

САНДЕЦЬКА Н.В.✉, РАДЧЕНКО О.М.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, ORCID: 0000-0002-0558-2295, 0000-0002-3168-923X

✉ ales2009@ukr.net

РІЗНОМАНІТНІСТЬ АЛЕЛЕЙ ЛОКУСІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ
СОРТІВ ПШЕНИЦІ ІФРГ НАН УКРАЇНИ

Мета. Дослідження частот алелей за локусами запасних білків у групах сортів пшениці, створених у різні періоди селекції в провідному селекційному центрі – Інституті фізіології рослин і генетики НАН України. **Методи.** Матеріалом для дослідження були 57 сортів пшениці. Розділення гліадинів проводили за методом ISTA в модифікації Поперелі. Високомолекулярні субодиниці глютеніну аналізували електрофорезом в присутності додецилсульфату натрію (SDS) за методикою Леммлі. **Результати.** Визначений алельний склад локусів запасних білків *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*. За гліадинкодуєчими локусами *Gli-A1*, *Gli-B1* виявлено 6 алелей, за локусом *Gli-D1* – 5 алелей. За глютенінкодуєчими локусами найбільш поліморфним виявився локус *Glu-B1*, який репрезентовано 5 алелями. Локуси *Glu-A1* та *Glu-D1* представлено 3 та 2 алельними варіантами. **Висновки.** Частота алелі *Glu-B1a1* зросла від 0% до 18%, ця алель є однією з найбільш сильних за позитивним впливом на хлібопекарську якість борошна серед ідентифікованих алелей локусів високомолекулярних глютенінів пшениці. Виявлено, що майже 50% сортів, створених в останнє десятиліття в ІФРГ НАН України, мають пшенично-житні транслокації 1AL.1RS, 1BL.1RS.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., м'яка пшениця, запасні білки зерна, локуси високомолекулярних глютенінів.

Запасні білки – важливий компонент зернівки пшениці, який складає до 16% її ендосперму. Запасні білки діляться на 2 фракції: спирторозчинну – гліадини та нерозчинну – глютеніни. Глютеніни діляться на низькомолекулярні і високомолекулярні та відіграють головну роль у визначенні хлібопекарської якості [1]. Хлібопекарська якість на 60% визначається запасними білками – високомолекулярними субодиницями глютенінів, гени яких локалізовані в довгих плечах 1A, 1B і 1D хромосом, утворюючи

локуси *Glu-A1*, *Glu-B1* і *Glu-D1*. Кожен локус *Glu-1* містить два гени: один з них кодує нижчу за показником молекулярної маси субодиницю («х»), а другий – вищу за молекулярною масою субодиницю («у») [2; 3].

Важливим питанням є пошук зв'язку між окремими субодиницями високомолекулярних глютенінів та показниками якості борошна. Найповніша доказова база щодо існування кореляційної залежності між алельним складом локусів запасних білків та хлібопекарською якістю отримана в дослідженні групи вчених на чолі з доктором Пейном. Було переконливо доведено існування тісної кореляційної залежності між присутністю-відсутністю певних алелей локусів високомолекулярних глютенінів та показниками хлібопекарської якості і встановлено, що найбільший вплив на якість мають алелі локусу *Glu-D1*, за ним ідуть локуси *Glu-B1*, *Glu-A1*. Пейн запропонував умовну шкалу оцінки впливу окремих алелей локусів високомолекулярних глютенінів на якість борошна. За цією шкалою можна характеризувати сорти пшениці за якістю борошна. Локуси запасних білків за їх впливом на якість можна поставити в ряд *Glu-1>Glu-3>Gli-1>Gli-2*.

Гліадини м'якої пшениці кодуються шістьма основними локусами: *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Gli-A2*, *Gli-B2* і *Gli-D2*, розміщеними на коротких плечах хромосом 1 і 6 гомеологічних груп. У локусах *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* знаходяться кластери генів γ і ω -гліадинів та лише один ген дельта-гліадину [4, 5].

На коротких плечах хромосом 6A, 6B, 6D знаходяться локуси *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*, які містять кластери генів α -гліадинів. На хромосомах першої гомеологічної групи, крім основних локусів гліадинів, знаходяться мінорні гліадинові локуси. В 1984 р. був картований мінорний гліадиновий локус *Gli-A3*, що контролює один омега-гліадин, на хромосомі 1A на відстані приблизно 30% рекомбінації від мажорного гліадинового локусу *Gli-A1*. Мінорний локус *Gli-B3*

© САНДЕЦЬКА Н.В., РАДЧЕНКО О.М.

прокартовано на відстані 22–28 сМ від *Gli-B1*. Мінорний локус *Gli-A5* прокартовано на відстані майже 2 сМ від *Gli-A1*. Мінорний локус *Gli-B5*, що кодує два омега-гліадини, локалізовано на відстані майже 1,4 сМ від локусу *Gli-B1*. Іспанськими вченими [6] прокартовано мінорний локус *Gli-D5*, що кодує ω -гліадини, на відстані 3,7 сМ від локусу *Gli-D1*, а локус *Gli-D4*, що кодує гліадин γ -типу, – на відстані 10,1 сМ від *Gli-D1*. Метою роботи було дослідження частот алелей за локусами запасних білків у групах сортів пшениці, створених у різні періоди селекції в провідному селекційному центрі – Інституті фізіології рослин і генетики НАН України.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були 57 сортів пшениці Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, які створені під керівництвом академіка НАН України Моргуна В.В. (табл. 1).

Розділення гліадинів проводили за методом ISTA в модифікації Поперелі [7]. Високомолекулярні субодиниці глютеніну аналізували електрофорезом у присутності додецилсульфату натрію (SDS) за методикою Леммлі [8]. Для кожного сорту було проаналізовано 20 зерен. Виявлення алелей локусів *Glu-B1* також здійснювали шляхом ПЛР з використанням специфічних праймерів. Алелі локусів гліадинів ідентифікували за каталогом Метаковського [9]. Маркером транслокації *1BL.1RS* є присутність алелі *Gli-B11*, раніше позначеної *GLD 1B3*. Маркером транслокації *1AL.1RS* є присутність алелі *Gli-A1w*, раніше позначеної *Gld 1A17* [10]. Алелі локусів високомолекулярних глютенінів ідентифікували за каталогом Payne and Lawrence [11]. Для ідентифікації алелей застосовували підхід порівняння електрофоретичних спектрів із спектрами сортів із раніше визначеними алелями локусів запасних білків.

Таблиця 1. Список досліджуваних сортів ІФРГ НАН України

Оригіатор, походження	Сорти
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ	Аміна, Володарка, Гілея, Доброслава, Джамала, Донор кийвський, Золото України, Київська 7, Київська 8, Київська остиста, Лазурна, Лимарівна, Нива Київщини, Новокиївська, Новосмуглянка, Подолянка, Полянка, Солоха, Сотниця, Фаворитка, Циганка, Чигиринка, Чорнозерна, Чорнява, Ятрань 60
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України і Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України	Богдана, Волошкова, Веснянка, Веста, Добірна, Достаток, Зимоярка, Золотоколоса, Злука, Колумбія, Крижинка, Ласуня, Мирлена, Миронівська ранньостигла, Наталка, Пам'яті Ремесла, Переяславка, Почаївка, Пивна, Ремеслівна, Славна, Смуглянка, Снігурка, Сніжана, Сонечко, Спасівка, Хуртовина, Хоревиця, Яворина, Ясногірка
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України та фермерське господарство «Теософ»	Трипільська
Інститут фізіології рослин і генетики НАН України і Національний науковий центр «Інститут землеробства Національної академії аграрних наук України»	Щедрівка кийвська

Результати та обговорення

Визначений алельний склад локусів запасних білків *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*. Частоти алелей локусів запасних білків у різних групах сортів наведено в Табл. 2. Доведено, що сорти, які досліджувалися, характеризуються значною генетичною різноманітністю за локусами запасних білків, насамперед першої гомеологічної групи. Так, за гліадинокодуючими локусами *Gli-A1*, *Gli-B1* виявлено 6 алелей, за локусом *Gli-D1* – 5 алелей (рис. 1). За глютенінкодуючими локусами найбільш поліморфним виявився локус *Glu-B1*, який репрезентовано 5 алелями. Локуси *Glu-A1* та *Glu-D1*

представлено 3 та 2 алельними варіантами відповідно. Згідно з даними Baracskaï et al. [12], позначення алелі *Glu-B1b* за каталогом Payne and Lawrence [11], змінено на *Glu-B1u*. Алель *Glu-B1u* (7*+8) кодує х-субодиницю 7* з рухливістю, аналогічною рухливості х-субодиниці, кодованої алеллю *Glu-B1c* сорту Безоста 1 (7*+9). Рухливість субодиниці 7* трохи більша за рухливість субодиниці 7, яку кодують алелі *a*, *al* та власне *b* сорту Chinese Spring. Алель *Glu-B1al* відрізняється від алелі *Glu-B1u* та *Glu-B1b* також більшою інтенсивністю кодованого нею х-компонента (рис. 2; рис. 3).

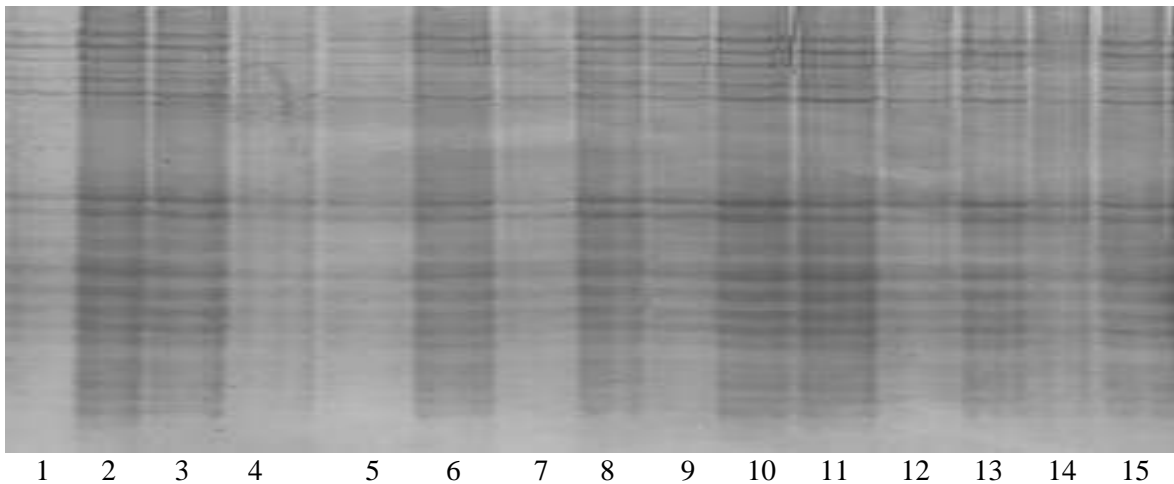


Рис. 1. Електрофореграма спектрів гліадинів сорту м'якої пшениці: 1–15 – Подолянка.

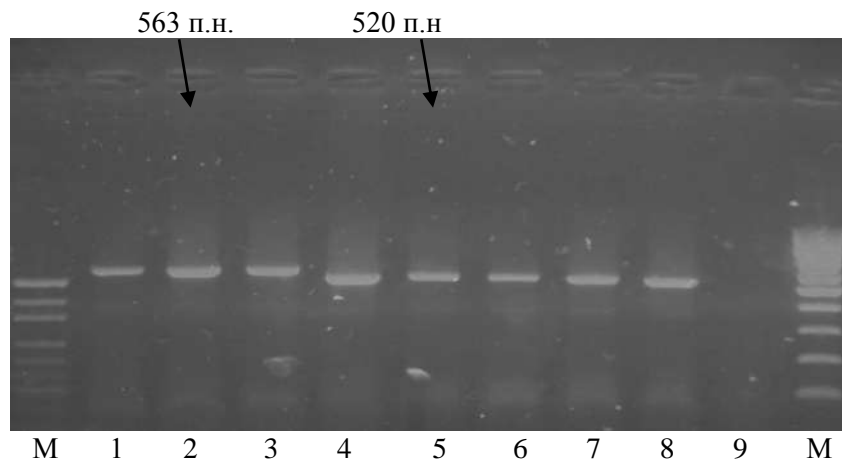


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК сортів пшениці з праймерами до локуса *Glu-B1*: 1–3 – Донор київський, 4–8 – Новосмуглянка, 9– K_0 – негативний контроль без додавання ДНК (TE буфер); М – маркер молекулярної маси рUC 19/MspI. Стрілками позначені продукти ампліфікації, що відповідають алелям *Glu-B1al* та *Glu-B1u*.

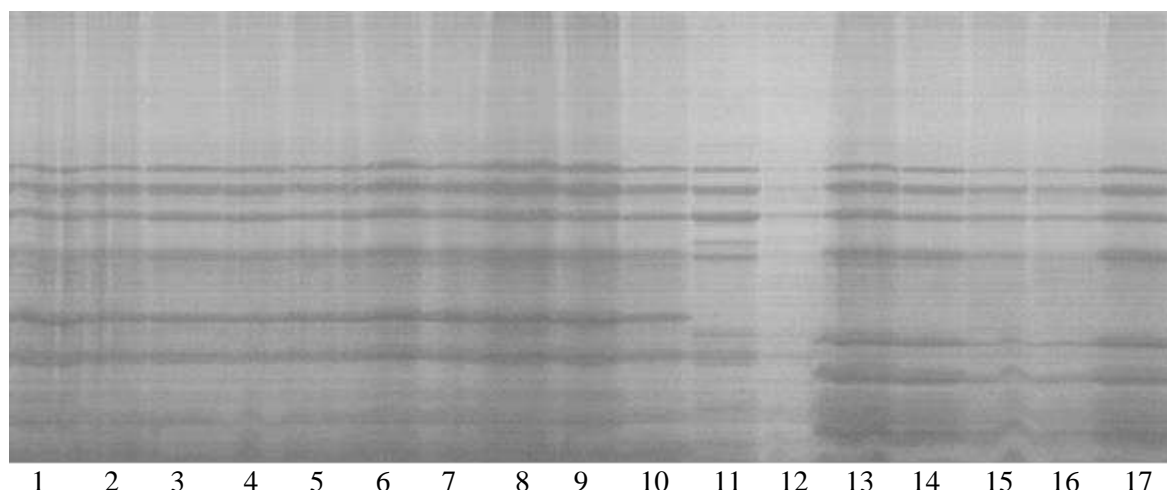


Рис. 3. Електрофореграма спектрів високомолекулярних глютенінів сортів м'якої пшениці: 1–10 – Ново-смулянка, 11, 12 – Панна стандарт, 13–17 – Чигиринка.

Для дослідження сорти ІФРГ НАН України було розділено на дві групи: перша охоплює період від часу створення перших сортів до 2010 р.; другий період охоплює 11 років (сорти, зареєстровані після 2010 р.). Групи за періодами реєстрації відповідно містили 41 та 16 сортів. Нами були проаналізовані зміни частот у відсотках окремих алелей у сортів, створених у різні періоди селекції. Аналіз алельного складу локусів виявив певні тенденції щодо розподілу алелей гліадин- та глютенінкодуєчих локусів серед сортів із різних груп. Основними змінами в частотах алелей сортів ІФРГ НАН України є зменшення частот алелей *Gli-A1c*, *Gli-A1f* та *Gli-A1o*, одночасно збільшилися частоти алелей *Gli-A1w* та *Gli-A1x*. За локусом *Gli-D1* зменшилися частоти алелей *b*, *j*, *l* та зросли частоти алелей *f* та *g*.

Особливістю досліджуваних сортів є висока частка сортів із пшенично-житніми транслокаціями: 1BL/1RS від жита (*Secale cereale* L.), маркером якої є алель *Gli-B1l* та 1AL.1RS (маркер – *Gli-A1w*). За останні роки ця транслокація набула широкого розповсюдження в генофонді сортів ІФРГ НАН України. Виявлено, що майже 50% сортів, створених в останнє десятиліття в ІФРГ НАН України, мають пшенично-житні транслокації 1AL.1RS, 1BL.1RS. За літературними даними [10], в Миронівському інституті пшениці є висока частота сортів із пшенично-житніми транслокаціями: 1BL.1RS від жита *Petkus*, маркер – *Gli-B1l* (38,4%) та 1AL.1RS від сорту *Amigo*, маркер – *Gli-A1w* (10,2%), що складає майже 50% усіх сортів. Лише 1,8% та 1,5% сортів Селекційно-генетичого інституту

мають такі транслокації. Сорти пшениці з транслокацією 1BL.1RS містять гени, що контролюють стійкість до таких хвороб, як бура іржа (*Lr26*), стеблова іржа (*Sr31*), жовта іржа (*Yr9*), борошниста роса (*Pm8*). Транслокація 1AL/1RS набула поширення серед сортів пшениці завдяки наявності генів стійкості до попелиці (*Gb2*, *Gb6*) та борошнистої роси (*Pm17*). За локусом *Glu-B1* в обох групах сортів найбільшу частоту має алель *c*, також присутня алель *u*, яку раніше позначали *b*. Серед сортів другої групи 31% має алель *d*, пов'язана з нижчим рівнем якості [13, 14]. У більшості випадків ці сорти також мають транслокацію 1AL.1RS. Друга група сортів має відносно високу (18%) частоту алелі *Glu-B1a1*, яку пов'язують з високою силою борошна. В обох досліджуваних групах сортів майже 80% сортів мають алель *Glu-D1d*, пов'язану з високим рівнем хлібопекарської якості. Алель *Glu-D1a*, пов'язану з нижчим рівнем якості, мають приблизно 20% сортів обох досліджуваних груп. За локусом *Glu-A1* в обох групах сортів із високою частотою трапляються дві алелі з позитивним ефектом на якість – *a* або *b*. Алель *c*, яка пов'язана з нижчим рівнем якості, порівняно з алелями *a* і *b*, була виявлена з низькою частотою. Треба відмітити, що практично всі алелі за локусами високомолекулярних субодиниць глютенінів із високою частотою виявлення є алелями з позитивним впливом на хлібопекарську якість згідно зі шкалою Payne et al. [11], особливо це стосується алелей локусів *Glu-A1* та *Glu-D1*.

Таблиця 2. Частота алелей локусів запасних білків сортів ІФРГ НАН України у різні роки

Алель	Перший період (до 2010р.)	Другий період (після 2010р.)
<i>Glu-A1</i>		
<i>a</i>	0,537	0,529
<i>b</i>	0,366	0,294
<i>c</i>	0,097	0,125
<i>Glu-B1</i>		
<i>al</i>	0,000	0,187
<i>u</i>	0,268	0,125
<i>c</i>	0,512	0,375
<i>d</i>	0,196	0,313
<i>h</i>	0,024	0,000
<i>Glu-D1</i>		
<i>a</i>	0,171	0,250
<i>d</i>	0,829	0,750
<i>Gli-A1</i>		
<i>b</i>	0,268	0,250
<i>c</i>	0,073	0,000
<i>f</i>	0,099	0,000
<i>o</i>	0,219	0,000
<i>w</i>	0,219	0,375
<i>x</i>	0,122	0,188
<i>Gli-B1</i>		
<i>b</i>	0,707	0,375
<i>d</i>	0,000	0,125
<i>e</i>	0,000	0,124
<i>f</i>	0,024	0,000
<i>l</i>	0,220	0,188
<i>h</i>	0,049	0,000
<i>Gli-D1</i>		
<i>b</i>	0,659	0,438
<i>f</i>	0,049	0,125
<i>g</i>	0,195	0,250
<i>j</i>	0,073	0,000
<i>l</i>	0,024	0,000

Завдяки високому поліморфізму локуси запасних білків стали першими генетичними маркерами, які були використані для вивчення різноманітності світових колекцій пшениці. Відомо, що сорти, створені в різних селекційних центрах, мають специфічний набір алелей локусів запасних білків. Набір алелей локусів запасних білків та їх частоти, як правило, визначаються різноманітністю вихідного матеріалу при схрещуваннях.

Висновки

Проаналізовано сорти м'якої пшениці Інституту фізіології рослин і генетики, створені в різні періоди часу, за гліадиновими локусами *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* та локусами високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*. Порівняння частот алелей у групах

сортів, створених у різні періоди (до 2010 року і після 2010 року) дозволило виявити появу нових алелей та зміну частот наявних алелей локусів запасних білків. Так, частота алелі *Glu-B1al* зросла від 0% до 18%, ця алель є однією з найбільш сильних за позитивним впливом на хлібопекарську якість борошна серед ідентифікованих алелей локусів високомолекулярних глютенінів пшениці. Виявлено, що майже 50% сортів, створених в останнє десятиліття в ІФРГ НАН України, мають пшенично-житні транслокації 1AL.1RS, 1BL.1RS. Сорти пшениці з транслокаціями більш посухостійкі, мають підвищену адаптаційну здатність, вищу врожайність та стійкість до хвороб. Особливістю сортів ІФРГ НАН України є поєднання алелей *Gli-A1w* (маркер транслокації 1AL.1RS) та *Glu-B1d*.

References

1. Würschum T., Leiser W., Kazman E., Longin F. Genetic control of protein content and sedimentation volume in European winter wheat cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 2016. Vol. 129 (3). P. 1685–1696.
2. Li Y., Zhou R., Branlard G., Jia J. Development of introgression lines with 18 alleles of glutenin subunit and evaluation of the effects of various alleles on quality related traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Cereal Sci.* 2010. Vol. 51. P. 127–133.
3. Ibba M., Kiszonas A., Morris C. Evidence of intralocus recombination at the *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2017. Vol. 130 (5). P. 891–902.
4. Anderson O.D., Dong, L., Huo N., Gu Y.Q. A new class of wheat gliadin genes and proteins. *PLoS One.* 2012. Vol. 7 (12). P. 132–139.
5. Sabelli P.A., Shewry P.R. Characterization and organization of gene families at the *Gli-1* loci of bread and durum wheats by restriction fragment analysis. *Theoretical and Applied Genetics.* 1991. Vol. 83. P. 209–216.
6. Rodriguez-Quijano M., Carrillo J.M. Linkage map of prolamins loci *Gli-D4* and *Gli-D5* in hexaploid wheat. *Plant Breeding.* 1996. Vol. 115. P. 189–191.
7. Poperelya F.A. Three main genetic quality systems for soft wheat grain. Realization of potential opportunities of varieties. *Sb. Nauk. Prac. SGI Odessa.* 1996. P. 117–132. [in Russian]
8. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970. Vol. 227. P. 680–685.
9. Metakovsky E., Melnik V., Rodriguez-Quijano M., Upelniak V., Carrillo J.M. A catalog of gliadin alleles: polymorphism of 20th-century common wheat germplasm. *Crop J.* 2018. Vol. 6. P. 628–641.
10. Kozub N.A., Sozinov I.A., Sobko T.A., Kolyuchii V.T., Kuptsov S.V., Sozinov A.A. Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivar soft the Central Forest-Steppe of Ukraine. *Cytol. Genet.* 2009. Vol. 1. P. 55–62.
11. Payne P.I., Lawrence G. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cer. Res. Commun.* 1983. Vol. 11. P. 29–34.
12. Baracska I., Balázs G., Liu L., Ma W., Oszvald M., Newberry M., Tömösközi S., Láng L., Bedő Z., Bekes F. A retrospective analysis of HMW and LMW glutenin alleles of cultivars bread in Martonvásár. *Cereal Research Communications.* 2011. Vol. 39. P. 225–236.
13. Radchenko O.M., Sandetska N.V. Research of alleles diversity of high molecular and low molecular weight glutenins loci of soft wheat varieties. *Fiziol. rast. genet.* 2020. Vol. 52 (3). P. 248–257. [in Ukrainian]
14. Morgun V.V., Tarasyuk O.I., Pochinok V.M., Rybalka, A.I. Unique grain quality breeding lines of wheat with rare alleles of *Gli* / *Glu* loci. *Fiziol. rast. genet.* 2014. Vol. 47 (4). P. 302–309. [in Russian]

SANDETSKA N.V., RADCHENKO O.M.

Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 31/17

DIVERSITY OF ALLELES OF LOCUSES OF SPARE PROTEINS OF WHEAT VARIETIES IFRG NAS OF UKRAINE

Aim. Investigation of allele frequencies by locus of reserve proteins in groups of wheat varieties created during different selection periods at the leading breeding center of the Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine. **Methods.** The material for the study were 57 varieties of wheat of the Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine. Separation of gliadins was performed according to the ISTA method in the Poperel modification. High molecular weight glutenin subunits were analyzed by electrophoresis in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) by the Lemmley method. **Results.** The allelic composition of loci of spare proteins *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, *Gli-1A*, *Gli-B1*, *Gli-1D* was determined. At the gliad-encoding loci *Gli-A1*, *Gli-B1* 6 alleles were detected, at the locus *Gli-D1* - 5 alleles. By gluten-encoding loci, the most polymorphic was the *Glu-B1* locus, which is represented by 5 alleles. Loci *Glu-A1* and *Glu-D1* are represented by 3 and 2 allelic variants. **Conclusions.** The frequency of the *Glu-B1a1* allele, increased from 0% to 18%, this allele is one of the strongest in terms of positive impact on the quality of flour among the identified alleles of loci of high molecular weight glutenins of wheat. It was found that almost 50% of varieties created in the last decade in IFRG NAS of Ukraine have wheat-rye translocations 1AL.1RS, 1BL.1RS.

Keywords: *Triticum aestivum* L., soft wheat, grain grain proteins, high molecular weight glutenin loci.