

6. Saisho D., Tanno K.I., Chono M., Honda I., Kitano H., Takeda, K. Spontaneous brassinolide-insensitive barley mutants 'uzu' adapted to East Asia. *Breeding science*. 2004. 54(4), 409-416. DOI: 10.1270/jsbbs.54.409.
7. Лоскутов И.Г., Ковалева О.Н., Блинова Е.В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса / под ред. И.Г. Лоскутова. Санкт-Петербург: ВИР. 2012.
8. Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов. *Генетика*. - 1997. - Т. 33 (№ 4). - С. 443-450.
9. Алабушев, А.В., Донцова А.А., Филиппов Е.Г., Донцов Д.П., Перчук И.Н., Архимандритова С.Б. Влияние нуклеотидного полиморфизма гена *sdw1/denso* на изменчивость основных хозяйственно-ценных признаков озимого ячменя. *Земледелие*. 2019. 8, 38-42. DOI: 10.24411/0044-3913-2019-10809.

УДК 575.116.4:312.32.633.16

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО СОРТОВОГО КОНТРОЛЯ ПАРТИЙ ТОВАРНОГО ЗЕРНА ПИВОВАРЕННОГО ЯЧМЕНЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

*Елена Владимировна Лялина, Надежда Алексеевна Терещенко, Елена Юрьевна Яковлева,
Андрей Анатольевич Поморцев*

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

Аннотация. В настоящей работе представлены результаты использования электрофоретического анализа гордеина в лабораторном сортовом контроле товарных партий зерна пивоваренного ячменя с 2018 по 2022 гг. Установлено, что за последние 5 лет доля партий с сортовой чистотой более 95 % и более снизилась с 67 % в 2018 г. до 54 % в 2022 г. Минимальная доля партий пивоваренного ячменя не соответствующих заявленным сортам выявлена в 2020 г. (3 %), а максимальная – в 2021 г. (7 %). Рассмотрена возможность использования дополнительных генетических маркеров для дифференциации сортов с идентичными электрофоретическими спектрами гордеинов.

Ключевые слова: яровой ячмень, лабораторный сортовой контроль, генетические маркеры, полиморфизм гордеинов

RESULTS OF LABORATORY VARIETAL CONTROL OF COMMERCIAL BREWING BARLEY GRAIN SEMPLES USING GENETIC MARKERS

*Elena Vladimirovna Lyalina, Nadezhda Alekseevna Tereshchenko, Elena Yuryevna Yakovleva,
Andrey Anatolyevich Pomortsev*

Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract. This paper presents the results of using electrophoretic analysis of hordein in laboratory varietal control of commercial batches of malting barley grain from 2018 to 2022. It has been established that over the past 5 years, the share of batches with varietal purity of more than 95% has decreased from 67% in 2018 to 54% in 2022. The minimum proportion of batches of malting barley that do not correspond to the declared varieties was identified in 2020 (3%), and maximum – in 2021 (7%). The possibility of using additional genetic markers to distinguish varieties with identical electrophoretic spectra of hordeins is considered.

Key words: spring barley, laboratory varietal control, genetic markers, hordein polymorphism

Введение. Ячмень – одна из наиболее важных сельскохозяйственных культур, которая с давних пор возделывается человеком для различных целей: производства кормов в животноводстве, производства муки, ячневой и перловой крупы, солода – основного сырья

для пивоваренной промышленности, а также на различные технические цели. Для каждой цели селекционерами создаются сорта с определенными характеристиками, которые необходимо сохранить. Так называемое «вырождение» или путаница сортов может происходить в следствие плохой организации производства и нарушения производственной дисциплины как во время посевной компании, что можно выявить апробацией посевов, так и на завершающих этапах производства зерна уже после его уборки. В этом случае проведение лабораторного сортового контроля поможет выявить нарушения реально ценить сортовую чистоту. Лабораторный сортовой контроль должен основываться на надежных генетических маркерах.

За последние десятилетия разработано большое количество молекулярно-генетических маркеров [1,2], но далеко не все они могут быть использованы для проведения лабораторного сортового контроля. У ячменя спирторастворимые белки зерновки (гордеины) наиболее подходят для этой цели [3]. С использованием методики электрофореза в крахмальном геле установлено, что гордеины контролируются семью сцеплено наследуемыми локусами – *Hrd A*, *Hrd B*, *Hrd F*, *Hrd C*, *Hrd D*, *Hrd E*, *Hrd G* и контролируют группы (блоки) белковых компонентов на электрофореграмме. Три из них: *Hrd A*, *Hrd B*, *Hrd F* являются высоко плиморфными. Все они расположены на хромосоме 1Н [4-6]. В ходе анализа более 1600 местных и селекционных сортов ячменя из 25 стран мира по этим трем локусам было обнаружено более 400 различных аллелей, созданы каталогов вариантов блоков компонентов, контролируемых аллелями этих локусов, и база эталонных электрофоретических спектров, которые можно использовать при определении сортовой чистоты и подлинности исследуемых образцов ячменя [3, 7].

Цель настоящей работы заключалась в анализе результатов лабораторного сортового контроля партий товарного зерна пивоваренного ячменя за период с 2018 по 2022 гг. и оценке эффективности гордеин-кодирующих локусов как генетических маркеров для проведения лабораторного сортового контроля.

Материалы и методы. Материалом являлись средние пробы товарных партий пивоваренного ячменя, присланные на анализ в Испытательную лабораторию ИОГен РАН из разных регионов Российской Федерации. Для установления сортовой чистоты партий ячменя из средней пробы партии зерна случайным образом отбирали 100 индивидуальных зерновок и по методике [8] проводили электрофоретический анализ гордеина в столбиках 12 - 15%-ного крахмального геля с 3М мочевиной в алюминий-лактатном буфере с рН 3,1. Определение вариантов блоков компонентов, контролируемых локусами *Hrd A*, *Hrd B* и *Hrd F*, осуществляли по ранее составленным каталогам [3]. Запись электрофореграмм сортов в виде генетических формул проводили по ранее установленным правилам [9].

Результаты и обсуждение. Анализ сортовой чистоты и установление сортовой принадлежности семян и товарных партий зерна ячменя в Испытательной лаборатории ИОГен РАН ведется с 2000 г. Большой интерес к лабораторному сортовому контролю ячменя проявили пивоваренные и солодовенные компании. Согласно западно-европейским стандартам для получения продукта хорошего качества необходимо, чтобы сортовая чистота партиям зерна была не ниже 95%. Как видно из табл. сортовую чистоту 95 % и выше у исследованных партий зерна за период с 2018 по 2022 гг. имели только более половины, причем доля таких партий снизилась с 67 % в 2018 г. до 54 % в 2022 г. По актам апробации, все партии имели сортовую чистоту не ниже 99,5 %. Это может свидетельствовать о нарушениях на послеуборочных этапах производства зерна. Лабораторный сортовой контроль помогает устанавливать и изымать партии зерна с низкой сортовой чистотой и полностью не соответствующие заявленным сортам. Минимальная доля партий пивоваренного ячменя, не соответствующих заявленным сортам за изучаемый период выявлена в 2020 г. и составила 3 %, а максимальная – 7 % в 2021 г.

Таблица - Доли (%) товарных партий пивоваренного ячменя урожая 2018-2022 гг. с различной сортовой чистотой, определенной методом электрофореза гордеина (оценка по анализу 100 зерновок)

Год	Число партий	Сортовая чистота, %								
		99-100	97-98	95-96	91-94	85-90	81-84	75-80	< 74	не соответствуют
2018	394	47	14	6	6	7	2	1	12	4
2019	415	40	14	7	8	6	2	1	18	5
2020	271	40	20	8	6	7	4	2	11	3
2021	374	36	12	7	4	5	4	3	20	7
2022	593	38	10	6	8	10	3	3	17	5

В Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в России, с каждым годом включается все больше сортов ячменя, в том числе пивоваренного. Так, если в Реестр 2006 г. было включено 58 сортов пивоваренного ячменя, в 2019 г. их число составило 85 [8], а в Реестре 2023 года включено уже 89 пивоваренных сортов [10]. В то же время в Испытательную лабораторию ИОГен РАН для проведения сортового контроля в различные годы поступали партии зерна ограниченного числа сортов. Так, в 2022 году в лабораторию на анализ поступили партии 34-х сортов (рис.), причем всего один сорт Деспина был самым популярным. На анализ поступило более четверти партий этого сорта от исследованных. Еще 6 сортов - Грейс, Пионер, Авалон, КВС Ирина, Калькюль и Эксплоер - встречались довольно часто, а остальные – крайне редко.

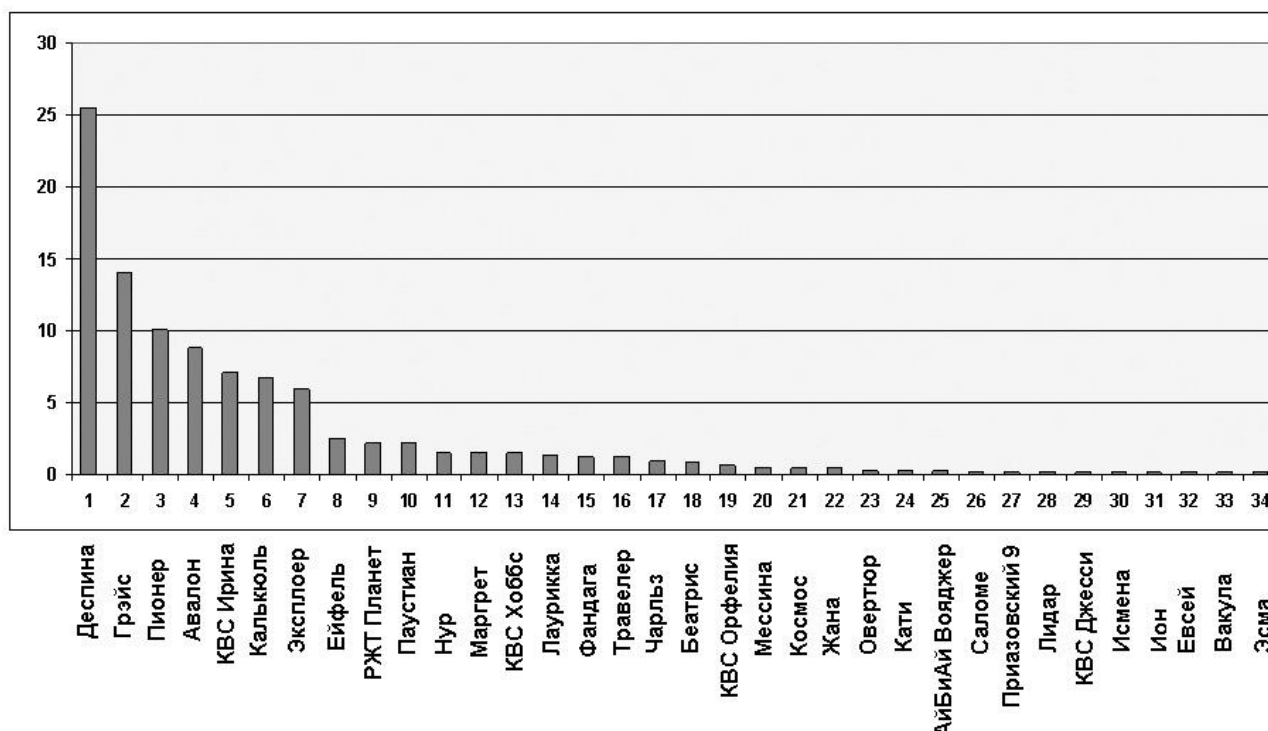


Рисунок. Доли партий 34-х сортов пивоваренного ячменя урожая 2022 г., поступивших на определение сортовой чистоты методом электрофореза гордеина.

Большинство современных сортов ячменя имеют уникальные электрофореграммы гордеина. Однако некоторые из них идентичны по генотипам локусов *Hrd* [11,12]. К настоящему времени обнаружены группы, включающие от 2-х до 31-го сорта с одинаковыми генетическими формулами гордеина. Для идентификации таких сортов и установления

возможного взаимного засорения необходимо привлекать дополнительные генетические маркеры. Показано, что с использованием мультиплексной ПЦР с тремя SSR-маркерами - Vmag0209, GBM1464 и P30 удастся дифференцировать сорта Травелер, Грэйс и Пионер от сортов Эксплоер и Марни, оказавшимися идентичными по электрофореграммам продуктов амплификации [13]. Кроме ДНК-маркеров для дифференциации и контроля качества сортов, идентичных по гордеинам, с успехом можно использовать электрофоретический анализ водорастворимых белков зерна ячменя [14].

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности гордеин-кодирующих локусов как генетических маркеров в лабораторном сортовом контроле ячменя. В настоящее время использование других молекулярно-генетических маркеров в лабораторном сортовом контроле ячменя ограничено. Они могут применяться только как дополнительные маркеры к гордеинам. На основе только электрофоретического анализа гордеина можно успешно выявлять партии пивоваренного ячменя как с высокой сортовой чистотой, так и не соответствующие заявленным сортам. Комплексное использование генетических маркеров поможет более точно идентифицировать сорта.

Список литературы.

1. Ramsay L., Macaulay M., degli Ivanisovich S., MacLean K., Cardle L., Fuller J., Edwards K.J., Tuveesson S., Morgante M., Massari A., Maestri E., Marmiroli N., Sjakste T., Ganal M., Powell W., Waugh R. A simple sequence repeat-based linkage map of barley// *Genetics*. 2000. Vol.156. Iss.4. pp. 1997-2005.
2. Varshney, R. K., Marcel, T. C., Ramsay, L., Russell, J., Röder, M. S., Stein, N., Waugh, R., Langridge, P., Nix, R. E., Graner, A. A high-density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci//*Theoretical and Applied Genetics*. 2007. Vol.114. Iss.6. pp. 1091-1103. DOI: 10.1007/s00122-007-0503-7
3. Поморцев А.А., Лялина Е.В. Оценка сортовой принадлежности и сортовой чистоты семян ячменя методом электрофоретического анализа запасных белков зерна // Методическое пособие к практикуму «Белковые маркеры для генетической паспортизации и улучшения геномов растений хозяйственно ценных видов». М.: Изд-во «Цифровичок», 2011. 88с.
4. Созинов А.А., Нецветаев В.П., Григорян Э.М., Образцов И.С. Картирование локусов Hrd (*Hordeum vulgare* L. emed. Vav. et Bach.) // *Генетика*.1978. Т. 14. №9. С. 1610 - 1619.
5. Поморцев А.А., Нецветаев В.П., Попереля Ф.А и др. Идентификация шестого локуса, контролирующего синтез гордеина у озимого ячменя// *Докл. ВАСХНИЛ*. 1983. № 1. С. 7-11.
6. Нецветаев В.П., Образцов И.С., Созинов А.А. Картирование локуса Hrd G в хромосоме 5 ячменя. В кн.: Молекулярные механизмы генетических процессов. V Всесоюз. симп. Тез. Докл. М.: Наука. 1983. С. 110.
7. Поморцев А.А. Гордеин-кодирующие локусы как генетические маркеры в популяционных, филогенетических и прикладных исследованиях ячменя: Автореф. дис. ... д. биол. наук. Москва. 2008. 48с.
8. Поморцев А.А., Лялина Е.В., Н.А. Терещенко и др. Методика проведения лабораторного сортового контроля ячменя и пшеницы: учебное пособие для вузов/ под ред. А.А. Поморцева. – Санкт-Петербург: Лань, 2023. - 92с.
9. Поморцев А.А., Нецветаев В.П., Созинов А.А. Полиморфизм культурного ячменя (*Hordeum vulgare* L.) по гордеинам // *Генетика*.1985. Т. 21. № 4. С. 629 - 639.
10. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. М. 2023. Т.1. С. 28-33.
11. Лялина Е. В., Болдырев С. В., Поморцев А. А. Современное состояние генетического разнообразия ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в России по аллелям

гордеинкодирующих локусов // Генетика. 2016. Т. 52. №6. С. 650-663. DOI: 10.1134/S1022795416060077.

12. Лялина Е. В., Болдырев С. В., Поморцев А. А. Генетическая паспортизация культивируемых в России сортов ярового ячменя по аллелям гордеин-кодирующих локусов // Генетика. 2018. Т. 54. ПРИЛОЖЕНИЕ. С. S27-S31. DOI: 10.1134/S001667581813012X

13. А. А. Поморцев, Е.В. Лялина, Н. А. Терещенко, С. В. Болдырев, Е. Ю. Яковлева, А.Н. Березкин, А. М. Малько, О. В. Андросова. Генетические маркеры в лабораторном сортовом контроле ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // Генетика. 2021. Т. 57. № 9. С. 1054-1061. DOI: 10.31857/S0016675821090101

14. Поморцев А.А., Болдырев С.В., Лялина Е.В. Комплекс полиморфных локусов, контролирующих белки семян для идентификации сортов ячменя// Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2014. т. 175, вып. № 4, с. 87-91.

УДК 633.491: 631.52: 577.21

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *RPI-CHC1* У ДИКИХ И КУЛЬТУРНЫХ ФОРМ *SOLANUM*

Мартынов В.В. Бекетова М.П.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

Ключевые слова: *Solanum*, *Phytophthora infestans*, фитофтороз, гены устойчивости, ген *Rpi-chc1*

Введение

Картофель (*Solanum tuberosum*) занимает в мировом производстве продовольствия третье место после риса и пшеницы. Фитофтороз, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans*, является одним из самых вредоносных заболеваний картофеля. Одной из стратегий борьбы с этим заболеванием является интрогрессия генов устойчивости (*R* генов) к фитофторозу от диких родственников картофеля. Большинство таких генов устойчивости было интродуцировано в коммерческие сорта картофеля из дикого вида *S. demissum*. Однако устойчивость, даваемая этими генами, преодолевается новыми вирулентными штаммами *P. infestans* [1]. Одним из подходов к решению этой проблемы является поиск новых *R* генов, обеспечивающих устойчивость широкого спектра сразу к нескольким расам патогена. Основным источником таких новых генов (*Rpi* генов) служат дикие виды рода *Solanum*. На сегодняшний день более 70 *Rpi* генов было идентифицировано у 32 видов *Solanum* [3]. Одним из этих генов является ген *Rpi-chc1*, открытый у дикого южноамериканского вида *S. chacoense* [4]. Позднее было установлено, что ген *Rpi-chc1* имеет два аллельных варианта *Rpi-chc1.1* и *Rpi-chc1.2*, и было показано, что эти аллели распознают разные эффекторы из суперсемейства эффекторных белков PexRD12/31 *P. infestans* [2]. Кроме того, гомологи гена *Rpi-chc1* были обнаружены у некоторых других видов рода *Solanum*, причем среди них были как гомологи, обладающие функциональной активностью, так и нефункциональные варианты [2]. Эти данные показывают, что ген *Rpi-chc1* является членом обширного семейства *R* генов, которое до сих пор недостаточно изучено у Solanaceae. Вместе с тем, поиск новых гомологов гена *Rpi-chc1* у *S. chacoense* и других представителей рода *Solanum* оправдан, так как новые данные о полиморфизме первичной структуры гена *Rpi-chc1* и его гомологов и возможной связи этого полиморфизма с функцией помогут при создании новых фитофтороустойчивых сортов картофеля, а также в выборе мишеней для геномного редактирования.

Цель работы. Таким образом, целью настоящей работы было изучение полиморфизма гена *Rpi-chc1* у сортов и межвидовых гибридов картофеля, возделываемых в Российской