

МОРГУН Б. В.^{1,2}, САНДЕЦЬКА Н. В.¹, РАДЧЕНКО О. М.¹, ВЕЛИКОЖОН Л. Г.^{1,2}

¹ Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, ORCID: 0000-0001-7041-6894, 0000-0002-0558-2295, 0000-0002-3168-923X, 0000-0002-5935-9363

² Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,

Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

✉ ales2009@ukr.net

ПІДБІР МАРКЕРНИХ СИСТЕМ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АЛЕЛЬНОГО СКЛАДУ ЛОКУСІВ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЛЮТЕНІНІВ У ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ

Мета. Підбір маркерних систем і проведення мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій для визначення алельного складу локусів *Glu-A1*, *Glu-B1* та *Glu-D1*, які визначають високу якість борошна у зразків м'якої пшениці. **Методи.** Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) із використанням специфічних праймерів до локусів *Glu-A1*, *Glu-B1* і *Glu-D1* пшениці. **Результати.** Проведено ПЛР аналіз для виявлення інсерції у 43 п. н. у регіоні *MAR*; у сортів з алелем *Glu-B1a1* спостерігали наявність амплікона довжиною 563 п. н., а для сортів, які несуть інші алелі локусу – амплікон довжиною 520 п. н. Результати за локусом *Glu-D1* показали, що для ліній № 2, № 3, № 4, № 7, № 8, № 10, № 11, № 19, № 20, № 21 було ідентифіковано субодиноці (5+10). **Висновки.** За допомогою алель-специфічних праймерів у 22 ліній озимої м'якої пшениці визначений алельний склад локусів високомолекулярних глютенінів. У локусі *Glu-A1* виявлено три алеля *Glu-A1a*, *Glu-A1b*, *Glu-A1c*; у локусі *Glu-B1* виявлений лише алель *Glu-B1a1*, у локусі *Glu-D1* – два алелі: *Glu-D1a* і *Glu-D1d* (де переважав алель *Glu-D1a*). У результаті наших досліджень виділено зразки м'якої пшениці (лінії № 2, № 7, № 21), які можна віднести до генотипів з високою хлібопекарською якістю борошна.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., високомолекулярні глютеніни, ПЛР, молекулярні маркери, запасні білки зерна.

Пшениця м'яка (*Triticum aestivum* L.) є важливою продовольчою культурою. Одним із головних напрямів селекції є поліпшення якості зерна, яка визначається вмістом білків, сирі клейковини, крохмалю, незамінних амінокислот і мікроелементів [1].

Білковий комплекс зернівки пшениці складається з гліадинів, глютенінів, альбумінів і

глобулінів. Окрім крохмалю, більша частина пшеничного зерна – це запасні білки гліадини і глютеніни, які становлять 80–85 % загального вмісту білка в зерні. Альбуміни і глобуліни – це структурні та ферментні білки алейронового шару і зародка [1]. Запасні білки мають основний вплив на якість клейковини. Глютеніни здатні до полімеризації шляхом утворення інтрамолекулярних -S-S-зв'язків, що формують макромолекулярний каркас клейковини і відповідають за еластичність і пружність тіста. Наразі відомо три локуси, які кодують низькомолекулярні субодиноці глютенінів (*Glu-A3*, *Glu-B3* і *Glu-D3*) і три локуси високомолекулярних глютенінів (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) [2].

Внаслідок вивчення поліморфізму високомолекулярних глютенінів на початку 1980-х років було створено перший каталог їх алельних варіантів [3]. Подальші дослідження зв'язків цих алелів з ознаками хлібопекарської якості пшениці дали змогу здійснити їх ранжування за ступенем впливу на формування цих ознак [4]. Основою першого каталогу стали результати досліджень їх алельного складу в поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію. Це доволі ефективний метод ідентифікації білкових субодиноць високомолекулярних глютенінів, однак виникають певні складнощі, коли різні субодиноці неможливо розділити, а, отже, ідентифікувати, оскільки вони мають однакову молекулярну масу і, відповідно, електрофоретичну рухливість [5]. Для вирішення цієї проблеми використовують методи молекулярної генетики, що ґрунтуються на аналізі первинної структури ДНК генів високомолекулярних глютенінів і регіонів, які їх оточують. Залучення цих методів розширило наявний каталог порівняно з 1983 роком. Якщо до першого каталогу було занесено 11 алельних варіантів за локусом *Glu-B1*, то на сьогодні налічується більше 59 алельних

© МОРГУН Б. В., САНДЕЦЬКА Н. В., РАДЧЕНКО О. М., ВЕЛИКОЖОН Л. В.

варіантів за цим локусом [6].

Найцікавішим з погляду вивчення впливу високомолекулярних глютенінів на ознаки хлібопекарської якості є алель *Glu-B1a1*, продуктом експресії якого є дві субодиниці Vx7^{OE} + Vy8*. Перша з них має підвищений рівень експресії, порівняно із субодиницею Vx7 зі звичайним його проявом. Алель *Glu-B1a1* вже доволі часто зустрічається серед світової популяції високоякісних сортів м'якої пшениці, а також ряду українських сортів. Його ідентифіковано серед біотипів мексиканських, угорських, австралійських, аргентинських сортів, у групі екстрасильних канадських пшениць, що і привернуло увагу до його детального дослідження. Однією з особливостей цього алеля є те, що його можна ідентифікувати за допомогою ПЛР-аналізу за інсерцією у 43 п. н. у регіоні MAR [7–9].

Метою цієї роботи був підбір маркерних систем і проведення мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій для визначення алельного складу локусів *Glu-A1*, *Glu-B1* і *Glu-D1*, які визначають високу якість борошна у зразків м'якої пшениці.

Матеріали і методи

Загальноприйнятим методом виділення ДНК із рослин озимої пшениці є ЦТАБ-метод. Наважку рослинного матеріалу розтирали у ступці з додаванням ЦТАБ-буферу та 2-меркаптоетанолу. Вміст пробірок центрифугували 5 хв при 12000 об/хв. Після цього 700 мкл супернатанту переносили в чисті еппендорфи, що містили 500 мкл хлороформу, центрифугували 3 хв при 12000 об/хв. Відбирали 600 мкл верхньої водної фази в нові пробірки, додавали знову 500 мкл хлороформу. Потім відбирали 400 мкл верхньої фази, додавали 800 мкл ЦТАБ-осаджуючого буферу. Супернатант видаляли, додавали 500 мкл 1,2 М NaCl. Після цього додавали 400 мкл хлороформу, додавали 240 мкл ізопропілового спирту, центрифугували при 12000 об/хв 10 хв. Супернатант знову видаляли, а до осаду додавали 1 мл 70 % етилового спирту, центрифугували при 12000 об/хв 5 хв, підсушували. Осад розчиняли у 50 мкл TE-буферу pH 8,0 [10].

Для проведення мультиплексної полімеразної реакції з метою визначення складу локусу *Glu-A1*, що відповідає за синтез білкових субодиниць Ax1, Ax2*, Ax-null, використовували праймери UMN19F (5'-CGAGACA-

ATATGAGCAGCAAG-3') і UMN19R (5'-CTGCCATGGAGAAGTTGGA-3') до цільового гена й праймери до референтного гена пшениці *TaTM20*. Для виявлення алеля *Glu-B1a1* проводили полімеразну ланцюгову реакцію з використанням праймерів MAR-F 5'-CCTCAGCATGCAAACATGCAGC-3' і MAR-R 5'-CTGAAACSTTTGGCCAGTCATGTC-3' [11]. Детекція алелів локусу *Glu-D1* базувалася на проведенні дуплексної полімеразної реакції на нуклеотидні послідовності субодиниць Dx5 та Dy10 (5+10) і Dx2 й Dy12 (2+12) у зразках м'якої пшениці з використанням специфічних праймерів UMN25F: (5'-GGGACAATACGAGCAGCAA 3') – для Dx2; UMN25R: (5'-TTGTTCCGGTTGTTGCCA-3') для Dx5; UMN26F: (5'-CGCAAGACAATATGAGCAAAC-3') для Dy10; UMN26R: (5'-TTGCSTTTGTCCTGTGTGC-3') для Dy12. Для зразків із субодиницями 5+10 спостерігали наявність ампліконів 397 та 281 п. н., із субодиницями 2+12 – ампліконів довжиною 415 і 299 п. н.

Реакційні суміші для проведення ПЛР включали: по 0,5 мкл 10 мкМ специфічних праймерів для відповідної реакції, по 2 мкл буфера для ПЛР 10 x Reaction Buffer B (Solis BioDyne), по 2 мкл 1 мМ Cresol 60 % Sucrose (Solis BioDyne), по 1,6 мкл 25 мМ MgCl₂ (Solis BioDyne), по 2 мкл 2 мМ кожного дезоксирибонуклеотид-3-фосфата (Thermo Fisher Scientific), 0,5 од. полімерази FIREPol DNA Polymerase (Solis BioDyne), 30 нг сумарної ДНК, деіонізовану воду Milli-Q до кінцевого об'єму 20 мкл.

Продукти ампліфікації візуалізували після їх електрофоретичного розділення в агарозному гелі в ультрафіолетовому світлі з додаванням етидид броміду як фарбувального реагенту. Для визначення розміру продуктів ампліфікації використовували маркер молекулярної маси – GeneRuler™ DNA Ladder Mix (Thermo Scientific). Для отримання цифрових зображень гелів використовували джерело УФ-світла і фотоапарат Canon.

Результати та обговорення

Хлібопекарські якості борошна пшениці визначаються властивостями клейковинного комплексу зерна, який утворюють білки гліадіни і глютеніни. Локуси високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A1*, *Glu-B1* і *Glu-D1* розміщені на довгих плечах хромосом 1A, 1B, 1D м'якої пшениці, а локуси низькомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A3*, *Glu-B3* та

Glu-D3 – на коротких плечах хромосом 1A, 1B, 1D. Слід зазначити, що на теперішній час існують дані про те, що найсильніший вплив на якість борошна мають алелі локусу *Glu-D1*, дещо менший – алелі локусу *Glu-A1* і *Glu-B1*.

У селекційних програмах широко використовується вихідний матеріал з алелями високої якості зерна. Перспективним для вивчення впливу високомолекулярних глютенінів на ознаки хлібопекарської якості є алель *Glu-B1a1*, продуктом експресії якого є дві субодиниці $Vx7^{OE} + Vy8^*$. Кожен локус складається з двох зчеплених генів «а» і «у» типів. Алель *Glu-B1a1* був вперше виявлений у сорті мексиканської пшениці Ред Рівер 68. Він містить спонтанну тандемну дуплікацію ДНК, яка кодує біосинтез субодиниці 7 глютеніну. Алель *Glu-B1a1* можна ідентифікувати за інсерцією у 43 п. н. у регіоні MAR, який розміщений за промотором гена *Vx7*, і дуплікацією у 18 п. н. у кодувальному регіоні гена [12]. Відомо, що алель *Glu-B1a1* забезпечує найкращі показники хлібопекарської якості борошна і є одним із найбільш сильних за позитивним впливом серед ідентифікованих *Gli/Glu* алелів. Тому досліджувані зразки озимої м'якої пшениці було проаналізовано на наявність алеля *Glu-B1a1* (рис. 1).

Для контролю якості виділеної ДНК проведено мультиплексу ПЛР з використанням

праймерів до гена *TaTM20* і алеля *Glu-B1a1*. Ген *TaTM20* – білок-транспортер іонів металів пшениці – є референтним геном пшениці і детектується проявом амплікону довжиною 934 п. н.

У сортів з алелем *Glu-B1a1* спостерігали наявність амплікону 563 п. н., для сортів, які несуть інші алелі локусу – амплікон 520 п. н. Наявність амплікона розміром 934 п. н. відповідає референтному гену пшениці *TaTM20* і вказує на нормальний перебіг полімеразної ланцюгової реакції. Скринінг селекційних зразків на виявлення інсерції у 43 п. н. у регіоні MAR показав, що лінії пшениці, представлені на рис. 1, доріжки № 6–8, 10–12 характеризувалися наявністю амплікону розміром 563 п. н. Решта зразків характеризувалася наявністю фрагмента довжиною 520 п. н., що вказує на відсутність алеля *Glu-B1a1* (табл. 1). Проведений нами молекулярно-генетичний аналіз на наявність у селекційному матеріалі озимої пшениці гена *Glu-B1a1* високомолекулярних глютенінів свідчить, що обрані методи дослідження є ефективними для виявлення алеля *a1* локусу *Glu-B1*. Базуючись на результатах масового аналізу по ідентифікації інсерції у 43 п. н. у регіоні MAR, можливо аналізувати нові, створені селекційно-генетичними методами зразки пшениці озимої і добирати бажані генотипи на ранніх стадіях.

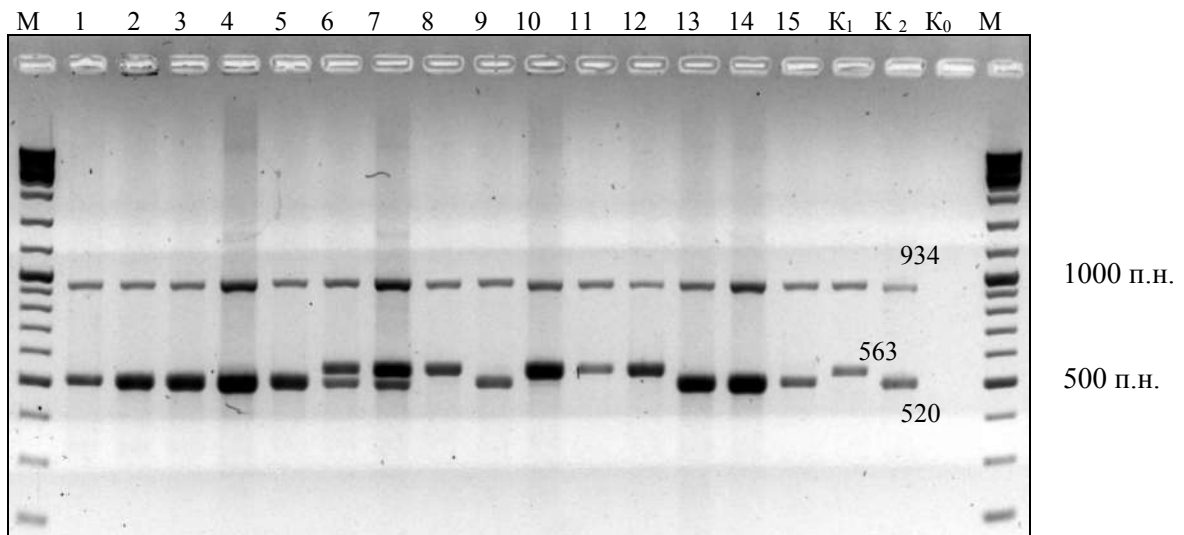


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК ліній пшениці озимої з праймерами до алеля *Glu-B1a1*. 1, 2 – лінія № 1; 3, 4 – лінія № 3; 5 – лінія № 4; 6, 7, 8 – лінія № 7; 9 – лінія № 8; 10, 11, 12 – лінія № 21; 13, 14, 15 – лінія № 22; K₁ – позитивний контроль (пшениця, яка має алель *Glu-B1a1*); K₂ – контроль (пшениця, що не містить алеля *Glu-B1a1*); K₀ – негативний контроль без додавання ДНК (ТЕ-буфер); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA LadderMix.

Таблиця 1. Наявність алелів локусів високомолекулярних глютенінів досліджуваних зразків пшениці

№ п/п	Селекційна лінія	Локус <i>Glu-A1</i>		Локус <i>Glu-B1</i>	Локус <i>Glu-D1</i>	
		<i>a/c</i>	<i>b</i>	<i>al</i>	<i>a</i>	<i>d</i>
1	лінія № 1	+	-	-	+	-
2	лінія № 2	-	+	+	-	+
3	лінія № 3	+	-	-	-	+
4	лінія № 4	+	-	-	-	+
5	лінія № 5	+	-	-	+	-
6	лінія № 6	+	-	-	+	-
7	лінія № 7	+	-	+	-	+
8	лінія № 8	-	+	-	-	+
9	лінія № 9	+	-	-	+	-
10	лінія № 10	-	+	-	-	+
11	лінія № 11	-	+	-	-	+
12	лінія № 12	+	-	-	+	-
13	лінія № 13	+	-	-	+	-
14	лінія № 14	+	-	-	+	-
15	лінія № 15	+	-	-	+	-
16	лінія № 16	+	-	-	+	-
17	лінія № 17	+	-	-	+	-
18	лінія № 18	+	-	-	+	-
19	лінія № 19	+	-	-	-	+
20	лінія № 20	+	-	-	-	+
21	лінія № 21	+	-	+	-	+
22	лінія № 22	+	-	-	+	-

Результати електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації на визначення аельного складу локусу *Glu-A1* представлені на рис. 2. Вони виявили наявність фрагментів довжиною 344 п. н., що відповідає алелям, які кодують синтез білкової субодиниці $Ax2^*$ (алель *b*), а амплікон довжиною 362 п. н. – білкової субодиниці $Ax1$ (алель *a*).

У наших дослідженнях локусу *Glu-A1* визначення алелів, які відповідають за синтез білкових субодиниць $Ax2^*$ (алель *b*) і $Ax1$ (алель *a*), проводили методом ПЛР з використанням специфічних праймерів UMN19 F та UMN19 R. Слід зазначити, що субодиниці *1* і *2** мають однаковий вплив на показники хлібопекарської якості (індекс якості 3), тому для створення екстрасильних сортів наявність саме субодиниці $Ax2^*$ не є принциповим.

Лінії № 2, № 8, № 10, № 11 характеризувалися наявністю амплікону довжиною 344 п. н., що свідчить про наявність алеля *b* у геномі А. У інших досліджуваних зразків було ідентифіковано амплікон 362 п. н., що є підтвердженням наявності алелів *a/c* у локусі *Glu-A1*.

Результати проведених досліджень показали, що для ліній № 2, № 3, № 4, № 7, № 8, № 10, № 11, № 19, № 20, № 21 було ідентифіковано субодиниці (5 + 10), яким відповідали амплікони (397 + 281) п. н. (рис. 3, табл. 1). Решта зразків характеризувалися наявністю субодиниць (2 + 12) у геномі D, що визначалося проявом фрагментів довжиною (415 + 299) п. н.

Розроблено також ряд молекулярно-генетичних підходів для визначення субодиниць 5 + 10 і 2 + 12, що кодуються алельними варіантами гена *Glu-D1* і які також позитивно впливають на якість пшеничного борошна [12].

Алелі локусу *Glu-D1* за позитивним впливом на якість борошна розташовуються наступним чином: 5+10>2+12; 3+12>4+12>2+10. Обрана нами маркерна система дозволяє визначити два найпоширеніших алельних варіанта локусу, які визначають субодиниці 5+10 і 2+12. Відомо, що алель 5+10 має яскраво виражений позитивний вплив на хлібопекарські показники пшениці та характеризується індексом якості 4.

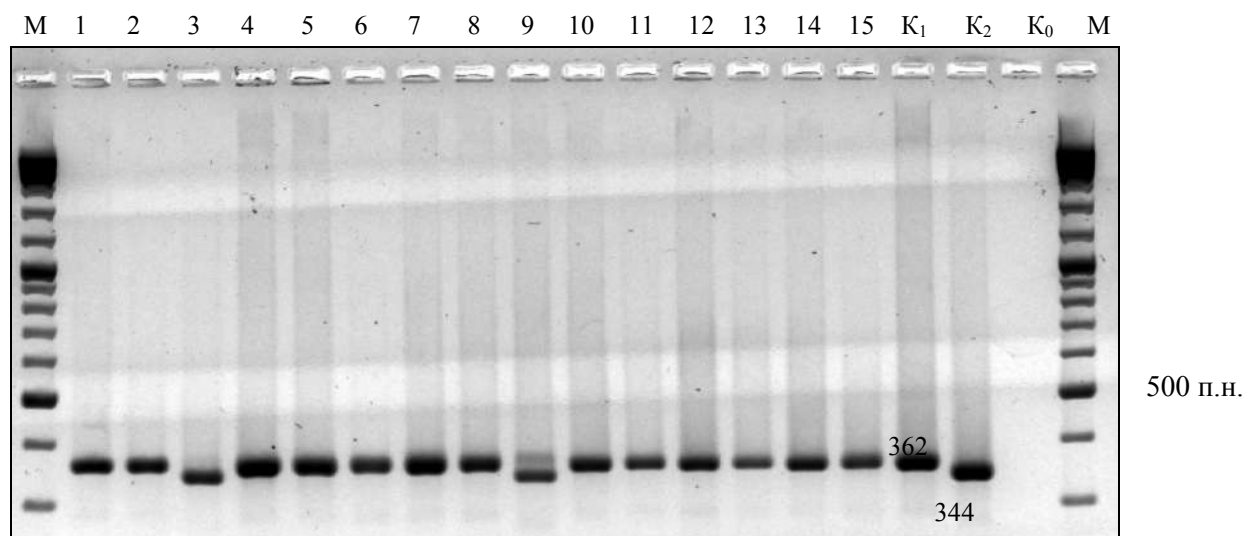


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК ліній пшениці озимої з праймерами до алелів локуса *Glu-A1*. 1, 2 – лінія № 1; 3 – лінія № 2; 4 – лінія № 3; 5 – лінія № 4; 6 – лінія № 5; 7 – лінія № 6; 8 – лінія № 7; 9 – лінія № 8; 10, 11, 12 – лінія № 21; 13, 14 – лінія № 22; 15 – лінія № 9; K₁ – позитивний контроль (пшениця, яка має алелі *Glu-A1a/c*); K₂ – контроль (пшениця, яка має алель *Glu-A1b*); K₀ – негативний контроль без додавання ДНК (ТЕ-буфер); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA LadderMix.

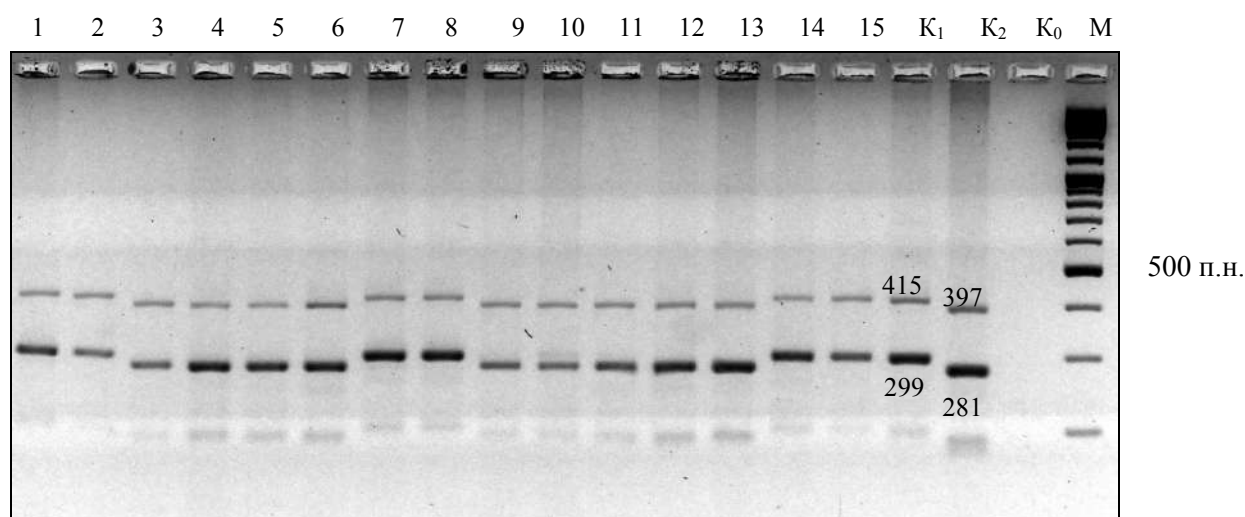


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК ліній пшениці озимої з праймерами до алелів локуса *Glu-D1*. 1, 2 – лінія № 1; 3, 4 – лінія № 2; 5 – лінія № 3; 6 – лінія № 4; 7 – лінія № 5; 8 – лінія № 6; 9 – лінія № 7; 10 – лінія № 8; 11, 12, 13 – лінія № 21; 14, 15 – лінія № 22; K₁ – контроль (пшениця, що містить алель *Glu-D1a*); K₂ – контроль (пшениця, що містить алель *Glu-D1d*); K₀ – негативний контроль без додавання ДНК (ТЕ буфер); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA LadderMix.

Висновки

Підібрано маркерні системи і за допомогою алель-специфічних праймерів методом ПЛР визначено алельний склад локусів високомолекулярних глютенінів у 22 лініях пшениці м'якої озимої. У локусі *Glu-A1* виявлено три алеля *Glu-A1a*, *Glu-A1b*, *Glu-A1c*; у локусі *Glu-B1* виявлений лише алель *Glu-B1a1* характерний для пшениць із високими хлібопекарськими якостями борошна; в локусі *Glu-D1* – два алелі: *Glu-D1a* і

Glu-D1d (де переважав алель *Glu-D1a*).

У результаті наших досліджень виділено ряд зразків пшениці м'якої озимої (лінії № 2, № 7, № 21), які можна віднести до генотипів з високою хлібопекарською якістю борошна і використовувати в подальших схрещуваннях. Маркером цієї ознаки є присутність у генотипі ліній таких алелів глютенінкодуєчих локусів, як *Glu-B1a1* і *Glu-D1d*.

References

1. Rybalka A. I., Morgun B. V., Pochinok V. M. Recent research of wheat grain quality in the world: storage proteins biosynthesis, accumulation, structure, aggregation and rheology related to end-use products. *Fiziol. biochimia cult. rasten.* 2012. Vol. 44 (1). P. 3–22. [in Ukrainian]
2. Payne P. I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1987. Vol. 38. P. 141–153.
3. Payne P. I., Lawrence G. J. Catalogue of alleles for the complex gene loci *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Communic.* 1983. Vol. 11 (1). P. 29–34.
4. Payne P. I., Nightingale M. A., Krattinger A. F., Holt L. M. The relationship between HMW glutenin subunit composition and bread-making quality of British grown wheat varieties. *J. Sci. Food Agr.* 1987. Vol. 40. P. 51–65.
5. D'Ovidio R., Anderson O. D. PCR analysis to distinguish between alleles of a member of a multigene family correlated with wheat bread-making quality. *Theor. Appl. Genet.* 1994. Vol. 88. P. 759–763.
6. Xu S. S., Khan K., Klindworth D. L. et al. Chromosomal location of genes for novel glutenin subunits and gliadins in wild emmer wheat (*Triticum turgidum* L., var. *dicoccoides*). *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 108. P. 1221–1228.
7. Zlatska A. V. Identification of *Glu-B1a* allele of high-molecular weight glutenins and its impact on characteristics related to bread-making quality in wheats permitted for realization in Ukraine. *Fiziol. biochimia cult. rasten.* 2010. Vol. 42 (4). P. 315–321. [in Ukrainian]
8. Morgun B. V., Chugunkova T. V., Rybalka O. I., Pochinok V. M., Tarasiuk O. I., Stepanenko A. I. Molecular identification of allele *Glu-B1a* in wheat varieties and lines. *Fiziol. rast. genet.* 2013. Vol. 45 (4). P. 290–295. [in Ukrainian]
9. Rybalka O. I., Morhun V. V., Morgun B. V., Polyshchuk S. S., Chervonis M. V., Sokolov V. M. New genetic variation related to wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding for quality. *Cytology and Genetics.* 2023. Vol. 57 (1). P. 1–11. doi: 10.3103/S0095452723010103.
10. Stewart C. N., Via L. E. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. *Bio Techniques.* 1993. Vol. 14. (5). P. 748–749.
11. Butov B., Ma W., Gale K., Cornish G., Rampling L., Larroque O., Morel M., Bekes F. Molecular discrimination of *Bx7* alleles demonstrates that a highly expressed high-molecular-weight glutenin allele has a major impact on wheat flour dough strength. *Theor. Appl. Genet.* 2003. Vol. 107. P. 1524–1532.
12. Morgun V. V., Rybalka O. I., Morgun B. V. New scientific approaches in genetic amelioration of cereal crops. *Fiziol. rast. genet.* 2021. Vol. 53 (3). P. 187–215. doi: 10.15407/frg2021.03.187. [in Ukrainian]

MORGUN B. V.^{1,2}, SANDETSKA N. V.¹, RADCHENKO O. M.¹, VELYKOZHON L. H.¹

¹ Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 31/17

² Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, NAS of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnogo str., 148

SELECTION OF MARKER SYSTEMS FOR DETERMINING THE ALLELIC COMPOSITION OF HIGH MOLECULAR GLUTENIN LOCI IN WINTER WHEAT

Aim. Selection of marker systems and conducting multiplex polymerase chain reactions to determine the allelic composition of the *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci, which determine the high quality of flour in common wheat samples. **Methods.** Polymerase chain reaction (PCR) using specific primers for the *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci of wheat. **Results.** PCR analysis was performed to detect the insertion at 43 b. p. in the MAR region, in varieties with the *Glu-B1a* allele, the presence of an amplicon 563 b. p. long was observed, for varieties that carry other alleles of the locus – an amplicon 520 b. p. long. The results on the *Glu-D1* locus showed that for № 2, № 3, № 4, № 7, № 8, № 10, № 11, № 19, № 20, № 21 subunits (5 + 10) were identified. **Conclusions.** With the help of allele-specific primers, the allelic composition of loci of high molecular weight glutenins was determined in 22 lines wheat. Three alleles *Glu-A1a*, *Glu-A1b*, *Glu-A1c* were found in the *Glu-A1* locus; in the *Glu-B1* locus, only the *Glu-B1a* allele was detected, there are two alleles at the *Glu-D1* locus: *Glu-D1a* and *Glu-D1d* (the *Glu-D1a* allele predominated). As a result of our research, samples of soft wheat (lines № 2, № 7, № 21) were selected, which can be attributed to genotypes with high baking quality of the flour.

Keywords: *Triticum aestivum* L., high molecular weight glutenins, PCR, molecular markers, spare grain proteins.