

ГЕНЕТИКА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ

DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-56-65

УДК 633.16: 575.167

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Р. А. Абдуллаев¹, Н. В. Алпатьева¹, Ю. И. Карабицина¹, И. А. Звейнек¹, Б. А. Баташева², И. Н. Анисимова¹, Е. Е. Радченко¹

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44
e-mail: abdullaev.1988@list.ru

²Филиал Дагестанская опытная станция ВИР, Россия, 368612, Дербентский р-н, с. Вавилово, п/о Хазар

Ключевые слова:

ячмень, скороспелость, фотопериодическая чувствительность, аллели локусов *Ppd* и *VRN*, молекулярные маркеры

Поступление:

25.10.2017

Принято:

17.11.2017

АЛЛЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ УЧАСТВУЮЩИХ В КОНТРОЛЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ПЕРИОДА ВСХОДЫ-КОЛОШЕНИЕ ГЕНОВ *Ppd* И *VRN* У ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ ДАГЕСТАНА

Актуальность. Одним из важных признаков, определяющих адаптивный потенциал культуры и широту ее эколого-географического распространения, является скорость развития. Время колошения у ячменя определяется генами, контролирующими тип развития (*VRN*), слабую чувствительность к фотопериоду (*Ppd*) и собственно скороспелость (*eps*). В коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) насчитывается 282 образца культурного ячменя из Дагестана, сведения об адаптивной ценности которых фрагментарны, а аллельный полиморфизм у этих форм изучен лишь по локусам *Ppd*. **Материалы и методы.** В 2012–2014 гг. сравнили продолжительность периода всходы-колошение 265 образцов ячменя из Дагестана в контрастных по климатическим условиям и флористическому разнообразию зонах Европейской части России: Ленинградской области и Дагестане. С помощью молекулярных маркеров, основанных на полимеразной цепной реакции, идентифицировали аллели генов *VRN-H2* и *VRN-H3* у 229 местных (65 озимых и 164 яровых) образцов, а также 34 сортов и линий (23 озимых и 11 яровых). При изучении аллельного состояния гена *VRN-H1* выборка была несколько меньше за счет яровых местных форм (151 образец). У образцов ячменя, различающихся по продолжительности периода всходы-колошение, оценили частоты различных аллельных комбинаций локусов *VRN* и *Ppd*. **Результаты и выводы.** В южном Дагестане наиболее высокой скоростью развития характеризовались образцы к-15008 и к-15013, в северо-западном регионе России выделен скороспелый образец к-15027. Выявили 22 группы с различными аллельными комбинациями генов *Ppd* и *VRN*. Семь образцов ячменя характеризовались уникальным сочетанием аллелей, 50 форм образцов ячменя (по 2–7 образцов) групп, 150 изученных форм распределились в две большие группы *Ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3* и *ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3*, представленные 59 и 91 образцом соответственно. Первая группа ячменей оказалась самой позднеспелой в условиях короткого дня (г. Дербент) и преимущественно (93% образцов) представлена озимыми формами. Ячмени с сочетанием аллелей *Ppd-H1ppd-H2* в комбинации и с рецессивными, и с доминантными аллелями *VRN*, в подавляющем большинстве были более позднеспелыми на коротком дне в сравнении с носителями сочетания аллелей *ppd-H1Ppd-H2*.

DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-56-65

ORIGINAL ARTICLE

R. A. Abdullaev¹, N. V. Alpatieva¹, I. A. Zveinek¹, B. A. Batasheva²,
I. N. Anisimova¹, E. E. Radchenko¹

¹Federal Research Center the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 B Morskaya St., St. Petersburg, 190000, Russia, e-mail: abdullaev.1988@list.ru

²Dagestan Experimental Station of VIR, Derbent, Russia

Key words:

barley, early ripeness, photoperiodic sensitivity, alleles of Ppd and VRN loci, molecular markers

Received:

25.10.2017

Accepted:

17.11.2017

ALLELIC DIVERSITY OF THE *Ppd* AND *VRN* GENES INVOLVED IN CONTROL OF THE DURATION OF SHOOTING-EARING STAGE IN DAGESTANIAN BARLEY ACCESSIONS

Background. The development rate is an important trait determining the crop adaptation potential and the latitude of its ecological and geographical dissemination. Earing date in barley is determined by the genes controlling growth habit (*VRN*), weak photoperiodic sensitivity (*Ppd*) and earliness *per se* (*eps*). The collection of the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) comprises 282 cultivated barley accessions from Dagestan. The information on the adaptive value of the accessions is fragmentary, and only for the *Ppd* loci the allelic polymorphism was studied. **Materials and methods.** During the years 2012–2014 the duration of the period between shooting and earing stages in 265 Dagestan barley accessions was studied in the two zones of European Russia, the Leningrad province and Dagestan characterized by contrast climatic conditions and floristic diversity. With the use of the PCR-based molecular markers the alleles of the *VRN-H2* and *VRN-H3* genes were identified in 229 (65 winter and 164 spring) landraces as well as in 34 varieties and lines. The sample was lesser due to the number of spring landraces (151 accessions) when the allelic state of the *VRN-H1* gene was investigated. The frequencies of different allelic combinations of the *VRN* and *Ppd* loci were studied in barley accessions differing by the duration of period between shooting and earing stages. **Results and conclusions.** The accessions k-15008 and k-15013 were characterized by the highest development rate in South Dagestan. In Northwest Russia the early accession k-15027 was revealed. Twenty two groups with different allelic combinations of the *Ppd* and *VRN* genes were identified. Seven barley accessions were characterized by the unique allelic combinations. Fifty accessions were differentiated into 13 small (for 2–7 accessions) groups, 150 accessions were distributed among the two large groups *Ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3* and *ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3* each comprising 59 and 91 accessions correspondingly. The first barley group was the most late-ripening under the short-day photoperiod (Derbent) and predominantly (93%) included winter forms. The vast majority of barleys possessing the *Ppd-H1ppd-H2* genotypes in combinations with recessive and dominant alleles of the *VRN* genes were more late-ripening under the short-day photoperiod in comparison with the carriers of the *ppd-H1Ppd-H2* allelic combination.

Введение

У ячменя идентифицировано 5 главных генов и 9 локусов количественных признаков (quantitative trait loci – QTL), контролирующих время колошения (Laurie et al., 1994; 1995). Гены *Ppd-H1* и *Ppd-H2* (photoperiod response) локализованы в хромосомах 2Н и 1Н соответственно. Доминантный аллель *Ppd-H1* контролирует быструю реакцию на удлинение фотопериода и раннее колошение ячменя в условиях длинного дня. Задержка колошения на длинном дне обусловлена рецессивным аллелем *ppd-H1*. Доминантный аллель *Ppd-H2* при коротком дне ускоряет наступление колошения, рецессивный аллель задерживает колошение. Тип развития детерминируется тремя парами генов: *VRN-H1*, *VRN-H2* и *VRN-H3* (vernalization). Гены *VRN* контролируют потребность растений в яровизации для перехода к колошению и, следовательно, участвуют в регуляции скорости развития ячменя. На фоне экспрессии генов, контролирующих тип развития и фотопериодическую реакцию растений, существенное влияние на скорость развития оказывали гены *eps*, контролирующие собственно скороспелость, или скороспелость *per se* (earliness *per se*).

Локализация генов *VRN* совпадает с положением идентифицированных ранее генов *Sh*, *Sh2* и *Sh3* в хромосомах 4 (4Н), 7 (5Н) и 5 (1Н) соответственно (Takahashi, Yasuda, 1956; 1971). Было показано, что гены *Sh2* и *Sh3* эпистатичны по отношению к доминантному аллелю *Sh*, а аллель *sh* имеет аналогичное влияние на рецессивные аллели *sh2* и *sh3*, контролирующие озимый тип развития. Рецессив по трем локусам под влиянием *sh*-аллеля обуславливает развитие растений-двуручек. В локусе *Sh2* существует серия аллелей, которая контролирует различные градации ярового типа развития ячменя от типично ярового до крайне озимого (Takahashi, Yasuda, 1956; 1971).

Н. Jones с соавторами (Jones et al., 2008) изучили нуклеотидный полиморфизм доминантного и рецессивного аллелей локуса *Ppd-H1* у 87 местных сортов ячменя и выявили SNP, достоверно связанные с фенотипом – сроками колошения на длинном и коротком дне. Впоследствии М. М. Злотина с соавторами (Zlotina et al., 2013) разработали CAPS-маркер для идентификации доминантного и рецессивного аллелей. Установлено, что доминантный аллель *Ppd-H2* кодирует функциональный фосфатидилэтаноламин-связывающий белок HvFT3, тогда как у носителей рецессивного аллеля *ppd-H2* значительная часть кодирующей последовательности оказалась утраченной (Kikuchi et al., 2009).

Молекулярные маркеры пока что ограниченно используются для идентификации аллельного состава локусов *Ppd* и *VRN* у российских сортов ячменя. Аллельное состояние этих генов было изучено у 91 сорта ярового ячменя, допущенного к использованию в России и Беларуси. Сорта с доминантным аллелем *Ppd-H1* опережали другие генотипы по скорости развития при возделывании в условиях длинного светового дня, причем носители этого аллеля в изученной выборке составили всего 9%. Аллели генов *Vrn* также достоверно влияли на продолжительность периода всходы-колошение изученных сортов. Среди генотипов, несущих одинаковые аллели генов *Ppd-H1* и *Ppd-H2*, носители аллельной комбинации *Vrn-H1vrn-H2Vrn-H3* переходили к колошению раньше генотипов с другим сочетанием аллелей генов *Vrn* (Zlotina et al., 2013).

Исследовали продолжительность периода всходы-колошение 265 образцов ячменя из Дагестана. В течение трех лет изучения на филиале Дагестанская опытная станция ВИР (г. Дербент) выделили скороспелые образцы к-15008 и к-15013. Оценка яровых форм в северо-западном регионе страны позволила выявить образец к-15027, который обладал высокой скоростью развития в течение двух лет. Установлено, что дагестанские ячмени сильно подвержены влиянию

условий выращивания, то есть имеют высокую норму реакции. Яровизирующие температуры, короткий день и высокие температуры в период вегетации способствуют скороспелости ячменя (Zveinek et al., 2016). С помощью молекулярных маркеров оценили аллельное состояние генов *Ppd-H1* и *Ppd-H2* у 193 образцов местного ячменя из Дагестана, а также 27 сортов и селекционных линий. Оказалось, что подавляющее большинство образцов местных форм ячменя – носители доминантного аллеля *Ppd-H2*, который обуславливает более раннее колошение при коротком фотопериоде. Перемещение изученной группы ячменей в несвойственные для нее условия северо-запада России приводит к существенной задержке развития растений (Abdullaev et al., 2017).

Цель настоящей работы – изучить аллельное состояние генов *VRN* у дагестанских ячменей и оценить частоты различных аллельных комбинаций локусов *Ppd* и *VRN* у образцов ячменя, различающихся по продолжительности периода всходы-колошение.

Материалы и методы

Полевые наблюдения выполнены в 2012–2014 гг. в филиале Дагестанская опытная станция ВИР (ДОС ВИР, Дербентский район) и на экспериментальном поле научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (ПЛ ВИР, Санкт-Петербург). ДОС ВИР расположена в южно-плоскостной зоне Дагестана. Климат сухой субтропический. Условия северо-западного региона (ПЛ ВИР) характеризуются переходом морского климата в слабо континентальный. В коллекционных питомниках ДОС ВИР изучили 265 образцов ячменя, на полях ПЛ ВИР оценивали яровые формы. На ДОС ВИР образцы высевали вручную в третьей декаде октября, в ПЛ ВИР – во второй половине мая. Каждый образец высевали на делянке площадью 1 кв. м., между рядами – 15 см, длина рядка – 1 м. При изучении коллекции руководствовались

«Методическими указаниями по изучению мировой коллекции ячменя и овса» (Loskutov et al., 2012). Появление полных всходов отмечали датой, когда на поверхности почвы показались развернувшиеся в верхней части листочки более 75% растений на делянке. Колошение считали полным, когда выколосится около 75% растений. Сравнили продолжительность межфазного периода всходы-колошение 70 яровых форм, изученных в течение трех лет в обоих пунктах (6 выборок). Для корректного сравнения скороспелости образцов при подзимнем (ДОС ВИР) и весеннем (ПЛ ВИР) сроках сева, рассчитывали показатель «превышение периода всходы-колошение данного образца над его минимальным значением по выборке» (ППВК).

С помощью молекулярных маркеров, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР), идентифицировали аллели генов *VRN-H2* и *VRN-H3* у 229 местных (65 озимых и 164 яровых) образцов, а также 34 сортов и линий (23 озимых и 11 яровых); при изучении аллельного состояния гена *VRN-H1* выборка была несколько меньше за счет яровых местных форм (151 образец).

Тотальную ДНК выделяли из семидневных проростков (2–10 растений каждого образца) по методике Д. Б. Дорохова и Э. Клоке (Dorokhov, Klocke, 1997) с некоторыми модификациями (Anisimova et al., 2010). Амплификацию проводили в реакционной смеси объемом 15–25 мкл, которая содержала геномную ДНК (50–100 нг), 1x реакционный буфер без $MgCl_2$, 1,5–3 mM хлористого магния, 0,2 mM каждого из нуклеотидов, 250 nM каждого праймера, 1 единица Taq полимеразы (Диалат). ПЦР проводили в амплификаторе MyCycler (BioRad, США). Использовали праймеры, предложенные Karsai et al., (2005), R. Kikuchi et al. (2009), Cockram et al. (2009). Список применяемых в работе праймеров представлен в таблице 1. Амплифицированные фрагменты разделяли с помощью электрофореза в 2%-ном ага-

рожном геле в 1xTBE буфере. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете. Для оценки размера фрагментов использовали ДНК-маркер FastRuler™ SM1113 (Fermentas).

Таблица 1. Список использованных праймеров
Table 1. List of primers

Праймер	Нуклеотидные последовательности (5'–3')	Аллель	Литературный источник
HvBM5A-intronI-F3b HvBM5A-intronI-R3b	CTTGCATGTGTTGTCGGTCT GCTGGGACAAGACTCTACGG	<i>vrnH1</i>	Cockram et al., 2009
HvBM5A-intronI-F1 HvBM5A-TE-R1	GTTCTCCACCGAGTCATGG AGAGATGGAGGCATGGAGCA	<i>VrnH1</i>	
HvBM5A-exon2-F1 HvBM5A-exon2-R1	TCCCAAGAAAACCTTGAACAACACCAG ATTAGGTTACATCATTCGACCA	<i>Vrn-H1/vrn-H1</i>	
HvZCCT.06F HvZCCT.07R	CCTAGTAAAACATATATCCATAGAGC GATCGTTGCGTTGCTAATAGTG	<i>Vrn-H2</i>	Karsai et al., 2005
HvFT1-R HvFT1-F	ACGTACGTCCCTTTTCGATG CGCTAGGACTTGGAGCATCT	<i>Vrn-H3</i>	Kikuchi et al., 2009
HvFT1-R HvFT1-F	ACGTACGTCCCTTTTCGATG CGCTAGGACTTGGAGCATCT	<i>vrn-H3</i>	

Для идентификации аллелей гена *Vrn-H3* проводили рестрикционный анализ амплифицированных фрагментов в общем объеме 25 мкл: к 15 мкл ПЦР продукта добавляли 2,5 мкл 1 × SEBuffer 2K (pH = 7,6), 0,2 мкл эндонуклеазы Ksp22I, 0,3 мкл BSA (СибЭнзим) и 7,0 мкл дистиллированной воды. Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 16 ч. Продукты разделяли электрофорезом в 3%-ном агарозном геле.

Результаты и обсуждение

В течение трех лет изучения на ДОС ВИР выделены скороспелые (период всходы-колошение при подзимнем севе от 124 до 162 дней) образцы к-15008 и к-15013 с низкой нормой реакции; образец к-18186 проявил скороспелость в 2012 и 2013 гг., а к-11439, к-15252, к-23831 – в 2013 и 2014 гг. В ПЛ ВИР можно отметить образец к-15027, который в 2013 и 2014 гг. оказался скороспелым (период всходы-колошение при посеве весной – 30–32 дня).

Дагестанские ячмени на ДОС ВИР были более скороспелыми по сравнению с ПЛ ВИР: среднее значение ППВК в течение трех лет по изученным выборкам яровых образцов в ПЛ ВИР варьировало от $7,1 \pm 0,4$ до $24,2 \pm 0,9$, тогда как на ДОС ВИР – от $5,0 \pm 0,4$ до $6,1 \pm 0,3$. Значимость различий подтверждается по критерию Стьюдента *t*. Условия среды влияли на скорость развития образцов в условиях ПЛ ВИР: показатель ППВК достоверно (критерий *t* варьирует от 4,6 до 17,3) различается по годам исследований. Влияние среды на продолжительность периода всходы-колошение в условиях ДОС ВИР заметно меньше, существенно ($t = 2,3$) различаются лишь выборки 2012 и 2013 гг. С помощью аллель-специфичных молекулярных маркеров идентифицировали доминантные (D) и рецессивные (R) аллели генов *VRN-H1* – *VRN-H3* у местных образцов, а также сортов и линий из Дагестана (рис. 1–3).

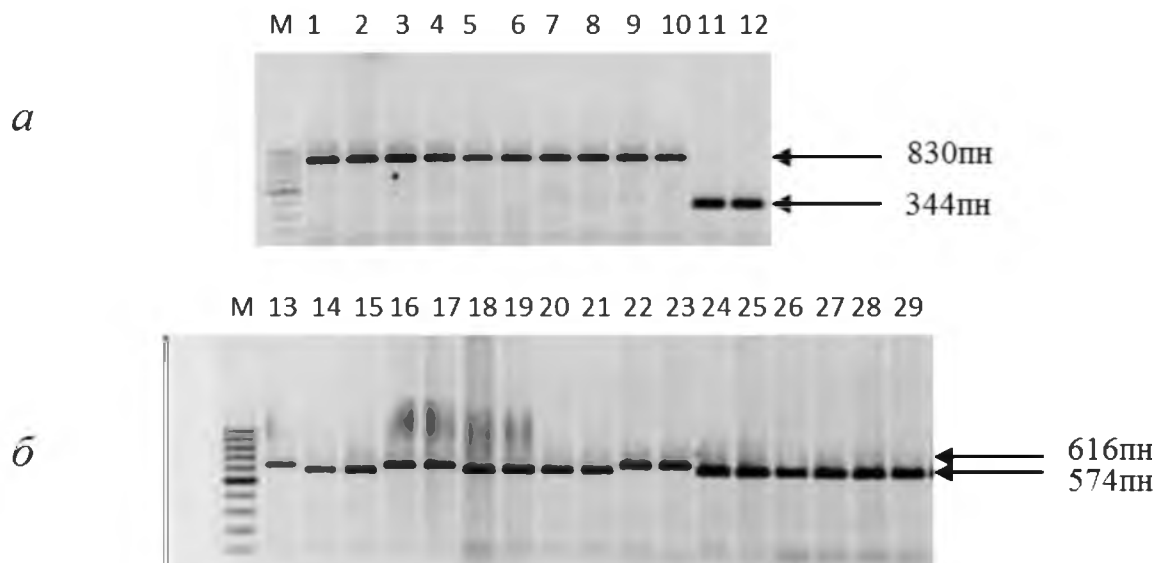


Рис. 1. ПЦР-анализ образцов местного ячменя из Дагестана с помощью маркеров, разработанных для идентификации:

Fig. 1. PCR analysis of Dagestan barley landraces with the use of markers developed for the identification of:

а – аллеля *vrn-H1* с использованием праймеров HvBM5A-intronI-F3b и HvBM5A-intronI-R3b; б – аллеля *Vrn-H1* с использованием праймеров HvBM5A-exon2-F1 и HvBM5A-exon2-R1. М – маркер молекулярной массы; 1, 2 – к-13996; 3, 4 – к-13999; 5, 6 – к-14145; 7, 8 – к-14149; 9, 10 – к-14154; 11, 12 – к-14891; 13 – к-14147; 14, 15 – к-15052; 16, 17 – к-15056; 18, 19 – к-15296; 20, 21 – к-17908; 22, 23 – к-17928; 24, 25 – к-18182; 26, 27 – к-21744; 28, 29 – к-21745.

а – the *vrn-H1* allele, primers HvBM5A-intronI-F3b and HvBM5A-intronI-R3b; б – the *Vrn-H1* allele, primers HvBM5A-exon2-F1 and HvBM5A-exon2-R1. М – molecular mass marker; 1, 2 – к-13996; 3, 4 – к-13999; 5, 6 – к-14145; 7, 8 – к-14149; 9, 10 – к-14154; 11, 12 – к-14891; 13 – к-14147; 14, 15 – к-15052; 16, 17 – к-15056; 18, 19 – к-15296; 20, 21 – к-17908; 22, 23 – к-17928; 24, 25 – к-18182; 26, 27 – к-21744; 28, 29 – к-21745.

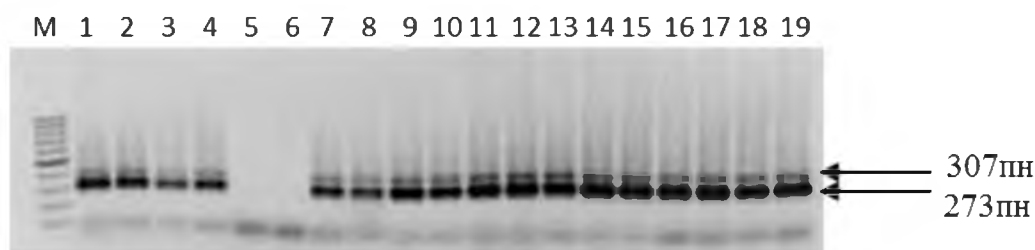


Рис. 2. ПЦР-анализ образцов местного ячменя из Дагестана с помощью маркеров, разработанных для идентификации доминантного (307 + 273 пн) и рецессивного (отсутствие продукта) аллелей гена *VRN-H2*

Fig. 2. PCR analysis of Dagestan barley landraces with the use of markers developed for the identification of the dominant (307 + 273 bp) and the recessive (lack of the amplification product) alleles of the *VRN-H2* gene.

М – маркер молекулярной массы; 1, 2 – к-15019; 3, 4 – к-15020; 5, 6 – к-21752; 7, 8 – к-23786; 9, 10 – к-1507; 11, 12 – к-4461; 13, 14 – к-11410; 15, 16 – к-11434; 17, 18 – к-13495; 19 – к-14147.

М – molecular mass marker; 1, 2 – к-15019; 3, 4 – к-15020; 5, 6 – к-21752; 7, 8 – к-23786; 9, 10 – к-1507; 11, 12 – к-4461; 13, 14 – к-11410; 15, 16 – к-11434; 17, 18 – к-13495; 19 – к-14147.

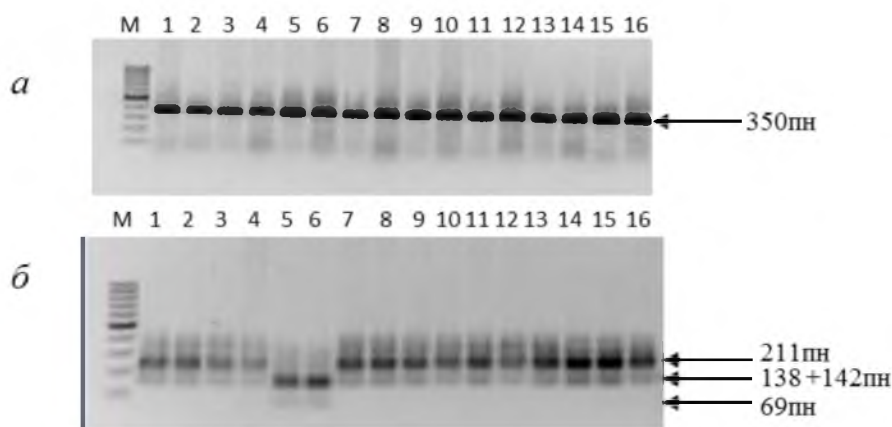


Рис. 3. ПЦР-анализ образцов местного ячменя из Дагестана с помощью маркеров, разработанных для идентификации доминантного (138 + 142 + 69 пн) и рецессивного (211 + 138 пн) аллелей гена *VRN-H3*:

Fig. 3. PCR analysis of Dagestan barley landraces with the use of the markers developed for identification of the dominant (138 + 142 + 69bp) and recessive (211 + 138 bp) alleles of the *VRN-H3* gene:

а – продукт ПЦР размером 350 пн, полученный при использовании праймеров HvFT1-F и HvFT1-R; б – рестрикция продукта ПЦР с эндонуклеазой Ksp22I. М – маркер молекулярной массы; 1, 2 – к-18464; 3, 4 – к-18465; 5, 6 – к-19330; 7, 8 – к-21747; 9, 10 – к-21748; 11, 12 – к-21749; 13, 14 – к-21750; 15, 16 – к-21753.

а – the 350 bp PCR product, primers HvFT1-F and HvFT1-R; б – restriction of the PCR product with the endonuclease Ksp22I. М – molecular mass marker; 1, 2 – к-18464; 3, 4 – к-18465; 5, 6 – к-19330; 7, 8 – к-21747; 9, 10 – к-21748; 11, 12 – к-21749; 13, 14 – к-21750; 15, 16 – к-21753.

Среди дагестанских ячменей пре- валируют носители доминантного ал- леля *Vrn-H2* (табл. 2). Доля доминант- ных аллелей двух других генов у мест- ных форм невелика и резко возрастает

среди яровых селекционных линий. Изу- ченная выборка в данном случае неве- лика (11 образцов), однако тенденция достаточно отчетлива.

Таблица 2. Распределение доминантных аллелей генов *VRN-H1*, *VRN-H2* и *VRN-H3* среди дагестанских ячменей

Table 2. Frequencies of dominant alleles of the *VRN-H1*, *VRN-H2*, and *VRN-H3* genes among Dagestan barley accessions

Группа образцов	Образ жизни	Частота образцов с доминантным аллелем гена			Частота гетерогенных форм		
		<i>VRN-H1</i>	<i>VRN-H2</i>	<i>VRN-H3</i>	<i>VRN-H1</i>	<i>VRN-H2</i>	<i>VRN-H3</i>
Местные формы	озимый	0,03	0,97	0,02	0,02	0	0
	яровой	0,15	0,76	0,15	0	0,07	0,04
Сорта и линии	озимый	0	1	0,09	0	0	0
	яровой	0,73	0,64	0,73	0	0	0

Аллельный полиморфизм по всем пяти локусам изучили у 207 образцов ячменя, еще 26 форм оказались гетерогенными по одному или двум локусам. Выявили 22 группы с различными аллельными комбинациями генов *Ppd* и *VRN*

(табл. 3). Семь образцов ячменя характеризовались уникальным сочетанием аллелей, 50 форм образовали 13 небольших групп (по 2–7 образцов), 150 изученных форм распределились в две большие группы «DDRDR» (*Ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3*) и

«RDRDR» (*ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3*), представленные 59 и 91 образцом соответственно.

Наиболее многочисленная группа ячменей с аллельным сочетанием RDRDR в основном представлена яровыми формами (85 образцов). Группа ячменей с комбинацией DDRDR оказалась самой позднеспелой в условиях короткого дня (г. Дербент) и преимущественно (93% образцов) представлена озимыми формами. У сортов и селекционных линий,

имеющих озимый тип развития, преобладает сочетание аллелей DDRDR.

Ячмени с сочетанием аллелей *Ppd-H1ppd-H2* в комбинации и с рецессивными, и с доминантными аллелями *VRN*, в подавляющем большинстве были более позднеспелыми на коротком дне в сравнении с носителями сочетания аллелей *ppd-H1Ppd-H2*. В условиях длинного дня, напротив, независимо от аллельного состояния генов *Vrn*, формы ячменя с аллельным сочетанием *Ppd-H1ppd-H2* проявили себя более скороспелыми.

Таблица 3. Комбинации аллелей генов *Ppd-H1*, *Ppd-H2*, *VRN-H1*, *VRN-H2* и *VRN-H3* у образцов ячменя из Дагестана
Table 3. The allele combinations of the *Ppd-H1*, *Ppd-H2*, *VRN-H1*, *VRN-H2*, and *VRN-H3* genes in Dagestan barley accessions

Аллельное состояние генов <i>Ppd</i> и <i>VRN</i>					Количество образцов
<i>Ppd-H1</i>	<i>Ppd-H2</i>	<i>VRN-H1</i>	<i>VRN-H2</i>	<i>VRN-H3</i>	
D*	D	D	D	R	1
D	D	R	D	D	1
D	D	R	D	R	59
D	D	R	R	D	1
D	D	R	R	R	2
D	R	D	D	D	4
D	R	D	R	D	4
D	R	R	D	D	5
D	R	R	D	R	4
D	R	R	R	D	3
D	R	R	R	R	1
R	D	D	D	D	3
R	D	D	D	R	4
R	D	D	R	D	5
R	D	D	R	R	7
R	D	R	D	D	2
R	D	R	D	R	91
R	D	R	R	D	1
R	D	R	R	R	4
R	R	D	R	D	1
R	R	R	D	R	3
R	R	R	R	D	1

*D – доминантный, R – рецессивный аллель.

Однородный по морфологическим признакам образец к-15008, выделенный в течение трех лет по скороспелости в Дагестане, имеет сочетание аллелей RDRDR, т. е. адаптирован к условиям короткого фотопериода. Растения

другого скороспелого в Дагестане образца к-15013 оказались носителями аллельной комбинации DRRDD, т. е. имеют сочетание аллелей *Ppd-H1/ppd-H2*, характерное для образцов, адаптиро-

ванных к условиям длинного дня. Вероятно, высокая скорость развития в данном случае обусловлена доминантным аллелем *Vrn-H3*, ответственным за ускоренное колошение (Yan et al., 2006). С другой стороны, выделившийся по скорости в условиях длинного фотопериода (ПЛ ВИР) образец к-15027 имеет сочетание аллелей RDRDR, типичное для форм ячменя, приспособленных к условиям короткого фотопериода. Выявленное противоречие может объясняться неоднородностью этого образца (представлен двумя разновидностями) либо влиянием генов *eps*, изучение аллельного полиморфизма которых нами не проводилось.

Заключение

Исследовали продолжительность межфазного периода всходы-колошение 265 образцов ячменя из Дагестана. В течение трех лет изучения в филиале Дагестанская опытная станция ВИР (г. Дербент) выделены скороспелые образцы к-15008 и к-15013. Оценка яровых форм в северо-западном регионе страны позволила выявить образец к-15027, который обладал высокой скоростью развития в течение двух лет.

С помощью аллель-специфичных молекулярных маркеров идентифицировали доминантные (D) и рецессивные (R) аллели генов *Ppd-H1*, *Ppd-H2*, *VRN-H1*, *VRN-H2* и *VRN-H3* у 207 образцов ячменя. Выявили 22 группы с различными аллельными комбинациями этих локусов. Семь образцов характеризовались уникальным сочетанием аллелей, 50 форм образовали 13 небольших групп (по 2–7 образцов), 150 изученных форм распределились в две большие группы «DDRDR» (*Ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3*) и «RDRDR» (*ppd-H1Ppd-H2vrn-H1Vrn-H2vrnH3*), представленные 59 и 91 образцом соответственно. Ячмени с сочетанием аллелей *Ppd-H1ppd-H2* в комбинации и с рецессивными, и с доминантными аллелями *VRN*, в подавляющем большинстве были более позднеспелыми на коротком дне в сравнении с носителями сочетания аллелей *ppd-H1Ppd-H2*. В условиях длинного дня, напротив, независимо от аллельного состояния генов *VRN*, формы ячменя с аллельным сочетанием *Ppd-H1ppd-H2* проявили себя более скороспелыми.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-34-00652).

References/Литература

- Abdullaev R. A., Alpatieva N. V., Zveinek I. A., Batasheva B. A., Anisimova I. N., Radchenko E. E.* Diversity of Dagestan barleys for the duration of the period between shooting and earing stages and alleles in the *Ppd-H1* and *Ppd-H2* loci // *Russian Agricultural Sciences*, 2017, vol. 43, no. 2, pp. 99–103. DOI: 10.3103/S1068367417020021.
- Anisimova I. N., Alpatieva N. V., Timofeeva G. I.* Screening of plant genetic resources using DNA markers: basic principles, DNA isolation, PCR, electrophoresis in agarose gels. Guidelines of VIR / Ed. by E. E. Radchenko). SPb.: VIR, 2010, 30 p. [in Russian] (*Анисимова И. Н., Алпатьева Н. В., Тимофеева Г. И.* Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле: Методические указания ВИР / под ред. Е. Е. Радченко. СПб: ВИР. 2010. 30 с.).
- Cockram J., Norris C., O'Sullivan D. M.* PCR-based markers diagnostic for spring and winter seasonal growth habit in barley // *Crop. Sci.*, 2009, vol. 49, no. 2, pp. 403–410. DOI: 10.2135/cropsci2008.07.0398.
- Dorokhov D. B., Klocke E. A.* Rapid and economic technique for RAPD analysis of plant genomes // *Rus. J. Genet.*, 1997, vol. 33, no. 4, pp. 358–365.
- Jones H., Leigh F. J., Mackay I., Bower M. A., Smith L. M. J., Charles M. P., Jones G., Jones M. K., Brown T. A., Powell W.* Population based re-sequencing reveals that the

- flowering time adaptation of cultivated barley originated east of the Fertile Crescent // *Mol. Biol. Evol.*, 2008, vol. 25, no. 10, pp. 2211–2219. DOI: 10.1093/molbev/msn167.
- Karsai I., Szűcs P., Mészáros K., Filichkina T., Hayes P. M., Skinner J. S., Láng L., Bedő Z.* The *Vrn-H2* locus is a major determinant of flowering time in a facultative × winter growth habit barley (*Hordeum vulgare* L.) mapping population // *Theor. Appl. Genet.*, 2005, vol. 110, no. 8, pp. 1458–1466. DOI: 10.1007/s00122-005-1979-7.
- Kikuchi R., Kawahigashi H., Ando T., Tonooka T., Handa H.* Molecular and functional characterization of PEBP genes in barley reveal the diversification of their roles in flowering // *Plant Physiol.*, 2009, vol. 149, no. 3, pp. 1341–1353. DOI: 10.1104/pp.108.132134.
- Laurie D. A., Pratchett N., Bezant J. H., Snape J. W.* Genetic analysis of a photoperiod response gene on the short arm of chromosome 2(2H) of *Hordeum vulgare* (barley) // *Heredity*, 1994, vol. 72, no. 6, pp. 619–627. DOI: 10.1038/hdy.1994.85.
- Laurie D. A., Pratchett N., Bezant J. H., Snape J. W.* RFLP mapping of five major genes and eight quantitative trait loci controlling flowering time in a winter × spring barley (*Hordeum vulgare* L.) cross. // *Genome*, 1995, vol. 38, no. 3, pp. 575–585. DOI: 10.1139/g95-074.
- Loskutov I. G., Kovaleva O. N., Blinova E. V.* Methodological guidance directory for studying and maintaining VIR's collections of barley and oat. SPb.: VIR, 2012, 63 p. [in Russian] (*Лоскутов И. Г., Ковалева О. Н., Блинова Е. В.* Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. СПб.: ВИР, 2012. 63 с.).
- Takahashi R., Yasuda S.* Genetic studies of spring and winter habit of growth in barley. *Ber. Ohara Inst.*, 1956, vol. 10, pp. 245–308.
- Takahashi R., Yasuda S.* Genetics of earliness and growth habit in barley. *Barley Genetics II. Proc. 2nd Intern. Barley Genetics Symp.* Washington State Univ. Press, 1971, pp. 388–408.
- Zlotina M. M., Kovaleva O. N., Loskutov I. G., Potokina E. K.* The use of allele-specific markers of the *Ppd* and *Vrn* genes for predicting growing-season duration in barley cultivars // *Rus. J. Genet.: Appl. Res.*, 2013, vol. 3, no. 4, pp. 254–264. DOI: 10.1134/S2079059713040114.
- Yan L., Fu D., Li C., Blechl A., Tranquilli G., Bonafede M., Sanchez A., Valarik M., Yasuda S., Dubcovsky J.* The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT* // *Proc. Natl Acad. Sci.*, 2006, vol. 103, no. 51, pp. 19581–19586. DOI: 10.1073/pnas.0607142103.
- Zveinek I. A., Abdullaev R. A., Batasheva B. A., Radchenko E. E.* Paratypic variability of the period between shooting and earing stages of Dagestanian barley // *Proceedings applied botany, genetics and plant breeding*, 2016, vol. 177, issue 2, pp. 106–110 [in Russian] (*Звейнек И. А., Абдуллаев Р. А., Баташева Б. А., Радченко Е. Е.* Паратипическая изменчивость периода всходы-колосение ячменей Дагестана // *Тр. по прикл. бот., ген. и сел.* 2016. Т. 177. Вып. 2. С. 73–81).