

Генотипирование коллекционных образцов ярового ячменя на устойчивость к *Ustilago nuda* (Jens) Kell. et Sw. с использованием ДНК-маркеров

Н.П. Бехтольд*, И.В. Тоцкий, Е.А. Орлова, О.Ю. Шоева

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

* Telichkinanina@mail.ru

Для успешной борьбы с болезнями необходим постоянный контроль за уровнем устойчивости находящихся в производстве сортов, а также непрерывная работа по выявлению отличающегося по генам устойчивости исходного материала, и создание на его основе новых сортов с высоким уровнем резистентности к наиболее распространенным в зоне возделывания патогенам. Подбор источников устойчивости к пыльной головне и использование их в селекции являются первостепенными задачами в создании не поражаемых сортов. Одним из эффективных методов создания устойчивых образцов является совместное применение классических приемов селекции, основанных на гибридизации доноров генов устойчивости с реципиентными сортами, и новейших методов отбора с помощью молекулярных маркеров.

Цель данной работы заключалась в изучении устойчивости коллекционных образцов ярового ячменя к пыльной головне с помощью ДНК-маркеров.

Материалы и методы: Полевые эксперименты проводили на изолированном инфекционном фоне фитопатологического участка СибНИИРС – филиала ИЦиГ СО РАН по чистому пару. В условиях жесткого инфекционного фона на фитопатологическом участке было изучено 150 сортов на устойчивость к местной популяции возбудителя *Ustilago nuda*. После полевой фитопатологической оценки были отобраны устойчивые образцы для дальнейшей работы с использованием молекулярных маркеров. ДНК выделяли из молодых листьев ячменя микрометодом с использованием бисульфита натрия (NaHSO_3). Концентрацию и чистоту тестируемых образцов определяли с помощью гель-электрофореза. Для генотипирования выбрали и разработали несколько диагностических ДНК-маркеров. Эти маркеры были ассоциированы с генами устойчивости к пыльной головне. Для определения гена устойчивости *Run6* были выбраны сцепленных с данным геном SSR-маркера: Ebmag0541 и Ebmag705. Для выявления гена устойчивости *Run8* был разработан маркер *Run8* на основе полиморфизма, представляющего собой инсерцию 6 п.н. в кодирующей части гена у ряда образцов. Полиморфизм выявлен при работе с геном-кандидатом HORVU1Hr1G087050, чья последовательность была отсекарована у ряда образцов.

Результаты: В результате изучения 150 коллекционных образцов ярового ячменя различного эколого-географического происхождения в условиях жесткого инфекционного фона было установлено, что большинство сортов восприимчивы к возбудителю пыльной головни. Параллельное заражение сортов с идентифицированными генами устойчивости позволило выявить наиболее эффективные гены резистентности. Известно более пятнадцати генов *Run*, контролирующих устойчивость к возбудителю *Ustilago nuda*, среди которых в селекционной практике наиболее часто применяют гены *Run3,6* (сорта Jet, Bonanza, Keystone) и *Run8* (Раушан, Эльф, Effendi) определяющие устойчивость к наиболее известным расам пыльной головни. Наши данные подтверждают, что для лесостепи Приобья эффективными генами устойчивости к пыльной головне являются *Run6* и *Run8*, из них ген *Run6* несет полную невосприимчивость к возбудителю. Так при искусственном заражении сорта Jet, Bonanza, Keystone проявили иммунитет, процент поражения равен нулю. Для создания новых перспективных образцов ячменя, несущих гены устойчивости к пыльной головне *Run6* и *Run8*, было проведено генотипирование коллекции ячменя по генам устойчивости к пыльной головне с использованием двух SSR-маркеров для гена *Run6* и фрагментного анализа для гена *Run8*. Данные фрагментного анализа образцов Jet, Banansa и Keystone показали, что эти сорта несут оба устойчивых аллеля по ДНК-маркерам Ebmag0541 и Ebmag705. Образцы Effendi, Эльф и Раушан по литературным данным имеют ген *Run8*, при этом проведенный нами анализ с использованием ДНК-маркеров показал наличие у них устойчивого аллеля гена *Run8*. Образцы Effendi и Раушан, которые по литературным данным имеют ген *Run8*, тем не менее помимо наличия устойчивого аллеля к гену *Run8*, несут также оба устойчивых аллеля к гену *Run6* по маркерам Ebmag0541 и Ebmag705. Сорт Вестник согласно литературным данным имеет ген *Run8*, однако фрагментный анализ не выявил у него устойчивого аллеля гена *Run8* и при искусственном заражении в полевых условиях данный сорт поражался на 15,7%.

Выводы: Проведенные исследования по оценке сортов ярового ячменя на устойчивость к возбудителю *Ustilago nuda* с помощью ДНК-маркеров позволяют сделать выводы о перспективности исследований для селекционной работы. Выделенные и используемые в дальнейшей работе сорта, несущие аллели генов устойчивости к пыльной головне обещают большую результативность и сокращение селекционного процесса по созданию новых устойчивых сортообразцов и гибридов.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-20151, <https://rscf.ru/project/25-26-20151/>.