

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.153:576.311.347: 576.311.342:575.174.015.3:575.224.22

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-3-358-364>

Поступила в редакцию 21.02.2020

Received 21.02.2020

**А. Е. Ермакович, М. Г. Синявская, В. С. Панкратов, О. Д. Левданский,  
И. М. Голоенко, А. М. Шимкевич, Н. В. Луханина, О. Г. Давыденко**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **ОЦЕНКА ИЗМЕНЧИВОСТИ ХЛОРОПЛАСТНЫХ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ ЯЧМЕНЯ МЕТОДОМ NGS-АНАЛИЗА ОРГАНЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ**

**Аннотация.** Проведено сравнение полных последовательностей геномов хлоропластов и митохондрий диких (*Hordeum vulgare subsp. spontaneum*) и культурных (*Hordeum vulgare subsp. vulgare*) образцов ячменя с целью оценки их внутривидового разнообразия.

Объектами исследования стали 17 образцов ячменя, для которых было проведено секвенирование нового поколения (next generation sequencing – NGS) хлоропластной и примеси митохондриальной ДНК, полученных из фракции хлоропластов, изолированной методом дифференциального центрифугирования. Изучено также 5 полных последовательностей хлоропластного и 2 – митохондриального геномов ячменя, доступных в базе данных NCBI GenBank. При обработке полученных NGS-данных учитывали области гомологии внутри и между геномами.

Сравнительный анализ 22 хлоропластных геномов ячменя (10 *H. vulgare subsp. vulgare* и 12 *H. vulgare subsp. spontaneum*) выявил 107 полиморфных локусов: 9 INDEL (insertion or deletion), 79 SNP (single nucleotide polymorphism) и 19 полиморфизмов SSR-областей (simple sequence repeats). Из найденных SNP хлоропластного генома 20 были локализованы в экзонах генов.

Анализ 19 полных последовательностей митохондриальных геномов (8 *H. vulgare subsp. vulgare* и 11 *H. vulgare subsp. spontaneum*) показал более низкий уровень изменчивости данных органелл внутри вида: 1 INDEL и 22 SNP. Из 4 найденных в экзонах SNP 2 приходились на кодирующую область одного из генов малой субъединицы рибосом и 2 были расположены в экзоне псевдогена.

В результате исследования обнаружена высокая варибельность хлоропластных геномов *Hordeum vulgare* при относительно низкой изменчивости митохондриальных геномов внутри данного вида. Выявлен ряд полиморфных локусов хлоропластного и митохондриального геномов, которые могут быть использованы для внутривидовой идентификации и филогенетических исследований. Доказана эффективность метода NGS смесей хлоропластной и митохондриальной ДНК для получения полных последовательностей органельных геномов ячменя.

**Ключевые слова:** ячмень, хлоропластный геном, митохондриальный геном, секвенирование нового поколения, внутривидовое разнообразие

**Для цитирования:** Оценка изменчивости хлоропластных и митохондриальных геномов ячменя методом NGS-анализа органельных смесей / А. Е. Ермакович [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 3. – С. 358–364. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-3-358-364>

**Anna E. Yermakovich, Maryna G. Siniauskaya, Vasili S. Pankratov, Aleh D. Liaudanski,  
Innesa M. Halayenka, Andrei M. Shymkevich, Natalia V. Lukhanina, Oleg G. Davydenko**

*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

## **BARLEY CHLOROPLAST AND MITOCHONDRIAL GENOMES DIVERSITY EVALUATION BY NGS OF THE ORGANELLE DNA MIXTURES**

**Abstract.** In this study, complete chloroplast and mitochondrial genomes of wild (*Hordeum vulgare subsp. spontaneum*) and cultivated (*Hordeum vulgare subsp. vulgare*) barley forms were compared to evaluate the diversity of these genomes within the species.

NGS (next generation sequencing) was conducted for mixtures of chloroplast and mitochondrial DNA of 17 barley samples. The chloroplast DNA was obtained from the fraction of these organelles, isolated by differential centrifugation. Such fraction contained an admixture of mitochondrial DNA, which made it possible to conduct sequencing of both genomes simultaneously. The NGS data processing algorithm included some features to prevent mistakes during the alignment of reads from the homology regions within and between the genomes. Five sequences of barley chloroplast genome and two sequences of mitochondrial genome accessible in NCBI GenBank were also involved in the full-genome comparative analysis.

Comparison of 22 complete barley chloroplast genome sequences revealed a high level of diversity of these genomes within *Hordeum vulgare*. There were 107 polymorphic loci: 9 INDELs, 79 SNPs and 19 polymorphisms of SSR-regions (simple sequence repeats). Twenty from 79 found SNPs were located in coding sequences.

Analysis of 19 complete sequences of mitochondrial genomes (8 *H. vulgare subsp. vulgare* and 11 *H. vulgare subsp. spontaneum*) showed a lower level of variability of these organelles: 1 INDEL and 22 SNP (4 in coding sequences). Two SNPs were found in one of the genes of the small subunit of ribosomes and two were located in the exon of a pseudogene.

The results of the study proved the applicability of NGS of chloroplast and mitochondrial DNA mixtures to the obtaining of complete sequences of these genomes. Revealed polymorphic loci could be used for barley intraspecific identification and phylogeny.

**Keywords:** barley, chloroplast genome, mitochondrial genome, NGS, intraspecific diversity

**For citation:** Yermakovich A. E., Siniauskaya M. G., Pankratov V. S., Liaudanski A. D., Halayenka I. M., Shymkevich A. M., Lukhanina N. V., Davydenko O. G. Barley chloroplast and mitochondrial genomes diversity evaluation by NGS of the organelle DNA mixtures. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 3, pp. 358–364 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-3-358-364>

**Введение.** Большое количество копий на клетку, наследование по материнской линии, практическое отсутствие рекомбинации, а также наличие ключевых генов метаболизма делают хлоропласты и митохондрии удобным объектом популяционно-генетических, филогенетических, селекционных и эволюционных исследований [1, 2]. Секвенирование отдельных участков хлоропластного (хп) и митохондриального (мт) геномов часто применяется в филогении различных видов растений. Совершенствование методов полногеномного секвенирования повысило эффективность применения последовательностей оргanelльных геномов не только в межвидовых, но и во внутривидовых исследованиях [2–4].

Для изучения генетических эффектов взаимодействия ядра и цитоплазмы в лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси создана коллекция замещенных линий ячменя, полученных путем 7-кратного беккроссирования и сочетающих в себе ядерный и цитоплазматический геномы от различных форм [5]. Наличие в коллекции линий, несущих хп и мт геномы как культурных разновидностей ячменя (*Hordeum vulgare subsp. vulgare*), так и его дикорастущих форм (*Hordeum vulgare subsp. spontaneum*), делает ее удобным объектом для изучения разнообразия оргanelльных геномов внутри вида *Hordeum vulgare*.

Цель исследования – оценка разнообразия хлоропластных и митохондриальных геномов диких (*Hordeum vulgare subsp. spontaneum*) и культурных (*Hordeum vulgare subsp. vulgare*) образцов ячменя на основании анализа их полных последовательностей, полученных в результате секвенирования нового поколения (next generation sequencing – NGS).

ДНК оргanelл выделяли из фракции хлоропластов, изолированных методом дифференциального центрифугирования [6]. Такая фракция содержит примесь мт ДНК, что позволяет одновременно секвенировать хп и мт геномы каждого из образцов. Однако использование данного метода осложняется тем, что обработка полученных NGS-данных требует учета обширных областей гомологии как внутри каждого из геномов, так и между ними. Так, в ходе предварительного анализа гомологичных последовательностей между хп и мт геномами ячменя, имеющих длину не менее 100 пар оснований (Blast), было установлено, что общая длина таких последовательностей составляет 19 % от хп генома и 6 % от мт генома. Кроме того, каждый из геномов имеет обширные области внутренних повторов, длина которых достигает десятков тысяч нуклеотидов. Очевидно, что ошибочное выравнивание NGS-прочтений с таких областей может привести к серьезному искажению результатов секвенирования.

Таким образом, для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи: провести NGS смесей оргanelльной ДНК образцов диких и культурных образцов ячменя;

оптимизировать алгоритм обработки данных NGS для смесей хп и мт ДНК ячменя с учетом областей гомологии внутри и между хп и мт геномами;

получить полные нуклеотидные последовательности хп и мт геномов для каждого из изучаемых образцов;

провести анализ изменчивости оргanelльных геномов внутри вида *Hordeum vulgare* с использованием полученных полных последовательностей, а также последовательностей хп и мт геномов ячменя из базы данных NCBI GenBank.

**Объекты и методы исследования.** Объектами исследования являлись хп и мт геномы 17 образцов ячменя: 12 замещенных линий, содержащих цитоплазмы как дикого (W1, W3, W4, W8, W9), так и культурного (Atlas, Himalaya) ячменя, а также 5 сортов (Vezha, Roland, Vizit, Sobolyok, Maresi).

Органельную ДНК трехдневных проростков ячменя выделяли, используя метод фенол-хлороформной экстракции из хп фракции, полученной путем дифференциального центрифугирования [6]. NGS смесей хп и мт ДНК осуществляли с помощью технологии Illumina, с использованием секвенатора MiSeq System, набора для приготовления библиотек NexteraXT, наборов для секвенирования MiSeq Reagent Kit v.2 и v.3.

Процесс обработки NGS-данных был заранее отработан на искусственных прочтениях, сгенерированных в наборе инструментов ART и обладающих характеристиками, максимально приближенными к реальным. Алгоритм включал следующие этапы: очистку FASTQ-файлов (Trimmomatic-0.36); выравнивание прочтений на «слитый» референс, включающий полные последовательности хп (NC\_008590) и мт (AP017301) геномов *H. vulgare subsp. vulgare* (Bowtie2-2.3.3); получение статистики качества выравнивания (bash scripts, Bcftools-1.5); визуализацию выравнивания прочтений (Tablet); получение и фильтрацию VCF-файлов (Samtools-1.5, Vcflib). Полученные в результате файлы формата VCF (Variant Call Format) представляли собой таблицы, содержащие все полиморфные по отношению к референсным последовательностям позиции геномов. На основании полученных VCF были созданы FASTA-последовательности полных геномов хлоропластов и митохондрий (SnapGene 5.0.5) [7].

Кроме полученных нами последовательностей при сравнительном анализе геномов органелл были использованы полные последовательности хп и мт геномов ячменя, доступные в базе данных NCBI GenBank (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Последовательности органелльных геномов ячменя из базы данных NCBI GenBank

Table 1. Barley organellar genome sequences from the NCBI GenBank database

Последовательность	Организм	Номер доступа в NCBI GenBank	Длина, п. о.	Источник
Хлоропластный геном	<i>Hordeum vulgare subsp. vulgare</i>	NC_008590	136462	C. Sasaki с соавт. [8]
		KC912687	115974	C. P. Middleton с соавт. [9]
		KT962228	136462	Q. X. Zeng с соавт. [10]
	<i>Hordeum vulgare subsp. spontaneum</i>	KC912688	114434	Middleton C. P. с соавт. [9]
		KC912689	114873	
Митохондриальный геном	<i>Hordeum vulgare subsp. vulgare</i>	AP017301	525599	H. Hisano, M. Tsujimura,
	<i>Hordeum vulgare subsp. spontaneum</i>	AP017300	525599	T. Terachi, K. Sato [11]

**Результаты и их обсуждение.** В ходе исследования был оптимизирован алгоритм обработки данных NGS для получения полных последовательностей хп и мт геномов ячменя при секвенировании смесей органелльной ДНК, полученной из фракции хлоропластов (см. *Объекты и методы исследования*). Данный алгоритм содержит стандартные этапы обработки NGS-прочтений при ресеквенировании геномов (очистка прочтений, выравнивание на референсную последовательность, получение и фильтрация VCF-файлов), однако включает особенности, необходимые для исключения ошибки выравнивания прочтений, относящихся к гомологичным областям генома (см. рисунок). Результаты тестирования метода подтвердили его применимость для обработки данных NGS смесей хп и мт ДНК с различными соотношениями их концентраций.

В результате обработки данных NGS получены полные нуклеотидные последовательности хп и мт геномов 17 образцов, несущих цитоплазму 5 диких форм (*Hordeum vulgare subsp. spontaneum*) и 7 культурных сортов (*Hordeum vulgare subsp. vulgare*) ячменя. В табл. 2 приведена более подробная информация об исследуемых образцах, а также номера доступа к полученным полным последовательностям в NCBI GenBank.

На основании полученных данных, а также последовательностей хп и мт геномов из базы данных NCBI GenBank (табл. 1) был проведен анализ изменчивости органелльных геномов ячменя, результаты которого представлены в табл. 3.



Алгоритм обработки данных NGS смесей хлоропластной и митохондриальной ДНК ячменя  
 NGS data processing algorithm for barley chloroplast and mitochondrial DNA mixtures

Таблица 2. Образцы ячменя, для которых получены полные последовательности хп и мт геномов

Table 2. Barley samples with obtained complete sequences of cp and mt genomes

Тип образца	Название образца	Номер доступа в NCBI GenBank		Страна происхождения источника цитоплазмы	Источник цитоплазмы
		Хп-геном	Мт-геном		
Замещенные линии ячменя (BC <sup>7</sup> )	Vizit (W3)	MN171383	MN127980	Израиль	<i>Hordeum vulgare subsp. spontaneum</i>
	Vezha (W3)	MN171381	MN127977		
	Roland (W3)	MN171377	MN127971		
	Vizit (W4)	MN171384	MN127981	Израиль	
	Roland (W4)	MN171378	MN127972		
	Vizit (W8)	MN171385	MN127982	Израиль	
	Roland (W8)	MN171379	MN127973		
	Vezha (W8)	MN171382	MN127978		
	Roland (W1)	MN171376	MN127970	Израиль	
Roland (W9)	MN171380	MN127974	Израиль		
Roland (Atlas)	MN171387	MN127967	США, Калифорния		
Roland (Himalaya)	MN171389	MN127968	Непал		
Сорта ячменя	Vezha	MN171391	MN127976	Беларусь	<i>Hordeum vulgare subsp. vulgare</i>
	Roland	MN171388	MN127969	Швеция	
	Vizit	MN171392	MN127979	Беларусь	
	Sobolyok	MN171390	MN127975	Россия	
	Maresi	MN171386	MN127966	Германия	

Таблица 3. Изменчивость оргanelльных геномов ячменя в исследуемой выборке

Table 3. The variability of barley organellar genomes in the study sample

Тип полиморфизмов	Общее число полиморфизмов (в том числе в кодирующей области)	
	Хлоропластный геном	Митохондриальный геном
Инсерции/делеции (INDEL)	9 (0)	1 (0)
Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP)	79 (20)	22 (4)
Изменчивость микросателлитных локусов (SSR)	19 (0)	0

В ходе сравнительного анализа 22 полных последовательностей хп геномов ячменя (10 образцов *H. vulgare subsp. vulgare* и 12 образцов *H. vulgare subsp. spontaneum*) выявлено 107 полиморфных локусов (табл. 3). Большинство найденных полиморфизмов расположено в некодирующей области генома, что может быть объяснено относительной консервативностью хп генов у представителей одного вида (*H. vulgare*). Тем не менее, 20 из 79 обнаруженных SNP располагались в экзонах генов субъединиц РНК-полимеразы (*rpoA*, *rpoC1*, *rpoC2*), АТФ-синтазы (*atpA*), НАДН-дегидрогеназы (*ndhA*, *ndhD*, *ndhH*, *ndhG*, *ndhK*), апопротеина А1 фотосистемы I (*psaA*), фактора инициации трансляции 1 (*infA*) и матуразы К (*matK*); 6 из них приводили к замене аминокислоты в кодируемой белковой последовательности (табл. 4).

Таблица 4. Обнаруженные несинонимичные SNP хлоропластного генома ячменя

Table 4. Discovered nonsynonymous SNPs of the barley chloroplast genome

Позиция в хп геноме (NC_008590)	Предковый аллель	Производный аллель	Замена аминокислоты	Ген (NCBI ID)	Продукт гена	Формы, несущие производный аллель
2634	C	T	Val370Ile	<i>matK</i> (4525145)	Интронная матураза	Roland (W9)
3242	A	G	Leu167Pro			<i>H. spontaneum</i> KC912688
25067	T	G	Asn571Lys	<i>rpoC1</i> (452512)	β'-субъединица РНК-полимеразы	Roland (W9)
49408	T	C	Lys233Asn	<i>ndhK</i> (4525141)	К-субъединица НАДН-дегидрогеназы	Roland (W9)
76884	G	A	Ser87Leu	<i>infA</i> (4525109)	Фактор инициации трансляции 1	Vizit (W3), Vezha (W3), Roland (W3), Vizit (W4), Roland (W4), Roland (W1)
111390	C	T	Gly16Glu	<i>ndhG</i> (4525170)	6-субъединица НАДН-дегидрогеназы	Roland (W9)
115228	T	G	Arg136Arg	<i>ndhH</i> (4525173)	7-субъединица НАДН-дегидрогеназы	Vizit (W3), Vezha (W3), Roland (W3), Vizit (W4), Roland (W4), Roland (W1), Vizit (W8), Vezha (W8), Roland (W8), Vezha

Анализ 19 полных последовательностей митохондриальных геномов (8 образцов *H. vulgare subsp. vulgare* и 11 образцов *H. vulgare subsp. spontaneum*) выявил сравнительно низкий уровень изменчивости данных органелл внутри вида: всего 1 INDEL и 22 SNP. Из 4 найденных в экзонах SNP 2 приходились на кодирующую область одного из генов малой субъединицы рибосом (*rps4*), а остальные 2 были расположены в экзоне псевдогена (*rps3a\_p*).

### Выводы

1. В результате исследования полных последовательностей хлоропластных геномов ячменя обнаружена их высокая вариабельность внутри вида *Hordeum vulgare*, ранее не описанная для геномов органелл данного вида. Уровень изменчивости митохондриальных геномов *Hordeum vulgare* был заметно ниже, чем хлоропластных.

2. Выявлен ряд полиморфизмов хлоропластных и митохондриальных геномов, которые могут быть использованы для внутривидовой идентификации и филогенетических исследований ячменя. Найденные полиморфизмы в кодирующей области лежат в генах белков, вовлеченных в ключевые процессы жизнедеятельности растительной клетки (дыхание, фотосинтез, транскрипция и трансляция) и могут оказывать влияние на фенотип растений.

3. Метод NGS смесей хлоропластной и митохондриальной ДНК представляет собой оригинальный подход, позволяющий получать одновременно данные об изменчивости обоих геномов. При небольшой модификации процесса обработки NGS-прочтений он может быть использован и для других культур.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках ГПНИ «Биотехнологии», 2016–2020 гг., подпрограмма 2 «Структурная и функциональная геномика», задания 2.06 и 2.29.

**Acknowledgements.** The study was carried out as a part of the State Scientific Research Program “Biotechnologies”, 2016–2020, Subprogram 2 “Structural and functional genomics”, assignments 2.06 and 2.29.

### Список использованных источников

1. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering / H. Daniel [et al.] // *Genome Biol.* – 2016. – Vol. 17, N 1. – Art. 134. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1004-2>
2. Structural dynamics of cereal mitochondrial genomes as revealed by complete nucleotide sequencing of the wheat mitochondrial genome / Y. Ogihara [et al.] // *Nucl. Acids Res.* – 2005. – Vol. 33, N 19. – P. 6235–6250. <https://doi.org/10.1093/nar/gki925>
3. Chloroplast genomic resources for phylogeny and DNA barcoding: a case study on *Fritillaria* / Y. Bi [et al.] // *Sci. Reports.* – 2018. – Vol. 8, N 1. – Art. 1184. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19591-9>
4. Targeted resequencing reveals genomic signatures of barley domestication / A. Pankin [et al.] // *New Phytologist.* – 2018. – Vol. 218, N 3. – P. 1247–1259. <https://doi.org/10.1111/nph.15077>
5. The productivity characteristics of substituted barley lines collection with marked chloroplast and mitochondrial genomes / I. M. Goloenko [et al.] // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2002. – Vol. 7, N 2A. – P. 483–491.
6. Triboush, S. O. A method for isolation of chloroplast DNA and mitochondrial DNA from sunflower / S. O. Triboush, N. G. Danilenko, O. G. Davydenko // *Plant Mol. Biol. Reporter.* – 1998. – Vol. 16. – P. 183–189. <https://doi.org/10.1023/A:1007487806583>
7. NGS data processing method for the mixture of chloroplast and mitochondrial DNA of barley / M. Makarevich [et al.] // *Systems biology and bioinformatics (SBB–2018) : Tenth International young scientists school, within the framework of the 11th International conference BGRS/SB–2018, Novosibirsk, Russia, 27–31 Aug., 2018 : abstracts* / Inst. of Cytology and Genetics, Siberian branch of the Rus. Acad. of Sci. [et al.]. – Novosibirsk, 2018. – P. 29.
8. Complete chloroplast genome sequences of *Hordeum vulgare*, *Sorghum bicolor* and *Agrostis stolonifera*, and comparative analyses with other grass genomes / C. Saski [et al.] // *Theor. Appl. Genetics.* – 2007. – Vol. 115, N 4. – P. 571–590. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0595-0>
9. Sequencing of chloroplast genomes from wheat, barley, rye and their relatives provides a detailed insight into the evolution of the Triticeae tribe / C. P. Middleton [et al.] // *PLoS ONE.* – 2016. – Vol. 9, N 3. – P. e85761. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085761>
10. The complete chloroplast genome of Tibetan hulless barley / Q. X. Zeng [et al.] // *Mitochondrial DNA. Part A.* – 2017. – Vol. 28, N 3 – P. 324–325. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1122765>
11. Mitochondrial genome sequences from wild and cultivated barley (*Hordeum vulgare*) / H. Hisano [et al.] // *BMC Genomics.* – 2016. – Vol. 17, N 1. – Art. 824. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3159-3>

### References

1. Daniel H., Lin C.-S., Yu M., Chang W.-J. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome Biology*, 2016, vol. 17, no. 1, art. 134. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1004-2>
2. Ogihara, Y., Yamazaki, Y., Murai K., Kanno A., Terachi T., Shiina T. [et al.]. Structural dynamics of cereal mitochondrial genomes as revealed by complete nucleotide sequencing of the wheat mitochondrial genome. *Nucleic Acids Research*, 2005, vol. 33, no. 19, pp. 6235–6250. <https://doi.org/10.1093/nar/gki925>
3. Bi Y., Zhang M., Xue J., Dong R., Du Y., Zhang X.-H. Chloroplast genomic resources for phylogeny and DNA barcoding: a case study on *Fritillaria*. *Scientific Reports*, 2018, vol. 8, no. 1, art. 1184. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19591-9>
4. Pankin A., Altmüller J., Becker C., von Korff M. Targeted resequencing reveals genomic signatures of barley domestication. *New Phytologist*, 2018, vol. 218, no. 3, pp. 1247–1259. <https://doi.org/10.1111/nph.15077>
5. Goloenko I. M., Lukhanina N. V., Shimkevich A. M., Aksyonova E. A., Danilenko N. G., Davydenko O. G. The productivity characteristics of substituted barley lines collection with marked chloroplast and mitochondrial genomes. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 2002, vol. 7, no. 2A, pp. 483–491.
6. Triboush S. O., Danilenko N. G., Davydenko O. G. A method for isolation of chloroplast DNA and mitochondrial DNA from sunflower. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1998, vol. 16, pp. 183–189. <https://doi.org/10.1023/A:1007487806583>
7. Makarevich M., Pankratov V., Sinyavskaya M., Lukhanina N., Shymkevich A., Liaudansky A., Goloenko I., Danilenko N., Davydenko O. NGS data processing method for the mixture of chloroplast and mitochondrial DNA of barley. *Systems biology and bioinformatics (SBB–2018): the Tenth International young scientists school, within the framework of the 11th International conference BGRS/SB–2018. Novosibirsk, Russia, 27–31 August, 2018: abstracts*. Novosibirsk, 2018, p. 29.
8. Saski C., Lee S. B., Fjellheim S., Guda C., Jansen R. K., Luo H., Tomkins J., Rognli O. A., Daniell H., Clarke J. L. Complete chloroplast genome sequences of *Hordeum vulgare*, *Sorghum bicolor* and *Agrostis stolonifera*, and comparative analyses with other grass genomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, vol. 115, no. 4, pp. 571–590. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0595-0>
9. Middleton C. P., Senerchia N., Stein N., Akhunov E. D., Keller B., Wicker T., Kilian B. Sequencing of chloroplast genomes from wheat, barley, rye and their relatives provides a detailed insight into the evolution of the Triticeae tribe. *PLoS ONE*, 2016, vol. 9, no. 3, p. e85761. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085761>

10. Zeng Q. X., Yuan J. H., Wang L. Y., Xu J. Q., Nyima T. The complete chloroplast genome of Tibetan hullless barley. *Mitochondrial DNA. Part A*, 2017, vol. 28, no. 3, pp. 324–325. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1122765>

11. Hisano H., Tsujimura M., Yoshida H., Terachi T., Sato K. Mitochondrial genome sequences from wild and cultivated barley (*Hordeum vulgare*). *BMC Genomics*, 2016, vol. 17, no. 1, art. 824. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3159-3>

### Информация об авторах

*Ермакович Анна Евгеньевна* – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bio.makarevich@gmail.com

*Синявская Марина Георгиевна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.sin@inbox.ru

*Панкратов Василий Сергеевич* – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vasilipankratov@gmail.com

*Левданский Олег Дмитриевич* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: 666555@tut.by

*Голоенко Инна Михайловна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: goloenkoi@tut.by

*Шимкевич Андрей Михайлович* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shymkevichandrei@mail.ru

*Луханина Наталья Владимировна* – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: n\_lukhanina@mail.ru

*Давыденко Олег Георгиевич* – член-корреспондент, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: davydenko@tut.by

### Information about the authors

*Anna E. Yermakovich* – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bio.makarevich@gmail.com

*Maryna G. Siniauskaya* – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.sin@inbox.ru

*Vasili S. Pankratov* – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vasilipankratov@gmail.com

*Aleh D. Liaudanski* – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 666555@tut.by

*Innesa M. Halayenka* – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goloenkoi@tut.by

*Andrei M. Shymkevich* – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shymkevichandrei@mail.ru

*Natalia V. Lukhanina* – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n\_lukhanina@mail.ru

*Oleg G. Davydenko* – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: davydenko@tut.by