

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОСИТЕЛЕЙ АЛЛЕЛЯ *mlo11(cnv2)* УСТОЙЧИВОСТИ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ СРЕДИ ЯЧМЕНЕЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Абдуллаев Р. А., Алпатьева Н. В.*, Лебедева Т. В., Ковалева О. Н., Радченко Е. Е., Анисимова И. Н.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44;

* ✉ alpatievanatalia@mail.ru

Актуальность. Поиск генотипов ячменя *Hordeum vulgare* L., носителей эффективных генов устойчивости к возбудителю мучнистой росы *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, актуален для российской селекции. Аллель *mlo11*, обеспечивающий длительную защиту ячменя от патогена, редко встречается среди допущенных к выращиванию на территории России сортов. Информация о встречаемости среди российских сортов другого эффективного аллеля – *mlo11(cnv2)* – нет, поэтому поиск его источников актуален. **Материал и методы.** В полевых и лабораторных условиях, изучили устойчивость 7 образцов ячменя из Эфиопии и 7 – из Японии к северо-западной популяции возбудителя мучнистой росы. Для идентификации аллелей гена *Mlo* были определены нуклеотидные последовательности фрагментов *MITE* (миниатюрного инвертированного мобильного элемента *Stowaway*-типа) и прилегающего промоторного участка. **Результаты.** С помощью фитопатологических тестов в поле и условиях теплицы, а также молекулярных маркеров, были исследованы 14 образцов ячменя из Эфиопии и Японии, по предварительной оценке, устойчивых к мучнистой росе. У четырех образцов из Эфиопии к-20087, к-20523, к-20524 и к-28126 впервые идентифицировали высокоэффективный аллель устойчивости ячменя к мучнистой росе *mlo11(cnv2)*. В полевых условиях взрослые растения оказались устойчивыми, а в теплице поражались мучнистой росой умеренно (1-2 балла). Симптомы болезни оказались схожими с описанными для образца Eth295 – носителя вариантного аллеля *mlo11(cnv2)*: единичные пустулы и отсутствие некротических пятен на листьях. С помощью ПЦР у всех 14 образцов были амплифицированы фрагменты *MITE* и участка прилегающего к *Mlo* 5' промоторной последовательности. Фрагменты были клонированы и секвенированы и только у образцов к-20087, к-20523, к-20524 и к-28126 в нуклеотидных последовательностях были обнаружены маркерные SNP для аллеля *mlo11(cnv2)*: замены цитозина на тимин в позициях 262 транспозона и 452 в промоторной области. Образцы относятся к различным разновидностям и отличаются друг от друга по ряду других морфологических признаков, то есть не являются дублетами. **Заключение.** Генотипы, отобранные в ходе исследования, могут служить источниками аллеля *mlo11(cnv2)* при создании устойчивых к мучнистой росе сортов ячменя.

Ключевые слова: ячмень, *Blumeria graminis*, устойчивость, молекулярные маркеры, мутантный аллель

Для цитирования:

Абдуллаев Р.А., Алпатьева Н.В., Лебедева Т.В., Ковалева О.Н., Радченко Е.Е., Анисимова И.Н. Идентификация носителей аллеля *mlo11(cnv2)* устойчивости к мучнистой росе среди ячменей коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(3):37-44. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-03

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-03> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект № 21-76-00018, <https://rscf.ru/project/21-76-00018/>).

IDENTIFICATION OF BARLEY ACCESSIONS FROM THE VIR COLLECTION CARRYING THE *mlo11(cnv2)* POWDERY MILDEW RESISTANCE ALLELE

Abdullaev R. A., Alpatieva N. V.*, Lebedeva T. V., Kovaleva O. N., Radchenko E. E., Anisimova I. N.

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia;

* ✉ alpatievanatalia@mail.ru

Background. The search for barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes that carry effective genes for resistance to powdery mildew agent *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* is a present-day issue for Russian plant breeding. The *mlo11* allele that confers long-term protection of barley against the pathogen is rarely found among the varieties, approved for cultivation in the territory of Russia. There is no information on the occurrence among Russian varieties of another effective allele, *mlo11 (cnv2)*, therefore, the search for its source is a current necessity.

Materials and methods. Seven barley accessions from Ethiopia and 7 accessions from Japan have been tested for resistance to the northwestern population of the powdery mildew agent in the field and in laboratory conditions. To identify of the *Mlo* gene alleles, nucleotide sequences of the *Stowaway-MITE* (Miniature Inverted-repeat Transposable Elements) and the adjacent promoter fragments were determined.

Results. Phytopathological tests in the field and greenhouse conditions, as well as molecular markers were used to study 14 barley accessions from Ethiopia and Japan. According to the preliminary tests, plants were resistant to powdery mildew. The highly effective allele of powdery mildew resistance *mlo11 (cnv2)* was for the first time identified in four barley accessions from Ethiopia, k-20087, k-20523, k-20524 and k-28126. Under field conditions, adult plants were resistant, and in the greenhouse they were moderately damaged by powdery mildew (1-2 points). The disease symptoms were similar to those described for the sample Eth295, a carrier of the *mlo11(cnv2)* allele variant: single pustules and the absence of necrotic spots on the leaves. The fragments of *Stowaway-MITE* and adjacent *Mlo* 5' promoter sequences were amplified in all 14 accessions. The amplicons were cloned and sequenced. The unique marker SNPs within the *MITE* and *Mlo* 5' promoter sequences, i.e. the substitutions of cytosine by thymine in positions 262 and 452, were found only in k-20087, k-20523, k-20524 and k-28126. These accessions belong to different botanical varieties and differ from each other in a number of morphological features, i.e. they are not duplicates. **Conclusions.** The genotypes selected as a result of the study can serve as a source of the *mlo11(cnv2)* allele in breeding powdery mildew-resistant barley varieties.

Key words: barley, *Blumeria graminis*, resistance, molecular markers, mutant allele

For citation:

Abdullaev R.A., Alpatieva N.V., Lebedeva T.V., Kovaleva O.N., Radchenko E. E., Anisimova I.N. Identification of barley accessions from the VIR collection carrying the *mlo11(cnv2)* powdery mildew resistance allele. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(3):37-44. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-o3

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. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-o3> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Abdullaev R.A. <https://orcid.org/0000-0003-1021-7951>

Alpatieva N.V. <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Lebedeva T.V. <https://orcid.org/0000-0003-2344-9233>

Kovaleva O.N. <https://orcid.org/0000-0002-3990-6526>

Radchenko E.E. <https://orcid.org/0000-0002-3019-0306>

Anisimova I.N. <https://orcid.org/0000-0003-0474-8860>

УДК 633.16:632.4:575.167

Поступила в редакцию: 29.11.2021

Принята к публикации: 14.12.2021

Acknowledgments: The study was carried out with financial support from the Russian Science Foundation (Project #21-76-00018, <https://rscf.ru/project/21-76-00018/>).

Введение

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) – ценная зерновая культура, занимающая четвертое место в мире по посевным площадям. Благодаря хорошей приспособленности к неблагоприятным почвенным и климатическим условиям, ячмень является единственной зерновой культурой, которая может давать удовлетворительные урожаи при низких затратах в стрессовых условиях, таких как засуха, жара и холод. В то же время, распространение на посевах грибных болезней может приводить к значительным потерям урожая. В этой связи устойчивость к вредным биотическим факторам среды имеет решающее значение для успешного культивирования и получения стабильно высоких урожаев ячменя в условиях России.

Большим разнообразием по многим ценным биологическим и агрономическим признакам характеризуются образцы ячменя из центров происхождения и доместикации сельскохозяйственных культур. По Н.И. Вавилову, основными генцентрами разнообразия культурных ячменей являются Восточноазиатский и Эфиопский (Абиссинский). В Восточной Азии сосредоточилось большое количество голозерных, фуркатных, безостых и короткоостых форм, тогда как образцы из Эфиопии характеризуются преимущественно пленчатым зерном и остистым колосом (Vavilov, 1987). Генетический потенциал изменчивости местных форм ячменя из центров формообразования культуры по адаптивно ценным аллелям, необходимым для селекции урожайных и экологически пластичных сортов, изучен недостаточно (Takahashi, 1955; Radchenko et al., 2004; Dawson et al., 2015; Surin et al., 2016). В наших исследованиях было показано, что 925 образцов ячменя из Эфиопии, сохраняемые в коллекции генетических ресурсов ВИР, различались по уровню устойчивости к *B. graminis*. (Abdullaev et al., 2019), а 200 образцов из Японии в полевых условиях также оказались неоднородными по устойчивости к патогену (неопубликованные данные).

Ежегодно на посевах ячменя по всему миру наблюдается массовое распространение многих грибных болезней. Одно из наиболее распространенных заболеваний – мучнистая роса, возбудителем которого является *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Marchal. Гриб поражает практически все надземные части растения, преимущественно стебель и листья. Снижение урожайности ячменя, вызванное этим облигатным паразитом, может достигать 30-50% (Gong et al., 2013; Tratwal, Vocianowski, 2014). Известно более 100 генов, обуславливающих устойчивость ячменя к мучнистой росе, многие из которых являются аллельными вариантами генов *Mla* и *Mlo*. В литературе описаны 39 аллелей гена *Mla*, локализованных на хромосоме 1Н, и 44 – *Mlo* (хромосома 4Н) (Jørgensen, 1994; Seeholzer, 2009; Reinstädler et al., 2010; Kusch, Panstruga, 2017). Боль-

шая часть идентифицированных генов уже утратила эффективность против популяций *B. graminis*. Длительную устойчивость ячменя к патогену определяет единственный эффективный ген – *mlol1*, получивший широкое распространение среди европейских сортов (Dreiseitl, 2017).

Спонтанная мутация *mlol1* была обнаружена у одного из местных образцов, собранных в Эфиопии в 1930 году. Эффект аллеля *mlol1* проявляется в быстром утолщении клеточных стенок путем аппозиции и в некрозе, которые коррелируют с устойчивостью клеток эпидермиса. Галлотип *mlol1* устойчивых форм характеризуется наличием сложного tandemного повтора из 11–12 повторяющихся единиц, расположенных перед последовательностью аллеля *Mlo* дикого типа, контролирующего кальмодулин-связывающий белок (Piffanelli et al., 2004). Повторяющийся мотив представляет собой «усеченный» ген *Mlo* и включает участок 5'-регуляторной последовательности длиной 3,5 тысяч пн, а также фрагмент в 1,1 тысячи пн кодирующего района, содержащий последовательности первых пяти экзонов. Аберрантные транскрипты этой последовательности нарушают накопление транскриптов *Mlo* и белка дикого типа, что, по-видимому, и обуславливает устойчивость (Piffanelli et al., 2004).

Недавно, у образца Eth295 местного ячменя *H. vulgare deficiens* var. *nudideficians* (Korn.) H.V. Harlan из Эфиопии, сохраняющегося в Институте генетики и исследований сельскохозяйственных культур (Гатерслебен, Германия), выявлен еще один вариант аллеля *mlol1*, характеризующийся изменением числа повторов – *mlol1(cnv2)* (Ge et al., 2016; 2020). Мутация *mlol1(cnv2)* обуславливает частичную устойчивость проростков и высокую – взрослых растений. Мутация не имеет негативных плейотропных эффектов, связанных с аппозицией клеточной стенки или некрозом, а также утратой фотосинтетической активности. Аллельный вариант *mlol1(cnv2)*, по-видимому, возник путем естественного отбора из предкового варианта *mlol1* в результате рекомбинации между повторяющимися элементами и 3'-концом смежного района, содержащего *Stowaway*-подобный транспозон (Ge et al., 2016).

Маркерными признаками аллеля *mlol1(cnv2)* являются транзиции цитозина на тимин в позициях 262 в последовательности *MITE* (Miniature Inverted-repeat Transposable Element) и 452 в расположенной рядом промоторной последовательности (Ge et al., 2016).

Ранее в наших исследованиях были изучены 248 сортов ячменя (168 – отечественные, 80 – зарубежные сорта), включенных в Государственный реестр селекционных достижений и допущенных к использованию на территории России. Среди 168 изученных нами сортов отечественной селекции лишь четыре образца характеризовались умеренной устойчивостью к патогену, а носители аллеля *mlol1* среди этих сортов не были выявлены. Аллель *mlol1* был обнаружен у 14 различавшихся по уровню устойчивости европейских сортов ячменя, допущенных к выращиванию на территории России

(Abdullaev et al., 2020).

Поиск генотипов ячменя, характеризующихся устойчивостью к мучнистой росе, является актуальной задачей. Цель настоящей работы – выявление носителей аллеля *mlol1(cnv2)* среди ранее не изученного по данному признаку материала из коллекции ВИР, который может быть перспективен для расширения потенциала изменчивости ячменя по устойчивости к *B. graminis*.

Материал и методы

Материалом для исследования служили 14 образцов ячменя из Восточноазиатского (Япония) и Эфиопского центров происхождения и доместикации сельскохозяйственных культур, охарактеризованные нами в полевых экспериментах 2018-2020 годов как устойчивые к мучнистой росе (табл. 1). В качестве отрицательного и положительного контролей устойчивости использовали сорт ярового ячменя ‘Белогорский’ (носитель аллеля дикого типа *Mlo*) и почти изогенную линию к-30225 (носитель *mlol1*) соответственно.

Устойчивость к *B. graminis* оценивали (рис. 2) на искусственном (теплица) и естественном (поле) инфекционных фонах (см. рис. 2а, б). В теплице эксперимент проводили при 12-часовом фотопериоде и температуре 18°C. По 20 зерен изучаемых образцов высевали в металлические кюветы с почвой. На стадии второго листа растения заражали путем стряхивания на них конидий гриба с сильно пораженных мучнистой росой растений. Инокулятом служила популяция гриба, собранная с восприимчивых растений ячменя на опытном поле научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (ППЛ ВИР, Санкт-Петербург). При оценке устойчивости растений в теплице использовали шкалу от 0 (высокоустойчивый) до 4 (Mains, Dietz, 1930). Устойчивость к болезни в полевых условиях оценивали в период колошения и в фазу молочной спелости зерна с помощью шкалы от 1 (очень низкая устойчивость) до 9 (Loskutov et al., 2012). Для идентификации альтернативного аллеля *mlol1(cnv2)* мы отобрали линии из выделенных по устойчивости образцов ячменя.

ДНК выделяли индивидуально из 5-ти дневных проростков каждого образца в трех повторностях, с помощью SDS-буфера по методике Дорохова и Клоке (Dorokhov, Kloke, 1997) с нашими модификациями (Anisimova et al., 2018).

С помощью праймеров CAPSMite 5'-TCAAACTCGGAATGCCACG-3'(F) и 5'-CTTGAATGATCTAGCCAAAAACG-3'(R) (Ge et al., 2020, Supplement table 3) амплифицировали фрагмент 316-320 пн, содержащий участки *MITE* и прилегающей *Mlo* 5' промоторной последовательности (Ge et al., 2020). Для идентификации аллелей гена *Mlo* определяли нуклеотидные последовательности полученных ампликонов. Амплифицированные фрагменты клонировали. Подробно методика описана в методических указаниях ВИР (Alpatieva et al., 2019). Секвенирование двух клонов каждого образца проводили на базе ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ на приборе ABI 3500xl (Applied Biosystems, USA).

Результаты и обсуждение

В результате полевой оценки 925 образцов ячменя из Эфиопии и 200 – из Японии были отобраны 14 устойчивых образцов с симптомами поражения мучнистой росой, близкими к описываемым для носителей аллеля *mlol1(cnv2)*: единичные пустулы и отсутствие некротических пятен на листьях. Выделившийся материал тестировали в условиях теплицы и в поле в 2021 г. Степень поражения этих образцов в контролируемых условиях варьировала от 0 до 2 баллов (см. табл. 1). Проявление болезни на растениях изученных форм различалось: образцы к-19975, к-20087, к-20523, к-20524, к-28126, к-20864 и к-26590 из Эфиопии, а также к-10931, к-10934, к-19501, к-20272, и к-21397 из Японии поражались мучнистой росой умеренно (1-2 балла), симптомы болезни оказались схожими с описанными для образца Eth295 – носителя альтернативного аллеля *mlol1(cnv2)* (Ge et al., 2016). Образцы к-11608 и к-17545 из Японии не поражались северо-западной популяцией *B. graminis*.

Таблица 1. Устойчивость образцов ячменя к *B. graminis* в теплице и в полевых условиях и данные молекулярного анализа

Table 1. Resistance of barley accessions to *B. graminis* in the greenhouse and under field conditions, and the molecular analysis data

Номер по каталогу ВИР/VIR catalogue number (к-)	Образец/ accession	Разновидность/ variety	Происхождение/ origin	Устойчивость, балл/ resistance score, points		Наличие аллеля/ Presence of allele <i>mlo11(cnv2)</i>
				теплица/ greenhouse	поле/ field	
19975	Линия ANOR 1635/66	<i>deficiens, pallidum</i>	Ethiopia	2	7	-
20087	Линия ANOR 1501/65	<i>nigripallidum</i>	Ethiopia	2	9	+
20523	Dzor-258	<i>pallidum</i>	Ethiopia	2	7	+
20524	Dzor-265	<i>steudelii</i>	Ethiopia	2	7	+
28126	Addis Ababa 14 E536 3076	<i>contractum</i>	Ethiopia	2	7	+
20864	Местный	<i>nutans</i>	Ethiopia	1	7	-
26590	Местный	<i>duplinigrum</i>	Ethiopia	1	7	-
10931	Wase golden	<i>nutans</i>	Japan	1	7	-
10934	Hokudai N1(Niigata-ken)	<i>erectum, nutans</i>	Japan	2	7	-
11608	Местный	<i>nutans, nigricans</i>	Japan	0	7	-
17545	Яп.456	<i>erectum</i>	Japan	0	7	-
19501	Япан 424	<i>pallidum</i>	Japan	1	7	-
20272	Коа	<i>erectum</i>	Japan	1	7	-
21397	Heiwahadaka	<i>brevisetum</i>	Japan	2	7	-
30225 (устойчивый контроль, носитель аллеля <i>mlo11</i>)				0	9	-
сорт 'Белогорский' (восприимчивый контроль)				4	1	-

*Устойчивость образцов ячменя к *B. graminis* выражена в баллах по шкалам E.V Mains, S.M. Dietz (1930) для проростков (теплица) и И.Г. Лоскутова с соавторами (Loskutov et al., 2012) для взрослых растений (поле).

Для идентификации аллелей гена *Mlo* в исследуемом пуле образцов амплифицировали и секвенировали ампликон, включающий частично фрагменты миниатюрного инвертированного мобильного элемента (*MITE*) и рядом расположенного промотора, предшествующих гену *Mlo*. Полиморфизм этого фрагмента был использован для разработки маркеров аллелей *Mlo*: *Mlo* дикого типа, *mlo11* и *mlo11(cnv2)* (Piffanelli et al. 2004; Ge et al., 2020). Вариант *Mlo* дикого типа был найден у образцов к-19975 и к-20864 из Эфиопии и к-17545 из Японии (рис. 1), амплифицированные последовательности которых оказались полностью идентичны последовательностям сорта 'Baudin' (GenBank: KT873801.1).

Устойчивость этих генотипов к мучнистой росе определяется, вероятно, другими генами, отличными от *Mlo*. Новый аллельный вариант был найден у образцов к-26590 из Эфиопии и к-21397 из Японии. У этих образцов изученные фрагменты отличались от аллеля дикого типа 14-ю маркерами SNP (Single Nucleotide Polymorphism) и вставкой длиной четыре нуклеотида AAAA. Еще один вариант *MITE* обнаружен у пяти изученных форм из Японии: к-10931, к-10934, к-11608, к-19501 и к-20272. Он существенно отличался от аллеля дикого типа по 12-ти SNP. Новые аллельные варианты *MITE* ранее в литературе не обсуждались и гены, определяющие устойчивость этих генотипов к патогену, неизвестны.

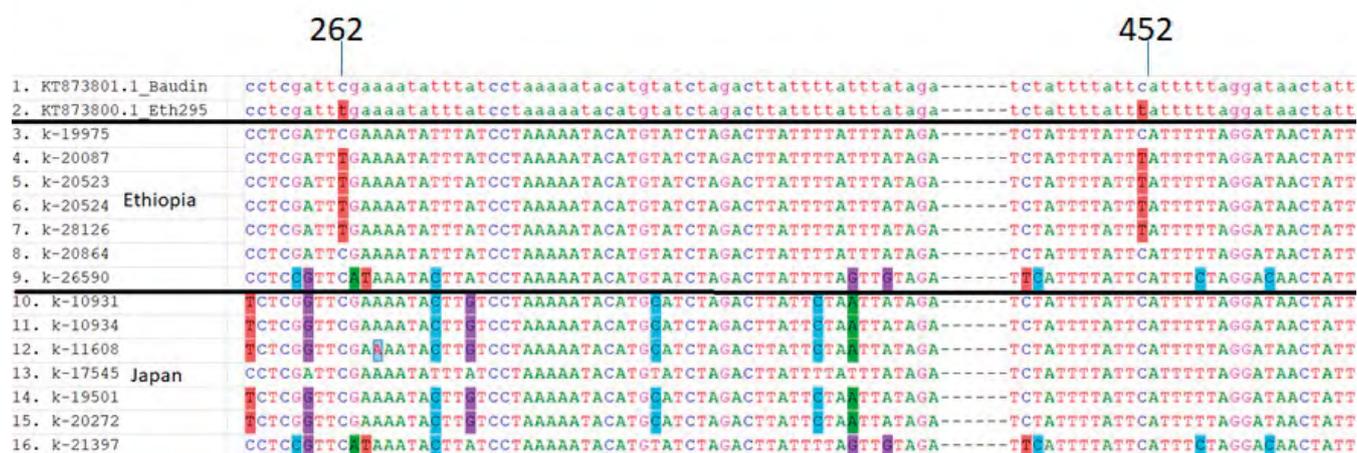


Рис. 1. Выравнивание фрагмента MITE и участка прилегающей Mlo 5' промоторной последовательности у исследованных образцов. Уникальными для mlo-11(cnv2) аллеля SNP являются T в позициях 262 транспозона и 452 в промоторной области. Нумерация нуклеотидов приведена по Ge et al, 2016. В качестве референсных использовали последовательности образцов GenBank: KT873800 and KT873801

Fig. 1. Alignment of barley MITE and adjacent Mlo 5' promoter sequences from the studied accessions. The unique mlo-11(cnv2) SNPs are T in positions 262 in the transposon and 452 in the Mlo 5' promoter sequence. Nucleotide numbering is based on Ge et al, 2016. The sequences of GenBank KT873800 and KT873801 accessions were used as a reference

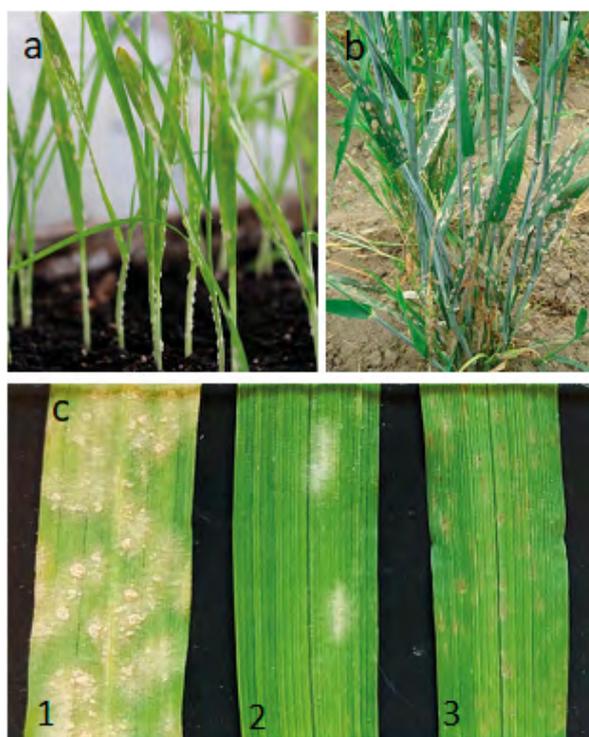


Рис. 2. Поражение растений ячменя возбудителем мучнистой росы.

a – в теплице; **b** – в поле; **c** – степень поражения листьев ячменя северо-западной (Санкт-Петербург) популяцией *B. graminis*: **c1** – сорт ‘Белогорский’ (*Mlo* аллель дикого типа, отрицательный контроль), **c2** – к-20087 (*mlo11(cnv2)*), **c3** – к-30225 (*mlo11*)

Fig. 2. Disease symptoms on barley leaves inoculated with the northwestern (St. Petersburg) population of *B. graminis*.

a – in the greenhouse; **b** – in the field; **c** – degree of damage to barley leaves: **c1** – cv. ‘Belogorskij’ (*Mlo* wild tipe allele, negative control), **c2** – landrace k-20087 (*mlo11(cnv2)*), **c3** – к-30225 (*mlo11*)

Аллель *mloll(cnv2)*, для которого характерны замены цитозина на тимин в позициях 262 и 462 (нумерация приводится по Ge et al, 2016), найден у образцов из Эфиопии к-20087, к-20523, к-20524, к-28126 (рис. 1). Образцы относятся к различным разновидностям и отличаются друг от друга по ряду морфологических признаков, то есть не являются дублетами (см. табл. 1). Экспрессия устойчивости этих образцов на стадии проростков в теплице соответствовала баллу 2 по шкале Е.Б. Майнса и С.М. Дитца (Mains, Dietz, 1930). Диапазон изменчивости признака у взрослых растений варьировал от 7 до 9 баллов по шкале И.Г. Лоскутова с соавторами (Loskutov et al., 2012).

Ассоциированную с данной мутацией устойчивость, которую оценивали по числу колоний патогена на см² листовой пластинки и скорости их роста, ранее определили как количественную (Ge et al., 2016). В нашем исследовании на растениях образцов к-20087, к-20523, к-20524, к-28126, как и у описанного в литературе (Ge et al., 2016) образца Eth295, носителя *mloll(cnv2)*, наблюдали единичные пустулы, а некротические пятна отсутствовали. Контрольные, восприимчивые к мучнистой росе растения сорта 'Белогорский' поражались очень сильно (см. рис. 2 -с1).

Проявление устойчивости к проникновению гриба у носителей стандартного и вариантного аллелей *mloll* (см. рис. 2 -с3 и 2 -с2, соответственно) отличалось и на гистологическом уровне: у генотипа с аллелем *mloll(cnv2)* в эпидермальных клетках, контактирующих с участками успешного проникновения гриба, мы наблюдали утолщение клеточных стенок путем аппозиции, однако, некроза и коллапса клеток мезофилла отмечено не было.

Заключение

Важным результатом настоящего исследования является обнаружение среди ячменей Эфиопии четырех носителей эффективного аллеля устойчивости к мучнистой росе *mloll(cnv2)*. Отобранные в ходе работы генотипы могут служить источниками аллеля *mloll(cnv2)* при создании новых устойчивых к мучнистой росе сортов ячменя.

Литература/References

- Abdullaev R.A., Lebedeva T.V., Alpatyeva N.V., Yakovleva O.V., Kovaleva O.V., Radchenko E.E., Anisimova I.N., Batasheva B.A., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B. Genetic diversity of barley accessions from Ethiopia for powdery mildew resistance. *Russian Agricultural Sciences*. 2019;45(3):232-235. DOI: 10.3103/S1068367419030029
- Abdullaev R.A., Batasheva B.A., Alpatyeva N.V., Chumakov M.A., Radchenko E.E., Kovaleva O.N., Yakovleva O.V. Resistance of barley cultivars approved for use in Russia to harmful organisms and toxic aluminum ions. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(3):120-127. [in Russian] (Абдуллаев Р.А., Баташева Б.А., Алпатьева Н.В., Чумаков М.А., Радченко Е.Е., Ковалева О.Н., Яковлева О.В. Устойчивость допущенных к использованию в России сортов ячменя к вредным организмам и токсичным ионам алюминия. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(3):120-127). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-120-127
- Alpatyeva N.V., Antonova O.Yu., Radchenko E.E., Abdullaev R.A., Karabitsina Yu.I., Anisimova I.N. PCR diagnostics for harmful organisms of guar: (guidelines). E.K. Potokina (ed.). St. Petersburg: VIR; 2019. [in Russian] (Алпатьева Н.В., Антонова О.Ю., Радченко Е.Е., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Анисимова И.Н. ПЦР-диагностика вредных организмов гуара: (методические указания) / под ред. Е.К. Потокиной. Санкт-Петербург: ВИР; 2019). DOI: 10.30901/978-5-907145-44-3
- Anisimova I.N., Alpatyeva N.V., Abdullaev R.A., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B. Screening of plant genetic resources with the use of DNA markers: basic principles, DNA isolation, PCR setup, agarose gel electrophoresis: (guidelines). E. E. Radchenko (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Кузнецова Е.Б. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле: (методические указания) / под ред. Е.Е. Радченко. Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-81-8
- Dawson I.K., Russell J., Powell W., Steffenson B., Thomas W.T.B., Waugh R. Barley: a translational model for adaptation to climate change. *New Phytologist*. 2015;206:913-931. DOI: 10.1111/nph.13266
- Dreiseitl A. Genes for resistance to powdery mildew in European barley cultivars registered in the Czech Republic from 2011 to 2015. *Plant Breeding*. 2017;136(3):351-356. DOI: 10.1111/pbr.12471
- Ge X., Deng W., Lee Z.Z., Lopez-Ruiz F.J., Schweizer P., Ellwood S.R. Tempered *mlo* broad-spectrum resistance to barley powdery mildew in an Ethiopian landrace. *Scientific Reports*. 2016;6(1):29558. DOI: 10.1038/srep29558
- Ge C., Moolhuijzen P., Hickey L., Wentzel E., Deng W., Dinglasan E.G., Ellwood S.R. Physiological changes in barley *mlo-11* powdery mildew resistance conditioned by tandem repeat copy number. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(22):8769. DOI: 10.3390/ijms21228769
- Gong X., Li C., Zhang G., Yan G., Lance R., Sun D. Novel Genes from Wild Barley *Hordeum spontaneum* for Barley Improvement. In: G. Zhang, C. Li, X. Liu (eds). *Advance in Barley Sciences*. Springer: Dordrecht; 2013. p.69-89. DOI: 10.1007/978-94-007-4682-4_6
- Jørgensen J.H., Wolfe M. Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 1994;13(1):97-119. DOI: 10.1080/07352689409701910
- Kusch S., Panstruga R. *mlo*-based resistance: An apparently universal "weapon" to defeat powdery mildew disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2017;30:179-189. DOI: 10.1094/MPMI-12-16-0255-CR
- Loskutov I.G., Kovaleva O.N., Blinova E.V. Methodological guidelines for studying and maintaining the global collection of barley and oat (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu i sokhraneniyyu mirovoy kolleksii yachmenya i ovsa). St. Petersburg: VIR; 2012. [in Russian] (Лоскутов И.Г., Ковалева О.Н., Блинова Е.В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. Санкт-Петербург: ВИР; 2012).
- Mains E.B., Dietz S.M. Physiologic forms of barley mildew *Erysiphe graminis* DC. *Phytopathology*. 1930;20(3):229-239.
- Piffanelli P., Ramsay L., Waugh R., Benabdelmouina A., D'Hont A., Holtricher K., Jørgensen J.H., Schulze-Lefert P., Panstruga R. A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew. *Nature*. 2004;430(7002):887-891. DOI: 10.1038/nature02781
- Radchenko E.E., Zvejnek I.A., Tyryshkin L.G., Konovalova G.S., Semenova A.G., Hohlova A.P. Catalogue of the VIR global collection. Issue 751. Pest and disease resistance of accessions from South-East Asia (Katalog mirovoy kolleksii VIR. Vypusk 751. Uстойчивost obraztsov iz Yugo-Vostochnoy Azii k vreditelyam i boleznyam). St. Petersburg: VIR; 2004. [in Russian] (Радченко Е.Е., Звейнек И.А., Тырышкин Л.Г., Коновалова Г.С., Семенова А.Г., Хохлова А.П. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 751. Устойчивость образцов из Юго-Восточ-

- ной Азии к вредителям и болезням. Санкт-Петербург: ВИР; 2004).
- Reinstädler A., Müller J., Jerzy H., Czembor J.H., Piffanelli P., Panstruga R. Novel induced *mlo* mutant alleles in combination with site-directed mutagenesis reveal functionally important domains in the heptahelical barley Mlo protein. *BMC Plant Biology*. 2010;10(1):31. DOI: 10.1186/1471-2229-10-31
- Seeholzer S. Isolation and characterization of new R-protein variants encoded at the barley *Mla* locus that specify resistance against the fungus powdery mildew. University of Zurich, Faculty of Science; 2009. DOI: 10.5167/uzh-31283
- Surin N.A., Zobova N.V., Lyakhova N.E., Neshumaeva N.A., Plechanova L.W., Onuphrienok T.V., Chuslin A.A., Gerasimov S.A., Lipshin A.G. Sources of valuable features in breeding of barley for adaptability. *Research and Technical Advances of Agribusiness Sector*. 2016;30(6):36-40. [in Russian] (Сурин Н.А., Зобова Н.В., Ляхова Н.Е., Нешумаева Н.В., Плеханова Л.В., Чуслин А.А., Онуфриенко Т.В., Герасимов С.А., Липшин А.Г. Источники ценных признаков в селекции ячменя на адаптивность. *Достижения науки и техники АПК*. 2016;30(6):36-40).
- Takahashi R. The origin and evolution of cultivated barley. *Advances in Genetics*. 1955;7(3):227-266. DOI: 10.1016/S0065-2660(08)60097-8
- Tratwal A., Bocianowski J. *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* virulence frequency and the powdery mildew incidence on spring barley in the Wielkopolska province. *Journal of Plant Protection Research*. 2014;54(1):28-35. DOI: 10.2478/jppr-2014-0005
- Vavilov N.I. Origin and geography of cultivated plants (Proiskhozhdenie i geografiya kulturnyh rastenij). V.F. Dorofeev (ed.). Leningrad: Nauka; 1987. [in Russian] (Вавилов Н.И. Происхождение и география культурных растений / под ред. В.Ф. Дорофеева. Ленинград: Наука; 1987).