

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря самобытности, оригинальности и разнообразию дикорастущих и возделываемых растений, Дагестан привлекал внимание многих выдающихся исследователей. Н. И. Вавилов считал Дагестан одним из интереснейших регионов формообразования культурных растений. Именно в Дагестане во время экспедиций 1930-х годов он искал безостые формы ячменя, которые необходимы были для подтверждения сформулированного им закона гомологических рядов в наследственной изменчивости. Одним из важных признаков, определяющих адаптивный потенциал культуры и широту ее эколого-географического распространения, является скорость развития. В горных районах республики Дагестан предпочтение отдается сортам с коротким вегетационным периодом, в других регионах селекция строилась на сочетании продуктивности с довольно продолжительным вегетационным периодом.



Рисунок. Происхождение местных ячменей Дагестана

В коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) насчитывается 283 образца культурного ячменя из Дагестана (местные формы – 240, сорта и селекционные линии – 43 образца), сведения об адаптивной ценности которых фрагментарны, а полиморфизм по генам, контролирующим время

колошения у этой группы, и вовсе не исследовался. Образцы местного ячменя собраны в экспедициях по Дагестану, которые проводились в 1901–1917 гг. (7 образцов), 1918–1941 гг. (103 образца) и 1946–1981 гг. (129 образцов). Собранные формы относятся к двум подвидам: ячмень шестириядный – *Hordeum vulgare* subsp. *vulgare* – и двурядный – *H. vulgare* subsp. *distichon* (L.) Koern., представлены 29 разновидностями. Ряд образцов при регистрации их в коллекции ВИР представляли собой популяции, которые включали до 5 разновидностей. Большинство образцов (106) собрано в горном территориальном округе республики (рисунок), значительно меньше – в южном (44), центральном (10) и северном (11) округах. Сведения о месте сбора 69 образцов отсутствуют. Селекционный материал представлен 23 линиями и 20 сортами, среди которых лишь 3 стародавних сорта отобраны исключительно из местных ячменей.

Время колошения у ячменя определяется генами, контролирующими тип развития, слабую чувствительность к фотопериоду и собственно скороспелость. Тип развития детерминируется тремя парами генов: *sh*, *Sh2* и *Sh3* (впоследствии обозначены как *VRN-H1*, *VRN-H2*, *VRN-H3*). 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. Гены *Sh*, *Sh2* и *Sh3* локализованы в хромосомах 4 (4Н), 7 (5Н) и 5 (1Н) соответственно (Takahashi, Yasuda, 1956; 1971). Гены *VRN* контролируют потребность растений в яровизации для перехода к колошению и, следовательно, принимают участие в регуляции скорости развития ячменя.

D. A. Laurie с соавторами (Laurie et al., 1994; 1995) идентифицировали 5 главных генов и 9 локусов количественных признаков (quantitative trait loci – QTL), контролирующих время колошения у ячменя. Среди них – гены *Ppd-H1* и *Ppd-H2* (photoperiod response), локализованные в хромосомах 2Н и 1Н соответственно, а также контролирующие реакцию на яровизацию гены *VRN-H1* и *VRN-H2*, локализация которых совпадает с положением идентифицированных ранее генов *Sh* и *Sh2*. В возделываемых сортах идентифицируют *VRN-H1* и *VRN-H2*, аллель *VRN-H3* встречается редко. Доминантный аллель *Ppd-H1* контролирует быструю реакцию на удлинение фотопериода и раннее колошение в условиях длинного дня. Задержка колошения на длинном дне обусловлена рецессивным аллелем *ppd-H1*. Доминантный аллель *Ppd-H2* в условиях короткого дня ускоряет наступление колошения, рецессивный аллель задерживает колошение. На фоне экспрессии генов, контролирующих тип развития и фотопериодическую реакцию растений, существенное влияние на скорость развития оказывают гены *eps*, контролирующие собственно скороспелость, или скороспелость *per se* (earliness *per se*).

Скороспелость и слабая чувствительность к фотопериоду контролируется также генами *Eam5*, *Eam6*, *eam7*, *eam8*, *eam9* и *eam10* (early maturity), локализованными, соответственно, в хромосомах 5Н, 2Н, 6Н, 1Н, 4Н и 3Н (Franckowiak, Lundqvist, 2012). Показано, что доминантный ген *Eam8* является ортологом гена-регулятора чувствительности к фотопериоду *Arabidopsis thaliana* (Faure et al., 2007). Мутация *Eam8* приводит, вероятно, к образованию дефектного белка и, как следствие, – нечувствительности растения к фотопериоду и раннему созреванию.

Полевые эксперименты выполнены в филиале Дагестанская опытная станция ВИР (ДОС ВИР, Дербентский район) и на научно-производственной базе «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ПЛ ВИР, Санкт-Петербург). ДОС ВИР расположена в южно-плоскостной зоне Дагестана. Климат сухой субтропический. Погодные условия, которые в годы исследований различались по влагообеспеченности и температурному режиму, в целом благоприятствовали возделыванию ячменя. Условия северо-западного региона (ПЛ ВИР) характеризуются переходом морского климата в слабо континентальный. Зима умеренно-холодная, лето умеренно-теплое и влажное.

В 2012–2014 гг. на ДОС ВИР изучили 265 образцов ячменя, на полях ПЛ ВИР оценивали яровые формы. Использовали общепринятую в зоне исследований агротехнику. На ДОС ВИР образцы высевали вручную в третьей декаде октября, в ПЛ ВИР – во второй половине мая. В 2016–2017 гг. экспериментальный материал изучали при весеннем посеве в обоих пунктах. Каждый образец высевали на делянке площадью 1 кв. м, междуурядья – 15 см, длина рядка – 1 м. При изучении коллекции руководствовались «Методическими указаниями по изучению мировой коллекции ячменя и овса» (Лоскутов и др., 2012), а также «Классификатором СЭВ» (Трофимовская и др., 1983). 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. 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).

Кроме того, на ДОС ВИР измеряли высоту растений в центре делянки от поверхности почвы до вершины колоса без остей. Изученные формы распределили в 9 групп (Трофимовская и др., 1983):

- карликовые (< 41 см);
- очень низкий (41–60 см);

- низкорослые (61–70 см);
- средненизкие (71–80 см);
- среднерослые (81–95 см);
- средневысокие (96–110 см);
- высокорослые (111–125 см);
- очень высокие (126–140 см);
- крайне высокорослые (> 140 см).

Устойчивость к полеганию оценивали по шкале (Трофимовская и др., 1983):

- 1 – очень низкая;
- 3 – низкая;
- 5 – средняя;
- 7 – высокая;
- 9 – очень высокая.

С помощью фенотипического скрининга изучили **аллельное разнообразие гена *eam8***. Рецессивный ген *eam8* участвует в контроле скороспелости и слабой чувствительности к фотопериоду ячменя. Японскими исследователями выявлено, что при десятичасовом фотопериоде, низкой дневной (10°C) и высокой ночной (20°C) температуре *eam8* плейотропно обуславливает желтую окраску проростков (Yasuda, 1977). Скрининг образцов ячменя с целью идентификации гена *eam8* осуществляли в климатической камере THERMO 818 (3751). Маркерным признаком экспрессии гена служила желтая окраска проростка. Контролями являлись сорт Mari Svalofs (*eam8eam8*) и реагирующий на короткий день сорт Белогорский (*Eam8Eam8*). Семена высевали в кюветы с увлажненной ватой, которые после появления всходов помещали в камеру, где растения находились до стадии второго листа при десятичасовом фотопериоде и температурном режиме с низкой дневной (+8°C) и высокой ночной (+25°C) температурой. При данных условиях наблюдали более четкую дифференциацию по окраске проростка в сравнении с описанной ранее S. Yasuda (1977).

Аллельное состояние генов *Ppd-H1*, *Ppd-H2* и *VRN-H1 – VRN-H3* оценивали с помощью молекулярных маркеров, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Тотальную ДНК выделяли из семидневных проростков (2–10 растений каждого образца) по методике Д. Б. Дорохова, Э. Клоке (1997) с некоторыми модификациями (Анисимова и др., 2010). Амплификацию проводили в реакционной смеси объемом 15–25 мкл, которая содержала геномную ДНК (50–100 нг), 1x реакционный буфер без MgCl₂, 1,5–3 mM хлористого магния, 0,2 mM каждого из нуклеотидов, 250 nM каждого праймера, 1 единица Tag полимеразы (Диалат). ПЦР проводили в амплификаторе MyCycler (BioRad, США).

Использовали праймеры, предложенные H. Jones et al. (2008) и R. Kikuchi et al. (2009). Амплифицированные фрагменты разделяли с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле в 1xTBE буфере. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете. Для оценки размера фрагментов использовали ДНК-маркер FastRulerTM SM1113 (Fermentas). Для идентификации аллелей гена *Ppd-H1* (Злотина и др., 2013) проводили рестрикционный анализ амплифицированных фрагментов в общем объеме 22 мкл: к 15 мкл ПЦР продукта добавляли 2,2 мкл 10X Буфер Tango, 0,8 мкл рестриктазы MspI (10 ед/мкл) (Fermentas) и 4 мкл дистиллированной воды, свободной от нуклеаз. Рестрикционный анализ аллелей гена *Vrn-H3* проводили 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.

Сокращения, условные обозначения в таблицах 1–7

Полег. – полегание

ДОС ВИР – филиал Дагестанская опытная станция ВИР

ПЛ ВИР – научно-производственная база «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР»

Период В–К – продолжительность межфазного периода всходы-колошение

ППВК – превышение периода всходы-колошение данного образца над его минимальным значением по выборке

D – доминантный аллель

R – рецессивный аллель

R, D – гетерогенный образец

ЯР – яровой

ОЗ – озимый

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Введение	3
Агробиологическая характеристика образцов ячменя из Дагестана	7
Высота растений образцов ячменя из Дагестана.....	48
Полегание образцов ячменя из Дагестана	48
Выделившиеся по скороспелости в ПЛ ВИР образцы ярового ячменя	48
Выделившиеся по скороспелости на ДОС ВИР образцы ячменя	48
Выделившиеся по скороспелости на ДОС ВИР образцы ярового ячменя при весеннем сроке сева	49
Комбинации аллелей генов <i>Ppd-H1</i> , <i>Ppd-H2</i> , <i>Vrn-H1</i> , <i>Vrn-H2</i> и <i>Vrn-H3</i> у образцов ячменя из Дагестана	49
Образцы ячменя – носители гена <i>eat8</i>	50
Литература.....	51