

Краткое сообщение

УДК 575.11:575.162

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-1-04



Апробация STS-маркера к гену *Nud1* для отбора голозерных гибридов ячменя

А. М. Короткова¹, Т. В. Кукоева¹, И. В. Тоцкий¹, Ю. Н. Григорьев², О. Ю. Шоева¹

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

Автор, ответственный за переписку: Олеся Юрьевна Шоева, olesya_ter@bionet.nsc.ru

Актуальность. Голозерный ячмень является перспективной продовольственной культурой. Для увеличения его производства необходима активная селекционная работа по созданию высокопродуктивных сортов. Целью представленной работы является апробация STS-маркера к гену *Nud1*, контролирующему пленчатость, для отбора голозерных гибридов ячменя. **Материалы и методы.** Генотипирование 112 гибридов популяции F₂, полученной с помощью скрещивания голозерного черноколосого сорта 'Jet' и пленчатого белокосого сорта 'Эльф', проводили с помощью праймеров wF2 и kR1, либо tR2, в режиме обычной ПЦР, которая позволила амплифицировать фрагменты рецессивного, либо доминантного аллелей гена *Nud1*, соответственно, а также в режиме мультиплексной ПЦР, позволяющей одновременно амплифицировать фрагменты и доминантного, и рецессивного аллелей гена *Nud1*. Данные генотипирования сопоставляли с фенотипами гибридов. **Результаты и обсуждение.** Показана возможность использования мультиплексной ПЦР с набором праймеров wF2, kR1, tR2 для выявления доминантных и рецессивных аллелей гена *Nud1* в гибридном материале. Однако, если наблюдаемая частота гибридов гомозиготных по рецессивному аллелю *nud1* почти полностью соответствовала их ожидаемой частоте при моногенном типе наследования, то явное преобладание гомозигот по доминантному аллелю *Nud1* и недостаток гетерозигот по сравнению с ожидаемыми частотами гибридов этих групп указывает на ошибочную идентификацию части гетерозигот как доминантных гомозигот, что нужно учитывать при отборе пленчатых форм с помощью генотипирования. **Заключение.** STS-маркер, амплифицируемый с помощью праймеров wF2, kR1, tR2, возможно использовать для отбора рецессивных гомозигот *nud1nud1* из гибридных популяций, однако для более надежной идентификации гетерозигот и гомозигот по доминантному аллелю гена *Nud1* необходим дополнительный анализ.

Ключевые слова: ДНК-маркер, гибриды, маркер-опосредованная селекция, мультиплексная ПЦР

Благодарности: Авторы выражают благодарность Генераловой Галине Владимировне и Захаровой Ольге Викторовне за помощь в работе. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-76-10024. Короткова А.М. поддержана бюджетным проектом FWN-2022-0007.

Для цитирования: Короткова А.М., Кукоева Т.В., Тоцкий И.В., Григорьев Ю.Н., Шоева О.Ю. Апробация STS-маркера к гену *Nud1* для отбора голозерных гибридов ячменя. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(1):43-51. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-1-04

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.

© Короткова А.М., Кукоева Т.В., Тоцкий И.В., Григорьев Ю.Н., Шоева О.Ю., 2024

Brief communication

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-1-04

Testing of the STS-marker for the *Nud1* gene for the selection of naked barley hybrids

Anna M. Korotkova¹, Tat'yana V. Kukoeva¹, Igor V. Totsky¹, Yuriy N. Grigoriev², Olesya Yu. Shoeva¹¹Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia²Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Siberian Research Institute of Plant Cultivation and Breeding – Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk region, Krasnoobsk, Russia**Corresponding author:** Olesya Yu. Shoeva, olesya_ter@bionet.nsc.ru

Background. Naked barley is a promising food crop. To enhance its production, active breeding is required to create productive varieties. The purpose of this study was to test the STS-marker for the *Nud1* gene controlling the hulled phenotype, and use it for the production of naked barley hybrids. **Materials and methods.** Genotyping of 112 F₂ hybrids obtained by crossing the naked black variety 'Jet' and the hulled white variety 'Elf' was carried out using wF2 and kR1, or tR2 primers in the regular PCR mode to amplify the recessive or dominant alleles of the *Nud1* gene, respectively, and also in the multiplex PCR mode, which allows simultaneous amplification of both dominant and recessive alleles of the *Nud1* gene. The genotyping data were compared with those on phenotypes of hybrids. **Results and discussion.** The possibility of using multiplex PCR with a set of primers wF2, kR1, and tR2 for identifying dominant and recessive alleles of the *Nud1* gene in hybrid material has been demonstrated. However, while the observed number of hybrids homozygous for the recessive allele *nud1* almost completely corresponded to their expected number, the clear predominance of homozygotes for the dominant allele *Nud1* and the lack of heterozygotes compared to the expected number of hybrids of these groups indicates erroneous identification of some heterozygotes as dominant homozygotes, which must be taken into account during selection of hulled barleys by genotyping. **Conclusions.** The STS-marker amplified by primers wF2, kR1, and tR2, can be used to select recessive homozygotes *nud1nud1* from hybrid populations, however, additional analysis is required for a more reliable identification of heterozygotes and homozygotes for the dominant allele of the *Nud1* gene.

Keywords: DNA-marker, hybrids, marker-assisted breeding, multiplex PCR

Acknowledgments: The authors express their gratitude to Galina Vladimirovna Generalova and Olga Viktorovna Zakharova for their assistance in the work. This study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 21-76-10024. The work of A.M. Korotkova was supported by the Budget Project FWNR-2022-0007.

For citation: Korotkova A.M., Kukoeva T.V., Totsky I.V., Grigoriev Yu.N., Shoeva O.Yu. Testing of the STS-marker for the *Nud1* gene for the selection of naked barley hybrids. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(1):43-51. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-1-04

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.

© Korotkova A.M., Kukoeva T.V., Totsky I.V., Grigoriev Yu.N., Shoeva O.Yu., 2024

Введение

Ячмень является одной из древнейших зерновых культур, выращиваемых человеком. Несмотря на то, что эта культура обладает высокой пищевой ценностью, в настоящее время ячмень используется в основном для производства солода, пива и корма для животных. Однако в последние годы возрождается интерес к использованию ячменя в качестве продукта питания для человека. Особое внимание привлекает голозерный ячмень, у которого цветковые чешуи не прирастают к зерну, в отличие от пленчатого ячменя, имеющего плотно сросшиеся с зерновками цветковые чешуи. Зерно голозерных сортов ячменя превосходит зерно пленчатых сортов по содержанию общего белка, незаменимых аминокислот, витаминов и минералов (Meints, Hayes, 2020), а повышенное содержание водорастворимых β -глюканов делает его перспективным сырьем для производства функциональных продуктов питания (Polonskiy, Sumina, 2013). Кроме этого, зерно голозерного ячменя имеет повышенную кормовую ценность. Так, добавление в рацион птицы зерна голозерных сортов ячменя повышало мясную продуктивность гусят-бройлеров и яичную продуктивность несушек перепела (Gryaznov, 2015).

Несмотря на явное превосходство голозерного ячменя по химическому составу зерна, его урожайность уступает пленчатым аналогам, в связи с чем он не приобретает популярности и широкого распространения (Meints, Hayes, 2020). Для решения этой проблемы необходима активная селекционная работа по созданию высокопродуктивных сортов голозерного ячменя, пригодных для выращивания в различных почвенно-климатических зонах (Madakemohekar et al., 2018).

Ранее было показано, что основным геном, контролирующим признак голозерности у ячменя, является ген *Nud1*, картированный на длинном плече хромосомы 7Н. Он кодирует транскрипционный фактор из семейства ERF, который регулирует биосинтез липидов, обеспечивающих срастание плодовых и цветковых чешуй зерновки (Taketa et al., 2008). Пленчатость зерновки является доминантным признаком (*Nud1*), голозерность – рецессивным (*nud1*), обусловленным делецией почти 17 тысяч пн, перекрывающей ген *Nud1* и прилежащие районы. Известно четыре аллеля гена *Nud1*: *nud1.a*, *nud1.b* и *nud1.c*, полученных с помощью мутагенеза (Taketa et al., 2008), а также *nud1.g*, выявленного среди образцов голозерного ячменя тибетского происхождения (Yu et al., 2016). Предполагается, что рецессивный аллель *nud1* отвечает за отсутствие липидного слоя между перикарпием зерновки и цветковыми чешуями, что обеспечивает их свободное разделение при обмолоте. Однако биосинтез липидов – сложный многоступенчатый процесс, в котором участвуют сотни генов. Кроме того, существует обширное генетическое разнообразие голозерных сортов ячменя из разных географических регионов. При прове-

дении GWAS анализа (от англ. genome-wide association studies) у этих сортов были выявлены дополнительные гены, которые были связаны с адаптацией к условиям произрастания, но не с голозерным фенотипом (Lukina et al., 2022). Дополнительный поиск направлен на выявление совместного наследования гена *Nud1* с локусами, определяющими экологическую адаптацию ячменя из различных регионов. На основе данных секвенирования локуса *Nud1* были разработаны праймеры wF2, kR1, и tR2, с помощью которых можно выявить фрагмент аллельного варианта гена *Nud1*, характеризующийся делецией в 17 тысяч пн, которая обуславливает голозерный фенотип (рис. 1). Разработанный STS-маркер (от англ. Sequence-Tagged Sites) был использован для генотипирования различных коллекций ячменя. Так, при генотипировании 259 образцов, 100 голозерных имели выявленную делецию, тогда как 159 пленчатых ее не имели (Taketa et al., 2008).

Однако, помимо основного локуса на хромосоме 7Н, ассоциативный анализ (GWAS) выявил у голозерных форм локусы на хромосомах 2Н, 3Н и 6Н, которые были специфичны для отдельных выборок, отличающихся географическим происхождением и формой колоса (Wabila et al., 2019). ПЦР-анализ с использованием разработанных праймеров wF2, kR1, tR2 и секвенирование ДНК образцов ячменя, используемых в ассоциативном анализе, показали, что среди 90 голозерных образцов делеция 17 тысяч пн, включая ген *Nud1*, присутствует у 89. Делеция не была обнаружена лишь у одного из голозерных образцов эфиопского происхождения, однако он имел промежуточный фенотип с частично прилегающими пленками. Все проанализированные пленчатые образцы в количестве 435 штук не имели выявленной делеции. Таким образом, наличие делеции является диагностическим признаком голозерных образцов. При этом выявленные дополнительные локусы на хромосомах 2Н, 3Н и 6Н, по-видимому, не связаны напрямую с голозерностью. Предполагается, что эти локусы представляют собой генетические следы отбора по другим адаптивным или хозяйственно ценным признакам в различных географических группах голозерного ячменя (Wabila et al., 2019).

Разработанные праймеры (Taketa et al., 2008) показали высокую диагностическую эффективность при анализе коллекционных образцов ячменя. Однако, поскольку при амплификации с их помощью доминантных и рецессивных аллелей гена *Nud1* образуются ПЦР-продукты различной длины (853 и 785 пн, соответственно), предложенные праймеры представляют собой перспективные ДНК-маркеры для генотипирования не только коллекционного, но и селекционного гибридного материала. При совместном использовании комбинации из трех праймеров возможно выявить доминантные и рецессивные аллели гена *Nud1* как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии. В представленном исследовании была впервые проведена апробация STS-маркера, разработанного на основании нуклеотидной последовательности гена

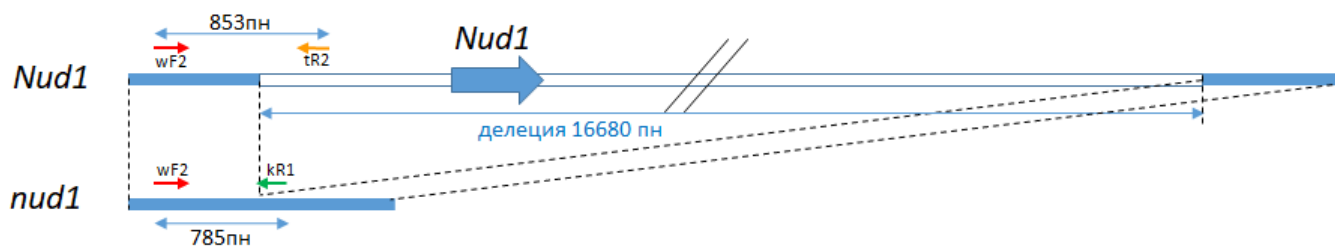


Рис. 1. Схематическое изображение доминантного и рецессивного аллелей гена *Nud1*, контролирующего признак пленчатости у ячменя.

Места отжига праймеров для амплификации аллелей гена *Nud1* показаны разноцветными стрелками, указаны длины ожидаемых ПЦР-продуктов в парах нуклеотидов (по Taketa et al., 2008).

Fig. 1. Schematic representation of the dominant and recessive alleles of the *Nud1* gene controlling the hulled phenotype of barley.

The annealing sites of primers for the amplification of the *Nud1* gene alleles are shown by arrows of different color; the length of the expected PCR products is indicated in base pairs (according to Taketa et al., 2008).

Nud1 и его окружения, для генотипирования популяции гибридных растений ячменя, расщепляющейся по признаку пленчатость/голозерность.

Материалы и методы

Растительный материал. Для апробации ДНК-маркера, представляющего собой фрагмент гена *Nud1*, использовали гибридную популяцию, полученную в результате скрещивания голозерного сорта 'Jet' (к-18703, ВИР) с черной окраской зерновки и пленчатого белоколосого сорта 'Эльф' (к-30174, ВИР), являющихся донорами генов устойчивости к пыльной головне *Run6* и *Run8*, соответственно (Pomortsev et al., 2000; Bechtold, 2017). Популяция была разработана для пирамидирования генов устойчивости к пыльной головне. Она насчитывала 112 гибридных растений поколения F_2 . Растения выращивали в гидропонной теплице ИЦиГ СО РАН (Новосибирск), при созревании зерновок у растений учитывали признак пленчатость/голозерность.

Генотипирование с помощью ПЦР. ДНК гибридных растений выделяли из молодых листьев с помощью методики, предложенной Е. Плашке с соавторами (Plaschke et al., 1995). Оценку качества и количества выделенной ДНК производили с помощью аналитического электрофореза с маркером длины фрагментов 100 bp plus ladder (BIORON, GmbH, Германия). ДНК анализировали с помощью ПЦР с использованием STS-маркера, амплифицированного с использованием прямого праймера wF2 и двух обратных праймеров kR1 и tR2 (Taketa et al., 2008). ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей 5 мкл ДНК, 1,8 мМ $MgCl_2$, 6 мкл H_2O , по 0,2 мМ каждого дНТФ, по 1 мкМ праймеров wF2 и kR1 (I), либо tR2 (II), специфически амплифицирую-

щих фрагменты рецессивного, либо доминантного аллелей гена *Nud1*, соответственно, либо (III) 1 мкМ прямого wF2 и двух обратных праймеров kR1 и tR2 по 0,5 мМ каждого, амплифицирующих одновременно фрагменты рецессивного и доминантного аллелей гена *Nud1* (табл. 1, см. рис. 1), 1 ед. ДНК-полимеразы *Taq* в амплификаторе в режиме TOCHDOWN: 13 циклов: прогрев реакционной смеси – 2 минуты при 94°C, денатурация – 15 секунд при 94°C, отжиг матрицы с праймерами – 30 секунд при 65°C с понижением на 0,7°C/цикл, полимеризация – 45 с при 72°C; число циклов – 24: денатурация – 15 секунд при 94°C, отжиг матрицы с праймерами – 30 секунд при 56°C, полимеризация – 30 с при 72°C; финальная элонгация для достраивания всех одноцепочечных ПЦР-фрагментов ДНК – 5 минут при 72°C. Продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле и фотографировали в проходящем УФ-свете с помощью гель-документирующей системы Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

Результаты

Апробация STS-маркера гена *Nud1* в мультиплексной ПЦР. Для апробации STS-маркера, разработанного на основании нуклеотидной последовательности гена *Nud1* и его окружения, использовали гибриды второго поколения F_2 из популяции 'Jet' × 'Эльф'. В качестве примера на рисунке 2 приведены электрофореграммы продуктов ПЦР, полученных при амплификации ДНК родительских форм и 13 гибридов этой популяции с помощью трех комбинаций праймеров. С помощью праймеров wF2 и tR2 с использованием ДНК индивидуальных растений, в случае всех пленчатых образцов были получены ПЦР-продукты длиной 853 пн, соответствующие доминантному аллелю *Nud1*, тогда как в случае голозерных

Таблица 1. Праймеры и их комбинации для амплификации рецессивного и доминантного аллелей гена *Nud1* по отдельности (комбинации I и II), либо совместно (III) (по Taketa et al., 2008)

Table 1. Primers and their combinations for the amplification of recessive and dominant alleles of the *Nud1* gene separately (combinations I and II), or together (III) (according to Taketa et al., 2008)

Комбинация праймеров/ Primer combination	Название праймера/ Primer name	Структура праймера/ Primer structure, 5'→3'	Длина ПЦР-продукта, пн/ PCR product length, bp	Аллели/ Alleles
I	wF2	gcttgca gt tacagagctactactac	785	<i>nud1</i>
	kR1	cctcaccacttaaccatgtctg		
II	wF2	gcttgca gt tacagagctactactac	853	<i>Nud1</i>
	tR2	gcggtccttcttccagt		
III	wF2	gcttgca gt tacagagctactactac	785, 853	<i>Nud1, nud1</i>
	kR1	cctcaccacttaaccatgtctg		
	tR2	gcggtccttcttccagt		

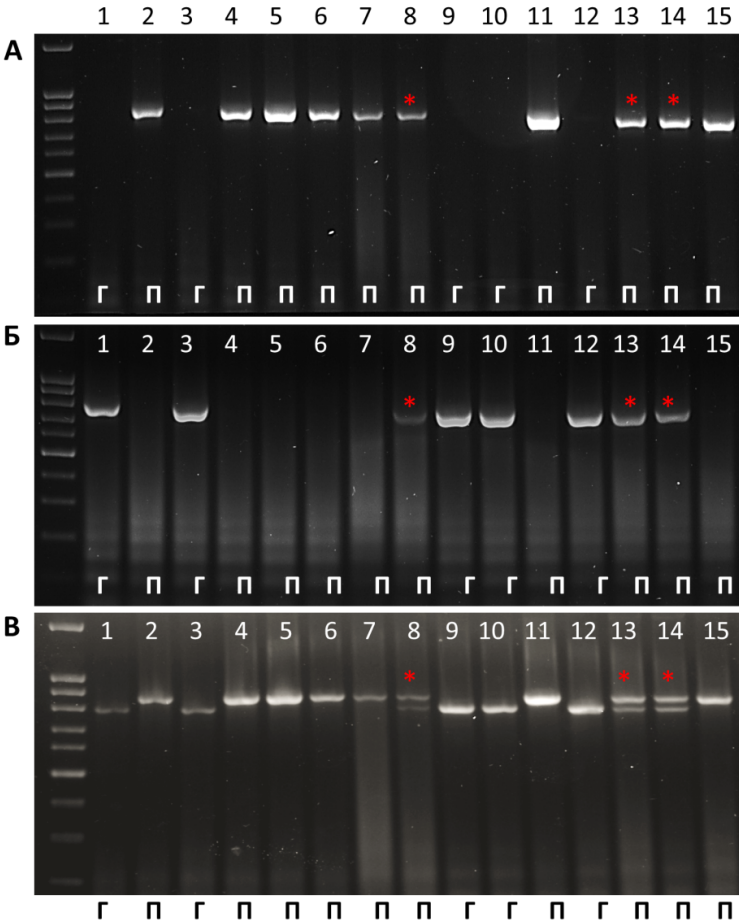


Рис. 2. Электрофореграммы продуктов ПЦР, полученных с использованием комбинаций праймеров wF2 + tR2 (А), wF2 + kR1 (Б) и wF2 + tR2 + kR1 (В) и ДНК сортов ‘Jet’ (1), ‘Эльф’ (2) и гибридов поколения F2 (3-15), полученных в результате их скрещивания.

Маркер длины фрагментов ДНК 100 бр нанесен на первую дорожку. Сокращения: Г – голозерный, П – пленчатый

Fig. 2. Electrophoregrams of PCR products obtained using combinations of primers wF2 + tR2 (A), wF2 + kR1 (B), wF2 + tR2 + kR1 (B), and DNA of varieties ‘Jet’ (1), ‘Elf’ (2) and F2 hybrids (3-15) from their crossing.

A 100 bp marker was applied to the first row. Abbreviations: Г – naked, П – hulled

образцов ПЦР-продуктов получено не было (нуль-аллель) (рис. 2А). При амплификации фрагментов ДНК тех же образцов с помощью праймеров wF2 и kR1, все пленчатые образцы имели нуль-аллель, а голозерные – ПЦР-продукты длиной 785 пн, соответствующие рецессивному аллелю *nud1* (рис. 2Б). Были выявлены три гетерозиготных образца (№8, 13, 14): при использовании ДНК этих растений в качестве матрицы в двух параллельных реакциях были амплифицированы фрагменты доминантного и рецессивного аллелей, соответственно (отмечены красными звездочками на рис. 2А, 2Б). С помощью мультиплексной ПЦР с использованием одного прямого wF2 и двух обратных праймеров kR1, tR2 у этих образцов были одновременно амплифицированы фрагменты обоих аллелей гена *Nud1*. Наличие двух ПЦР-фрагментов послужило доказательством гетерозиготности трех образцов (отмечены красными звездочками на рис. 2В). Таким образом, используя комбинацию трех праймеров, возмож-

но выявлять обладателей доминантного и рецессивного аллелей одновременно и уже на стадии проростков предсказать фенотип будущего зерна, в том числе определить находится ли ген *Nud1* в гомозиготном или гетерозиготном состоянии, тогда как по фенотипу отличить пленчатые гомозиготные гибриды от гетерозиготных невозможно.

Генотипирование популяции F_2 ‘Jet’ × ‘Эльф’ по гену *Nud1*. Популяция F_2 ‘Jet’ × ‘Эльф’, расщепляющаяся независимо по признакам пленчатости, окраски колоса, а также устойчивости к пыльной головне, была генотипирована с помощью трех праймеров, позволяющих амплифицировать фрагменты доминантного и рецессивного аллелей гена *Nud1* одновременно. Полученные данные о генотипах были сопоставлены с фенотипом гибридов. Всего было выявлено четыре фенотипических класса гибридов ячменя: черный голозерный, черный пленчатый, белый голозерный, белый пленчатый (рис. 3).

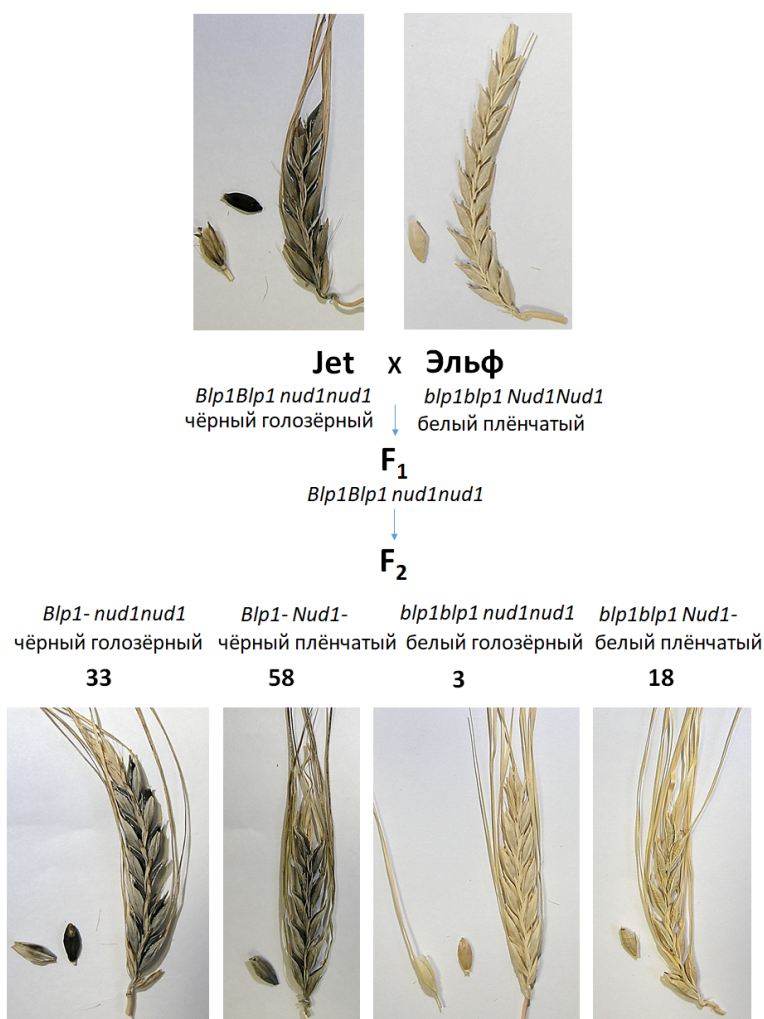


Рис. 3. Фенотипические классы гибридов популяции F_2 ‘Jet’ × ‘Эльф’ и их количественные соотношения.

Fig. 3. Phenotypic classes of ‘Jet’ × ‘Elf’ F_2 hybrids and their quantitative ratios.

Расщепление в популяции по признакам окраски зерновки и пленчатости соответствовало моногенному ($\chi^2 = 2,33$, $p = 0,13$ и $\chi^2 = 3,05$, $p = 0,08$, соответственно) (табл. 2). Так, из 112 гибридов 76 были пленчатыми, а 36 – голозерными. При генотипировании этих гибридов с помощью маркера к гену *Nud1* было выявлено три генотипических класса *Nud1Nud1*, *Nud1nud1* и *nud1nud1* в соотношении 39:44:29, соответственно. Однако наблюдаемое расщепление по генотипу не соответствовало ожидаемому моногенному расщеплению 1:2:1. Число рецессивных гомозигот по гену *Nud1* почти полностью совпала с ожидаемым количеством гомозигот (29 против 28), тогда как в классе гетерозигот наблюдалось меньшее количество гибридов по сравнению с ожидаемым их количеством (44 против 56), а в классе доминантных гомозигот, напротив, наблюдалось большее количество растений по сравнению с ожидаемым их количеством (39 против 28).

На основе анализа расщепления по генотипу можно предположить, что некоторые гетерозиготы могли быть ошибочно идентифицированы как доминантные гомозиготы. Однако, если объединить в одну группу доминантные гомозиготные и гетерозиготные гибриды, расщепление по фенотипу будет соответствовать ожидаемому моногенному 3:1.

Таким образом, с помощью мультиплексной ПЦР с использованием праймеров, специфичных для аллелей гена *Nud1* (Taketa et al., 2008), можно достаточно точно выявить голозерные гибриды, гомозиготные по аллелю *nud1*, а также пленчатые гомозиготные по аллелю *Nud1* и гетерозиготные гибриды, однако часть гетерозигот может быть ошибочно идентифицирована как доминантные гомозиготы, что необходимо учитывать при отборе пленчатых форм.

Таблица 2. Расщепление в популяции F_2 по признакам цвета колоса и пленчатости/голозерности
Table 2. Segregation in the F_2 population for spike color and hulled/naked phenotype

Оценка фенотипа/ Phenotype evaluation	Признак/ Trait	Группы/ Groups	Число растений/ Number of plants			Расщепл./ Segregation ratio	χ^2	$p <$
			Набл./ Observed	Ожид./ Expected	Всего/ Total			
визуальное фенотипирование	черный/белый	<i>Blp1</i> - (Ч)	91	84	112	3:1	2,33	0,13
		<i>blp1blp1</i> (Б)	21	28				
	пленчатый/голозерный	<i>Nud1</i> -(П)	76	84	112	3:1	3,05	0,08
		<i>nud1nud1</i> (Г)	36	28				
генотипирование с помощью ДНК-маркеров	пленчатый/голозерный	<i>Nud1Nud1</i> (П)	39	28	112	1:2:1	6,93	0,03
		<i>Nud1nud1</i> (П)	44	56				
		<i>nud1nud1</i> (Г)	29	28				
	пленчатый/голозерный	<i>Nud1Nud1</i> + <i>Nud1nud1</i> (П)	83	84	112	3:1	0,05	0,83
		<i>nud1nud1</i> (Г)	29	28				

Обсуждение

Голозерный ячмень является перспективной продовольственной культурой. Однако его урожайность уступает пленчатым аналогам, в связи с чем он не приобретает популярности и широкого распространения (Meints, Hayes, 2020). Тем не менее, существует стойкий интерес к выведению высокоурожайных голозерных сортов, в том числе с использованием современных методов генетического редактирования (Gerasimova et al., 2020; Meints, Hayes, 2020; Tetyannikov, Bome, 2020). При классической селекции отбор голозерных гибридов проводят на стадии созревания зерна, что делает выведение таких сортов трудоемким и длительным процессом. В частности, если в этом процессе участвуют пленчатые формы, ввиду моногенного наследования и рецессивности признака голозерности, три четверти пленчатых гибридов

поколения F_2 будут отбракованы лишь после достижения стадии взрослого растения, при этом могут быть отбракованы, в том числе, гетерозиготы *Nud1nud1* с удачными комбинациями генов, контролирующими ценные признаки, среди потомков которых возможно отобрать голозерные гибриды в последующих поколениях.

Предложенные праймеры для выявления делеции в 17 тысяч пн, которая отличает доминантный аллель гена *Nud1* от рецессивного *nud1*, были ранее использованы для генотипирования коллекционных образцов ячменя (Taketa et al., 2008). В настоящем исследовании данные праймеры, позволяющие амплифицировать доминантный STS-маркер, были использованы для генотипирования гибридных растений. В целом показано, что с помощью мультиплексной ПЦР с использованием этих праймеров возможно достаточно точно выявить голозерные гибриды, гомозиготные по аллелю *nud1*, однако неко-

торые пленчатые гетерозиготные гибриды в работе были ошибочно идентифицированы как доминантные гомозиготы, на что указывает отклонение наблюдаемого расщепления по генотипу в популяции гибридов от ожидаемого моногенного. Одной из возможных причин отклонения наблюдаемого расщепления от ожидаемого могут являться замены в местах отжига подобранных праймеров, в результате чего происходит снижение эффективности амплификации одного из аллелей, в приведенном случае – фрагмента рецессивного аллеля *nud1*.

Помимо отбора голозерных гибридных растений ячменя, при селекции существует необходимость перенести ценные гены от голозерных форм пленчатым, как, например, ген устойчивости к пыльной головне *Run6* голозерного сорта ‘Jet’. При использовании для решения этой задачи разработанных праймеров (Taketa et al., 2008) необходимо учитывать то, что часть отобранных с помощью генотипирования пленчатых гомозигот может в итоге оказаться гетерозиготами.

Подбор альтернативного набора праймеров к выявленным аллельным вариантам гена *Nud1* с привлечением данных пангенома ячменя (Jayakodi et al., 2020) позволит более эффективно дифференцировать гомозиготные и гетерозиготные по доминантному аллелю гена *Nud1* пленчатые гибриды.

References/Литература

- Bechtold N.P. Study of the source material of spring barley for breeding for resistance to smut diseases in the forest-steppe of the Ob region (Izuchenie iskhodnogo materiala yarovogo yachmenya dlya seleksii na ustoychivost' k golovnevym zabolevaniyam v lesostepi Priob'ya) [dissertation]. Barnaul: ASAU; 2017. [in Russian] (Бехтольд Н.П. Изучение исходного материала ярового ячменя для селекции на устойчивость к головневым заболеваниям в лесостепи Приобья: дис. ... канд биол. наук. Барнаул: АГАУ; 2017).
- Gerasimova S.V., Hertig C., Korotkova A.M., Kolosovskaya E.V., Otto I., Hiekel S., Kochetov A.V., Khlestkina E.K., Kumlehn J. Conversion of hulled into naked barley by Cas endonuclease-mediated knockout of the *NUD* gene. *BMC Plant Biology*. 2020;20 Suppl 1:255. DOI: 10.1186/s12870-020-02454-9
- Gryaznov A.A. Hullless barley in poultry feeding. *Animal agriculture and veterinary medicine*. 2015;2(17):7-11. [in Russian] (Грязнов А.А. Голозерные сорта ячменя в кормлении птицы. *Животноводство и ветеринарная медицина*. 2015;2(17):7-11).
- Jayakodi M., Padmarasu S., Haberer G., Bonthala V.S., Gundlach H., Monat C., Lux T., Kamal N., Lang D., Himmelbach A., Ens J., Zhang X.-Q., Angessa T.T., Zhou G., Tan C., Hill C., Wang P., Schreiber M., Boston L.B., Plott C., Jenkins J., Guo Y., Fiebig A., Budak H., Xu D., Zhang J., Wang C., Grimwood J., Schmutz J., Guo G., Zhang G., Mochida K., Hirayama T., Sato K., Chalmers K.J., Langridge P., Waugh R., Pozniak C.J., Scholz U., Mayer K.F.X., Spannag M., Li C., Mascher M., Stein N. The barley pan-genome reveals the hidden legacy of mutation breeding. *Nature*. 2020;588:284-289. DOI: 10.1038/s41586-020-2947-8
- Lukina K.A., Kovaleva O.N., Loskutov I.G. Naked barley: taxonomy, breeding, and prospects of utilization. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(6):524-536. DOI: 10.18699/VJGB-22-64
- Madakemohekar A.H., Talekar N.S., Kamboj A.D., Thakur G. Scope of hullless barley (*Hordeum vulgare* L.) as a nutritious and medicinal food: a review. *Acta Scientific Agriculture*. 2018;2(12):11-13.
- Meints B., Hayes P.M. Breeding naked barley for food, feed, and malt. In: I. Goldman (ed.). *Plant Breeding Reviews*. Vol. 43. Hoboken (New Jersey, USA): Wiley; 2020. p.95-119. DOI: 10.1002/9781119616801.ch4
- Polonskii V.I., Sumina A.V. β -Glucans content as a perspective trait in the barley breeding for foodstuff use (review). *Agricultural Biology*. 2013;5:30-43. [in Russian] (Полонский В.И., Сумина А.В. Содержание β -глюканов в зерне как перспективный признак при селекции ячменя на пищевое использование (обзор иностранной литературы). *Сельскохозяйственная биология*. 2013;5:30-43).
- Pomortsev A.A., Tereshchenko N.A., Ofitserov M.V., Pukhalskiy V.A. Localization of loose smut resistance genes, *Run6*, *Run8*, and *Run12* on barley chromosomes. In: S. Logue (ed.). *Barley genetics VIII: proceedings of the 8th International Barley Genetics Symposium; 2000 October 22-27; Adelaide Convention Centre, Adelaide, South Australia*. L. Malcolm (comp.). Glen Osmond, South Australia: Adelaide University; 2000. Vol. 2. p.163-165. Available from: <https://catalogue.nla.gov.au/catalog/2374225> [accessed Nov. 11, 2023].
- Plaschke J., Ganai M.W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 1995;91:1001-1007.
- Taketa S., Amano S., Tsujino Y., Sato T., Saisho D., Kakeda K., Nomura M., Suzuki T., Matsumoto T., Sato K., Kanamori H., Kawasaki S., Takeda K. Barley grain with adhering hulls is controlled by an ERF family transcription factor gene regulating a lipid biosynthesis pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105:4062-4067. DOI: 10.1073/pnas.0711034105
- Tetyannikov N.V., Bome N.A. Sources of characters useful for breeding in hullless barley. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(3):49-55. [in Russian] (Тетяников Н.В., Боме Н.А. Источники ценных признаков для селекции голозерного ячменя. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(3):49-55). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-49-55
- Wabila C., Neumann K., Kilian B., Radchuk V., Graner A. A tiered approach to genome-wide association analysis for the adherence of hulls to the caryopsis of barley seeds reveals footprints of selection. *BMC Plant Biology*. 2019;19:95. DOI: 10.1186/s12870-019-1694-1
- Yu S., Long H., Deng G., Pan Z., Liang J., Zeng X., Tang Y., Tashi N., Yu M.A. Single nucleotide polymorphism of *Nud* converts the caryopsis type of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*. 2016;34:242-248. DOI: 10.1007/s11105-015-0911-9

Информация об авторах

Анна Михайловна Короткова, младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), 630090 Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, korotkova@bioent.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1540-1491>

Татьяна Владимировна Кукоева, старший лаборант, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), 630090 Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, kukoeva@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1425-7849>

Игорь Васильевич Тоцкий, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), 630090 Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, totsky@g.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5565-9097>

Юрий Николаевич Григорьев, старший научный сотрудник, Лаборатория селекции, семеноводства и технологии возделывания полевых культур, Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН), 630501 Россия, Новосибирская область, р.п. Краснообск, ул. С-200, зд. 5/1, uriy42yury@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4910-6928>

Олеся Юрьевна Шоева, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), 630090 Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, olesya_ter@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5289-8631>

Information about the authors

Anna M. Korotkova, Junior Researcher, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10, Academician Lavrentyev Avenue, Novosibirsk, 630090 Russia, korotkova@bioent.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1540-1491>

Tat'yana V. Kukoeva, Senior Laboratory Assistant, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Russian Federation, 10, Academician Lavrentyev Avenue, Novosibirsk, 630090 Russia, kukoeva@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1425-7849>

Igor V. Totsky, Cand. Sci (Biology), Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10, Academician Lavrentyev Avenue, Novosibirsk, 630090 Russia, totsky@g.nsu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5565-9097>

Yuriy N. Grigoriev, Senior Researcher, Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding, a Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, P.O. Box 375, Bldg. 5/1, S-200 Street, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501 Russia, uriy42yury@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4910-6928>

Olesya Yu. Shoeva, Cand. Sci. (Biology), Head of Laboratory, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10, Academician Lavrentyev Avenue, Novosibirsk, 630090 Russia, olesya_ter@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5289-8631>

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 12.01.2024; одобрена после рецензирования 12.02.2024; принята к публикации 28.02.2024.

The article was submitted on 12.01.2024; approved after reviewing on 12.02.2024; accepted for publication on 28.02.2024.