Вавиловский журнал генетики и селекции
Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2026;30(3):372-380

doi 10.18699/vjgb-26-41

Разработка молекулярного маркера к гену *Run8* для отбора устойчивых к пыльной головне генотипов ячменя

Е.А. Орлова [1], Н.П. Бехтольд [1], Ю.Н. Григорьев [1], О.Ю. Шоева [2], А.Ю. Глаголева [2], Т.В. Кукоева [2]

[1] Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия
[2] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Orlova.Lena10@yandex.ru

Аннотация. Пыльная головня ячменя, вызываемая базидиомицетом *Ustilago nuda* (Jens.) Roster, встречается во всех регионах, где возделывается эта культура. Селекция на резистентность к пыльной головне, основанная на использовании доноров, обладающих генами устойчивости, представляет экологически и экономически безопасный способ, сдерживающий отрицательное действие патогена на ячмень. Внедрение в селекционный процесс молекулярно-генетических подходов позволяет контролировать передачу генов резистентности в гибридный материал. Ген *Run8* контролирует устойчивость ко многим изолятам пыльной головни и служит источником высокой устойчивости к этому возбудителю. Цель представленной работы – разработка молекулярного маркера к гену *Run8* для отбора из гибридных популяций генотипов ячменя, устойчивых к пыльной головне. С помощью сравнения доступных из базы данных пангенома ячменя нуклеотидных последовательностей гена *Run8* определена инсерция/делеция шести пар нуклеотидов в кодирующей области гена. На основе выявленного полиморфизма разработан молекулярный маркер *Hor7050*, позволяющий дифференцировать аллели гена *Run8*. Маркер был протестирован на гибридных линиях F_5–F_6, полученных от скрещивания сорта Эльф – донора резистентности к пыльной головне – и несущего, по данным оригинаторов, ген *Run8*, с сортом Танай, обладающим практической устойчивостью к возбудителю. С помощью разработанного маркера из 84 гибридов были отобраны 18, несущих ген *Run8* сорта Эльф. Однако проведенная фитопатологическая оценка показала, что из выделенных линий восемь восприимчивы к заболеванию. Для уточнения генотипа 18 отобранных линий был проведен дополнительный анализ с помощью микросателлитного маркера *EBmac0541*, сцепленного с геном *Run6*. Была установлена взаимосвязь между наличием аллеля данного маркера от сорта Эльф и устойчивостью к заболеванию. Возможно, сорт Эльф, кроме гена *Run8*, несет ген *Run6*, эффективный против расы 1 возбудителя пыльной головни. Для уточнения наличия гена *Run6* у сорта Эльф требуются дополнительные исследования. Помимо устойчивости, отобранные линии были охарактеризованы по признакам продуктивности. По результатам двухлетнего анализа выделены три продуктивные резистентные линии с геном *Run8* – 32, 65 и 79, достоверно превышающие по урожайности контрольный сорт Эльф.

Ключевые слова: ячмень; пыльная головня; гены устойчивости; маркеры; линии

Для цитирования: Орлова Е.А., Бехтольд Н.П., Григорьев Ю.Н., Шоева О.Ю., Глаголева А.Ю., Кукоева Т.В. Разработка молекулярного маркера к гену *Run8* для отбора устойчивых к пыльной головне генотипов ячменя. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(3):372-380. doi 10.18699/vjgb-26-41

Финансирование. Исследования выполнены при финансовой поддержке проекта РНФ № 25-26-20151 и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области (№ 30-2025-000964 от 21.05.2025).

Благодарности. Работа по оценке гибридных линий ячменя на устойчивость к пыльной головне проведена в Центре коллективного пользования репродукции растений ИЦиГ СО РАН при поддержке бюджетного проекта FWNR-2026-0033. Авторы благодарят Галину Владимировну Генералову (ИЦиГ СО РАН) за помощь в работе.

Development of a molecular marker for the *Run8* gene for the selection of barley genotypes resistant to smut

E.A. Orlova [1], N.P. Bechtold [1], Yu.N. Grigoriev [1], O.Yu. Shoeva [2], A.Yu. Glagoleva [2], T.V. Kukoeva [2]

[1] Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia
[2] Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
Orlova.Lena10@yandex.ru

Abstract. Loose smut of barley, caused by the basidiomycete *Ustilago nuda* (Jens.) Roster, occurs in all regions of the world where this crop is grown. This seed-borne disease causes significant losses in grain production. Selection for resistance to loose smut based on the use of donors with resistance genes is an ecologically and economically safe way to constrain the negative impact of the pathogen on barley. The introduction of molecular genetic approaches into

© Орлова Е.А., Бехтольд Н.П., Григорьев Ю.Н., Шоева О.Ю., Глаголева А.Ю., Кукоева Т.В., 2026
Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

the breeding process makes it possible to control the transfer of resistance genes to hybrid material. The *Run8* gene controls resistance to many isolates of loose smut, including in the West Siberian region of Russia. The objective of the current study is to develop a molecular marker for *Run8* for the selection of barley genotypes resistant to loose smut from hybrid populations. By comparing the nucleotide sequences of the *Run8* gene available from the barley pangenome database, an insertion/deletion of six nucleotide pairs in the coding region of the gene was identified. Based on the identified polymorphism, a molecular marker *Hor7050* was developed, which allows differentiating the alleles of *Run8*. The developed marker was tested on hybrid lines (F_5-F_6) obtained from crossing cultivar Elf, which is a donor of resistance to loose smut and carries, according to the originators, the *Run8* gene, with cultivar Tanai, which has practical resistance to the pathogen. Using the developed marker, 18 hybrids carrying *Run8* of Elf were selected from 84 hybrids; however, the phytopathological assessment showed that eight of the selected lines were susceptible to the disease. To clarify the genotype of 18 selected lines, an additional analysis was carried out using the microsatellite marker *EBmac0541* linked to *Run6*. A relationship was established between the presence of the allele of this marker from Elf and resistance to the disease. It is possible that Elf, in addition to *Run8*, carries *Run6*, which is effective against race 1 of the causative agent of loose smut. Additional studies are required to clarify the presence of *Run6* in the Elf variety. In addition to resistance, the selected lines were characterized by productivity traits. According to the two-year analysis, three productive resistant lines were identified, with *Run8* – 32, 65 and 79, significantly exceeding the control Elf in yield. The selected lines were transferred to breeding nurseries for their further evaluation by economically important traits.
Key words: barley; loose smut; resistance genes; markers; lines

For citation: Orlova E.A., Bechtold N.P., Grigoriev Yu.N., Shoeva O.Yu., Glagoleva A.Yu., Kukoeva T.V. Development of a molecular marker for the *Run8* gene for the selection of barley genotypes resistant to smut. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov J Genet Breed*. 2026;30(3):372-380. doi 10.18699/vjgb-26-41

Введение

Ячмень – одна из основных зернофуражных культур. Высокая пластичность и короткий вегетационный период позволяют возделывать эту культуру во многих почвенно-климатических зонах. Современная селекция ячменя направлена на создание высокоурожайных сортов, обладающих устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессовым факторам. Получению высокого и стабильного урожая культуры препятствуют болезни, вызываемые фитопатогенными грибами, среди которых по распространению и вредоносности лидирует пыльная головня.

Пыльная головня ячменя, вызываемая базидиомицетом *Ustilago nuda* (Jens.) Roster, встречается во всех регионах, где возделывается эта культура (Nielsen, Thomas, 1996). Это заболевание, передающееся семенами, вызывает значительные потери зерновой продукции. При поражении патогеном у растения вместо колоса образуется головнёвый сорус, содержащий телиоспоры возбудителя. Таким образом, ущерб от пыльной головни будет пропорционален проценту пораженных колосьев в поле (Дружин, Крупнов, 2008). Однако экономические потери будут значительно выше. Угнетающее действие патогена отмечается на всех этапах развития растений. В результате гибели проростка снижается полевая всхожесть растений, отрицательное влияние пыльной головни проявляется в снижении продуктивной кустистости, высоты растений, длины главного колоса, количества зерен в колосе, массы 1000 зерен (Орлова и др., 2015; Усольцев, 2018). Большинство сортов ярового ячменя, включенных в Государственный реестр сортов и гибридов, допущенных к использованию в РФ (https://gossortrf.ru/registry), в различной степени восприимчиво к пыльной головне, борьба с которой заключается в обязательном протравливании семян системными фунгицидами. Поэтому, с точки зрения экономических затрат, предпочтительнее возделывать устойчивые сорта. Ценность непоражаемых сортов состоит еще и в том, что использование их без дополнительных средств защиты позволяет применять их в органическом малозатратном земледелии для получения экологически безопасной продукции.

Многими исследователями в разное время было подтверждено, что генетическая устойчивость ярового ячменя к пыльной головне может контролироваться отдельными доминантными или несколькими рецессивными генами (Кривченко, 1984; Menzies et al., 2010). Впервые ген устойчивости *Run* к пыльной головне был идентифицирован J.E. Livingston (1942) в сорте Trebi, в дальнейшем им же у сорта Missuri был идентифицирован слабый ген устойчивости *Run2*. В 1952 г. W.P. Skoropad и L.P. Johnson установили у сорта Jet два независимых доминантных гена *Run3* и *Run6*. На основе этого сорта был создан сорт Keystone, несущий ген *Run6*. У сорта ячменя Dorsett и гибрида X173-10-5-6 C.W. Schaller (1949) идентифицировал два доминантных гена *Run4* и *Run5*. Устойчивость к сорту Anoidium контролируется рецессивным геном *run7*. Ген *Run8* был выделен D.R. Metcalfe (1966) из образца озимого ячменя C.I. 4966, интродуцированного в Америку из России. В настоящее время к возбудителю пыльной головни у ячменя идентифицировано 15 генов устойчивости (Zang et al., 2015; Legkun et al., 2016), однако, по литературным данным, эффективны только три – *Run3*, *Run6* и *Run8*. Остальные гены малоэффективны и не нашли практического применения в селекционной работе (Кривченко, 1984).

Оценка сортов ячменя на устойчивость к пыльной головне на естественном фоне не всегда может быть достоверной, что приводит к ошибочной классификации сортов по резистентности. Искусственное заражение растений – процесс трудоемкий и длительный, он охватывает два вегетационных периода: в первый год проводят инокуляцию колосьев суспензией патогена и сбор созревших семян; на следующий год полученные от инокулированных семян растения оценивают на устойчивость по фенотипическому проявлению признака. Кроме того, качество заражения в

значительной степени зависит от метеорологических условий в период инокуляции. По данным Л.В. Мешковой и ее коллег (2024), отмечена высокая корреляция между увлажнением, осадками и поражением ($r > 0.7$) и средняя отрицательная – с температурой воздуха ($r = –0.44$). Поэтому одним из эффективных методов создания устойчивых сортов является совместное использование классических приемов, основанных на гибридизации доноров генов устойчивости с реципиентными сортами, с новейшими методами отбора с помощью молекулярных маркеров. Такой метод способствует сокращению времени и объема неперспективного гибридного материала в селекционном процессе.

Определяя устойчивость образцов, необходимо учитывать распространенные расы возбудителя в предполагаемой зоне возделывания будущих сортов, только таким образом создание резистентных генотипов может быть на шаг впереди возбудителя. Понимание генетики устойчивости в контексте с вирулентностью патогена позволит выявить эффективные гены, к которым генетики смогут подобрать ДНК маркеры, необходимые для выделения гибридов, обладающих высоким сопротивлением к заболеванию на основе генотипа. Ген *Run8* придает устойчивость к большинству рас возбудителя пыльной головни и широко используется в селекции ячменя как в России, так и за рубежом. Этот ген был картирован на длинном плече хромосомы 1H (Zang et al., 2015). Он кодирует белок, содержащий два тандемных домена протеинкиназы, который, как недавно обнаружено, относится к важному классу белков, участвующих в обеспечении устойчивости растений. Выявлен полиморфизм белковых последовательностей *Run8*, на основе которого возможно разработать внутригенные диагностические молекулярные маркеры для точной идентификации аллелей гена *Run8*. До открытия нуклеотидной последовательности гена *Run8* в научных исследованиях и селекционной практике использовали сцепленные с этим геном молекулярные маркеры (Li et al., 2001; Eckstein et al., 2002). Однако из-за рекомбинации между сцепленными маркерами и целевым геном диагностическая эффективность таких маркеров ниже, чем внутригенных. В связи с чем актуальна разработка внутригенных молекулярных маркеров на основе известных нуклеотидных последовательностей целевых генов. Задачей наших исследований стала разработка внутригенного молекулярного маркера к гену *Run8* и его использование совместно со сцепленным с геном *Run6* маркером для генотипирования образцов ячменя с целью выделения из гибридных популяций линий с эффективными генами, обладающих высокой устойчивостью к пыльной головне.

Материалы и методы

Растительный материал. Материалом для исследований служили 84 селекционных линии, отобранные в поколениях F_5–F_6 из комбинации Эльф × Танай. Сорт Эльф высокоустойчив к пыльной головне ячменя, его родословная: Роланд × Линия 1325. Линия 1325 – дигаплоид (Первенец × Зазерский 85) F1 × *H. Bulbosum*, по данным оригинаторов (Государственный реестр селекционных достижений), имеет ген устойчивости *Run8*, по-видимому, переданный ему от сорта Первенец. Сорт Танай обладает практической устойчивостью к возбудителю и получен от двух селекционных линий Г 20275 × Г 20191, в родословной которых прослеживается участие сортов Jet (*Run3*, *Run6*) и Paragon (*Run3*).

Исследовательская работа проводилась с 2021 по 2023 г. В 2021 г. 84 испытуемые линии выращивали в полевых условиях, в селекционном питомнике СП1; в дальнейшем отобранные по устойчивости линии повторно заражали и высевали на фитопатологическом участке СибНИИРС – филиале ИЦиГ СО РАН.

Дифференциация возбудителя пыльной головни *U. nuda*. Для изучения расового состава пыльной головни использовали эмпирический набор сортов-дифференциаторов, а также генетический набор тест-сортов с известными генами устойчивости, предложенный В.И. Кривченко (1984). Идентификацию расы определяли путем сравнения реакции сортов-дифференциаторов с ключом для определения физиологических рас. По восприимчивости генетического набора тест-сортов устанавливали формулу вирулентности расы. Реакцию устойчивости классифицировали по международной шкале: R – устойчивость (поражение до 10 %); S – восприимчивость (поражение выше 10 %).

Оценка устойчивости линий к пыльной головне. Линии с подтвержденным геном устойчивости и родительские сорта Эльф и Танай в июне 2021 г. заражали новосибирской популяцией пыльной головни. Контролем качества инокуляции служил восприимчивый сорт-индикатор Грейс. В 2022 г. провели повторное заражение выделившихся по устойчивости испытуемых линий. Инокуляцию колосьев ячменя (не менее 8) осуществляли вакуумным методом в период начала цветения растений согласно методике ВИР (Санин и др., 2008). Суспензию спор готовили непосредственно перед заражением из расчета 1 г спор на 1 л воды. Споры головни собирали с пораженных колосьев различных генотипов ячменя. Для определения расового состава возбудителя пыльной головни одновременно инокулировали дифференцирующий и генетический тест-наборы сортов ячменя.

Зараженные семена (не менее 100 инфицированных зерен) высевали на фитопатологическом участке СибНИИРС – филиале ИЦиГ СО РАН, расположенном в п. Мичуринском Новосибирской области. Обработка почвы: весеннее боронование, внесение азотных удобрений, культивация. Закладку опытов осуществляли по пару. Посев зараженных семян проводили в оптимальные для культуры сроки, когда температура почвы в период сева на глубине 5–8 см была 11.5–16.5 °C, что благоприятно для прорастания семян и патогена.

Классификацию устойчивости испытуемых образцов к пыльной головне осуществляли по шкале ВИР (Санин и др., 2008) путем подсчета больных и здоровых колосьев, с дальнейшим вычислением доли (в %) поражаемости образца, в фазы полного выколашивания – начала созревания растений. При определении расового состава популяции пыльной головни классификацию устойчивости

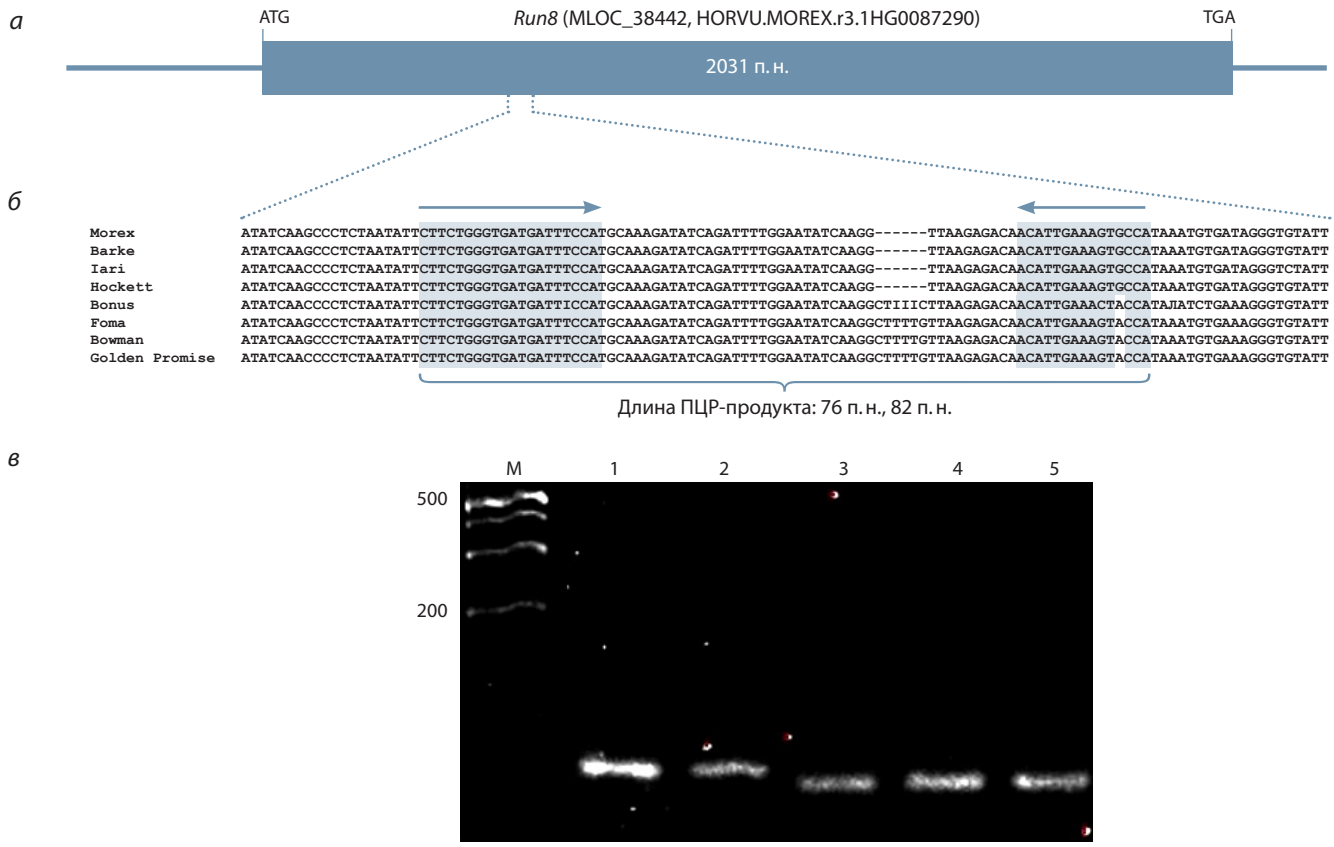

Рис. 1. Структурная организация гена *Run8* (*а*), множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей района гена, несущего инсерцию/делецию длиной 6 п. н., к которому разработан ДНК-маркер (*б*), и результаты тестирования разработанного маркера на сортах ячменя с известными генами устойчивости к пыльной головне: Раушан *Run8, Run15* (1), Эльф *Run8* (2), Jet *Run3, Run6* (3), Keystone *Run6* (4), Grace – стандарт восприимчивости (5). Места отжига праймеров отмечены серым цветом, указана ожидаемая длина ПЦР-фрагментов данного маркера (*в*).

определяли по международной шкале: R – устойчивость (поражение до 10 %); S – восприимчивость (поражение выше 10 %).

Оценка линий по хозяйственной ценности. Для оценки хозяйственно ценных признаков в осенний период 2022–2023 гг. был проведен структурный анализ селекционных линий ячменя по таким признакам, как высота растений, продуктивная кустистость, длина колоса, количество зерен в колосе, масса 1000 зерен. Перечисленные признаки оценивали согласно Методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1985).

Разработка молекулярного маркера к гену *Run8*. Молекулярный маркер *Hor7050* к гену *Run8* разработан на основе нуклеотидной последовательности MLOC_38442 (HORVU.MOREX.r3.1HG0087290, HORVU1Hr1G087050) (Zang et al., 2015) (рис. 1, *а*). Используя эту последовательность в качестве референсной в базе данных пангенома ячменя (Jayakodi et al., 2024), доступной на веб-ресурсе GrainGene (https://wheat.pw.usda.gov/GG3/), мы обнаружили нуклеотидные последовательности гена *Run8* у восьми образцов ячменя: Barke, Bonus, Bowman, Foma, Golden Promise, Hockett, Igri, Morex. С помощью программы Multalin v5.4.1 (Corpet, 1988) проведено их множественное выравнивание, благодаря которому найден полиморфизм между различными аллелями этого гена. Помимо однонуклеотидных замен, у четырех из восьми сортов отмечена делеция шести пар нуклеотидов. Для генотипирования выявленной делеции с помощью программы IDT PrimerQuest™ (http://eu.idtdna.com/PrimerQuest/Home) была подобрана пара праймеров таким образом, чтобы места их отжига фланкировали ее (см. рис. 1, *б*). Тестирование разработанного маркера на образцах ячменя, несущих известные гены устойчивости к пыльной головне, показало возможность отличить аллели гена *Run8* с помощью электрофоретического анализа в 5 % HR агарозном геле у устойчивых к пыльной головне образцов ячменя, несущих ген *Run8*; целевой фрагмент амплификации составил 82 п. н., а у чувствительных – 76 п. н. (см. рис. 1, *в*).

Сопоставляя данные генотипирования и устойчивости линий к пыльной головне, мы оценили диагностическую эффективность маркера, которую определяли как долю правильных результатов тестирования в общем количестве результатов или как сумму истинно положительных и истинно отрицательных результатов теста, деленную на общее количество результатов.

Генотипирование линий по генам *Run6 и Run8*. ДНК выделяли из листьев в фазе кущения, срезанных с пяти растений каждой линии, по методике, описанной ранее

Таблица 1. ДНК-маркеры, используемые в работе для генотипирования линий ячменя по генам *Run6* и *Run8*

Ген	Хромосомная локализация	Название маркера (тип)	Нуклеотидная последовательность праймера, 5′ → 3′	Длина ПЦР-продукта, п. н.*	Литературный источник
Run6	3H	*EBmac0541* (сцепленный)	F: acggatctactttagctagca	106 (S), 110+222 (R)	Rumsay et al., 2000
			R: aaacaaccccacacaatc		
Run8	1H	*Hor7050* (внутригенный)	F: cttctgggtgatgatttcca	76 (S), 82 (R)	Данное исследование
			R: tggtactttcaatgttgtctc		

* Указаны длины ПЦР-продуктов, характерные для чувствительных (S) и устойчивых (R) к пыльной головне образцов ячменя.

(Plaschke et al., 1995). ДНК анализировали с помощью микросателлитного маркера *EBmac0541*, сцепленного с геном *Run6* (Menzies et al., 2010), и внутригенного маркера *Hor7050*, разработанного в нашей работе к гену *Run8* (табл. 1). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с маркером *Hor7050* проводили в смеси объемом 20 мкл, содержащей 100 нг ДНК-матрицы, 1X ПЦР буфер (67 мМ трис-HCl (pH 8.8), 1.5 мМ $MgCl_2$, 0.01 % Tween 20, 18 мМ $(NH_4)_2SO_4$), по 0.2 мМ каждого дНТФ, по 0.25 мкМ прямого и обратного специфических праймеров, 1 ед. Tag ДНК-полимеразы (Helicon, Москва). ПЦР с маркером *EBmac0541* проводили с использованием набора для БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2×) (Биолабмикс, Новосибирск). Амплификацию с указанными праймерами проводили в следующих условиях: – 1 мин 50 с при температуре 94 °C, денатурация – 30 с при 94 °C, отжиг матрицы с праймерами – 30 с при 50 °C (маркер *Hor7050*) либо 55 °C (маркер *EBmac0541*), полимеризация – 45 с при 72 °C, количество циклов – 45, достраивание ПЦР-фрагментов – 5 мин при 72 °C. Разделение продуктов ПЦР проводили в 5 % HR агарозном геле (HR Agarose PCR Grade, HydraGen, NJ, USA) в горизонтальной камере в течение 3–4 ч при напряжении 7 В/см. Фотографии в УФ-свете и анализ изображения делали с помощью системы документации гелей Gel DocTM XR+ System (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA).

Результаты

Характерной особенностью вегетационных периодов 2022–2023 гг. было недостаточное увлажнение в мае месяце. При этом в мае 2022 г. среднесуточная температура воздуха составила +15.4 °C, что на 4.5 °C выше среднемноголетнего значения. В мае 2023 г., несмотря на то что среднемесячная температура этого периода была на уровне среднемноголетних, распределение тепла по декадам было неравномерным. Во второй декаде температура воздуха была ниже на 2.3 °C, а в третьей выше на 3.4 °C среднемноголетних. Температура почвы на глубине 5–8 см в период посева составила в среднем 14 °C, что благоприятно для инфекционного процесса головнёвых грибов в период прорастания семян. Средние температуры воздуха с мая по август составили в 2022 г. – 15.3, 17.3, 18.5, 16.6 °C, в 2023 г. – 11.8, 19.0, 21.6, 17.8 °C.

Суммарное количество осадков, выпавших за сезон, в 2022 г. составило 153.8 мм, что ниже многолетних на 30 %, в 2023 г. – 204 мм, из них 173.8 мм выпало в 3-й декаде июля и 2-й и 3-й декадах августа.

Дифференциация возбудителя пыльной головни *U. nuda*. По реакции эмпирического набора сортов-дифференциаторов установлено, что популяция пыльной головни в 2022–2023 гг. была представлена расой 1, не поражающей сорт Keystone. Анализ споровых образцов на генетическом наборе тест-сортов с генами устойчивости позволил установить, что в популяции пыльной головни присутствуют биотипы, вирулентные сортам Trebi с геном *Run 1*, ОАС-21 (*Run 9*, *Run 10*), а также Московский 2 (*Run 15*). Таким образом, формула вирулентности расы P1 будет 1 – 1.9.10.15 (табл. S1 и S2 Приложения)[1].

Отбор селекционных линий с помощью молекулярного маркера к гену *Run8* и оценка их устойчивости к пыльной головне. С помощью маркера *Hor7050* выявлены отличия между аллелями гена *Run8* сортов Эльф и Танай: на ДНК сорта Эльф был получен ПЦР-продукт длиной 82 п.н., а на ДНК сорта Танай – 76 п.н. Благодаря наличию полиморфизма между родительскими сортами, этот маркер был использован для генотипирования 84 селекционных линий поколения F_5, полученных на основе гибридной популяции Эльф × Танай. По результатам проведенного анализа были отобраны 18 линий, унаследовавших ген *Run8* от сорта Эльф.

По данным искусственного заражения, проведенного в 2021 г., из 18 отобранных селекционных линий, несущих ген *Run8* сорта Эльф, высокая устойчивость к пыльной головне подтверждена у восьми – 12, 14, 25, 32, 45, 49, 78 и 79. Две линии, 42 и 65, отнесены к группе с практической устойчивостью (поражение менее 5 %). Таким образом, у 55.6 % линий фитопатологическим методом была подтверждена устойчивость к *U. nuda*, у остальных отмечали варьирование признака от слабо до сильно восприимчивых (табл. 2). Диагностическая эффективность маркера *Hor7050* составила 0.56.

В 2022 г. отобранные линии поколения F_6 были дополнительно генотипированы с помощью маркера *Hor7050*, подтвердившего наличие гена *Run8* у устойчивых линий 14, 32, 42, 45, 49, 65, 79. В отличие от сорта Эльф, демонстрирующего устойчивость к пыльной головне в течение трех лет, не все отобранные линии, несущие ген *Run8* этого сорта, устойчивы к данному заболеванию. Линии 4, 8, 10, 44, 57, 60, 71, 81 продемонстрировали поражение пыльной головней от 17.9 до 66.7 %. Поскольку в родословной родительского сорта Танай присутствует сорт Jet, известный как носитель гена *Run6*, отобранные линии

[1] Табл. S1 и S2 Приложения доступны по адресу: https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx22.pdf

Таблица 2. Характеристика устойчивости к пыльной головне селекционных линий, отобранных из комбинации Эльф × Танай, и данные генотипирования этих линий с помощью молекулярных маркеров к генам *Run8* и *Run6*

Сорт/линия	Максимальное поражение пыльной головней, %, 2022–2023 гг.	*Hor7050* (*Run8*)		*EBmac541* (*Run 6*)
		2021 г.	2022 г.	
4	19.5	–	82	106
8	29.7	82	–	106
10	56.7	82	82	106
12	0	82	–	110 + 222
14	0	82	82	110 + 222
25	0	82	–	110 + 222
32	0	82	82*	110 + 222
42	3.4	82	82	106
44	62.8	82	–	106
45	0	82	82	106, 110 + 222
49	0	82	82	106, 110 + 222
57	52.8	82	–	106
60	66.7	82	–	106
65	4.1	82	82	106, 110 + 222
71	17.9	82	82	110 + 222
78	0	82	–	110 + 222
79	0	82	82	106
81	28.4	82	82	106
Танай	1.2	76	76	106
Эльф	0	82	82	110 + 222

Примечание. Прочерк – анализ не проводился; * – не удалось однозначно определить, в гомо- или гетерозиготном состоянии находится аллель.

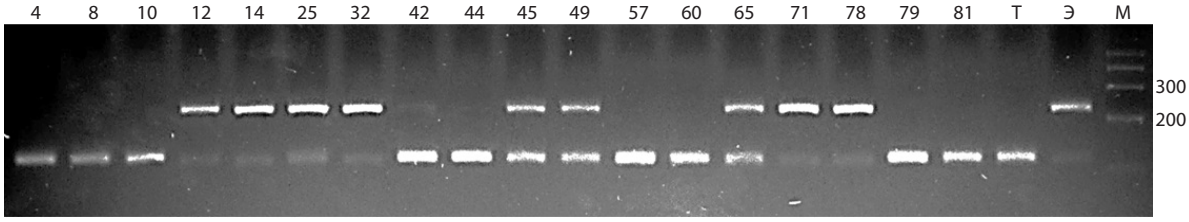

Рис. 2. Результаты генотипирования отобранных линий с помощью микросателлитного маркера *EBmac541*. Цифрами сверху обозначены номера линий, Т – Танай, Э – Эльф, М – маркер длины 100 bp, справа указаны длины в парах нуклеотидов фрагментов маркера длины.

были генотипированы с помощью микросателлитного маркера *EBmac541*, сцепленного с геном *Run6* (рис. 2).

Из 18 проанализированных линий девять унаследовали оба аллеля маркера *EBmac541* от сорта Танай (4, 8, 10, 42, 44, 57, 60, 79, 81), шесть – от сорта Эльф (12, 14, 25, 32, 71, 78), три линии оказались гетерозиготными по этому маркеру (45, 49, 65). Сопоставляя данные генотипирования и устойчивости изучаемых линий к пыльной головне, мы установили, что из десяти линий, резистентных к пыльной головне (поражение пыльной головней от 0 до 4.1 %), восемь унаследовали аллель маркера *EBmac541* от сорта Эльф в гомо- или гетерозиготном состоянии. Среди восьми неустойчивых линий с поражением пыльной головней от 17.9 до 66.7 % носителем аллеля маркера *EBmac541* от сорта Эльф оказалась единственная линия 71, тогда как остальные унаследовали аллель этого маркера от сорта Танай. По полученным данным была рассчитана диагностическая эффективность маркера *EBmac541*, составившая 0.83.

Оценка отобранных линий по хозяйственной ценности. Для оценки хозяйственно ценных признаков в осенний период 2022–2023 гг. был проведен структурный

Таблица 3. Основные хозяйственно ценные показатели селекционных линий комбинации Эльф × Танай, F_5 (среднее за 2022–2023 гг.)

Сорт/линия	Высота растений, см	Длина главного колоса, см	Количество зерен с колоса	Масса 1000 зерен, г	Продуктивная кустистость	Урожайность, г/м^2
Эльф (контроль)	59.3	6.5	19.2	48.0	2.5	419.2
Танай	69.5	6.8	19.4	50.05	2.8	724.4*
12	62.4	5.9	16.3	51.0	3.6*	509.6
14	65.4	6.8	19.4	48.9	2.8	593.9
25	64.9	6.2	19.2	47.4	2.5	480.4
32	70.3*	7.5*	20.9*	45.2	2.8	763.7*
42	71.5*	6.5	17.3	51.8	2.8	568.5
45	68.2	6.8	19.8	47.4	3.0	516.0
49	60.0	6.2	17.3	44.5	2.9	587.2
65	70.7*	7.8*	21.9*	45.8	3.2*	661.7*
78	72.2*	6.8	18.0	50.2	2.8	521.3
79	75.3*	7.6*	21.6*	47.1	2.9	712.0*
$НСР_{05}$	10.681	0.308	0.992	4.3997	0.646	219.8

* Отмечены статистически достоверные различия с родительским сортом Эльф.

анализ выделившихся по устойчивости селекционных линий ячменя, несущих ген *Run8*. Учитывали как биометрические, так и продуктивные свойства растений. Контролем служил родительский сорт с геном *Run8*, Эльф.

Все испытуемые линии по высоте растений превосходили контрольный сорт Эльф. Линии 32, 42, 65, 78 и 79 также превышали и отцовскую форму Танай, их высота в среднем за два года варьировала от 70.0 до 75.3 см, остальные линии занимали промежуточное значение между родительскими формами. Известно положительное влияние длины колоса на продуктивность, так как этот показатель имеет высокую корреляционную связь с количеством зерен в колосе (Наумова, 2021). Длина колоса у выделившихся линий варьировала от 5.9 (линия 12) до 7.8 см (линия 65). По длине колоса и количеству зерен в колосе достоверное превышение родительских форм отмечено у линий 32, 65 и 79. Низкой продуктивностью колоса обладали линии 12, 42, 49 и 78 (табл. 3).

Не менее важным элементом в структуре урожая является крупность зерна. Наибольшую массу 1000 зерен наблюдали в 2022 г. у линии 49 – 54.5 г, у Эльфа – 51.1 г. В среднем за два года крупность зерна на уровне сорта Танай отмечена у линий 12, 42 и 78 – 51.0, 51.8, 50.2 г соответственно.

Продуктивная кустистость у линий 12 и 65 превысила контрольный сорт Эльф в 1.4–1.3 раза и составила 3.6–3.2 продуктивных стебля на растение.

По результатам двухлетнего анализа выделены три продуктивные линии – 32, 65 и 79, достоверно превышающие по урожайности контрольный сорт Эльф. У линии 65 этот признак варьировал: в 2022 г. он составил 809.7 г/м^2, в 2023 г. – 513.7 г/м^2. Наиболее стабильной по этому признаку была линия 32, ее урожайность по годам составила 756.0–771.3 г/м^2, эта же линия в среднем за два года превысила лучшую родительскую форму – Танай, линия 79 выделилась по скороспелости и продуктивности.

Таким образом, с помощью молекулярно-генетического анализа из гибридной комбинации Эльф × Танай (F_5) отобраны 18 селекционных линий, несущих ген устойчивости к пыльной головне *Run8*, устойчивость десяти из них подтверждена результатами фитопатологического теста. К группам высоко и практически устойчивых генотипов ячменя были отнесены линии 12, 14, 25, 32, 42, 45, 49, 65, 78 и 79. Выделенные на основе структурного анализа гибридные линии 32, 65 и 79 были переданы в селекционные питомники для их дальнейшей оценки по хозяйственно ценным признакам.

Обсуждение

Из-за особенностей жизненного цикла базидиомицета *U. nuda* (Jens.) Roster фенотипирование устойчивости к вызываемому им заболеванию, пыльной головне, – длительный и трудоемкий процесс, в связи с чем диагностические молекулярные маркеры особенно востребованы при селекции на устойчивость к этому заболеванию. Однако в настоящее время многие гены *Run*, контролирующие устойчивость к пыльной головне, до сих пор не картированы в геноме ячменя (Abo-Elyousr et al., 2022). Среди генов с известной хромосомной локализацией описаны лишь два – *Run6* и *Run8*, которые картированы на хромосомах 3H и 1H соответственно (Menzies et al., 2010; Zang et al., 2015). Для последнего с помощью точного картирования была определена нуклеотидная последовательность, кодирующая протеинкиназу (Zang et al., 2015). В ходе многолетнего тестирования сортов с идентифицированными генами устойчивости установлено, что гены *Run6* и *Run8* эффективны против рас пыльной головни на территории Западной Сибири. В нашей работе сорт Эльф, источник гена

Run8, использован в качестве донора при создании устойчивых к пыльной головне линий. Для отбора устойчивых линий был разработан молекулярный маркер *Hor7050* на основе нуклеотидной последовательности гена *Run8*, обнаруженной W. Zang с коллегами (Zang et al., 2015). При сравнении аминокислотных последовательностей протеинкиназ, предсказанных на основе нуклеотидных последовательностей гена *Run8*, отмечено, что группа устойчивых к пыльной головне образцов характеризуется 15 уникальными аминокислотными заменами (Zang et al., 2015). Эти замены обусловлены однонуклеотидными заменами, обнаружение которых с помощью рутинной ПЦР трудоемко и требует разработки специфических праймеров, зондов либо подбора эндонуклеаз рестрикции. При сравнении нуклеотидных последовательностей гена *Run8* из базы данных пангенома ячменя нами установлена распространенная делеция длиной шесть пар нуклеотидов, которая приводит к потере двух аминокислотных остатков в белке протеинкиназы. При сравнении белковых последовательностей *Run8* делеция двух аминокислотных остатков определена у чувствительных к пыльной головне образцов ячменя, тогда как эти две аминокислоты имелись как у устойчивых, так и у чувствительных образцов (Zang et al., 2015). Таким образом, разработанный маркер к выявленной делеции диагностически ограничен: не все образцы ячменя, несущие инсерцию шести пар нуклеотидов, будут характеризоваться устойчивостью к пыльной головне, но их использование для отслеживания передачи аллеля гена *Run8* от известного донора, вполне возможно. Применяя этот маркер, мы отобрали 18 линий ячменя, несущих ген *Run8* от донора устойчивости – сорта Эльф. Однако, в отличие от этого сорта, некоторые отобранные линии продемонстрировали чувствительность к расе 1 пыльной головни, идентифицированной с помощью сортов-дифференциаторов. Поскольку второй родитель, сорт Танай, имеет в своей родословной сорт Jet, донор гена *Run6*, сделано предположение, что устойчивые линии, помимо гена *Run8*, от сорта Эльф, могут нести ген *Run6* от сорта Танай. Для проверки этого предположения проведено генотипирование отобранных линий с помощью маркера *EBmac0541*, сцепленного с геном *Run6* (Menzies et al., 2010). Однако в результате проведенного анализа большая часть линий, продемонстрировавших устойчивость к пыльной головне, унаследовала маркер *EBmac0541* от сорта Эльф, а не от сорта Танай. Линии 4, 8, 10, 44, 57, 60, 81, унаследовавшие маркер *EBmac0541* от сорта Танай, характеризовались чувствительностью к пыльной головне, несмотря на то что они несли ген *Run8* от сорта Эльф. Единственная линия, характеризующаяся наличием маркера *EBmac0541* от сорта Танай и устойчивостью к пыльной головне, – линия 79. Поскольку маркер *EBmac0541* сцеплен с геном *Run6*, несоответствие аллельного состояния этого маркера и устойчивости к пыльной головне объясняется рекомбинацией между используемым для генотипирования маркером и геном, контролирующим этот признак. На основании проведенного анализа можно предположить, что геном сорта Эльф, помимо гена *Run8*, содержит ген *Run6*, эффективный против пыльной головни расы 1. Дальнейший анализ нуклеотидных последовательностей гена *Run8* у известных доноров устойчивости к пыльной головне, а также выявленной в настоящей работе косегрегации между маркером *EBmac0541* от сорта Эльф и устойчивостью к пыльной головне позволит уточнить роль генов *Run6* и *Run8* в устойчивости к расам этого патогена, распространенным на территории Западной Сибири.

На основе фитопатологической оценки и оценки показателей продуктивности в ходе двухлетнего анализа среди отобранных линий были определены три перспективные селекционные линии, устойчивые к пыльной головне и достоверно превышающие по урожайности контрольный сорт Эльф. Отобранные линии переданы в селекционные питомники для их дальнейшей оценки по хозяйственно важным признакам.

Заключение

В представленной работе на основе нуклеотидной последовательности гена *Run8* разработан диагностический внутригенный молекулярный маркер. Его использование совместно с микросателлитным маркером *EBmac0541*, сцепленным с геном *Run6*, при генотипировании линий ячменя, полученных на основе сортов Эльф и Танай, позволило выявить взаимосвязь между аллелем маркера *EBmac0541* сорта Эльф и устойчивостью гибридов ячменя к пыльной головне. В результате проведенной исследовательской работы отобраны перспективные селекционные линии, не уступающие по показателям продуктивности исходным сортам.

Список литературы / References

Дружин А.Е., Крупнов В.А. Пшеница и пыльная головня. Саратов, 2008
[Druzhin A.E., Krupnov V.A. Wheat and Dusty Firebrand. Saratov, 2008 (in Russian)]

Кривченко В.И. Устойчивость зерновых колосовых к возбудителям головнёвых болезней. М., 1984
[Krivchenko V.I. Resistance of Grain Ears to Pathogens of Head Diseases. Moscow, 1984 (in Russian)]

Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М., 1985
[Methodology of the State Variety Testing of Agricultural Crops. Moscow, 1985 (in Russian)]

Мешкова Л.В., Сабаева О.Б., Николаев П.Н. Пыльная головня ячменя в Омской области и источники устойчивости к ней. *Вестник НГАУ*. 2024;4(73):70-78. doi 10.31677/2072-6724-2024-73-4-70-78
[Meshkova L.V., Sabaeva O.B., Nikolaev P.N. The dusty smut of barley in the Omsk region and sources of resistance to it. *Bulletin of NSAU*. 2024;4(73):70-78. doi 10.31677/2072-6724-2024-73-4-70-78 (in Russian)]

Наумова Н.А. Особенности формирования зерновой продуктивности и ее элементов у сортов ярового ячменя в условиях Астраханской области. *Аграрный научный журнал*. 2021;(5):29-34. doi 10.28983/asj.y2021i5pp29-34
[Naumova N.A. Peculiarities of grain productivity formation and its elements in varieties of spring barley collection of VIR in conditions of arid climate of Astrakhan region. *Agragnyy Nauchnyy Zhurnal = The Agrarian Scientific Journal*. 2021;(5):29-34. doi 10.28983/asj.y2021i5pp29-34 (in Russian)]

Орлова Е.А., Бехтольд Н.П., Лихенко И.Е. Влияние возбудителя твердой головни ячменя на хозяйственно-полезные признаки растений. *Достижения науки и техники АПК*. 2015;29(3):4-6

[Orlova E.A., Bekhtold N.P., Likhenko I.E. Impact of the pathogen barley smut under economically valuable characteristics of plants. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC*. 2015;29(3):4-6 (in Russian)]

Санин С.С., Неклеса Н.П., Санина А.А., Пахолкова Е.В. Методические рекомендации по созданию инфекционных фонов для иммунологических исследований пшеницы. М., 2008
[Sanin S.S., Nekles N.P., Sanina A.A., Pakholkova E.V. Methodological recommendations on the creation of infectious backgrounds for immunological studies of wheat. Moscow, 2008 (in Russian)]

Усольцев Ю.А. Снижение потерь урожая ячменя от головнёвых заболеваний. *Вестник Курганской ГСХА*. 2018;3:65-69
[Usoltsev Yu.A. Reduction of losses of the harvest of spring barley from head diseases. *Bull Kurgan State Agric Acad*. 2018;3:65-69 (in Russian)]

Abo-Elyous K.A.M., Mourad A.M.I., Baenziger P.S., Shehata A.H.A., Eckstein P.E., Beattie A.D., Sallam A. Identification of putative SNP markers associated with resistance to egyptian loose smut race(s) in spring barley. *Genes*. 2022;13(6):1075. doi 10.3390/genes13061075

Corpet F. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(22):10881-10890. doi 10.1093/nar/16.22.10881

Eckstein P.E., Krasichynska N., Voth D., Duncan S., Rossnagel B.G., Scoles G.J. Development of PCR-based markers for a gene (*Un8*) conferring true loose smut resistance in barley. *Can J Plant Pathol*. 2002;24(1):46-53. doi 10.1080/07060660109506970

Jayakodi M., Lu Q., Pidon H., Rabanus-Wallace M.T., Bayer M., Lux T., Guo Y., … Zhang X.-Q., Wicker T., Dockter C., Mascher M., Stein N. Structural variation in the pangenome of wild and domesticated barley. *Nature.* 2024;636(8043):654-662. doi 10.1038/s41586-024-08187-1

Legkun I.B. Breeding and evaluation of winter barley varieties forgroup resistance to smut diseases. *Russ J Genet Appl Res*. 2016;6:264-269. doi 10.1134/S2079059716030060

Li C.D., Eckstein P.E., Lu M., Rossnagel B.G., Scoles G.J. Targeted development of a microsatellite marker associated with a true loose smut resistance gene in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Mol Breed*. 2001;8:235-242. doi 10.1023/A:1013738108871

Livingston J.E. The inheritance of resistance to *Ustilago nuda. Phytopathology.* 1942;32:451-466

Menzies J.G., Steffenson B.J., Kleinhofs A. A resistance gene to *Ustilago nuda* in barley is located on chromosome 3H. *Can J Plant Pathol.* 2010;32(2):247-251. doi 10.1080/07060661003739977

Metcalfe D.R. Inheritance of loose smut resistance: III. Relationships between the “Russian” and “Jet” genes for resistance and genes in 10 barley varieties of diverse origin. *Can J Plant Sci*. 1966;46(5):487-495. doi 10.4141/cjps66-082

Nielsen J., Thomas P. Loose smut. Bunt and smut diseases of wheat: Concepts and methods of disease management. Mexico: D.F. CIMMYT, 1996

Plaschke J., Ganal M.W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor Appl Genet*. 1995;91(6-7):1001-1007. doi 10.1007/bf00223912

Ramsay L., Macaulay M., degli Ivanissevich S., MacLean K., Cardle L., Fuller J., Edwards K.J., … Marmiroli N., Sjakste T., Ganal M., Powell W., Waugh R. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics*. 2000;156(4):1997-2005. doi 10.1093/genetics/156.4.1997

Schaller C.W. Inheritance of resistance to loose smut, *Ustilago nuda*, in barley. *Phytopathology.* 1949;39(12):959-979

Skoropad W.P., Johnson L.P. Inheritance of resistance to *Ustilago nuda* in barley. *Can J Bot*. 1952;30(5):525-536. doi 10.1139/b52-038

Zang W., Peter E., Eckstein P.E., Colin M., Voth D., Himmelbach A., Beier S., Stein N., Scoles G.J., Beattie A.D. Fine mapping and identification of a candidate gene for the barley *Un8* true loose smut resistance gene. *Theor Appl Genet*. 2015;128(7):1343-1357. doi 10.1007/s00122-015-2510-4

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Поступила в редакцию 30.06.2025. После доработки 12.11.2025. Принята к публикации 13.11.2025.