

БЛЮМ Р. Я.^{1✉}, ДЕМИДОВ С. В.², ПІРКО Я. В.¹, БЛЮМ Я. Б.¹¹ Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,
Україна, 04123, м. Київ, вул. Байди-Вишневецького, 2А² ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
Україна, 03022, м. Київ, просп. Академіка Глушкова, 2, ORCID: 0000-0003-4936-1803, 0000-0003-1887-5406, 0000-0001-7078-7548

✉ blume.rostislav@gmail.com, 0444630532

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГЕНІВ ТУБУЛІНУ У АМФІДИПЛОЇДНИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *BRASSICA* ТА ЇХ БАТЬКІВСЬКИХ ВИДІВ

Мета. Ідентифікація генів α -, β - та γ -тубуліну у шести найбільш економічно значимих видів роду *Brassica*, а також встановлення їх філогенетичної класифікації та еволюційної історії. **Методи.** Повногеномний пошук послідовностей генів тубуліну, методи реконструкції філогенії, а також підходи порівняльної геноміки, зокрема аналіз синтениї. **Результати.** Ідентифіковано 229 функціональних генів тубуліну у шести представників роду *Brassica*, зокрема у *Brassica oleracea*, *Brassica rapa*, *Brassica nigra*, *Brassica napus*, *Brassica juncea* та *Brassica carinata*. Результати реконструкції філогенії ідентифікованих генів тубуліну свідчать про те, що α -тубуліни *Brassica* поділяються на два філогенетичні класи, а β -тубуліни на 5 основних груп, що спостерігається і у інших Хрестоцвітних. Представники підроду γ -тубулінів *Brassica* не демонстрували ізотипового різноманіття і виявились філогенетично ближчими до TUG1. Завдяки аналізу синтениї підтверджено значну консервативність набору генів тубуліну у проаналізованих видів *Brassica*, зокрема і у тих, котрі мають алополіплоїдне походження. **Висновки.** Показано, що родина генів тубуліну у представників *Brassica* характеризується значною консервативністю та еволюційно стабільним набором генів навіть у алополіплоїдних видів, а наявне різноманіття ізотипів тубуліну сформоване більш ранніми подіями повногеномних перебудов, що є спільними для більшості Хрестоцвітних.

Ключові слова: *Brassica*, α -тубулін, β -тубулін, γ -тубулін, філогенія, синтения, алополіплоїдизація, еволюція геному.

Серед олійних культур, які сукупно забезпечують більше третини промислового виробництва олій, найбільш поширеними у Європі та

Північній Америці є такі олійні культури, як соняшник (*Helianthus annuus*), соя (*Glycine max*), ріпак (*Brassica napus*), тощо [1]. Окрім ріпаку, інші рослини з родини Хрестоцвітних (*Brassicaceae*) також набули широкого поширення та культивуються як у харчових, так і в промислових цілях, зокрема суріпиця (*Brassica rapa* ssp. *oleifera*, syn. *Brassica campestris*), гірчиця сарептська (*Brassica juncea*), гірчиця чорна (*Brassica nigra*) та інші [1]. Більше того, такі перспективні біопаливні олійні культури, як рижій посівний (*Camelina sativa*), талабан (*Thlaspi arvense*) та абіссинська гірчиця, або каріната (*Brassica carinata*) також належать до цієї родини [2, 3].

Однак, такі нові олійні культури, як талабан та рижій, мають ряд агротехнічних недоліків, зокрема недостатню врожайність, котрі обмежують широке використання цих рослин [2, 3]. Необхідність удосконалення згаданих олійних культур вимагає залучення комплексних селекційних підходів, які, в тому числі, базуються на використанні новітніх молекулярних маркерів. Стабільність, відтворюваність та точність маркерних систем є важливою складовою ефективного виведення нових високопродуктивних сортів олійних культур. Однією з таких маркерних систем є оцінка поліморфізму довжини інтронів генів тубуліну (Tubulin-Based Polymorphism, TBP) [4, 5]. Висока консервативність кодуючої частини генів тубуліну контрастує з підвищеною варіабельністю інтронних ділянок, що дозволяє в межах однієї ПЛР оцінити варіабельність інтронів у генів β -тубуліну, наявних у геномі досліджуваного виду та дозволяє отримати значний обсяг даних про ступінь їх поліморфізм [4–6].

Виявлення варіацій та копійності генів тубуліну є важливим і з точки зору інтерпрета-

© БЛЮМ Р. Я., ДЕМИДОВ С. В., ПІРКО Я. В., БЛЮМ Я. Б.

ції даних TBP-аналізу, в тому числі у Хрестоцвітних, які характеризуються значними відмінностями плоідності у різних видів [1]. Окрім визначення генетичного поліморфізму TBP-метод зарекомендував себе як ефективний інструмент для аналізу плоідності рослин та розрізнення таксонів на основі їх молекулярно-генетичних профілів (баркодинг), що є також надзвичайно важливим у селекції [5–7].

Гени тубуліну відіграють ключову роль у організації мікротрубочок та поділі клітин, які у квіткових рослин також представлені α , β та γ підродинами. Найбільш численними з них є α - та β -тубуліни, кількість генів яких становить понад 80% серед усіх тубулінів квіткових рослин. Родина Хрестоцвітних включає ряд модельних видів (*Arabidopsis thaliana*, *Brassica sp.* та ін.) та є однією з найбільш досліджених груп квіткових рослин з 539 доступними збірками геномів. Родина об'єднує значну кількість мезота неополіплоїдних організмів, котрі виникли в результаті відносно нещодавніх подій поліплоїдизації, дозволяючи відслідковувати процес субфункціоналізації генів тубуліну, що є, в тому числі, цікавим з еволюційної точки зору [4, 7, 8]. Саме тому метою даного дослідження були повногеномний пошук та ідентифікація генів тубуліну у таких представників роду *Brassica*, як *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. nigra*, *B. napus*, *B. juncea*, *B. carinata*, які характеризуються близькою спорідненістю та здатністю до міжвидової гібридизації.

Матеріали і методи

Гени тубулінів були ідентифіковані у геномах 6-ти видів представників роду *Brassica*, зокрема *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. nigra*, *B. napus*, *B. juncea*, *B. carinata*, спираючись на найбільш актуальні референтні збірки геномів зазначених видів (GCA_000695525.1, GCA_000309985.3, GCA_016432835.1, GCA_020379485.1, GCA_018703725.1, GCA_040584065.1). Геноми *B. nigra*, *B. juncea*, *B. carinata* були анотовані *ab initio* за допомогою програмного забезпечення AUGUSTUS. Ідентифікацію генів здійснювали за допомогою бібліотеки руHMMER шляхом пошуку в масиві послідовностей транскрибованих пептидів таких амінокислотних послідовностей, які б містили ННМ-профілі (з бази даних Pfam), характерні для тубулінів. При виправленні помилок анотації геномів за допомогою WebScipio (<https://www.webscipio.org/search>) [9] використовували послідовності тубулінів арабідопису

(*Arabidopsis thaliana*) у якості референтних. Дані про екзон-інтронну структуру генів тубуліну отримували, спираючись на виправлені анотації ідентифікованих генів у геном зазначених видів *Brassica*. Ідентифікацію консервативних, характерних для α -, β - та γ -тубулінів, доменів здійснювали за допомогою InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>), спираючись на інформацію з баз даних Pfam та CDD.

При проведенні філогенетичного аналізу були використані саме транскрибовані амінокислотні послідовності ідентифікованих генів. Отримані послідовності тубулінів були вирівняні за допомогою алгоритму MUSCLE та відредаговані з метою видалення переривчастих ділянок (гепів), котрі негативно впливають на точність реконструкції філогенії. Філогенетичні дерева були побудовані з використанням веб-версії програмного забезпечення IQ-TREE (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) [10] за допомогою методу Maximum Likelihood (ML) з підбором оптимальної моделі заміни (JTT) та з бустреп-підтримкою в 1000 ітерацій. Філогенетичні дерева були візуалізовані за допомогою програмного забезпечення iTOL v6 (<https://itol.embl.de/>) [11].

З метою аналізу еволюційного походження ідентифікованих генів нами також було проведено аналіз синтенії між геномами аналізованих видів за допомогою алгоритму MCScanX, інтегрованого у програму TBtools v2.045. Даний аналіз базувався на тотальному порівнянні нуклеотидних послідовностей усіх транскриптів піддослідних геномів. Результати даного аналізу синтенії були візуалізовані у вигляді кругової діаграми (Circos plot) за допомогою TBtools v2.045 [12].

Результати та обговорення

За результатами повногеномного пошуку було виявлено 238 тубулін-подібних послідовностей, з яких 229 належали функціональним генам тубуліну в шести видів Капустяних, а саме *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. nigra*, *B. napus*, *B. juncea* та *B. carinata* (рис. 1). Найбільш частими представниками родини генів тубуліну є β -тубуліни (TUB) – вони становили 62% (143 гени) від загального числа виявлених тубулінів у представників роду *Brassica* (рис. 1А). Менш часто зустрічались α -тубуліни (TUA), які склали 34% (77 генів) всіх генів тубуліну, а рідкіснішими (4%) й, водночас, найбільш консервативними виявились γ -тубуліни (TUG), яких було виявлено лише 9 генів (рис. 1А).

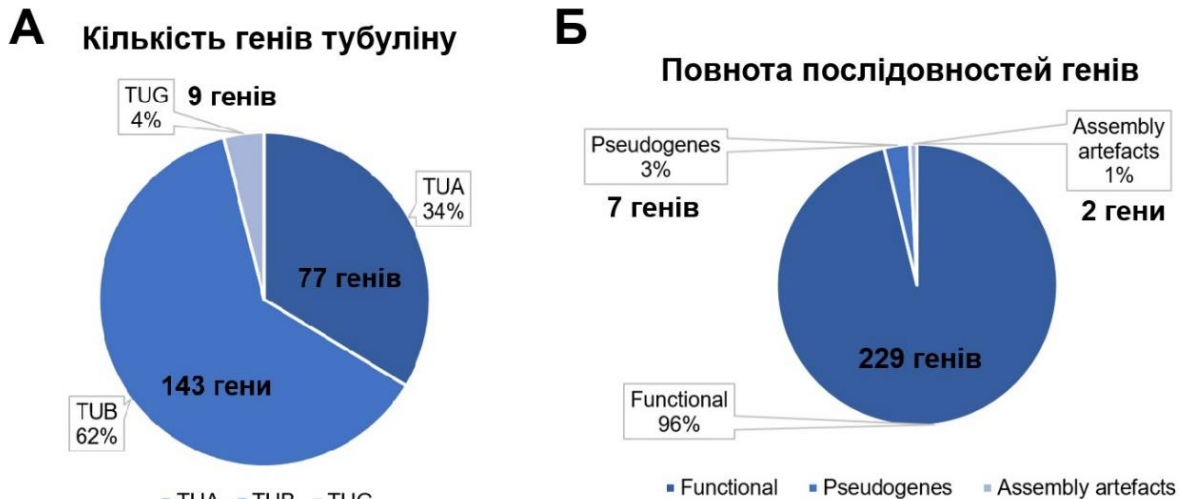


Рис. 1. Підсумки пошуку генів тубуліну в шести геномах Хрестоцвітих (*B. oleracea*, *B. rapa*, *B. nigra*, *B. napus*, *B. juncea*, *B. carinata*). А – Кількість ідентифікованих α -, β - та γ -тубулінів; Б – Повнота ідентифікованих послідовностей.

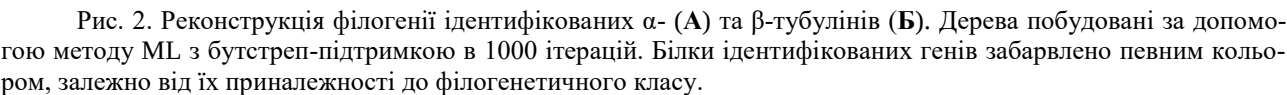
Слід зазначити, що серед ідентифікованих 238-ми послідовностей генів тубуліну, два гени виявились артефактами збірки геному і були частково втраченими через некоректну збірку контигів, оскільки вони розташовувались на кінцевих ділянках зібраних фрагментів (рис. 1Б). Також 7 послідовностей виявились псевдогенами, в яких були втрачені значні частини кодуєчих ділянок або містились мутації, що призводили до порушення структури генів, наприклад, формування передчасного стоп-кодону (рис. 1Б). На відміну від задіяних раніше методів застосований в даному дослідженні підхід до повногеномного пошуку дозволяє швидко та точно ідентифікувати гени тубуліну, котрі передбачали ручний аналіз результатів BLAST-пошуку та анотацію окремих генів за допомогою WebScipio [7, 13].

Використовуючи трансльовані амінокислотні послідовності ідентифікованих генів також було проведено філогенетичний аналіз тубулінів Хрестоцвітих (рис. 2). При реконструкції філогенетичних дерев були також використані послідовності *Arabidopsis lyrata*, *A. thaliana* та *C. sativa*. В обох випадках високі рівні бутстреп-значень вказують на значну статистичну підтримку та достовірність отриманої топології філогенетичних дерев. У цілому було підтверджено, що α -тубуліни (в тому числі й ідентифіковані) поділяються на два основні філогенетичні класи (рис. 2А), котрі є доволі консервативними і спостерігаються у більшості квіткових

рослин [7, 8, 14]. Слід також зазначити, що амінокислотні послідовності тубулінів Класу II є менш еволюційно консервативними, ніж у представників Класу I.

Аналогічним чином також було реконструйовано філогенетичні співвідношення ідентифікованих β -тубулінів (рис. 2Б). Загалом, досліджені β -тубуліни поділяються на п'ять основних філогенетичних груп, що відповідають чотирьом основним класам β -тубулінів (I, II, III, IV) та одному додатковому підкласу (Клас III-подібні білки) [7, 8]. В проаналізованих видів *Brassica* були наявні β -тубуліни усіх п'яти філогенетичних класів (рис. 2Б). Однак не усі гени β -тубулінів *Brassica* є ортологічними для генів ізотипів *A. thaliana*. Так, у досліджених видів *Brassica* не виявлено ортологів для ізотипу AtTUB5, який вважається спорідненим для AtTUB1, представника Класу IV. Вважається, що ізоטיפи AtTUB1 та AtTUB5 є паралогічним, а їх диференціація відбулась в результаті події повногеномної дуплікації, що мала місце на ранніх етапах еволюції Хрестоцвітих [8, 14]. Імовірно, у представників роду *Brassica* гени β -тубуліну ізотипу 1/5 не були збережені у дуплікованому стані, додаткові копії були редуковані, через що у сучасних видах *Brassica* наявні лише ортологи AtTUB1.

Також було реконструйовано філогенетичні співвідношення ідентифікованих γ -тубулінів з гомологічними білками інших видів Хрестоцвітих (рис. 3А).



Аналізовані γ -тубуліни були розподілені на дві основні клади, що формувались з високою бутстреп-підтримкою (понад 75%). Слід зазначити, що γ -тубуліни *Brassica* групувались виключно з білками ізо типу AtTUG1 і ніколи з AtTUG2. Більше того, γ -тубуліни *Brassica* всередині групи TUG1 виокремлювались в кладу нижчого порядку, що обумовлено спільним походження представників роду *Brassica* в ході серії подій поліплоїдизації (рис. 3А). Слід також відзначити, що γ -тубуліни *C. sativa* аналогічно формували власні клади нижчого порядку всередині великих філогенетичних груп їх ізо типів (рис. 3А), що також пов'язано з алополіплоїдним походженням генома цього виду [8].

Надалі було проведено аналіз синтенії між геномами проаналізованих видів з метою встановлення еволюції родини гени тубулінів у видах алополіплоїдного походження. На рис. 3Б в

якості прикладу наведено аналіз синтенії між А та С підгеномами *B. napus* та їх батьківськими видами – *B. oleracea* (C) та *B. rapa* (A). Наслідкування тубулінів в результаті видоутворення шляхом алополіплоїдизації показано на приладі успадкування гена γ -тубуліну в С-підгеномі. У диплоїдних видів *B. oleracea* (С-геном), *B. rapa* (А) та *B. nigra* (В) копійність генів тубуліну значною мірою варіює, оскільки після древньої події повногеномної триплікації геноми цих видів зазнавали значних перебудов, що супроводжувалось втратою окремих генів [15]. У той же час переважна більшість генів, успадкованих алополіплоїдними видами зберігалась в оригінальних локусах та мала тенденцію до збереження. Наразі вважається, що алополіплоїдизація не спричиняла значної реорганізації в межах підгеномів у представників *Brassica*.

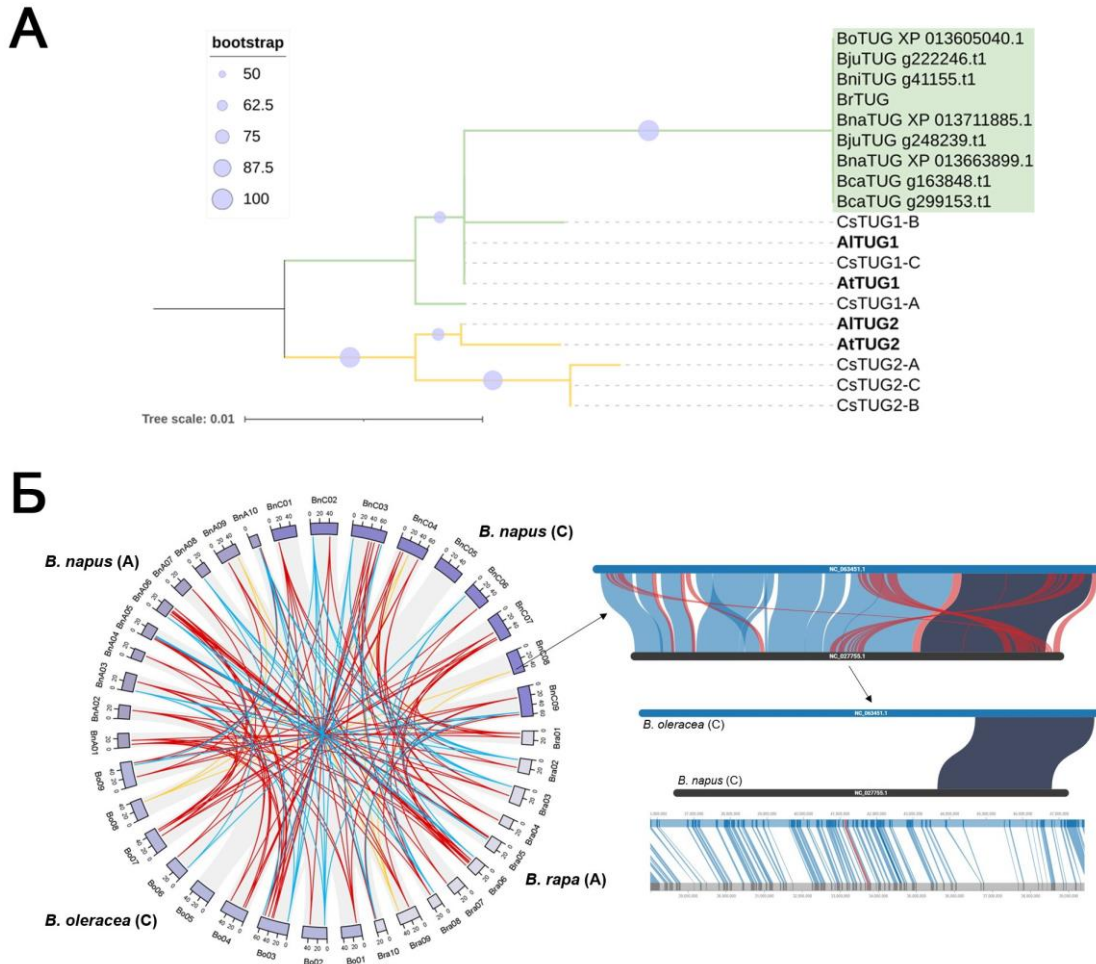


Рис. 3. Еволюція генів тубуліну у проаналізованих видів *Brassica*. (А) Реконструкція філогенії ідентифікованих γ -тубулінів за допомогою методу ML з бутстреп-підтримкою в 1000 ітерацій; (Б) Синтенія між підгеномами ріпаку (*B. napus*) та його батьківськими видами (*B. oleracea* та *B. rapa*), зліва різними кольорами показано α - (сині), β - (червоні) та γ -тубуліни (жовті). Справа показано успадкування γ -тубуліну в С-геномі.

Отримані результати свідчать про те, що еволюційна траєкторія генів тубуліну роду *Brassica* значною мірою сформована серією подій повногоеномних дуплікацій, як на початку еволюційної історії роду (автополіплоїдія, повногоеномна триплікація), так і при утворенні алополіплоїдних видів. Ці процеси призвели до суттєвого збільшення копійності генів тубулінів усіх підродин, хоча і число γ -тубулінів залишилось відносно низьким через їх високу консервативність та значну функціональну роль. Наразі відомо, що подібні процеси сформували набір генів тубуліну у диплоїдного виду *A. thaliana*, який, тим не менш, зазнавав древніх подій подвоєння геному (α - та β -WGD), що визначило появу значної частини різноманіття ізотипів тубулінів [14]. Аналогічно, у комплексних алополіплоїдів кратне збільшення геному призводить до різкого збільшення числа генів тубуліну з їх подальшою субфункціоналізацією, як нещодавно продемонстровано на прикладі *C. Sativa* [8]. Таким чином, вивчення еволюції генів тубуліну є важливим не лише для розуміння складних генетичних взаємодій при формуванні цитоскелету, а й також може слугувати моделлю для вивчення субфункціоналізації генів у складних поліплоїдних організмів.

Висновки

За результатами проведеного повногоеномного пошуку та ідентифікації генів тубулінів у

видів *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. nigra*, *B. napus*, *B. juncea* та *B. carinata* виявлено 229 функціональних генів, серед яких 62% складали гени β -тубуліну, 34% – α -тубуліну, а γ -гени тубуліну – лише 4%. Філогенетичний аналіз ідентифікованих генів засвідчив, що у геномах *Brassica* зберігається функціональна спеціалізація генів тубуліну, яка виявляється у різноманітті їх ізотипів. При цьому також було показано, що γ -тубуліни представлені лише одним ізотипом у досліджених видів. Проведений аналіз синтениї підтверджує консервативність генів тубуліну, а також відносну стабільність їх кількості у підгеномах алополіплоїдних видів *Brassica*. Проведене дослідження сприяє кращому розумінню еволюційної консервативності генів тубуліну та їх ізотипове різноманіття у Хрестоцвітних, що дозволяє в майбутньому краще зрозуміти механізми субфункціоналізації та регуляції генів тубуліну.

Робота виконана за підтримки науково-дослідного проєкту ВЦП КНУ ім. Т. Шевченка при НАН України «Розробка технологічних засад отримання біодизелю з олії карінати (*Brassica carinata*) шляхом ліпазної трансестерифікації» (2024-25 рр. № Держреєстрації: 0124U002185) та в рамках програми 6541030 за темою «Вивчення екзон-інтронної структури генів рослин та грибів як джерела генетичних маркерів для молекулярно-генетичних досліджень та маркер-опосередкованої селекції» (2024-28 рр. № Держреєстрації: 0124U002604).

References

1. Warwick S. I. Brassicaceae in agriculture, In: Schmidt R., Bancroft I. (Eds), Genetics and Genomics of the Brassicaceae. Springer Science+Business Media; LLC, New York, NY, 2011. P. 33–65. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7118-0>.
2. Gesch R. W., Isbell T. A., Oblath E. A., Allen B. L., Archer D. W., Brown J., Hatfield J. L., Jabro J. D., Kiniry J. R., Long D. S., Vigil M. F. Comparison of several *Brassica* species in the north central U.S. for potential jet fuel feedstock. *Ind. Crop. Prod.* 2015. Vol. 75. P. 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.084>.
3. Blume R. Y., Rakhmetov D. B., Blume Y. B. Evaluation of Ukrainian *Camelina sativa* germplasm productivity and analysis of its amenability for efficient biodiesel production. *Ind. Crop. Prod.* 2022. Vol. 187B. P. 115477. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115477>.
4. Gavazzi F., Pigna G., Braglia L., Giani S., Breviario D., Morello L. Evolutionary characterization and transcript profiling of beta-tubulin genes in flax (*Linum usitatissimum* L.) during plant development. *BMC Plant Biol.* 2017. Vol. 17. P. 237. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1186-0>.
5. Guadalupi C., Braglia L., Gavazzi F., Morello L., Breviario D. A combinatorial Q-locus and tubulin-based polymorphism (TBP) approach helps in discriminating *Triticum* species. *Genes.* 2022. Vol. 13. P. 633. <https://doi.org/10.3390/genes13040633>.
6. Rabokon A. M., Blume R. Y., Sakharova V. G., Chopei M. I., Afanasieva K. S., Yemets A. I., Rakhmetov D. B., Pirko Y. V., Blume Y. B. Genotyping of interspecific *Brassica rapa* hybrids implying β -tubulin gene intron length polymorphism (TBP/cTBP) assessment. *Cytol. Genet.* 2023. Vol. 57 (6). P. 538–549. <https://doi.org/10.3103/S0095452723060075>.
7. Lykholat Y. V., Rabokon A. M., Blume R. Ya., Khromykh N. O., Didur O. O., Sakharova V. H., Kabar A. M., Pirko Ya. V., Blume Ya. B. Characterization of β -tubulin genes in *Prunus persica* and *Prunus dulcis* for fingerprinting of their interspecific hybrids. *Cytol. Genet.* 2022. Vol. 56 (6). P. 481–493. <https://doi.org/10.3103/S009545272206007X>.
8. Blume R. Y., Rabokon A. M., Pydiura M., Yemets A. I., Pirko Y. V., Blume Y. B. Genome-wide identification and evolution of the tubulin gene family in *Camelina sativa*. *BMC Genomics.* 2024. Vol. 25. P. 599. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10503-y>.

9. Hatje K., Keller O., Hammesfahr B., Pillmann H., Waack S., Kollmar M. Cross-species protein sequence and gene structure prediction with fine-tuned WebScipio 2.0 and Scipio. *BMC Res. Notes*. 2011. Vol. 4. P. 265. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-265>.
10. Trifinopoulos J., Nguyen L.T., von Haeseler A., Minh B.Q. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Res.* 2016. Vol. 44 (W1). P. W232–235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>.
11. Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res.* 2021. Vol. 49 (W1). P. W293–296. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>.
12. Chen C., Wu Y., Li J., Wang X., Zeng Z., Xu J., Liu Y., Feng J., Chen H., He Y., Xia R. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining. *Mol. Plant.* 2023. Vol. 16. P. 1733–1742. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.09.010>.
13. Blume R. Y., Hotsuliak V. Y., Nazarenus T. J., Cahoon E. B., Blume Y. B. Genome-wide identification and diversity of *FAD2*, *FAD3* and *FAE1* genes in terms of biotechnological importance in *Camelina* species. *BMC Biotechnol.* 2024. Vol. 24. P. 107. <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00936-4>.
14. Yemets A., Shadrina R., Blume R., Plokhovska S., Blume Y. Autophagy formation, microtubule disorientation, and alteration of ATG8 and tubulin gene expression under simulated microgravity in *Arabidopsis thaliana*. *npjMicrogravity*. 2024. Vol. 10. P. 31. <https://doi.org/10.1038/s41526-024-00381-9>.
15. Lysak M. A., Mandakova T., Schranz M.E. Comparative paleogenomics of crucifers: ancestral genomic blocks revisited. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2016. Vol. 30. P. 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.02.001>.

BLUME R. Y.¹, DEMYDOV S. V.², PIRKO Y. V.¹, BLUME Y. B.¹

¹ Institute of Food Biotechnology and Genomics, Natl. Acad. Sci. Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Baidy-Vyshnevetskoho str., 2A

² Institute of Biology and Medicine, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, 03022, Kyiv, Hlushkova ave., 2, ORCID: 0000-0003-4936-1803, 0000-0003-1887-5406, 0000-0001-7078-7548

IDENTIFICATION OF TUBULIN GENES IN AMPHIDIPOID REPRESENTATIVES OF THE GENUS *BRASSICA* AND THEIR PARENT SPECIES

Aim. To identify α -, β -, and γ -tubulin genes in the six most economically important *Brassica* species, as well as to establish their phylogenetic classification and clarify their evolutionary history. **Methods.** Genome-wide identification of tubulin gene sequences, phylogeny reconstruction methods, and comparative genomics approaches, including synteny analysis. **Results.** 229 functional tubulin genes were identified in six representatives of the *Brassica* genus, including *Brassica oleracea*, *Brassica rapa*, *Brassica nigra*, *Brassica napus*, *Brassica juncea*, *Brassica carinata*. Phylogenetic analysis of the identified tubulin genes showed that *Brassica* α -tubulins are divided into two phylogenetic Classes, and β -tubulins into 5 main groups, which are also observed in other Brassicaceae. Representatives of the *Brassica* γ -tubulin subfamily did not exhibit isotype diversity and were phylogenetically closer to TUG1. The synteny analysis confirmed the significant conservation of the tubulin gene set in the analyzed *Brassica* species, including those of allopolyploid origin. **Conclusions.** It has been shown that the tubulin gene family in *Brassica* representatives is characterized by significant conservation and an evolutionarily stable set of genes even in allopolyploid species, while the existing diversity of tubulin isotypes is shaped by earlier events of whole-genome rearrangements, which are common to most Brassicaceae.

Keywords: *Brassica*, tubulins, α -tubulin, β -tubulin, γ -tubulin, phylogeny, synteny, allopolyploidy, genome evolution.