав которых стабилен и не зависит от набора исследуемых признаков (обычно участков генома) (Taylor et al., 2000).

Молекулярные виды «формируются» на основе молекулярно-филогенетического анализа.

EF-1 α + 28S rDNA
RBP1 + RPB2
3678 bp
978 PIC
1 of 12 MP trees
2942 steps
CI = 0.52
RI = 0.85



Phylogeny and historical biogeography of true morels (*Morchella*) reveals an early Cretaceous origin and high continental endemism and provincialism in the Holarctic

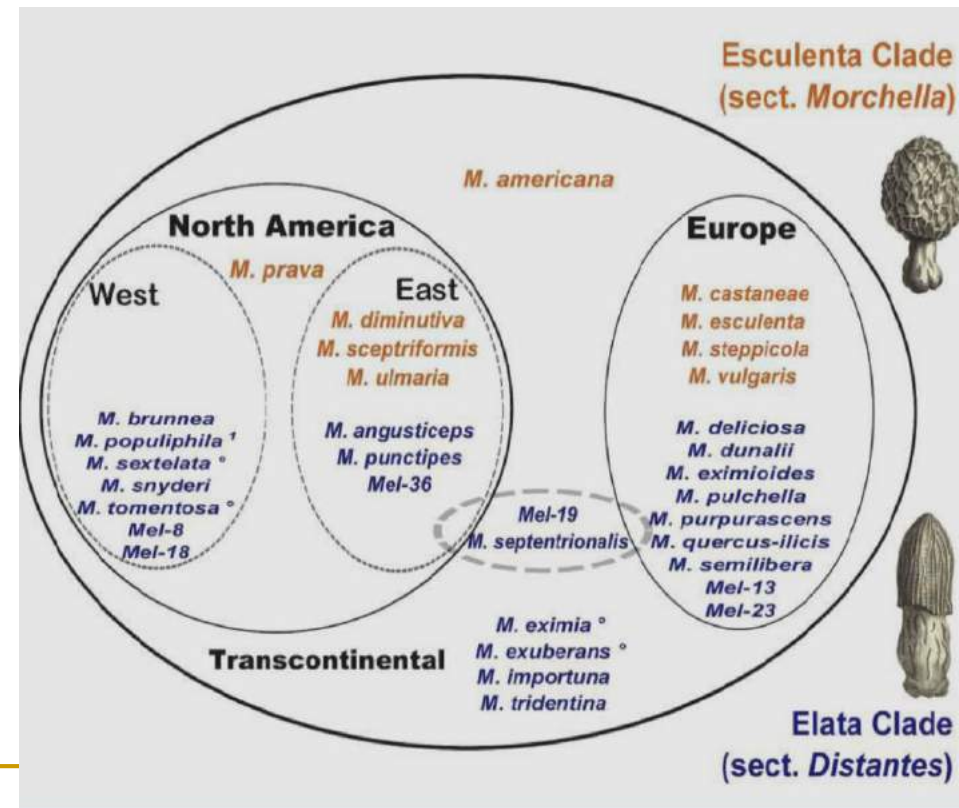
K O'Donnell, A Rooney, G Mills, M. Kuo, NS Weber, SA Rehner

Fungal Genetics and Biology 48 (2011) 252–265

41 филогенетический вид

34 морфологических вида (Clowez, 2012)

42 морфогенетических вида (Loizides, Bellanger, Clowez, 2016)



49 species of Morchellaceae inferred from a four-gene dataset

Филогения на основе последовательностей 18S рРНК и двух субъединиц РНК полимеразы II (RPB1 и RPB2) (Liu, Hudson et al., 2006).

Утрата некоторых структур в ходе
эволюции отражена в данной филогении.

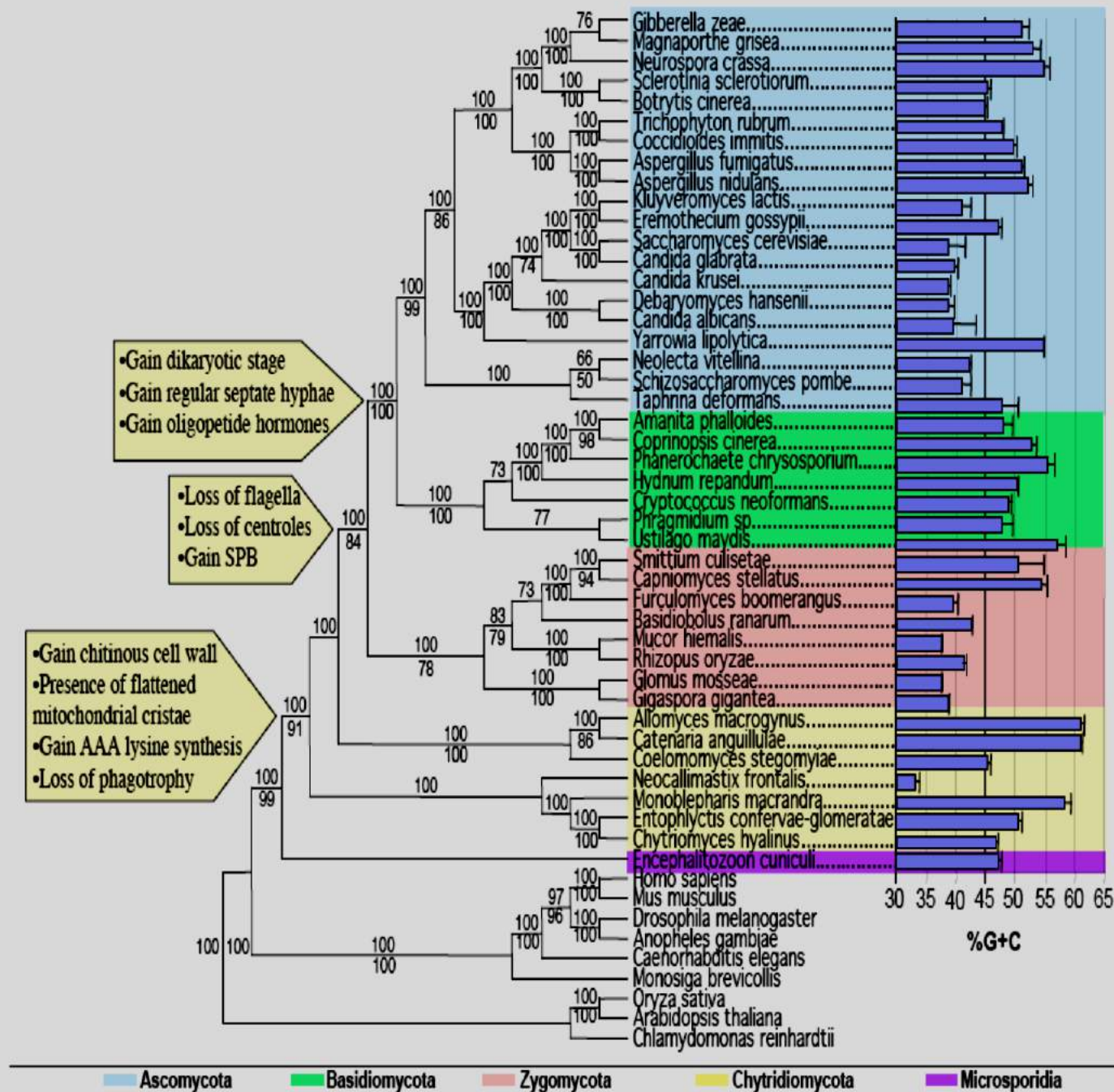
Приобретение
дикариотической фазы,
септированных гиф,
олигопептидных гормонов

Потеря жгутиков,
центриолей;
Приобретение SPB

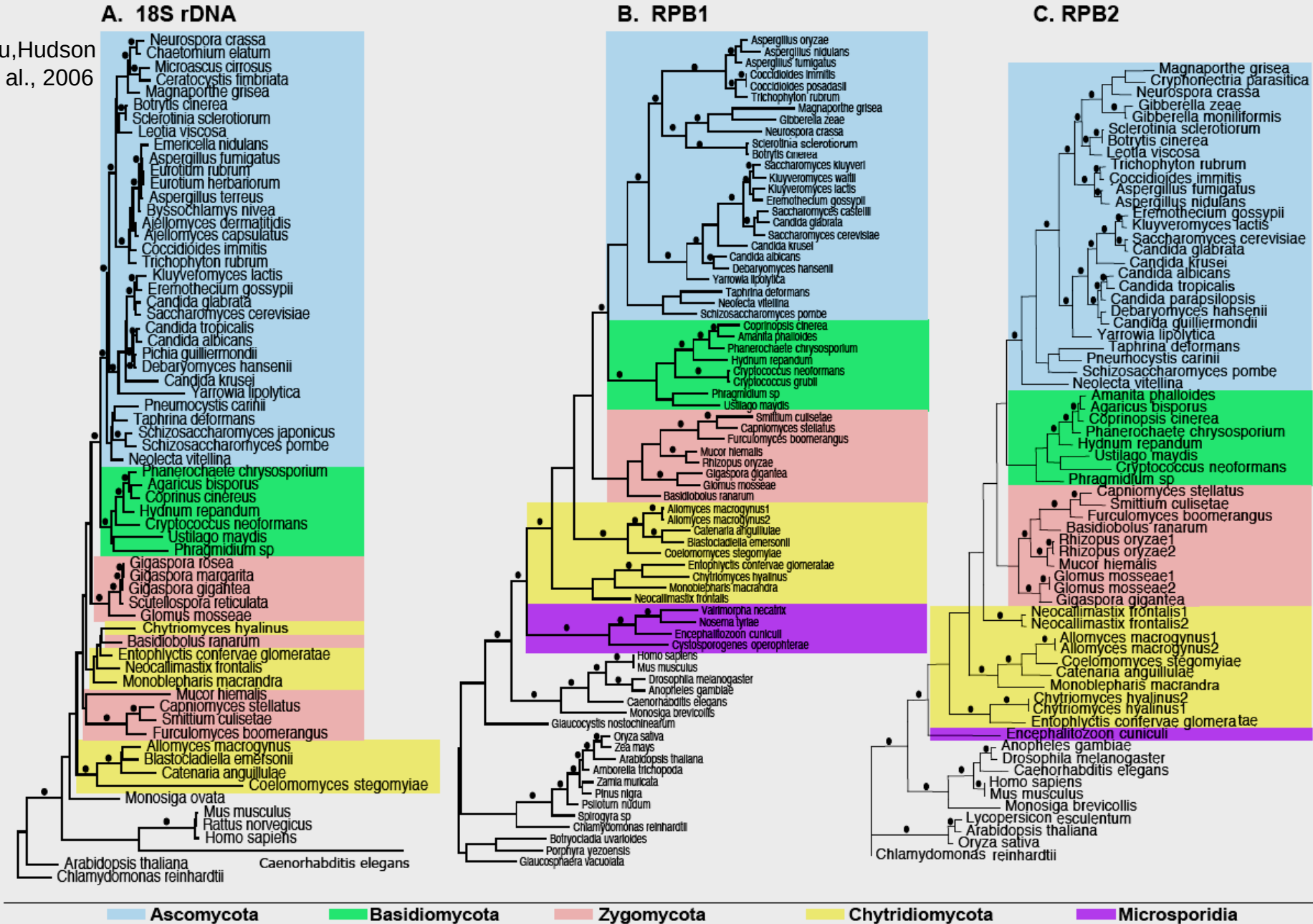
•Gain chitinous cell wall
•Presence of flattened
mitochondrial cristae
•Gain AAA lysine synthesis
•Loss of phagotrophy

•Gain dikaryotic stage
•Gain regular septate hyphae
•Gain oligopeptide hormones

•Loss of flagella
•Loss of centrioles
•Gain SPB

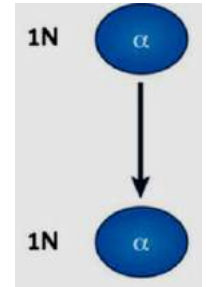


Liu, Hudson
et al., 2006



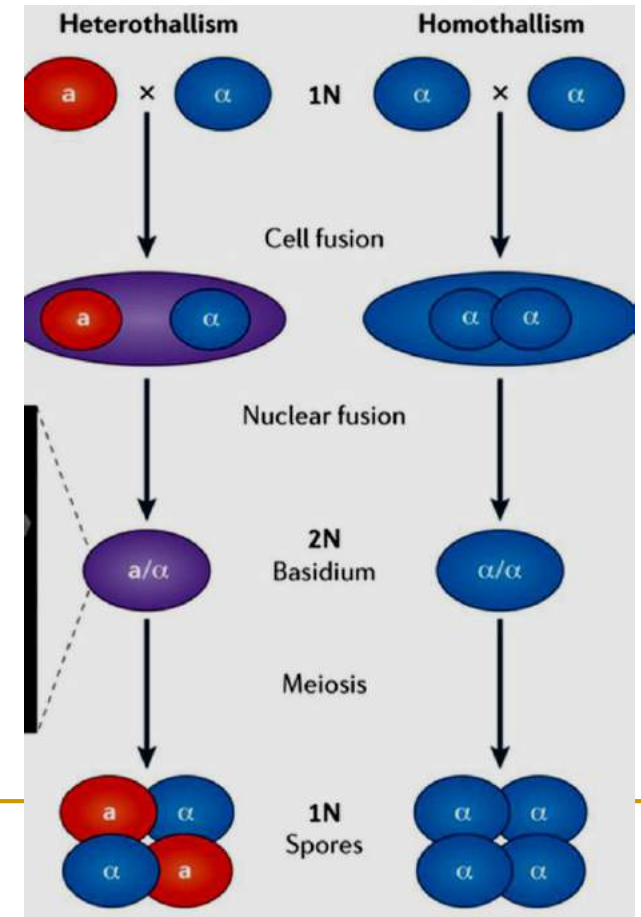
Филогения грибов, основанная на последовательностях генов 18S рДНК, RPB1 и RPB2 (субъединиц РНК полимеразы II).

Концепция биологического вида у грибов - подробно.



Гетероталлизм – механизм, требующий для прохождения полного полового цикла слияния генетически различных особей.

Гомоталлические грибы проходят полный жизненный цикл развития из одной споры.



Биполярный гетероталлизм (1-факторная система половой совместимости):

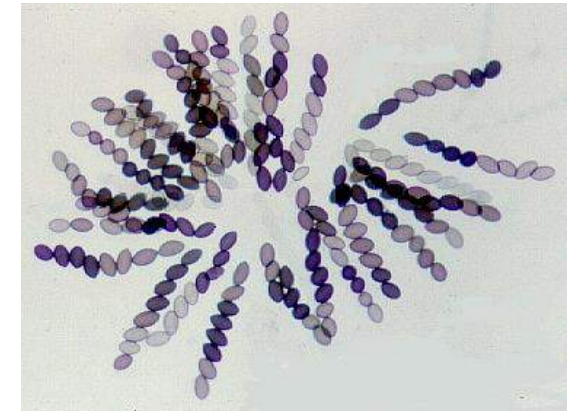
- зигомицеты
- аскомицеты
- некоторые базидиомицеты (*Ustilago violacea*, *Fomitopsis rosea*)

- Преимущество: аутбридинг, или свободные скрещивания
 - Недостатки: не могут пройти половой цикл и сформировать споры в отсутствие партнера противоположного пола
 - Коэффициент инбридинга (скрещиваний между сибсами) достигает 50%
- ↓
- Как «преодолеть ограничения» 1-факторной системы:
 - ✓ - множественные аллели одного мат-локуса;
 - ✓ - переключение типов спаривания у *Saccharomyces*

Мейоз дает два типа потомков:

Neurospora crassa α и α ;

Rhizopus + и —



Тетраполярная система (2-факторная система половой совместимости:

- преобладает у базидиомицетов

- В результате мейоза – 4 генотипа базидиоспор:

$$A_1B_1 :: A_2B_2 \rightarrow A_1B_1 \quad A_1B_2 \quad A_2B_1 \quad A_2B_2$$

- Доля инбридинга не более 25 %

Детерминация пола у грибов осуществляется двумя основными механизмами:

- ✓ через экспрессию специфических факторов — феромонов и их рецепторов, которые различны у разных типов спаривания (у разных полов);
- ✓ через универсальный контроль транскрипции генов, сходных для обоих полов; в этих процессах универсальными факторами транскрипции выступают гомеодоменные белки.

Как изучать половую совместимость ?

Биполярный гетероталлизм



Потомство базидиоспор (монокарионы, гаплоиды)



A₁A₂
A₂A₁

Тест еры	A ₁	A ₂
A ₁	-	+
A ₂	+	-



Фертильный дикарион с пряжками

50% совместимых по полу комбинаций

Тетраполярный гетероталлизм



Потомство базидиоспор



A₁B₁A₂B₂
A₂B₁A₁B₂
A₁B₂A₂B₁
A₂B₂A₂B₂

тесте ры	A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂
A ₁ B ₁	-	-	-	+
A ₁ B ₂	-	-	+	-
A ₂ B ₁	-	+	-	-
A ₂ B ₂	+	-	-	-



Фертильный дикарион с пряжками

25% совместимых по полу комбинаций

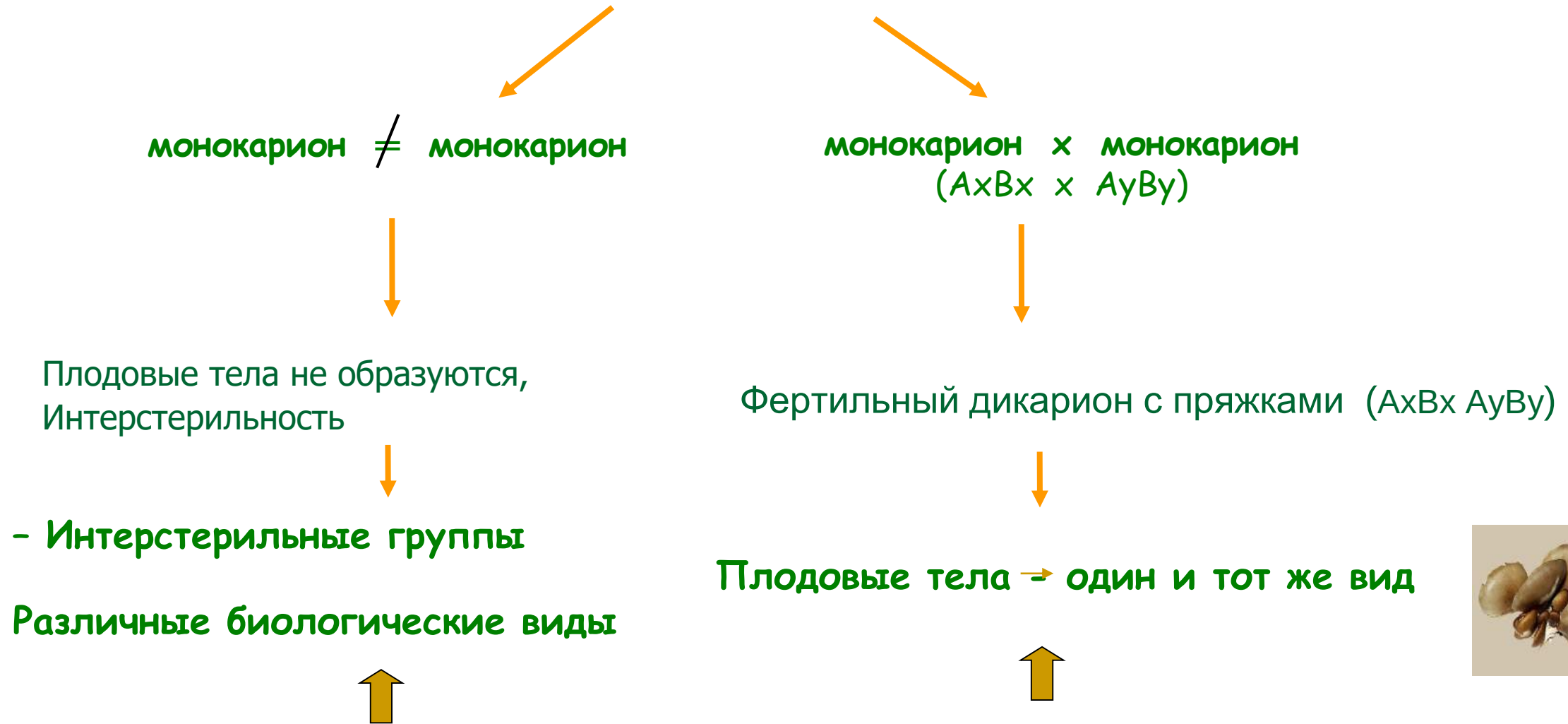
+ образование пряжек; - отсутствие пряжек

Мон-мон скрещивания и получение гаплоидных тестеров половой совместимости - *Fomitopsis pinicola*

	P-2m1	P-2m2	P-2m3	P-2m5	P-2m6	P-2m9	P-2m11	P-2m12	P-2m8	P-2m10	P-2m4	P-2m7
P-2m1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
P-2m2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
P-2m3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
P-2m4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
P-2m5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
P-2m6	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
P-2m7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
P-2m8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
P-2m9	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
P-2m10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
P-2m11	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
P-2m12	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

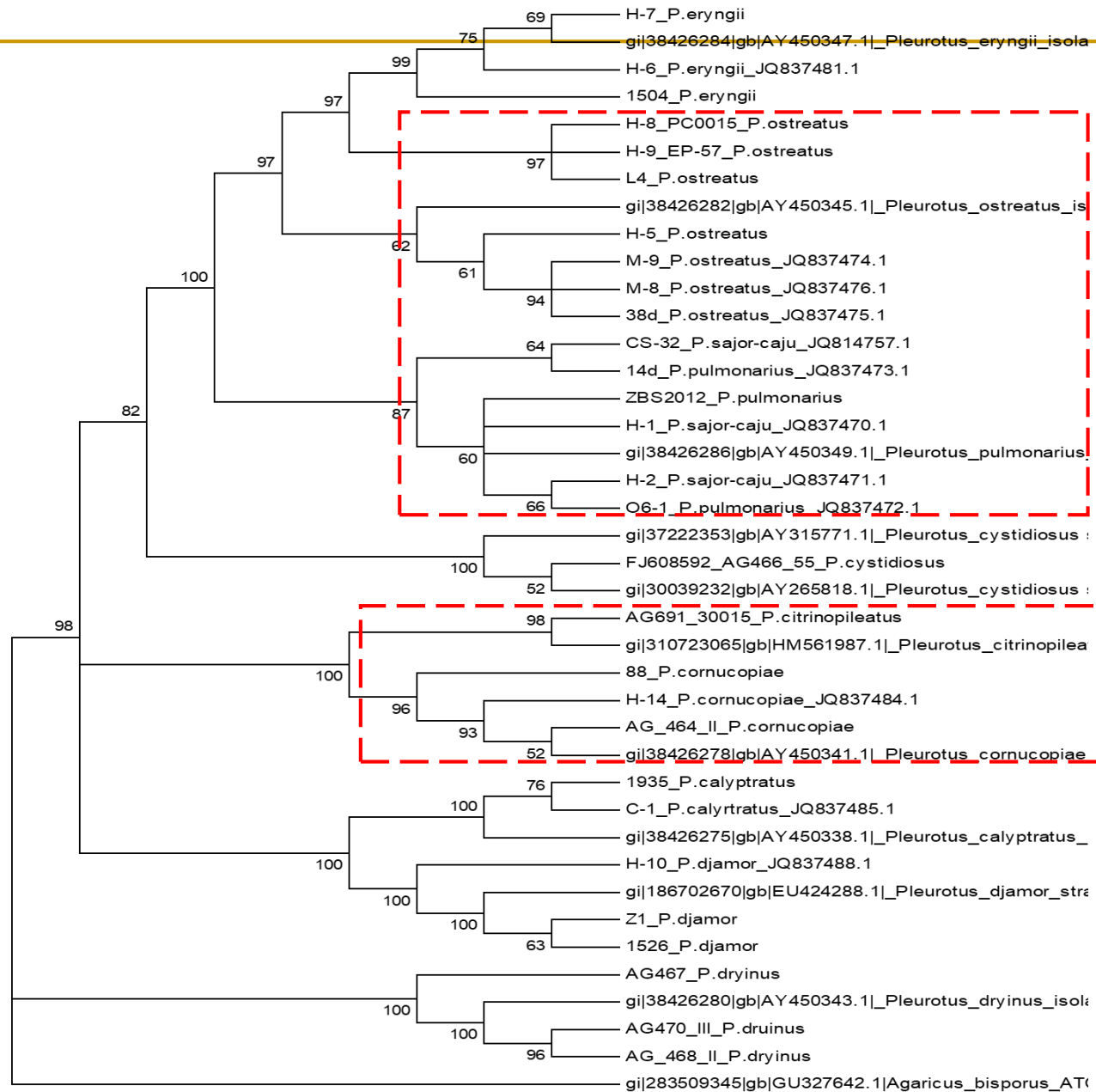
Примечание. + —наличие пряжек, - — отсутствие пряжек

Дифференциация комплексных видов грибов (видов- двойников) в тестах на половую совместимость



Половая несовместимость

Половая совместимость



Pleurotus spp.

P.ostreatus / *P.pulmonarius*
species complex

P.citrinopileatus / *P.cornucopiae*
complex

Виды *P. cornucopiae* и *P. citrinopileatus* помещены в одну интерстерильную группу IV (Petersen, Huges, 1997).

Задача: протестировать интерстерильность между видами *Pleurotus*

82 *P. cornucopiae*
88 *P. cornucopiae*
H-14 *P. cornucopiae*
464 *P. cornucopiae*
691 *P. citrinopileatus*

?

P. cornucopiae / *P. citrinopileatus* species complex
(сходство по морфологии плодовых тел)



Тест на половую совместимость

P. cornucopiae X *P. citrinopileatus*



Споровый отпечаток (n, гаплоидное потомство)



Монокариотические изоляты (n)
(монокариотические тестеры половой совместимости)



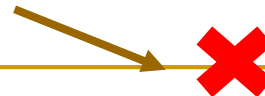
Монокарион X Монокарион

разных видов/штаммов



Фертильный дикарион (n + n)

Один и тот же вид



Без пряжек

Интерстерильные группы,
разные виды

Скрещивания между тестерами *Pleurotus cornucopiae* и *P. citrinopileatus*

		P. cornucopiae				P. citrinopileatus			
		m1	m2	m3	m4	m1	m2	m3	m4
P. cornucopiae	m1	-	-	-	+	-	-	-	-
	m2	-	-	+	-	-	-	-	-
	m3	-	+	-	-	-	-	-	-
	m4	+	-	-	-	-	-	-	-
P. citrinopileatus	m1	-	-	-	-	-	-	-	+
	m2	-	-	-	-	-	-	+	-
	m3	-	-	-	-	-	+	-	-
	m4	-	-	-	-	+	-	-	-

25%

- + половая совместимость, пряжки;
- несовместимость (интерстерильность), без пряжек.

👉 Интерстерильность – основа для образования новых видов.





Crossing between *P.sajor-caju*
haploid tester strains

Successful dikaryotization (clamps
on dykaryotic mycelium), fruit bodies

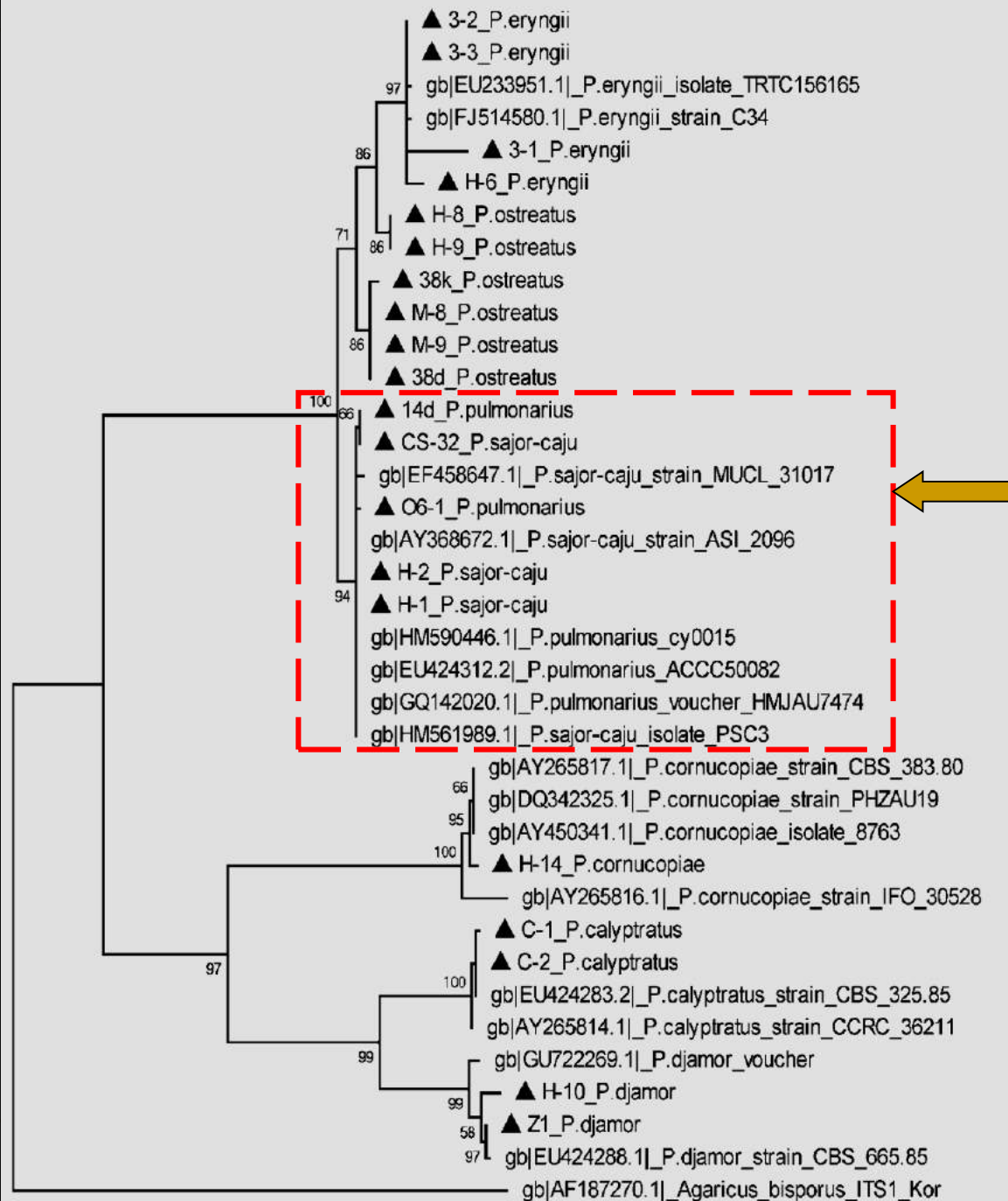
▼
Mating compatibility



Crossing *P.sajor-caju* haploid tester
against *P.pulmonarius* tester

Failed dikaryotization, no clamps

Mating incompatibility
indicates on reproductive
barrier between the species



Анализ *Pleurotus* spp.:

ITS и IGS

последовательности

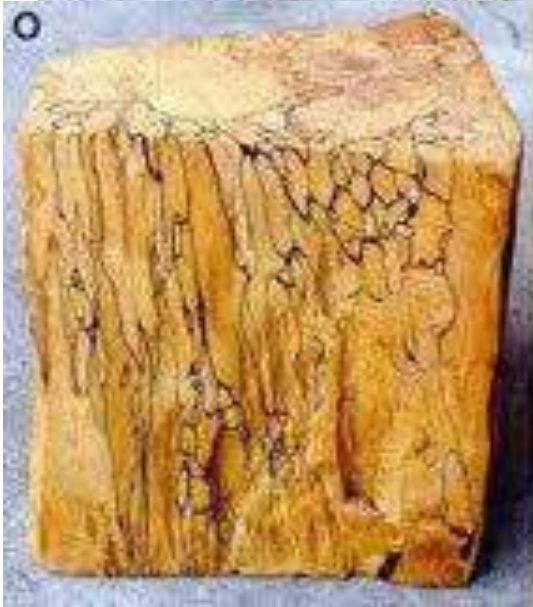
P. pulmonarius* - *P. sajor-caju
комплексный вид

**Mega 6, Maximum Likelihood
 (ML) algorithm**

Shnyreva et al. Russ. J. Genetics, 2015

Вегетативная несовместимость — это соматическая несовместимость между генетически различными индивидами (штаммами) одного вида.

Базидиомицеты



↑
Зоны конфронтации/антагонизма на древесине, заселенной различными штаммами трутовых грибов (*Fomitopsis pinicola*)

↑
Зона антагонизма между природными дикариотическими штаммами *F. pinicola* на чашке Петри

дикарион $\neq$ дикарион



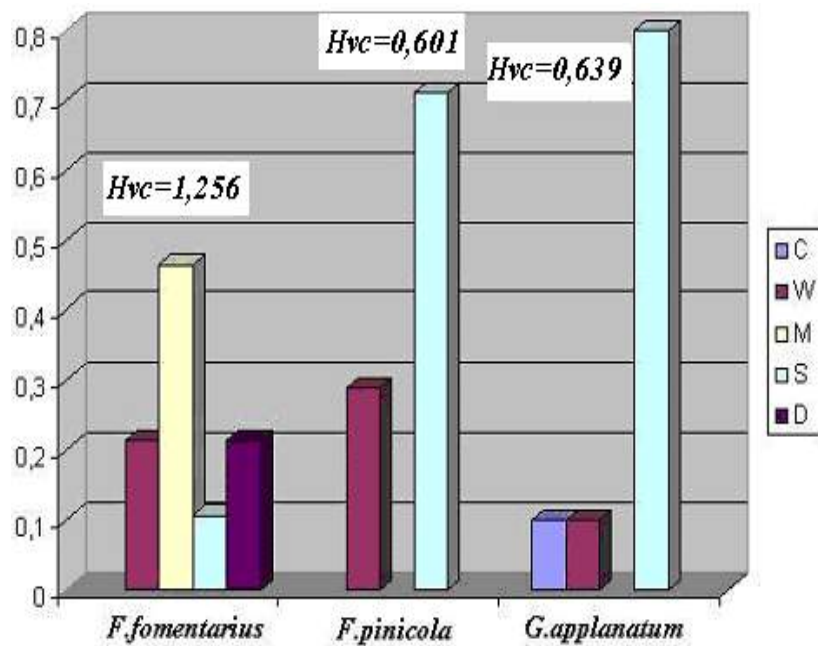
гетерокариотические
индивидуумы



Реакция антагонизма в зоне
контакта мицелиев

Типы вегетативной несовместимости природных изолятов видов

Fomes fomentarius, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma applanatum*



G. applanatum



Совместимость (C) Слабый тип (W) Сильный тип (S)

F. pinicola



Слабый тип (W) Сильный тип (S)

F. fomentarius



Слабый тип (W)



Средний тип (M)



Сильный тип (S)

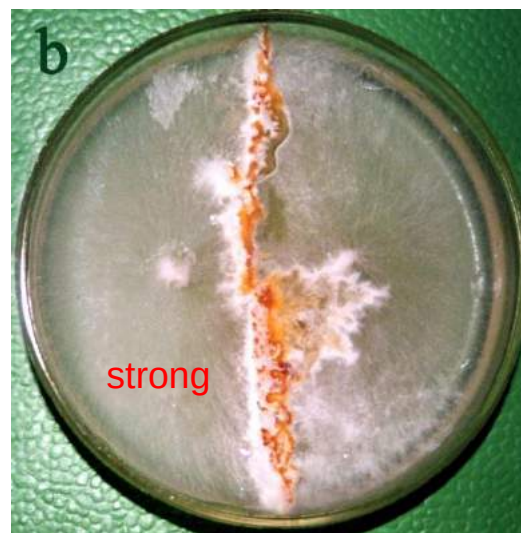
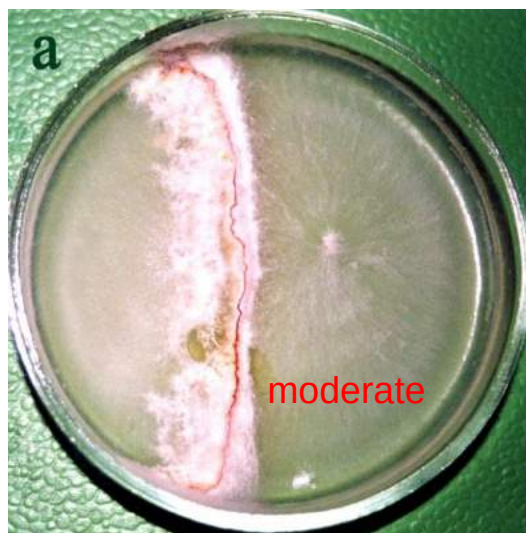


Игнорирование (D)



Совместимость

Вегетативная несовместимость - *Pleurotus ostreatus*



Соматические Клоны:

- зона антагонизма отсутствует;
- аллели локусов вегетативной несовместимости одинаковы.



Соматические клоны образуют один грибной индивид.

Вопрос: каковы размеры грибного индивида в природе?

Сростки плодовых тел на субстрате –
соматические клоны



Генетически идентичные соматические клоны
грибов-сапротрофов образуют «ведьмины
кольца»



❖ Вегетативно совместимые клоны – это фактически один грибной индивид.

Роль вегетативной совместимости

Узнавание себе-подобного или отторжение чужого (себе-неподобного) (*self* или *non-self* recognition) присуще практически всем живым организмам.

Зачем нужен механизм соматического узнавания грибам?

1. Предотвращение инбридинга в популяциях;
2. Защита от передачи и распространения вирусных инфекций в популяциях;
3. Поддержание индивидуализма в природе.

Вегетативная несовместимость находится под контролем *het*-локусов (*heterokaryotic incompatibility*), или *VC*-локусов (*vegetative compatibility*)

!!! Вегетативная несовместимость у грибов – простейший механизм иммунного ответа.

Полиморфизм *het* -генов

Neurospora crassa – 11 **het**-локусов;

Aspergillus nidulans – 18;

Cryphonectria parasitica – 6;

Podospora anserina – 9.

- Грибные индивиды могут иметь различные генотипы, но одинаковые *VC*-аллели.
- *VC* группы и *VC* генотипы – это не одно и то же.
- Анализ *VC* групп можно проводить без генетических тестов (сращиванием мицелиев на ч.П.).

VC группа – это группа штаммов, в пределах которой все штаммы вегетативно совместимы друг с другом, но несовместимы с представителями других *VC* групп.



Бар-кодинг (DNA Barcoding)

9-12 марта 2003 г. состоялась конференция в Cold Spring Harbor, California, “Taxonomy and DNA”.

Цель: найти универсальный практический подход для идентификации любых видов (более 100 млн видов в целом) и предложить ДНК-секвенс анализ некой универсальной последовательности, на основе которой можно было бы идентифицировать любой вид из любого экотопа.

ДНК баркодинг – использование коротких стандартизированных последовательностей (<1000 нп) в геноме для идентификации видов во всех царствах живого (Barcode of Life programme).

👉 Геномный локус, предлагаемый в качестве баркода, должен быть вариабелен в пределах вида в малой степени, но должен быть вариабелен между видами.

Bar Code of Life Programme

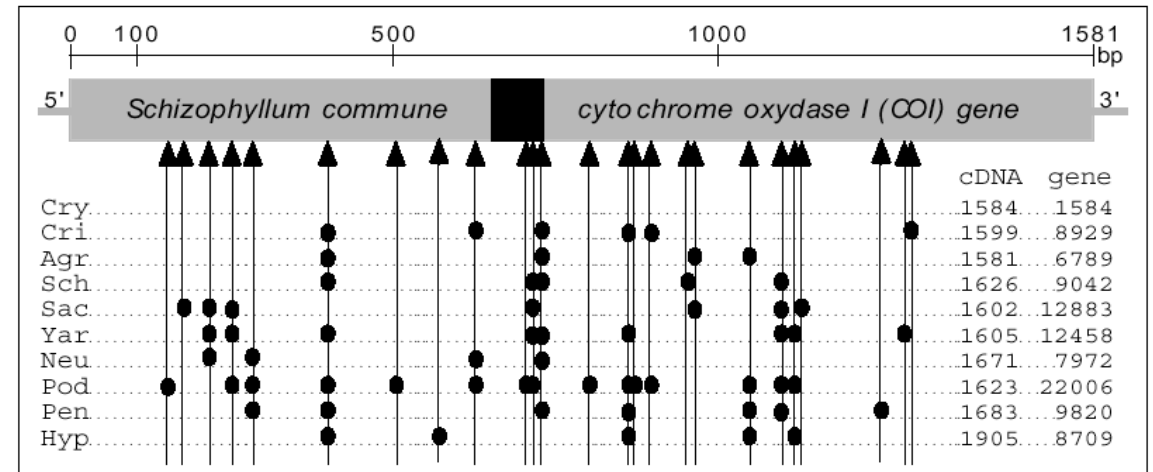
Предлагалось использовать последовательности **мт-гена цитохромоксидазы COI** и переменную **ITS-область** (последовательности до 800 нп).

Результат: Показано, что ни одна из этих последовательностей не является универсальной и способной надежно идентифицировать виды даже в пределах царства грибов.

Почему: нет ни одного гена, который имел бы сходно консервативные домены во всех линиях живого, и при этом демонстрировал достаточно вариабельности, чтобы можно было разграничивать виды.

COI грибов:

- Протяженные интроны в пределах гена затрудняют ПЦР и секвенирование;
- Хорошее разрешение в некоторых группах (*Penicillium*), но плохое разрешение у *Pleurotus*.



Вариабельность ITS последовательностей в пяти отделах Царства грибов

Weighted intraspecific <i>ITS</i> variability in the kingdom <i>Fungi</i>		2.51% [4.57]
Weighted intraspecific <i>ITS</i> variability for the five conceptual phyla of the kingdom		
<i>Ascomycota</i>	(2509 species)	1.96% [3.73]
<i>Basidiomycota</i>	(1582 species)	3.33% [5.62]
<i>Chytridiomycota</i>	(11 species)	5.63% [10.49]
<i>Glomeromycota</i>	(23 species)	7.46% [4.14]
<i>Zygomycota</i>	(60 species)	3.24% [6.12]

Correlation coefficient for variability between <i>ITS1</i> and <i>ITS2</i>	0.87 (p-value less than 10^{-16})
<u>Percentage of species where <i>ITS2</i> is more variable than <i>ITS1</i></u>	34%
Percentage of species where <i>ITS1</i> and <i>ITS2</i> differ in variability by less than 0.5%	91%
★ <u>Percentage of species with either <i>ITS1</i> or <i>ITS2</i> fully conserved and the other one at least 0.25% variable</u>	22%
<u>Percentage of species with fully conserved <i>ITS</i> region</u>	22%
Percentage of species with intraspecific variability $\leq 3\%$	75% (<i>ITS1</i>), 77% (<i>ITS2</i>), 80% (<i>ITS1</i> , 5.8S, <i>ITS2</i>)
<u>Percentage of species where the intraspecific variability of 5.8S is $\leq 0.5\%$</u>	80%



Number of included species

4185 (973 genera)

Баркодинг

ITS-rDNA

- хороший «видовой маркер» во многих группах грибов и, в частности, в отделе Basidiomycota.

Недостатки:

- - нет «стандартного числа» сходных нуклеотидов и различных (дивергировавших), чтобы четко описать вид;
- *Armillaria mellea* species complex – несколько биологических видов имеют идентичные ITS-последовательности;
- *Pleurotus cystidiosus* species complex – 15% различий по нуклеотидам ITS-последовательностей в пределах одного биологического вида

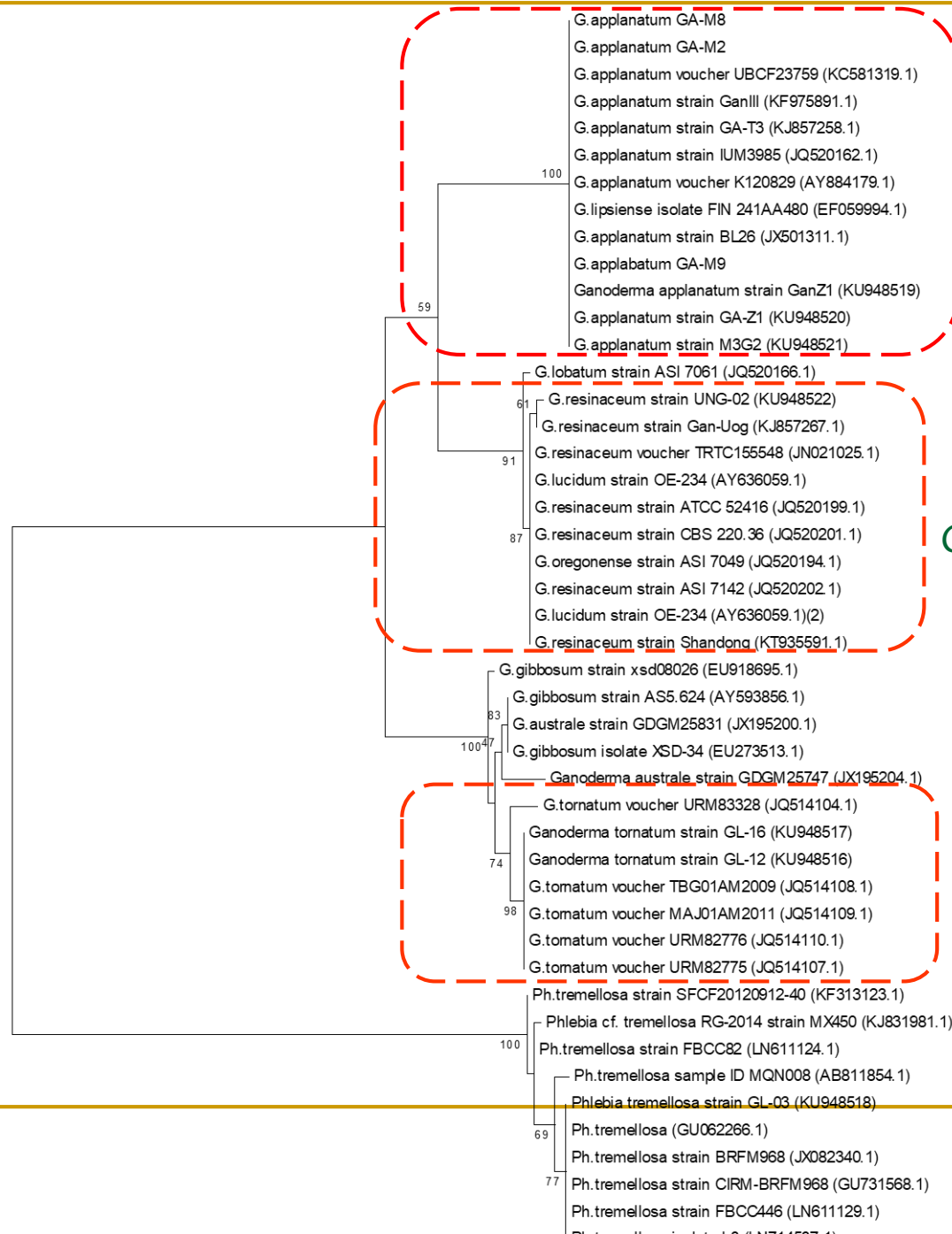


COI

- *Penicillium* - отсутствие интронов, дифференциация 67% видов в пределах подрода (K.Seifert);
- ITS дифференцирует только 25% видов;
- *Penicillium* – лучший результат по гену бета-тубулина: дифференциация 81% видов.



G. applanatum / *G. lipsiense*





6 генных последовательностей:

ITS – внутренний транскрибируемый спейсер

LSU – большая субъединица рРНК

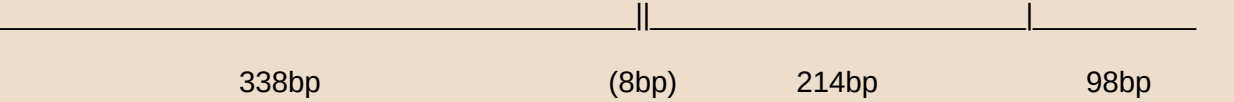
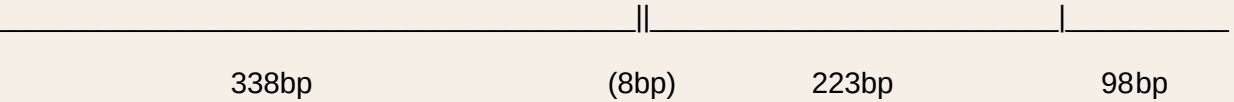
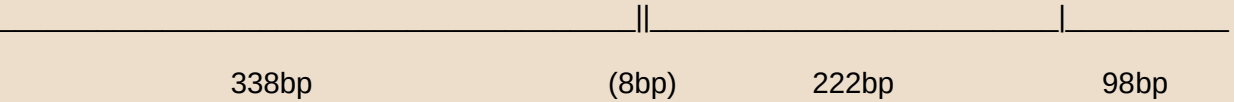
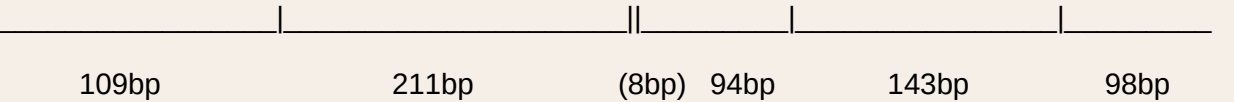
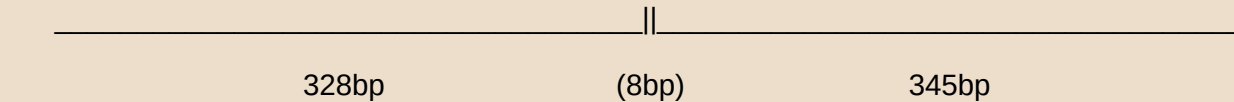
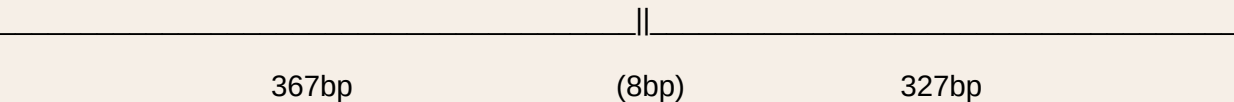
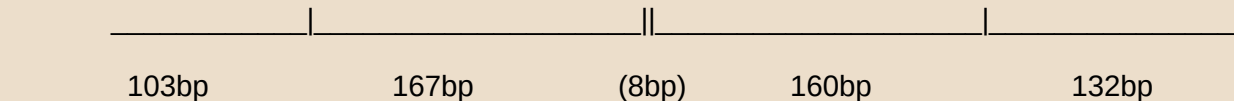
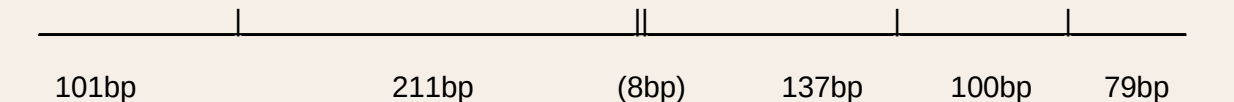
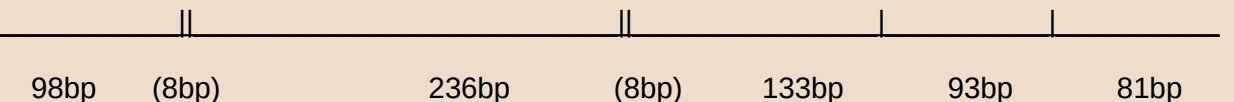
SSU – малая субъединица рРНК

RPB1 – ген РНК полимеразы II, большая субъединица (RNA polymerase II)

RPB2 – ген РНК полимеразы II, большая субъединицы (RNA polymerase II)

MCM7 – фактор инициации репликации ДНК (DNA replication licensing factor)

Barcoding: род *Pleurotus*

Species	Hinfl	Total
<i>Pleurotus pulmonarius</i>		658bp
<i>Pleurotus ostreatus</i>		667bp
<i>Pleurotus eryngii</i>		666bp
<i>Pleurotus cornucopiae</i>		663bp
<i>Pleurotus calyptratus</i>		681bp
<i>Pleurotus djamor</i>		702bp
<i>Pleurotus dryinus</i>		570bp
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>		636bp
<i>Pleurotus cystidiosus</i>		657bp

Рестрикционный анализ ITS с использованием фермента *AluI*



A = *AluI*

AE = *AluI* + *EcoRI*

Схожие паттерны:

P. ostreatus & *P. pulmonarius*;
P. djamor & *P. calyptratus*

Разные паттерны:

P. eryngii, *P. cornucopiae*, *P. cystidiosus*,
P. citrinopileatus, *P. dryinus*

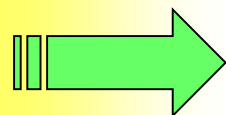
Пошаговая схема генотипирования/идентификации видов рода *Pleurotus*

Шнырева А.А. 2015. Автореф. дисс. канд. биол. наук

1 шаг



AluI



(+EcoRI)

P. ostreatus/P. pulmonarius

P. eryngii

P. calyptratus/P. djamor

P. cystidiosus

*P. cornucopiae/P.
citrinopileatus*

P. dryinus

2 шаг

BsuRI

P. ostreatus

P. pulmonarius

P. eryngii

BsuRI

P. calyptratus

P. djamor

P. cystidiosus

Hinfl

P. cornucopiae

*P.
citrinopileatus*

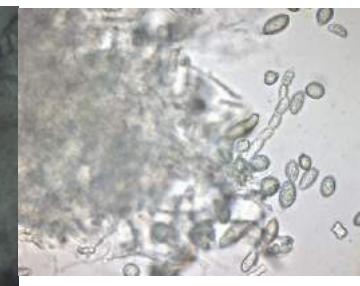
P. dryinus



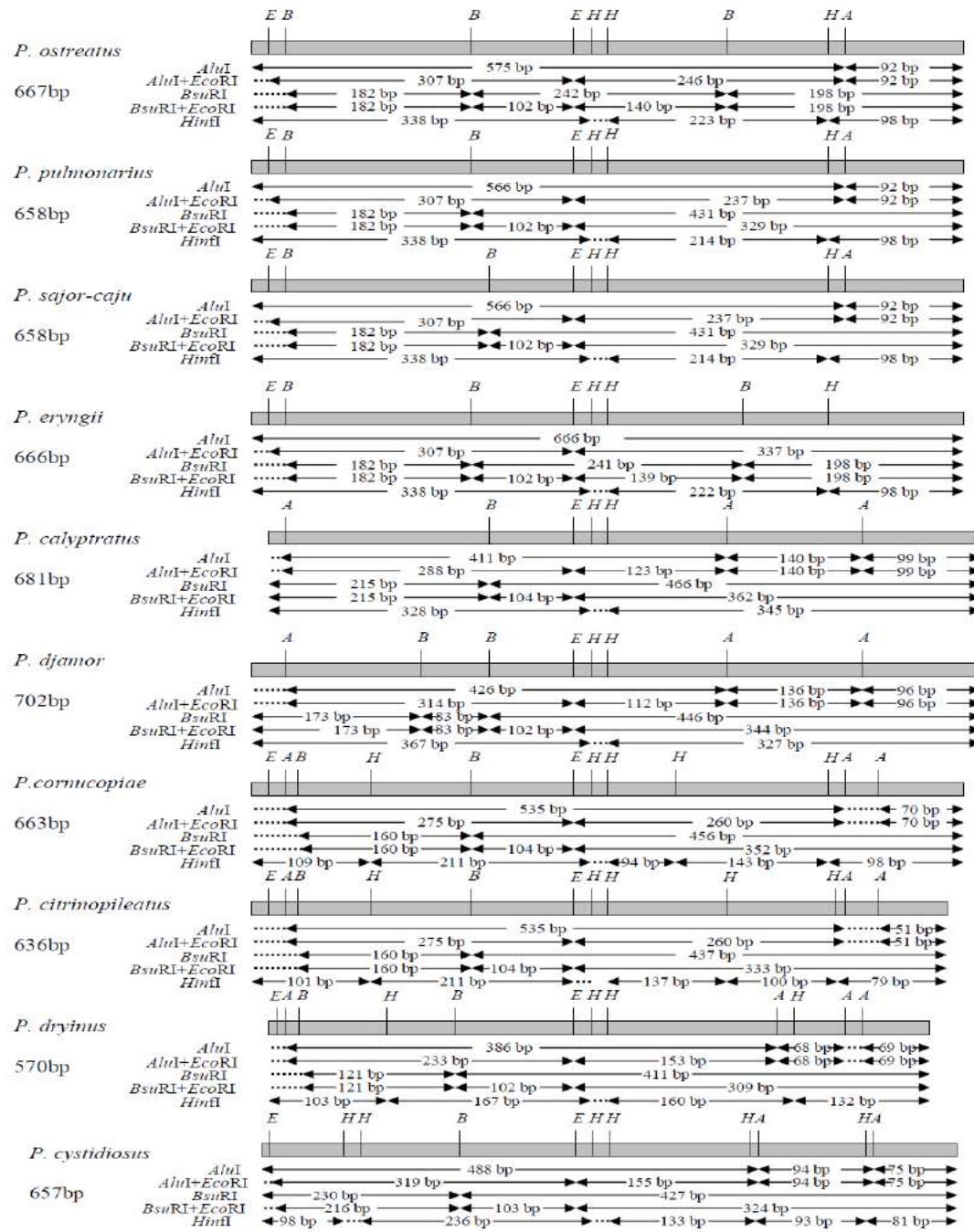
P. cystidiosus



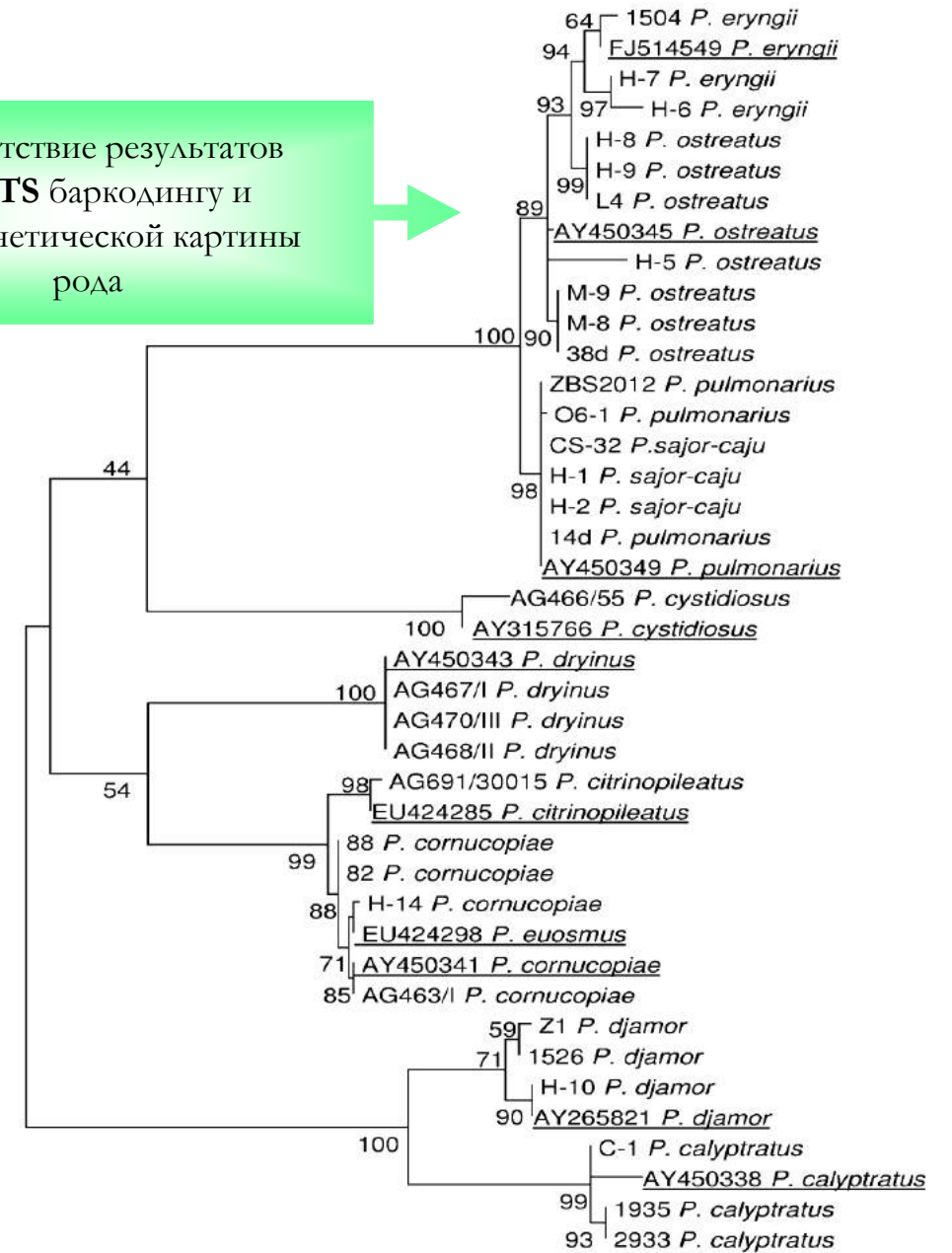
P. dryinus



Рестрикционные карты для видов рода *Pleurotus*



Соответствие результатов
по ITS баркодингу и
филогенетической картины
рода

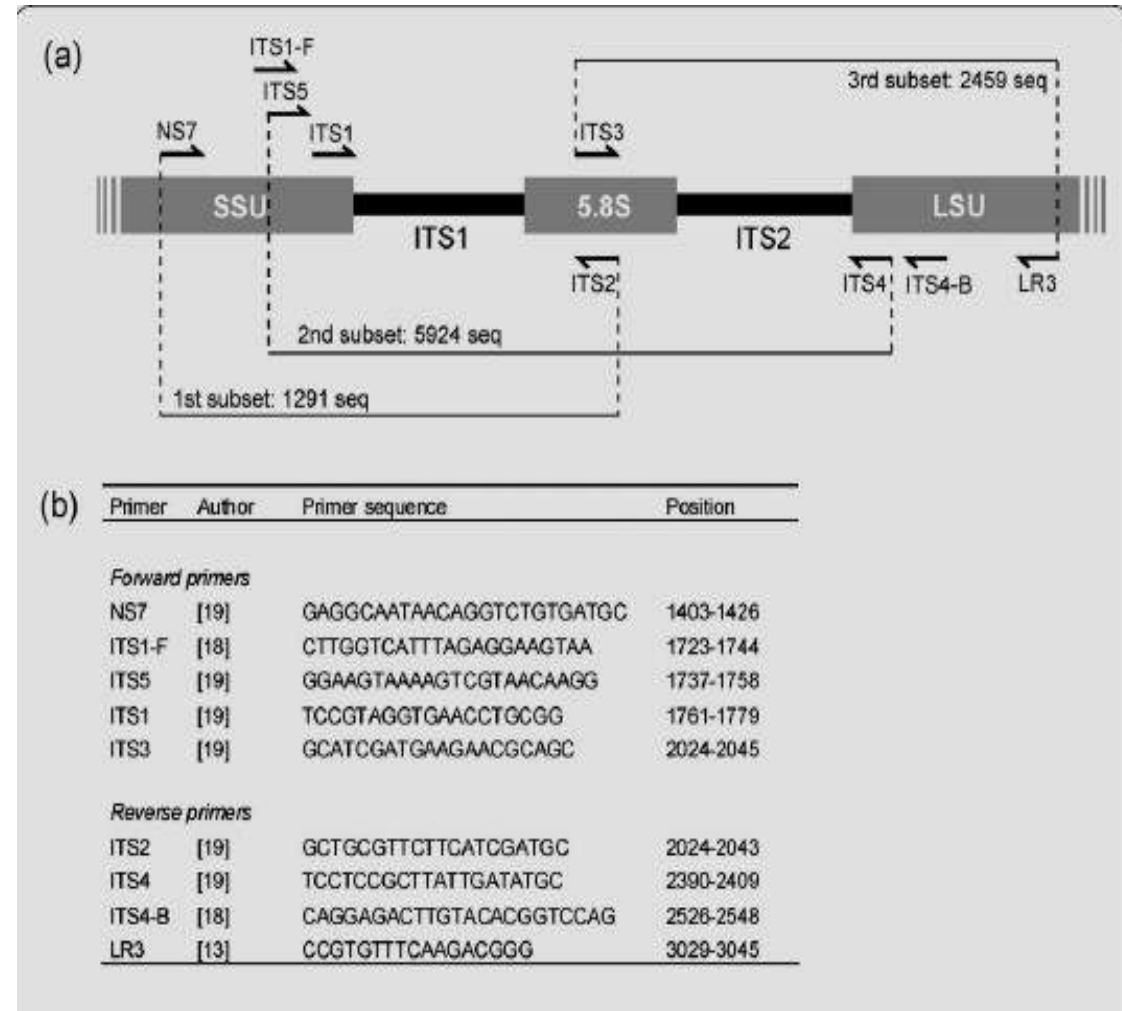


0.05

ДНК-баркодинг для анализа грибных сообществ (environmental DNA-barcoding)



<http://www.grenoble.prabi.fr/trac/ecoPCR>



Геномика

Технологии секвенирования:

☞ Секвенирование по Сэнгеру (с 1974 г.)

☞ NGS – Next Generation Sequencing платформы (с начала 2000-х гг.):

- 454 Life Sciences(www.454.com) - пиросеквенирование
- Illumina NextSeq, Illumina MiSeq(www.illumina.com)
- SOLiD (www.solidappliedbiosystems.com)
- PacBio Sequencing.

☞ NGS платформы позволяют генерировать миллионы ДНК фрагментов с высоким покрытием генома и провести одновременное их «прочтение».

Яндекс - Поискать в Яндексе

Найти

Войти

Почта

Москва

MyJGI | Submit Proposals | Internal | Emergency Info | Careers

JGI website

People

Genomes | Project List | User Programs | Sequencing | Informatics Systems | Education | News & Publications | Events | About Us

JGI
DOE JOINT GENOME INSTITUTE
US DEPARTMENT OF ENERGY
OFFICE OF SCIENCE

DOE Joint Genome Institute
Enabling Advances in Bioenergy & Environmental Research

 [Bioenergy Research at JGI](#)

 [Genomic Technologies](#)

 [Fungal Genomics Program](#)

 [Meta-genomics Program](#)

 [Microbial Genomics Program](#)

 [Plant Genomics Program](#)

A significant portion of the DOE JGI's projects are related to bioenergy and focus on three areas: developing plant feedstocks; using microbes to break down cellulose in plant cell walls; and fermenting sugars into biofuels.



Latest News

November 23, 2011
[Mite-y Genomic Resources For Bioenergy Crop Protection](#). For a pest that isn't quite the size of a comma on a keyboard, the two-spotted spider mite can do a disproportionate amount of damage. These web-spinners extract the nutrients they need from leaves of more than a thousand different plant species, including bioenergy feedstocks and food staples. » [more...](#)



November 7, 2011
[Preparing for a Thaw: How Arctic Microbes Respond to a Warming World](#). From the North Pole to the Arctic Ocean, the frozen soils within this region keep an estimated 1,672 billion metric tons of carbon out of the Earth's atmosphere. This sequestered carbon is more than 250 times the amount of greenhouse gas emissions attributed to the United States in the year 2009. » [more...](#)



Announcements & Events

[Meet the JGI Project Management Office \(PMO\)](#)

Next Deadline for CSP Microbial Sequencing Proposals: March 12, 2012. [Submit a proposal now.](#)

Newsletter: The Winter edition of the JGI Primer

[New Visiting Scientist Program](#)

[New Distinguished Postdoctoral Fellow in Genomics](#)

Check out [JGI's 10-Year Strategic Vision](#) and share your feedback

U.S. Department of Energy
Joint Genome Institute (JGI)
A 10-Year
Strategic Vision
Draft, October, 2011

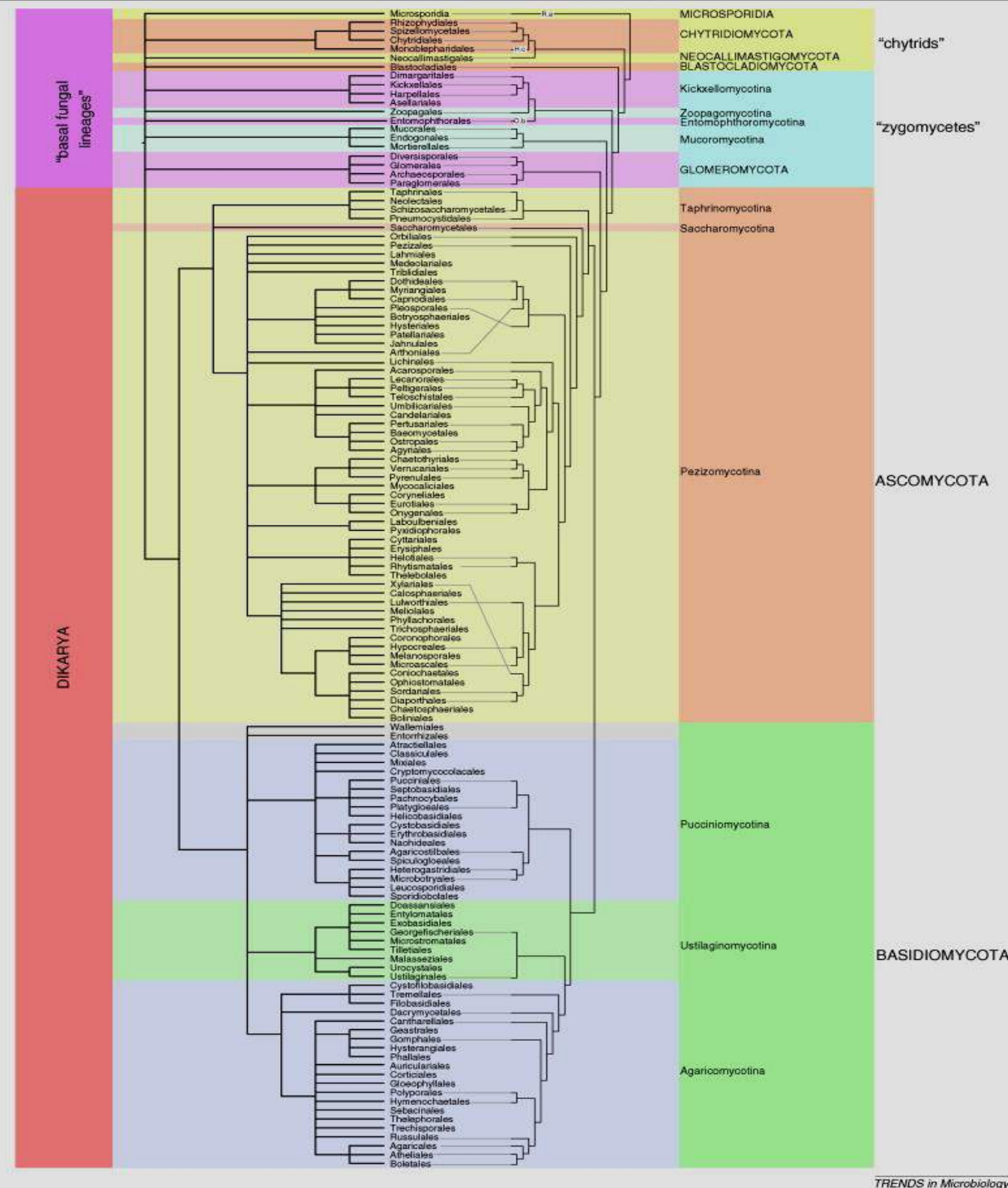


doe_jgi RT @DailyScan Reaching Out: One researcher says scientists have to get innovative in communicating their ideas to the public...
2 days ago · reply · retweet · favorite

 Join the conversation

www.jgi.doe.gov/fungi - информация по секвенированию геномов грибов

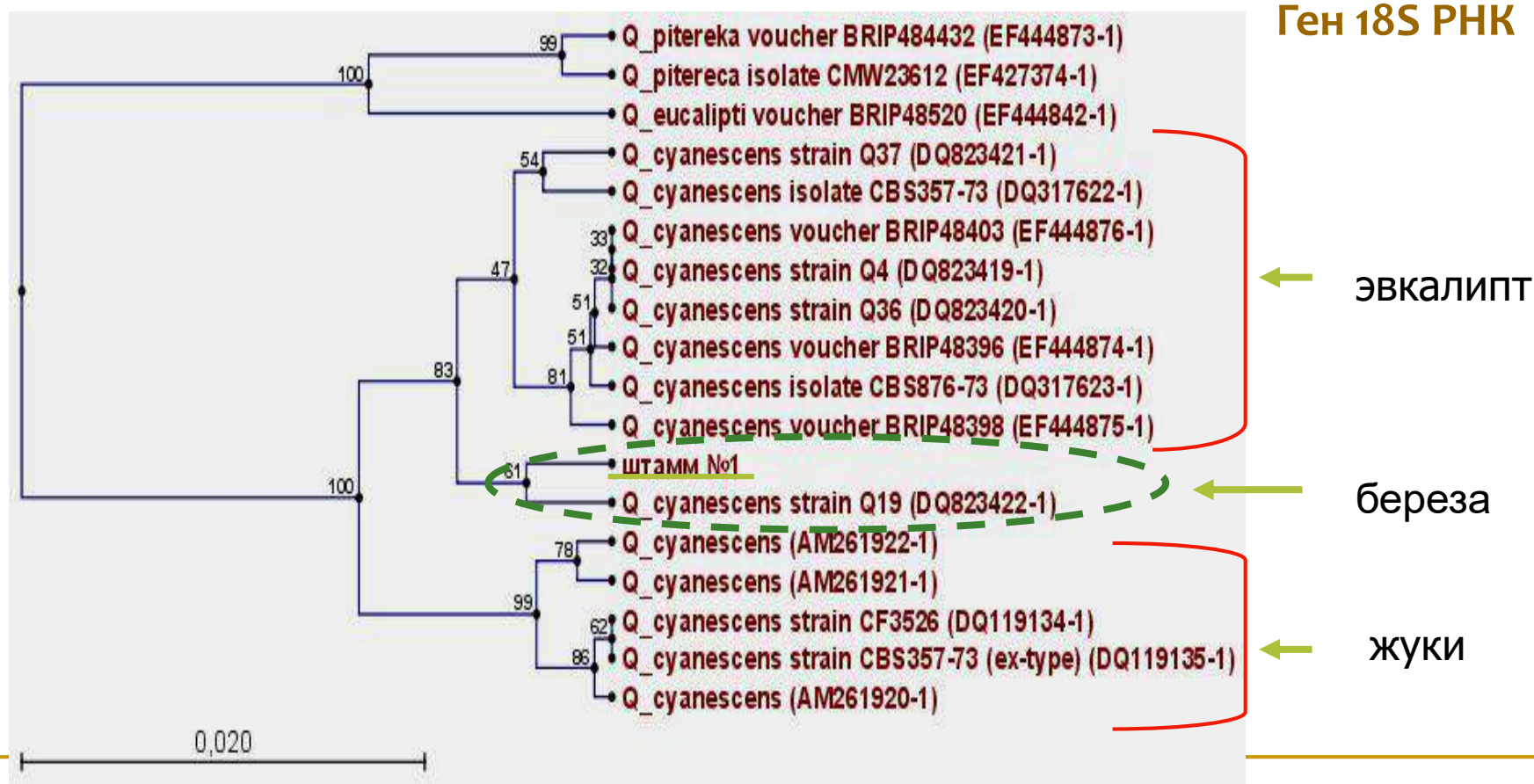
The search for the fungal tree of life

Trends in Microbiol., 2009,
Vol.17, No.1

Задача: Молекулярная идентификация вида.

Молекулярные виды. *Quambalaria cyanescens* (Microstromatales, Exobasidiomycetes, Ustilaginomycotina).

Микромицет обнаружен на березах в Москве и в Московской области (Биланенко и др.)



Заключение

- Анализ эволюции одного гена недостаточен для надежных филогенетических построений и выводов.
- Современные методы геномики позволяют сопоставлять целые ядерные геномы и геномы органелл различных организмов. Однако даже такие сравнения не всегда способны дать однозначный ответ о происхождении и путях эволюции тех или иных групп организмов в силу пока еще ограниченности данных по полногеномному секвенированию и функциональному «прочтению» геномов - аннотации.
- Задача по-прежнему состоит в поиске такой таксономической системы, которая позволила бы адекватно отразить эволюцию видов и основные биологические направления (тренды) этой эволюции.
- Не вызывает сомнений также необходимость комплексного подхода в разграничении видов у грибов.