

Evaluation of cv. Scarlett grain varietal purity by means of hordein electrophoresis

№ п/п	Урожай		Примесь	
	Область	Год	%	Сорт
1	Липецкая	2007	0	
2	Воронежская	2007	0	
3	Тамбовская	2007	2	Гонар
4	Воронежская	2008	5	Аннабель
5	Курская	2007	10	Пасадена
			3	Гонар
6	Курская	2007	40	Гонар
			10	Аннабель
7	Курская	2008	44	Гонар
			14	Астория
			4	Аннабель
			6	неидентифицированная примесь
8	Курская	2007	64	Аннабель
			23	Гонар
9	Липецкая	2007	96	Аннабель

N. K. GUBAREVA,
A. V. KONAREV

MODERN MALTING BARLEY CULTIVARS AND ELECTROPHORETIC CONTROL OF THEIR IDENTITY AND PURITY

Summary

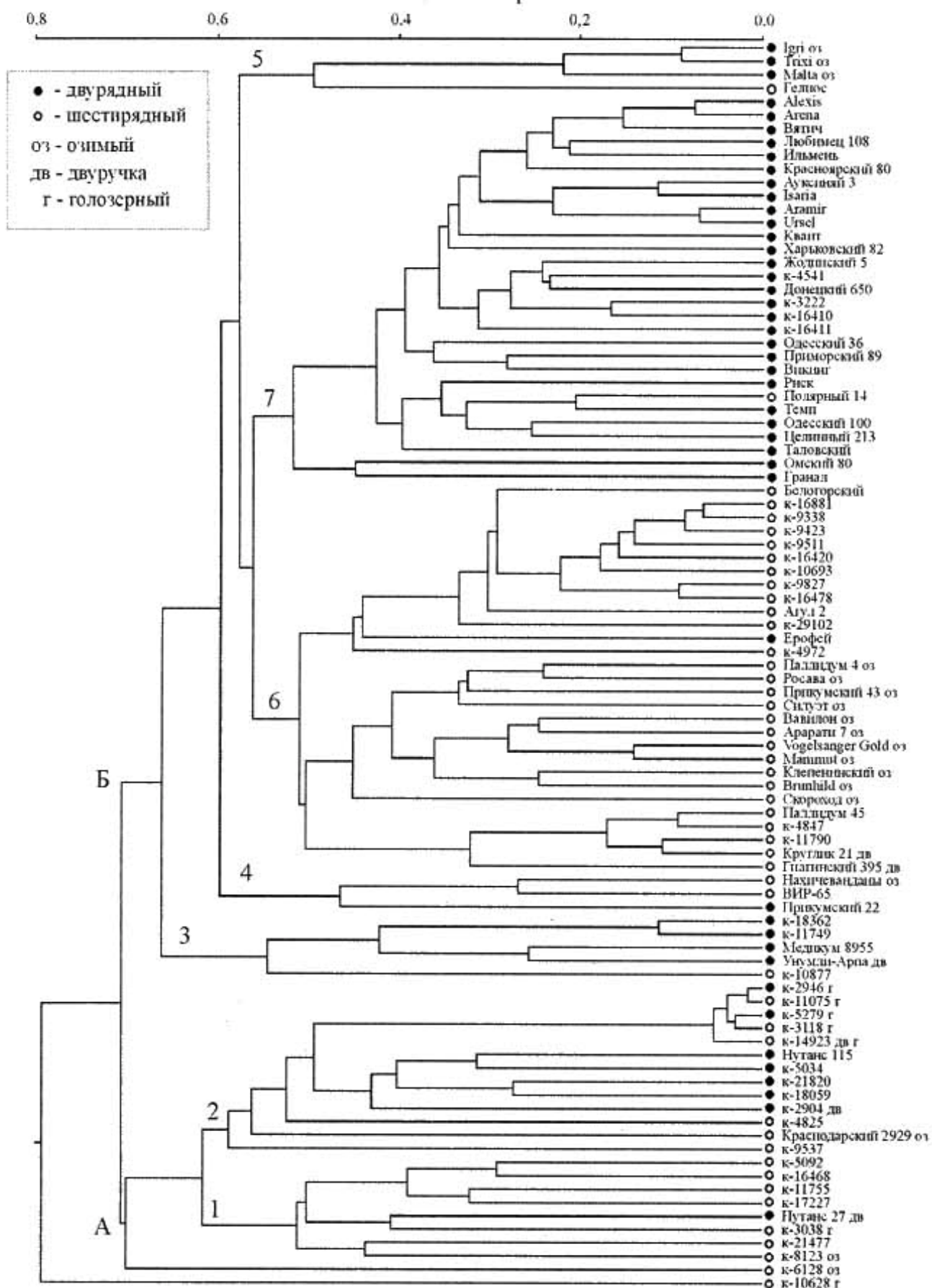
Hordein electrophoresis was used to analyze original seeds of modern malting barley cultivars, as well as consignments of commercial grain and seed of the same cultivars. The results of consignments examination have confirmed usefulness of the applied method for controlling identity and purity of malting barley cultivars.

П. П. Стрельченко,
О. Н. Ковалева

КЛАССИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНОГО ЯЧМЕНЯ КОЛЛЕКЦИИ ВИР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПДРФ-МАРКЕРОВ

Введение. Познание структуры генетического разнообразия культурного ячменя представляет большой интерес для повышения эффективности управления коллекциями *ex situ* этой культуры и подбора исходного материала для ее селекции. Изучению ботанического и агро-экологического разнообразия ячменя А. Я. Трофимовская в своей работе уделяла первостепенное внимание. Подробно эти классификации описаны в ее монографии [2]. В последние два десятилетия появились возможности для оценки генетического разнообразия ячменя непосредственно по структуре ДНК. В литературе имеются сведения об использовании полиморфизма рестрикционных фрагментов ДНК по их длине (ПДРФ-маркеров), а также методов, основанных на анализе продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР). Однако, в этих работах изучены главным образом селекционные сорта, полученные в странах западной Европы и северной Америки (см. для обзора статью Стрельченко и др., 2002).

Расстояние связывания кластеров



В настоящем исследовании с использованием ПДРФ-маркеров мы попытались оценить генетическое сходство 93 местных и селекционных сортов ячменя, происходящих из различных регионов Азии и Европы.

Основными задачами были:

- из коллекции ВИР отобрать выборку сортов, происходящих из различных регионов России и соседних с ней стран;
- из набора картированных в геноме клонов ДНК отобрать клоны, охватывающие все хромосомы ячменя и дающие полиморфные ПДРФ-спектры;
- провести сравнительный анализ этих спектров для всех изученных сортов и оценить их генетические взаимосвязи методами многомерной статистики.

Материал и методы. Среди отобранных из коллекции ВИР 93 сортов 54 являлись селекционными сортами с известными родословными. Из них 11 происходили из стран западной Европы, остальные – из России и других стран СНГ. Набор местных сортов содержал 39 образцов преимущественно из России и стран центральной Азии. В целом изученная выборка сортов имела широкий спектр разнообразия по происхождению, типу развития (яровые, озимые и двуручки), а также по морфологии (дву- и шестьюрядные, пленчатые и голозерные).

ДНК каждого образца выделяли из 20–25 двухнедельных проростков. Методы выделения ДНК, ее рестрикции ферментами *Eco* RI и *Hind* III, электрофореза рестрикционных фрагментов ДНК в агарозных гелях, Саузерн-блоттинга на нейлоновые мембраны, гибридизации с ³²P-мечеными ДНК-пробами и последующей автордиографии подробно описаны [3]. Наличие или отсутствие соответствующего компонента в спектрах автордиограмм кодировали как 1 или 0, соответственно. На основе полученной таким путем бинарной матрицы исходных данных строили матрицу коэффициентов сходства сортов [4]. Последнюю использовали для кластерного анализа (UPGMA-метод) и анализа методом главных осей. Все математические расчеты и графические построения проводили с помощью пакета компьютерных программ NTSYS версии 2.0.

Результаты и обсуждение. В результате скрининга клонированных последовательностей ДНК было отобрано 35 анонимных геномных и шесть кДНК-клонов. Все клоны были относительно равномерно распределены в геноме: по пять или шесть клонов в каждой из семи хромосом ячменя. Для статистического анализа были отобраны результаты 70 комбинаций клон-фермент, которые позволили выявить в сумме 335 полиморфных фрагментов ДНК. По этим данным все изученные сорта отличались друг от друга. Кластерный анализ выявил сложную структуру взаимосвязей сортов. За исключением шестьюрядного голозерного местного сорта из Таджикистана (к-10628) все сорта объединились в два крупных кластера: А и Б (рис.). Кластер А включил 19 местных сортов и три селекционных сорта, полученных отбором из местных. Сорта преимущественно происходили из регионов центральной Азии, Сибири и Кавказа. Этот кластер представлен как двурядными, так и шестьюрядными формами, однако, кроме указанного выше сорта в него вошли все изученные голозерные формы. За исключением одного сорта из Туркмении (к-6128) образцы кластера А объединились в два субкластера. Первый из них включил образцы из центральной Азии, а второй – из разных регионов.

Кластер Б оказался более крупным и включил пять субкластеров (3–7). Субкластеры 6 и 7 оказались наиболее многочисленными, а сорта входящие в них различались в первую очередь по морфологии колоса. Субкластер 7 объединил преимущественно двурядные яровые сорта из стран западной Европы (Alexis, Arena, Isaria, Arami и Ursel), а также селекционные сорта из различных регионов России. Последние, как правило, имели в своих родословных сорта из стран западной и восточной Европы, а также Канады. Субкластер 6 включил преимущественно шестьюрядные сорта, которые можно разделить на три группы сортов, имеющих тенденцию к совместной кластеризации. Одна группа содержала 13 местных и селекционных из североевропейской части России и Сибири. Присутствующие в этой группе селекционные сорта Белогорский, Агул 2 и Ерофей (двурядный) имели в своих родословных канадский сорт Keystone. Вторая группа включила озимые сорта из Германии (Vogelsanger

Gold, Mammut и Brunhild) и ряд, по-видимому, родственных им озимых сортов из России. Третья группа объединила пять селекционных и местных сортов из южных регионов России и Украины. Субкластер 5 включил двурядные озимые сорта Tixi и Malta из Германии, а также сорт Igti из Голландии. По своим родословным эти сорта принципиально отличались от озимых шестирядных сортов субкластера 6.

Субкластер 3 объединил пять яровых сортов из центральной Азии: четыре двурядных и один – шестирядный. Субкластер 4 объединил всего три селекционных сорта из стран СНГ.

Характер взаимосвязей сортов, выявленный методом главных осей был весьма похож на описанный выше по результатам кластерного анализа. На полученном графе распределения сортов (результаты не приведены) последние четко разделились по первой главной оси на две основные группы: А и Б, которые по составу сортов полностью соответствуют кластерам А и Б на фенограмме, соответственно. По второй оси группа Б разделилась на двурядные и шестирядные сорта даже более четко, чем в кластере Б.

Таким образом, результаты изучения выборки сортов ячменя из коллекции ВИР показали, что ПДРФ-маркеры являются эффективными инструментами для выяснения генетической структуры генофонда культуры, более точной классификации сортов с неизвестной (местные сорта) или неполной их родословной, а также для идентификации групп генофонда, обладающих определенными эколого-географическими особенностями. ПДРФ-анализ местных и селекционных сортов позволил выявить наличие двух основных тенденций в эволюции культурного ячменя, которые связаны с длительной историей его независимого возделывания в определенных почвенно-климатических условиях в Азии и Европе, соответственно. В свою очередь ячмень из Европы более четко дифференцирован на двурядные и шестирядные сорта, среди которых могут выделяться группы сортов с близким происхождением по их родословным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стрельченко П. П., Ковалева О. Н., Окуно К. Молекулярно-генетический подход к анализу дифференциации и географического распространения ячменя. С.-х. биология. 2002. № 3. С. 41–56.
2. Трофимовская А. Я. Ячмень. (Эволюция, классификация, селекция). Л.: Колос. 1972. 296 с.
3. Graner A. H., Seidler H., Jahoor H., Hermann R. G., Wenzel G. Assessment of the degree of restriction length polymorphism in barley (*Hordeum vulgare*). Theor. Appl. Genet., 80: 826–832.
4. Nei M. Genetic distance between populations. Am. Nat. 1972, 106: 283–292.

P. P. STRELCHENKO,
O. N. KOVALEVA

CLASSIFICATION OF GENETIC DIVERSITY OF CULTIVATED BARLEY FROM THE VIR COLLECTION USING RFLP MARKERS

Summary

A set of 41 RFLP markers has been used to characterize polymorphism in a selection of 93 barley accessions representing local varieties and bred cultivars. The obtained data show that each of them is unique. In order to classify the studied materials on the basis of their similarity, the cluster analysis and PAF have been applied. The obtained results indicate genetic differentiation in barley.