Научная статья
УДК 575.1:575.2:561:631.52
DOI: 10.30901/2658-6266-2024-2-o6

(cc) BY

Полиморфизм ДНК в локусах, связанных с адаптацией ячменя к условиям окружающей среды, при сравнении выборок семян из археологических раскопов XII века с образцами из коллекции ВИР различного географического происхождения

Т. В. Семилет, Н. А. Швачко, О. Н. Ковалева, Л. Ю. Шипилина, Е. К. Хлесткина

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Наталия Альбертовна Швачко, n.shvachko@vir.nw.ru

При изучении полиморфизма ДНК древних семян, имевших значение для жизнедеятельности человека, найденных в ходе археологических раскопок, и сравнении их с современными образцами, можно, в зависимости от эволюционной значимости/нейтральности выявляемых отличий, либо находить следы адаптации форм, используемых в древности, к неблагоприятным условиям окружающей среды, либо уточнять происхождение образцов, получая дополнительные свидетельства о торгово-экономических связях между разными регионами в разные эпохи. Целью настоящей работы было изучить полиморфизм ДНК при сравнении семян ячменя XII века из Усвятского городища Псковской области и образцов из коллекции ВИР различного географического происхождения при использовании данных секвенирования последовательностей генов *CHI* и *ELF3*. Из 18 полиморфных SNP-локусов, выявленных в изучаемых генах при анализе исследуемой выборки ячменя, для семи SNP удалось ресеквенировать контекстные последовательности в образцах древней ДНК. Выявленные аллельные изменения в данных семи SNP-локусах являются нейтральными, не приводят к заменам аминокислот, поэтому могут использоваться для сравнительного анализа происхождения образцов. Гаплотип, установленный у древнего ячменя по изученным семи SNP, не совпал полностью ни с одним из исследованных образцов коллекции ВИР. Вместе с тем, по редко встречающимся аллелям выявлено сходство с белорусским сортом ‘Криничный’, а по часто встречающимся аллелям – с несколькими образцами *H.vulgare* L. разного происхождения (Швеция, Дания, Армения), а также с *H. spontaneum* (K. Koch) Thell.

***Ключевые слова*:** SNP, биологическая коллекция, ген *CHI*, ген *ELF3*, древняя ДНК, отбор, палеоботаника, палеогенетика, секвенирование, ячмень

Благодарности: Работа выполнена в рамках темы НИР № 0481-2022-0007 «Выявление новых генетических маркеров селекционно значимых свойств и новых аллельных вариантов хозяйственно ценных генов в генофонде культурных растений и их диких родичей при помощи геномных и постгеномных технологий».

Для цитирования: Семилет Т.В., Швачко Н.А., Ковалева О.Н., Шипилина Л.Ю., Хлесткина Е.К. Полиморфизм ДНК в локусах, связанных с адаптацией ячменя к условиям окружающей среды, при сравнении выборок семян из археологических раскопов XII века с образцами из коллекции ВИР различного географического происхождения. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(2):67-74. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-2-o6

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Семилет Т.В., Швачко Н.А., Ковалева О.Н., Шипилина Л.Ю., Хлесткина Е.К., 2024

Original article
DOI: 10.30901/2658-6266-2024-2-o6

DNA polymorphism in loci associated with the adaptation of barley to environmental conditions, when comparing seed samples from archaeological excavations of the 12th century with the VIR collection accessions of different geographical origin

Tatiana V. Semilet, Natalia A. Shvachko, Olga N. Kovaleva, Liliya Yu. Shipilina, Elena K. Khlestkina

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Natalia A. Shvachko, n.shvachko@vir.nw.ru

When studying the DNA polymorphism of ancient seeds from archaeological excavations, and comparing them with modern ones, it is possible, depending on the evolutionary significance/neutrality of the identified differences, to either find traces of adaptation of genotypes used in ancient times to unfavorable environmental conditions, or to clarify the origin of the samples, establishing additional evidence of trade and economic ties between different regions in different eras. The purpose of this work was to study the DNA polymorphism by comparing the 12th-century barley seeds from the Usvyaty settlement of the Pskov Region and VIR collection accessions of different geographical origin using the *CHI* and *ELF3* gene fragments sequencing data. Of the 18 polymorphic SNP loci identified in the studied genes during the analysis of the barley samples under study, seven SNPs were from the regions amenable for resequencing in ancient DNA samples. The identified allelic changes in those seven SNP loci were neutral and did not lead to amino acid substitutions, therefore they can be used for a comparative analysis of the sample origin. The haplotype revealed in ancient barley based on the seven studied SNPs did not completely coincide with any of the studied accessions from the VIR collection. At the same time, rare alleles showed similarities with a Belarusian cultivar 'Krinichny', and the frequently occurring ones with several accessions of *H. vulgare* L. of different origin (Sweden, Denmark, Armenia), as well as with *H. spontaneum* (K. Koch) Thell.

Keywords: SNP, biological collection, *CHI* gene, *ELF3* gene, ancient DNA, selection, paleobotany, paleogenetics, sequencing, barley

Acknowledgments: The work was carried out within the framework of research topic No. 0481-2022-0007 "Identification of new genetic markers of properties of importance for breeding and new allelic variants of economically valuable genes in the gene pool of cultivated plants and their wild relatives using genomic and post-genomic technologies".

For citation: Semilet T.V., Shvachko N.A., Kovaleva O.N., Shipilina L.Y., Khlestkina E.K. DNA polymorphism in loci associated with the adaptation of barley to environmental conditions, when comparing seed samples from archaeological excavations of the 12th century with the VIR collection accessions of different geographical origin. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2024;7(2):67-74. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-2-o6

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Semilet T.V., Shvachko N.A., Kovaleva O.N., Shipilina L.Y., Khlestkina E.K., 2024

Введение

С помощью палеогенетических подходов ранее нами были изучены древние образцы ячменя XII века, найденные при раскопках Усвятского городища в Псковской области, была реконструирована архитектоника колоса древних злаковых (Semilet et al., 2023; 2024), в том числе выявлено, что для ячменя, используемого на Северо-Западе Руси в XII веке все еще была свойственна ломкоколосость. Вероятно, формирование земледельческих традиций в данной местности находилось в процессе становления, а особенность географического положения городища Усвяты на пути «из варяг в греки» могло содействовать здесь появлению семенного материала, принесенного издалека и не прошедшего отбор и адаптацию к местным условиям. Также полученные ранее данные (Semilet et al., 2024) указывают на возможность того, что ячмень был привезен в XII веке на территорию Усвятского городища в качестве главного компонента кормовой или зерновой смеси.

Целью настоящей работы было изучить полиморфизм ДНК при сравнении семян ячменя из Усвятского городища и образцов из коллекции ВИР различного географического происхождения при использовании данных секвенирования последовательностей отдельных генов.

Определяющим фактором выбора последовательностей ядерного генома для проведения данного сравнения была потенциальная вероятность высокой степени дивергенции между образцами, происходящими из разных широт. За адаптацию к разной длине дня отвечают гены, связанные с циркадными ритмами. Циркадные ритмы – эндогенные осцилляторы, которые, предвещая сезонные изменения, вызывают адаптивные реакции (Huang et al., 2017).

Примером работы циркадных ритмов является влияние длины светового дня на раннее созревание ячменя. У *Hordeum vulgare* L. одним из ключевых генов, формирующих реакцию на фотопериод и регулирующих суточные ритмы, является *ELF3* (*EARLY FLOWERING 3*) (Deng et al., 2015). Изменения в работе данного гена приводят к появлению фенотипа с нейтральным фотопериодом (Zakhrabekova et al., 2012; Boden et al., 2014; Deng et al., 2015; Huang et al., 2017).

Помимо гена *ELF3* для сравнения образцов ячменя мы выбрали один из ключевых генов, а именно ген, контролирующий биосинтез флавоноидов *CHI*. Последний усиливается в ответ на окислительный стресс и способствует широкой неспецифической устойчивости растений к различным неблагоприятным факторам окружающей среды, как абиотическим, так и биотическим (Khlestkina, 2013).

У зерновых культур картированы и охарактеризованы основные структурные гены, кодирующие ферменты фенилпропаноидного и флавоноидного путей (Druka et al., 2003; Khlestkina et al., 2011; 2015; Peukert et al., 2013; Shoeva et al., 2017; 2018; Vikhorev et al., 2019). Среди них халконфлаванонизомераза CHI – один из ключевых ферментов в пути биосинтеза флавоноидов, осуществляющий превращение халконов в флаваноны и участвующий в синтезе 11 из 12 основных классов флавоноидных соединений (Khlestkina et al., 2015).

Из 18 полиморфных SNP-локусов, выявленных в генах при анализе изучаемой выборки ячменя, для семи SNP удалось ресеквенировать контекстные последовательности в образцах древней ДНК. Сведения об отличиях и сходстве по этим SNP древнего ячменя с образцами современного *H. vulgare* различного происхождения представлены в настоящей работе.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили древние зерновки ячменя *Hordeum* sp., которые были найдены при раскопках Усвятского городища XII века во время экспедиции в 2019 году под руководством кандидата исторических наук И.И. Еремеева (Санкт-Петербургский Институт истории материальной культуры Российской академии наук) и переданы для дальнейшего изучения в отдел агроботаники и *in situ* сохранения генетических ресурсов растений ВИР. Материал описан подробнее в работах Т.В. Семилет (Semilet et al., 2023; 2024).

Ранее была показана генетическая гомогенность ячменя в данной исторической находке. В настоящей работе эксперимент проводили не менее чем в двух биологических повторностях для каждой пары ПЦР-праймеров.

Современная выборка включала образцы ячменя, контрастные по регионам возделывания (табл. 1).

В качестве референсной для гена *CHI* использовали последовательность из базы данных NCBI под номером AF474923.2 – «*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare* chalcone isomerase (*CHI*) gene, complete cds». Длина размещенной последовательности – 10072 пн, кодирующая часть соответствует диапазону 5534…6429, в том числе зрелой мРНК соответствуют диапазоны: 5534..5627, 5748..5909, 5990..6429.

В качестве референсной для гена *ELF3* использовали последовательность из базы данных NCBI под номером JN180296.1 – «*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare* early flowering protein 3 (*ELF3*) gene, complete cds». Длина размещенной последовательности – 5075 пн, кодирующая часть соответствует диапазону 935…4447, в том числе зрелой мРНК соответствуют диапазоны: 935..1186, 1494..2422, 3201..3252, 3383...4447.

Гомологичные последовательности для выявления в исследуемых генах районов с повышенной изменчивостью определяли в базах данных NCBI и Phytozome при помощи алгоритма BLAST. Выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы Multalin [Multiple sequence alignment by Florence Corpet (http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/)]. Предсказанные аминокислотные последовательности получали при помощи программы Sequence Utilities (https://www.bioline.com/media/calculator/01_12.html).

Таблица 1. Образцы *Hordeum* sp. из коллекции ВИР, использованные в работе

Table 1. *Hordeum* sp. accessions from the VIR collection used in the study

№ в каталоге ВИР/ VIR catalogue No.	Порядковый номер образца, используемый в данной статье/ Accession ordinal number used in this study	Вид, разновидность/ Species, variety	Название/ Name	Сроки спелости/ экологическая пластичность (если есть данные)/ Maturity dates/ ecological plasticity (if available)	Происхождение/ Origin
15541	1	*Hordeum vulgare nutans*	‘Binder’	среднеспелый	Швеция
17442	2	*H. vulgare nutans*	‘Kenia’	среднеспелый	Дания
18429	3	*H. vulgare nutans*	‘Proctor’	среднеспелый	Великобритания
18532	4	*H. vulgare nutans*	‘Maythorpe’	среднеспелый	Великобритания
20455	5	*H. vulgare nutans*	‘Gull’	среднеспелый	Швеция
27605	6	*H. vulgare nutans*	‘Криничный’	среднеспелый, экологически пластичный	Беларусь
6683	7	*H. vulgare nutans*	‘Местный’	скороспелый	Армения
7510	8	*H. vulgare nutans*	‘Orge de pays (partout)’	среднеранний	Алжир
15033	9	*H. vulgare nudum*	Местный	скороспелый, нейтральный фотопериод	Дагестан
30383	10	*H. vulgare pallidum*	‘C.I. 11008 Lan’	скороспелый	Перу
29209	11	*H. vulgare pallidum*	‘Ivate Mensury 2’	нет данных	Япония
15036	12	*H. vulgare nutans*	‘Местный’	скороспелый, нейтральный фотопериод	Дагестан
20279	13	*H. vulgare erectum*	Kinai N 5	скороспелый, нейтральный фотопериод	Япония
W-843	14	*H. marinum* Huds.	-	-	Азербайджан
W-610	15	*H. spontaneum* (K. Koch) Thell.	-	-	Дагестан
-	16	*Hordeum sp.*	-	-	Россия

К участкам с повышенной изменчивостью (в том числе с наибольшей частотой встречаемости SNP, Single nucleotide polymorphism – однонуклеотидный полиморфизм) были подобраны пары праймеров (табл. 2) для дальнейшей постановки ПЦР и проведения секвенирования.

Палеогенетические исследования древней ДНК осуществляли по общепринятым правилам работы, опубликованным ранее (Pääbo et al., 1989; Poinar et al., 2001; Semilet et al., 2023).

Для выделения современной и древней ДНК использовали коммерческий набор DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). Экстракцию ДНК проводили согласно протоколу производителя. Стадию рефрагментации (обогащения) проводили с использованием набора Sigma-Aldrich GenomePlex Complete Whole Genome Amplification (WGA). Проверку качества препаратов ДНК проводили спектрофотометрическим методом на приборе NanoPhotometer NanoDrop (IMPLEN, Germany).

ПЦР проводили по протоколу, описанному ранее (Semilet et al., 2023). Полученные фрагменты окрашивали бромидом этидия и изучали в ультрафиолетовом свете с использованием системы гель-документирования Gel Doc XR$^+$ (Bio-Rad). Выделение и очистку фрагментов ПЦР перед секвенированием осуществляли при помощи набора diaGene для выделения ДНК из реакционной сме-

Таблица 2. Список праймеров, использованных в работе

Table 2. List of primers used in this study

Название/ Designation	Прямой праймер/ Forward primer	Обратный праймер/ Reverse primer	Размер продукта/ Product size	Автор/ Author
ELF3-1	CACCAGAGACACAGACCCTT	GCCATGCTCACTCACTCA	288	*
ELF3-2	TGAGTGAGTGAGCATGGC	GGACGCTGAACTGCT	200	*
ELF3-3	ATTGGTGGGATCGACAGAC	TTAGAACGAGGACGCACTC	287	*
ELF3-4	CAGAGACAACAACGCCA	GTTTGCTGGTGCTTTGTCC	295	*
ELF3-5	GGACAAAGCACCAGCAAAC	TCTCATTCCTTGTTCTAGCCT	200	*
ELF3-6	AGGCTAGAACAAGGAATGAGA	CGATAGCTCTTCTTGCTTTCC	285	*
ELF3-7	TCAGCAGCGGGTTTTTG	CCAAGGCATGGATCTCCTTC	240	*
ELF3-8	GGAAAGCAAGAAGAGCTATCG	CCAAGGCATGGATCTCCTTC	1037	*
ELF3-9	GAAGGAGATCCATGCCTTGG	CTTGTTGTCGGTAGGAGCAG	279	*
ELF3-10	CTGCTCCTACCGACAACAAG	CTGAAAGGCGGGAAGTACAT	295	*
ELF3-11	ATGTACTTCCCGCCTTTCAG	CCCTGCTGCCTGTCAAAAG	242	*
ELF3-12	CAGAGACAACAACGCCAAG	CGATAGCTCTTCTTGCTTTCC	744	*
CHI-1	CGGACAAGGTGACGGAGAA	GGAGAAGGCGACGGTGAG	176	Shoeva et al., 2015
CHI-2	GCCACTTCATCAAGTTCACG	GCGGCAGGATCATTGTC	260	*
CHI-1	CGGACAAGGTGACGGAGAA	AGC TCA GCG ACC CTG TT	316	*
CHI-2	GCCACTTCATCAAGTTCACG	AGC TCA GCG ACC CTG TT	594	*

Примечание: * Праймеры, сконструированы с использованием программы Oligo Primer Analysis Software v.7 (https://oligo.net/) и базы данных Integrated DNA Technologies/ Primers were designed using Oligo Primer Analysis Software v.7 (https://oligo.net/) and the Integrated DNA Technologies database.

си, согласно инструкции производителя (Диа-М, Россия).

Секвенирование образцов по Сэнгеру проводили на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 (Thermo Fischer scientific®, США). Обработку полученных секвенограмм проводили с использованием программного обеспечения UGENE v.40.0 (Okonechnikov et al., 2012).

Результаты и обсуждение

Секвенирование высоко изменчивых областей генов *ELF3* и *CHI* позволило выявить восемь и десять SNP, соответственно (табл. 3). У образцов древнего ячменя удалось амплифицировать области, несущие семь из этих 18 SNP – три SNP в гене *ELF3* и четыре SNP в гене *CHI* (см. табл. 3). Выявленные аллельные изменения в данных семи SNP-локусах являются нейтральными, не приводят к изменению аминокислоты, поэтому могут быть использованы для сравнительного анализа происхождения образцов.

Гаплотип, выявленный у древнего ячменя в результате изучения семи SNP, не совпадает полностью ни с одним гаплотипом образцов из коллекции ВИР. Вместе с тем привлекают внимание аллельные варианты в локусах *Elf3-2297* и *Elf3-2345*, в которых замена Т на С и А на G, соответственно, встречаются только у древнего ячменя и у сорта ‘Криничный’, районированного в Белорусской ССР в 1987 году. Этот сорт – среднеспелый, экологически пластичный, то есть проявляющий способность давать стабильный урожай при изменении условий окружающей среды (Lukyanova et al., 1992).

Еще одна замена G на C встречается только у *H. marinum* Huds., этот локус идентичен у всех современных образцов *H. vulgare*, *H. spontaneum* и у древнего ячменя. Остальные пять SNP-локусов аллели, встречающейся у древнего ячменя, являются распространенными среди образцов коллекции ВИР разного географического происхождения. Из этих пяти локусов в четырёх можно видеть сходство усвятского ячменя со среднеспелым образцом из Швеции (№1 в табл. 1 и 3), в 3-х – со среднеспелым ячменем из Дании (№2, см. табл. 1 и 3) и скороспелым из Армении (№7, см. табл. 1 и 3), а также с образцом *H. spontaneum* (№15, см. табл. 1 и 3).

На сходство усвятского ячменя с *H. spontaneum* указывали и результаты проведенных ранее исследований генов, связанных с морфологией колоса (Semilet et al., 2023; 2024).

Как известно, *H. vulgare* был одомашнен на территории Плодородного полумесяца от дикого предка, сходного с современным *H. spontaneum* (K. Koch) Thell. При перемещении культурных форм в новые регионы происходила адаптация к условиям окружающей среды: колебаниям годовых температур и продолжительности светового дня. В результате было неизбежным изменение генетической регуляции времени вегетации и цветения (McClung, 2021).

Около 70 лет назад уже была поставлена задача по целенаправленной селекции ячменя на скороспелость, для того чтобы обеспечивать высокую продуктивность

Таблица 3. Аллельные варианты, выявленные в SNP-локусах генов ELF3 и CHI, и их характеристики.
NA – фрагмент, несущий данный SNP-локус не удалось амплифицировать у образцов древней ДНК, S – синонимичная замена

Table 3. Allelic variants identified in the SNP loci of the ELF3 and CHI genes and their characteristics.
NA – fragment carrying this SNP locus could not be amplified from ancient DNA samples, S – synonymous substitution.

Ген/ Gene	Позиция (пн)/ Position bp	Аллели/ Alleles	Аллель у древнего ячменя/ Allele in ancient barley	Нейтральность замены/ Substitution neutrality	Современные образцы с аллелем, одинаковым с древним ячменем/ Contemporary accessions with the same allele as ancient form
ELF3	735	T/C	NA	NA	NA
	752	T/C	NA	NA	NA
	765	T/C	NA	NA	NA
	2297	T/C	C	S	6
	2345	A/G	G	S	6
	3372	T/C	NA	NA	NA
	3502	A/G	A	S	1,5,8
	3619	A/G	NA	NA	NA
CHI	6072	T/C	C	S	1,2,4,7,13,15
	6078	G/C	NA	NA	NA
	6094	A/G	NA	NA	NA
	6129	C/A	NA	NA	NA
	6168	T/C	NA	NA	NA
	6111	T/C	C	S	1,2,4,7,13,14,15
	6207	G/C	G	S	все, кроме *H.marinum* (14)
	6274	C/A	C	S	1,2,4,5,6,7,11,15
	6279	C/A	NA	NA	NA
	6327	G/T	NA	NA	NA

***Примечание:** номера образцов в столбце 6 соответствуют таковым в таблице 1 (столбец 2)/ Note: Sample numbers in column 6 correspond to those in table 1 (column 2)

при возделывании на территориях с коротким вегетационным периодом (Smith, 1951). Как известно, такие площади составляют значительную часть земной поверхности и селекция, направленная на создание растений с ранним созреванием, значительно увеличивает производство продуктов питания на мировом уровне (Smith, 1951; Tester, Langridge, 2010; Zakhrabekova et al., 2012).

У ячменя одним из ключевых генов, который ассоциирован с реакцией растений на длину светового дня и регулирующим суточные ритмы, является *ELF3* (*EARLY FLOWERING 3*) (Deng et al., 2015). Ген *ELF3* расположен в хромосоме 1H и кодирует белок Elf3-like protein 2, важный для реакции растения на длину светового дня (Boden et al., 2014). Рядом исследователей показано, что экспрессия *ELF3* влияет на гены биосинтеза гиббереллинов *GA20ox* (*GA20oxidase*) и активность ключевого гена цветения *FT1* (*FLOWERING LOCUS T1*) и способствует вегетативному росту при коротком световом дне и раннему колошению при длинном фотопериоде (Zakhrabekova et al., 2012; Boden et al., 2014; Deng et al., 2015; Huang et al., 2017). Мутации, возникающие в данном гене, приводят к потере чувствительности к длине светового дня и формированию растений с нейтральным фотопериодом. Одной из распространенных мутаций раннего созревания ячменя является *Eam8* (mat.a-8) (Zakhrabekova et al., 2012).

Выявленное сходство усвятского ячменя с белорусским сортом ‘Криничный’ по редкому аллелю гена *Elf3*, делает в перспективе интересным сравнительное изучение широкого спектра SNP-локусов в генах, связанных с адаптацией к фотопериоду, причем не только эволюционно нейтральных SNP, но и ассоциированных с функцио-

нально значимыми изменениями.

Высокий адаптивный потенциал и устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды обуславливают флавоноидные соединения. В настоящей работе мы изучили полиморфизм ДНК на основе ресеквенирования фрагментов ключевого структурного гена биосинтеза флавоноидов *CHI* у древнего ячменя и современных образцов. По данным эволюционных исследований структурных генов биосинтеза флавоноидов (Lu, Rausher, 2003; Rausher et al., 1999; 2008; Shoeva et al., 2017), ключевые гены, в частности *CHI*, испытывают высокое давление отбора и являются консервативными. Вероятно, с этим связано, что выявленные нами аллельные варианты SNP у древнего и современного ячменей являются эволюционно нейтральными. Перспективу для дальнейших сравнительных исследований эволюционно значимых SNP представляют регуляторные гены биосинтеза флавоноидов, менее консервативные и эволюционирующие быстрее структурных генов (Rausher et al., 1999; Shoeva et al., 2017). Вместе с тем, именно нейтральные полиморфные локусы, исследованию которых была посвящена настоящая работа, могут быть использованы для сравнительного анализа и уточнения происхождения мало изученного генетического материала, к которому относится, в том числе древний ячмень, найденный при археологических раскопках в городище Усвяты.

При изучении артефактов в отношении эволюционно значимых полиморфных локусов, найденных при раскопках, потенциально возможно выявить следы адаптации форм к неблагоприятным условиям окружающей среды, происходившей в древности, тогда как исследование эволюционно нейтральных SNP перспективно для уточнения происхождения образцов и выявления дополнительных свидетельств о торгово-экономических связях между разными регионами в разные эпохи.

References/Литература

Boden S.A., Weiss D., Ross J.J., Davies N.W., Trevaskis B., Chandler P.M., Swain S.M. *EARLY FLOWERING3* regulates flowering in spring barley by mediating gibberellin production and *FLOWERING LOCUS T* Expression. *The Plant Cell*. 2014;26(4):1557-1569. DOI: 10.1105/tpc.114.123794

Deng W., Clausen J., Boden S., Oliver S.N., Casao M.C., Ford B., Anderssen R.S., Trevaskis B. Dawn and Dusk Set States of the Circadian Oscillator in Sprouting Barley (*Hordeum vulgare*) Seedlings. *PLOS ONE*. 2015;10(6):e0129781. DOI: 10.1371/journal.pone.0129781

Druka A., Kudrna D., Rostoks N., Brueggeman R., von Wettstein D., Kleinhofs A. Chalcone isomerase gene from rice (*Oryza sativa*) and barley (*Hordeum vulgare*): physical, genetic and mutation mapping. *Gene*. 2003;302(1–2):171-178. DOI: 10.1016/S0378-1119(02)01105-8

Huang H., Gehan M.A., Huss S.E., Alvarez S., Lizarraga C., Gruebbling E.L., Gierer J., Naldrett M.J., Bindbeutel R.K., Evans B.S., Mockler T.C., Nusinow D.A. Cross-species complementation reveals conserved functions for *EARLY FLOWERING 3* between monocots and dicots. *Plant Direct*. 2017;1(4):e00018. DOI: 10.1002/pld3.18

Khlestkina E., Salina E., Matthies I., Leonova I., Börner A., Röder M. Comparative molecular marker-based genetic mapping of flavanone 3-hydroxylase genes in wheat, rye and barley. *Euphytica*. 2011;179:333-341. DOI: 10.1007/s10681-010-0337-2

Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Research Communications.* 2013;41(2):185-198. DOI: 10.1556/CRC.2013.0004

Khlestkina E.K., Shoeva O.Y., Gordeeva E.I. Flavonoid biosynthesis genes in wheat. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2015;5(3):268-278. DOI: 10.1134/S2079059715030077

Lu Y., Rausher M.D. Evolutionary rate variation in anthocyanin pathway genes. *Molecular Biology and Evolution*. 2003;20(11):1844-1853. DOI: 10.1093/molbev/msg197

Lukyanova M.V., Ilyina N.V., Ivanova N.S., Khokhlova G., Ivanova O.A., Lukina N.I., Tyulina N.R., Anikina L.V., Bogdanova G.M., Ivanova N.N., Nikitina N.D., Terentyeva I.A. (comp.). Catalogue of the VIR global collection. Iss. 632. Barley. Source material for breeding in the Non-Black Earth Zone of Russia (Yachmen'. Iskhodnyi material dlya selektsii v Nechernozemnoy zone Rossii). St. Petersburg: VIR; 1992. [in Russian] (Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 632. Ячмень. Исходный материал для селекции в Нечерноземной зоне России/ сост.: М.В. Лукьянова, Н.В. Ильина, Н.С. Иванова, Г. Хохлова, О.А. Иванова, Н.И. Лукина, Н.Р. Тюлина, Л.В. Аникина, Г.М. Богданова, Н.Н. Иванова, Н.Д. Никитина, И.А. Терентьева. Санкт-Петербург: ВИР; 1992).

McClung C.R. Circadian clock components offer targets for crop domestication and improvement. *Genes (Basel)*. 2021;12(3):374. DOI: 10.3390/genes 12030374

Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012;28(8):1166-1167. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091

Pääbo S., Higuchi R.G., Wilson A.C. Ancient DNA and the polymerase chain reaction. The emerging field of molecular archaeology. *The Journal of Biological Chemistry*. 1989;264(17):9709-9712. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)81710-0

Peukert M., Weise S., Röder M.S., Matthies I.E. Development of SNP markers for genes of the phenylpropanoid pathway and their association to kernel and malting traits in barley. *BMC Genetics*. 2013;14:97. DOI: 10.1186/1471-2156-14-97

Poinar H.N., Kuch M., Sobolik K.D., Barnes I., Stankiewicz A.B., Kuder T., Spaulding W.G., Bryant V.M., Cooper A., Pääbo S. A molecular analysis of dietary diversity for three archaic Native Americans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(8):4317-4322. DOI: 10.1073/pnas.061014798

Rausher M.D., Lu Y., Meyer K. Variation in constraint versus positive selection as an explanation for evolutionary rate variation among anthocyanin genes. *Journal of Molecular Evolution*. 2008;67(2):137-144. DOI: 10.1007/s00239-008-9105-5

Rausher M.D., Miller R.E., Tiffin P. Patterns of evolutionary rate variation among genes of the anthocyanin biosynthetic pathway. *Molecular Biology and Evolution*. 1999;16(2):266-274. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev. a026108

Semilet T., Shvachko N., Smirnova N., Shipilina L., Khlestkina E. Using DNA markers to reconstruct the lifetime morphology of barley grains from carbonized cereal crop remains unearthed at Usvyaty Settlement. *Biological Communications*. 2023;68(1):3-9. DOI: 10.21638/spbu03.2023.101

Semilet T.V., Smirnova N.V., Shvachko N.A., Kovaleva O.N., Khlestkina E.K. Restoration of the spike architectonics in ancient barley excavated at the twelfth-century settlement of Usvyaty. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. [preprint] 2024. [in Russian] (Семилет Т.В., Смирнова Н.В., Швачко Н.А., Ковалева О.Н., Хлесткина Е.К. Восстановление архитектоники колоса древнего ячменя из раскопа Усвятского городища XII века. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* [в печати] 2024).

Shoeva O.Y., Glagoleva A.Y., Khlestkina E.K. The factors affecting the evolution of the anthocyanin biosynthesis pathway genes in monocot and dicot plant species. *BMC Plant Biology.* 2017;17(Suppl 2):256. DOI: 10.1186/s12870-017-1190-4

Shoeva O.Y., Kukoeva T.V., Börner A., Khlestkina E.K. Barley *Ant1* is a homolog of maize *C1* and its product is part of the regulatory machinery governing anthocyanin synthesis in the leaf sheath. *Plant Breeding*. 2015;134(4):400-405. DOI: 10.1111/pbr.12277

Shoeva O.Yu., Strygina K.V., Khlestkina E.K. Genes determining the synthesis of flavonoid and melanin pigments in barley. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(3):333-342. [in Russian] (Шоева О.Ю., Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К. Гены, контролирующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(3):333-342). DOI: 10.18699/VJ18.369

Smith L. Genetics and cytology of barley. *The Botanical Review.* 1951;17:133-202. DOI: 10.1007/BF02861800

Tester M., Langridge P. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science*. 2010;327(5967):818-822. DOI: 10.1126/science.1183700

Vikhorev A.V., Strygina K.V., Khlestkina E.K. Duplicated *flavonoid 3'-hydroxylase* and *flavonoid 3',5'-hydroxylase* genes in barley genome. *PeerJ*. 2019;7(1):e6266. DOI: 10.7717/peerj.6266

Zakhrabekova S., Gough S.P., Braumann I., Müller A.H., Lundqvist J., Ahmannet K., Dockter C., Matyszczak I., Kurowska M., Druka A., Waugh R., Graner A., Stein N., Steuernagel B., Lundqvist U., Hansson M. Induced mutations in circadian clock regulator Mat-a facilitated short-season adaptation and range extension in cultivated barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(11):4326-4331. DOI: 10.1073/pnas.1113009109

Информация об авторах

Татьяна Вячеславовна Семилет, младший научный сотрудник, лаборатория постгеномных исследований, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, t.semilet@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-7275-3878

Наталия Альбертовна Швачко, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая, лаборатория постгеномных исследований, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.shvachko@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-1958-5008

Ольга Николаевна Ковалева, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, отдел генетических ресурсов растений овса, ржи, ячменя, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, o.kovaleva@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-3990-6526

Лилия Юрьевна Шипилина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория мониторинга биоресурсов и археоботаники, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, l.shipilina@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-7590-3173

Елена Константиновна Хлесткина, доктор биологических наук, профессор РАН, директор, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, director@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-8470-8254

Information about the authors

Tatiana V. Semilet, Junior Research Associate, Laboratory of Postgenomic Research, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, t.semilet@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-7275-3878

Natalia A. Shvachko, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head, Laboratory of Postgenomic Research, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.shvachko@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-1958-5008

Olga N. Kovaleva, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Genetic Resources of Oats, Rye, Barley, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, o.kovaleva@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-3990-6526

Liliya Yu. Shipilina, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of bioresources monitoring and archaeobotany, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, l.shipilina@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-7590-3173

Elena K. Khlestkina, Dr. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences (RAS), Director, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, director@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-8470-8254

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.
Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 12.05.2024; одобрена после рецензирования 15.06.2024; принята к публикации 19.06.2024.
The article was submitted on 12.05.2024; approved after reviewing on 15.06.2024; accepted for publication on 19.06.2024.