

САНДЕЦЬКА Н. В.[✉], РАДЧЕНКО О. М., ШЕГЕДА І. 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, 0009-0000-9115-2867

[✉] ales2009@ukr.net

ЧАСТОТА АЛЕЛІВ ЛОКУСІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ У СОРТАХ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ

Мета. Визначити частоту алелів локусів запасних білків у сортах української селекції, створених двома різними селекційними центрами: Інститутом фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРГ НАН України) та Селекційно-генетичним інститутом – Національним центром насіннєзнавства і сортовивчення НАН України (СГІ НЦНС НААН України). **Методи.** Високомолекулярні субодиниці глютеніну аналізували електрофорезом в присутності додецилсульфату натрію (SDS) за методикою Леммлі. Для визначення транслокації використовували ПЛР з праймерами до мікросателітного локусу *SCM9* та електрофорез запасних білків. **Результати.** Визначено склад та частоту алелів локусів *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* у вибірках сортів селекції ІФРГ НАН України та СГІ НЦНС НААН України. Ідентифіковано алелі локусів гліадинів і високомолекулярних глютенінів, які характерні для сортів конкретного селекційного центру. **Висновки.** На основі проведених досліджень алелів локусів запасних білків показано, що групи сортів української селекції, створених у різних селекційних центрах, характеризуються певним набором алелів. Найбільш часто серед сортів селекції ІФРГ НАН України було виявлено алелі локусів високомолекулярних глютенінів *Glu-A1a*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d* і гліадинів *Gli-A1b*, *Gli-B1b*, *Gli-D1b*, серед одеських сортів – алелі *Glu-A1b*, *Glu-B1u*, *Glu-D1d* і *Gli-A1b*, *Gli-B1b*, *Gli-D1g*. Встановлено, що майже 50 % сортів селекції ІФРГ НАН України мають пшенично-житні транслокації 1AL.1RS, 1BL.1RS.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., запасні білки зерна, локуси високомолекулярних глютенінів і гліадинів.

Пшениця м'яка озима (*Triticum aestivum* L.) є важливим джерелом білка для населення багатьох країн світу. Основними запасними білками зерна пшениці є гліадини і глютеніни, які становлять близько 80 % від за-

гального вмісту білка в зерні [1]. Гліадини – мономерні спирторозчинні білки, тоді як глютеніни – великі агрегати субодиниць, зв'язаних дисульфідними зв'язками. Гліадини пшениці м'якої озимої кодуються шістьма основними локусами на коротких плечах хромосом першої (*Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*) і шостої (*Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*) гомеологічних груп [2]. Основні локуси гліадинів пшениці характеризуються високим рівнем поліморфізму. За літературними даними, у генофонді пшениці м'якої озимої ідентифіковано більше 180 алелів у цих локусах [3]. Крім основних локусів, на коротких плечах хромосом першої гомеологічної групи ідентифіковано мінорні локуси гліадинів [4]. Мінорний локус *Gli-A5* знаходиться на відстані 2 сМ від *Gli-A1*, локус *Gli-A6* локалізовано на відстані 2–5 сМ від *Gli-A1* [5]. Локус *Gli-B5* локалізовано на відстані 1,4 сМ від локусу *Gli-B1* [6]. Мінорні локуси *Gli-A3* та *Gli-B3* картовано на відстані 20 сМ від *Gli-A1* і *Gli-B1* [5]. З локусами *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* тісно зчеплені локуси, які кодують субодиниці низькомолекулярних глютенінів *Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3* [2].

На довгих плечах хромосом першої гомеологічної групи розміщені локуси високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, які містять по два гени, що кодують х- та у-субодиниці. Ген х-типу визначає структуру високомолекулярних субодиниць з більшою молекулярною масою, а ген у-типу – з меншою. Виявлено вищий рівень поліморфізму генів у локусах *Glu-B1* і *Glu-D1* у порівнянні з локусом *Glu-A1* [7].

В локусі *Glu-A1*, серед 23 описаних у літературі, найбільш поширеними є алелі *Glu-A1a*, *Glu-A1b* і *Glu-A1c*. У локусі *Glu-B1* виявлено 87 алелів, серед яких найчастіше зустрічаються такі: *Glu-B1a*, *Glu-B1ak*, *Glu-B1al*, *Glu-B1u*, *Glu-B1c*, *Glu-B1d*, *Glu-B1e*, *Glu-B1f*, *Glu-B1h*, *Glu-B1i*. В локусі *Glu-D1* на сьогоднішній день відомо 25 різних алелів [8].

Мета роботи – визначити частоту алелів

© САНДЕЦЬКА Н. В., РАДЧЕНКО О. М., ШЕГЕДА І. М.

локусів запасних білків у сортах української селекції, створених двома різними селекційними центрами: Інститутом фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРГ НАН України) та Селекційно-генетичним інститутом – Національним центром насіннєзнавства і сортовивчення НААН України (СГІ НЦНС НААН України).

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження були 50 сортів пшениці м'якої озимої селекції ІФРГ НАН України та 20 сортів селекції СГІ НЦНС НААН України. Електрофорез гліадинів проводили за методикою [9] у 10 % поліакриламідному гелі. Високомолекулярні субодиниці глютеніну аналізували електрофорезом в присутності додецилсульфату натрію (SDS) за методикою Леммлі [10]. Для кожного сорту було проаналізовано 20 зерен. Виявлення алелів локусів *Glu-B1* і пшенично-житніх транслокацій 1AL.1RS, 1BL.1RS також здійснювали шляхом ПЛР з використанням специфічних праймерів (табл. 1).

Алелі локусів гліадинів ідентифікували за каталогом Метаковського [3]. Маркером транслокації 1BL.1RS є присутність алеля *Gli-B1l*, раніше позначеного *GLD 1B3*. Маркером транслокації 1AL.1RS є присутність алеля *Gli-A1w*, раніше позначеного *Gld 1A17* [3]. Алелі локусів високомолекулярних глютенінів ідентифікували за каталогом Payne and Lawrence [13]. Для ідентифікації алелів застосовували порівняння електрофоретичних спектрів із спектрами сортів з раніше визначеними алелями локусів запасних білків.

Результати та обговорення

Для дослідження використано дві групи сортів пшениці м'якої озимої селекції ІФРГ НАН України, розташованого у зоні Лісостепу, та СГІ НЦНС НААН України, розташованого у зоні Степу. Було визначено алельний склад локусів запасних білків *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*. Частоти алелів локусів запасних білків у різних групах сортів наведено в таблиці 2.

За локусом *Gli-A1* у групі сортів селекції ІФРГ НАН України виявлено вісім алелів. Одним з них є алель *Gli-A1w*, який є маркером пшенично-житньої транслокації 1AL.1RS. Для визначення транслокації використовували ПЛР з праймерами до мікросателітного локусу *SCM9* та електрофорез запасних білків. Транслокація 1AL.1RS набула поширення серед сортів пше-

ниці завдяки присутності генів стійкості до попелиці (*Gb2*, *Gb6*) та борошнистої роси (*Pm17*). У ділянці транслокації 1AL.1RS знаходиться ген стійкості до стеблової іржі *Sr1RS*, який є ефективним проти всіх відомих біотипів раси стеблової іржі Ug99 [4]. Також треба відмітити алель *Gli-A1b*, який був присутній у вибірці сортів селекції ІФРГ НАН України з частотою 30 %. Алель *Gli-A1f* виявлений у чотирьох сортах селекції ІФРГ НАН України. Зазначимо, що цей алель поширений серед австралійської й іранської пшениці [14]. Алель *Gli-A1o*, який був виявлений у 9 сортів селекції ІФРГ НАН України, широко розповсюджений у сортів пшениці з Канади, Мексики, країн Скандинавії, Іспанії та Китаю [3]. В групі сортів селекції СГІ НЦНС НААН України виявлено два алелі: *Gli-A1b* і *Gli-A1g*, де переважав алель *Gli-A1b* з частотою 65 %.

За локусом *Gli-B1* у вибірці сортів селекції ІФРГ НАН України виявлено чотири алелі, серед яких переважають два – алель *Gli-B1b* (64 %) та алель *Gli-B1l* (28 %), який є маркером пшенично-житньої транслокації 1BL.1RS, яка несе гени стійкості до таких хвороб, як бура іржа (*Lr26*), стеблова іржа (*Sr31*), жовта іржа (*Yr9*) та борошниста роса (*Pm8*). Серед досліджених сортів селекції СГІ НЦНС НААН України за локусом *Gli-B1* також виявлено чотири алелі, серед яких переважає алель *Gli-B1b* (80 %). Алель *Gli-B1l*, який є маркером пшенично-житньої транслокації 1BL.1RS, в одеських сортах виявлений з частотою 5 %, що можна пояснити значним зниженням показників хлібопекарської якості у сортів пшениці з транслокаціями в умовах Степу України (рис. 1).

За локусом *Gli-D1* у сортах селекції ІФРГ НАН України виявлено п'ять алелів, серед яких переважає алель *Gli-D1b* (64 %). Алель *Gli-D1b*, характерний для сортів пшениці Франції, Мексики, Португалії, Болгарії, Сербії [3], Ірану та Англії [14]. Серед сортів селекції СГІ НЦНС НААН України за цим локусом виявлено три алелі, де переважає алель *Gli-D1g* (80 %).

У сортах селекції ІФРГ НАН України в локусі *Glu-A1* ідентифіковано три алелі: *Glu-A1a*, *Glu-A1b* і *Glu-A1c* з частотою 54,0 %, 36,0 % та 10,0 % відповідно. У сортах селекції СГІ НЦНС НААН України також виявлено три алелі: *Glu-A1a*, *Glu-A1b* і *Glu-A1c* (рис. 2). Алелі *Glu-A1a* і *Glu-A1b* мають позитивний вплив на хлібопекарську якість, а алель *Glu-A1c* – негативний [8].

Таблиця 1. Перелік праймерів, що використовувалися в дослідженні алелів локусів запасних білків

№	Нуклеотидна послідовність	Довжина фрагмента, який ампліфікується, п.н	Призначення
1.	5'-TGACAACCCCTTTCCCTCGT-3' 5'-TCATCGACGCTAAGGAGGACCC-3' [11]	226 – 1AL.1RS 202 – 1BL.1RS	SCM9 визначення типу транслокації
2.	5'-CCTCA GCATG CAAAC ATGCA GC-3' 5'- CTGAA ACCTT TGGCC AGTCA TGTC-3' [12]	563 – <i>Glu-B1al</i> 520 – інші алелі локусу <i>Glu-B1</i>	визначення алелю <i>Glu-B1al</i>

Таблиця 2. Частота алелів локусів запасних білків у сортах пшениці м'якої озимої української селекції двох різних селекційних центрів

Алель	ІФРТ НАН України	СТІ НЦНС НААН України
<i>Glu-A1</i>		
<i>a</i>	0,540	0,350
<i>b</i>	0,360	0,600
<i>c</i>	0,100	0,050
<i>Glu-B1</i>		
<i>al</i>	0,060	0,250
<i>u</i>	0,220	0,550
<i>c</i>	0,500	0,200
<i>d</i>	0,200	0,000
<i>h</i>	0,020	0,000
<i>Glu-D1</i>		
<i>a</i>	0,220	0,050
<i>d</i>	0,780	0,950
<i>Gli-A1</i>		
<i>b</i>	0,300	0,650
<i>c</i>	0,060	0,000
<i>f</i>	0,080	0,000
<i>o</i>	0,180	0,000
<i>w</i>	0,220	0,000
<i>x</i>	0,120	0,000
<i>y</i>	0,020	0,000
<i>g</i>	0,020	0,350
<i>Gli-B1</i>		
<i>b</i>	0,660	0,800
<i>e</i>	0,000	0,100
<i>c</i>	0,000	0,050
<i>f</i>	0,020	0,000
<i>l</i>	0,280	0,050
<i>h</i>	0,040	0,000
<i>Gli-D1</i>		
<i>b</i>	0,640	0,050
<i>f</i>	0,060	0,000
<i>g</i>	0,220	0,800
<i>j</i>	0,060	0,150
<i>l</i>	0,020	0,000

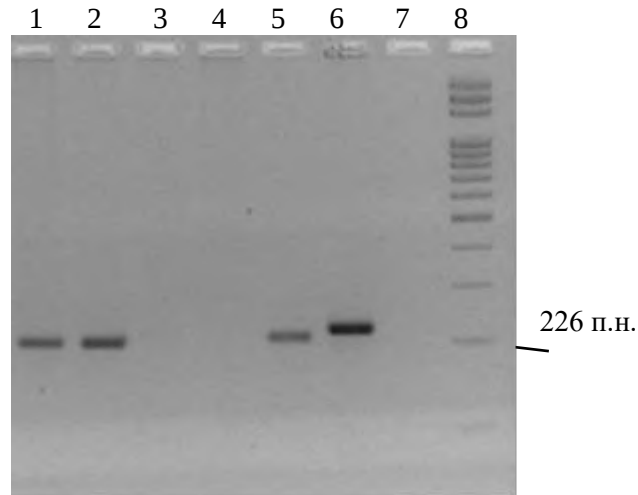


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК сортів пшениці м'якої озимої з праймерами до алелів *Gli-B1l* і *Gli-A1w*: 1, 2 – Новокиївська, 3, 4 – Богдана, 5 – Астарта, 6 – Золотоколоса, 7 – негативний контроль без додавання ДНК (ТЕ-буфер); 8 – маркер молекулярної ваги GeneRuler™ DNA LadderMix.

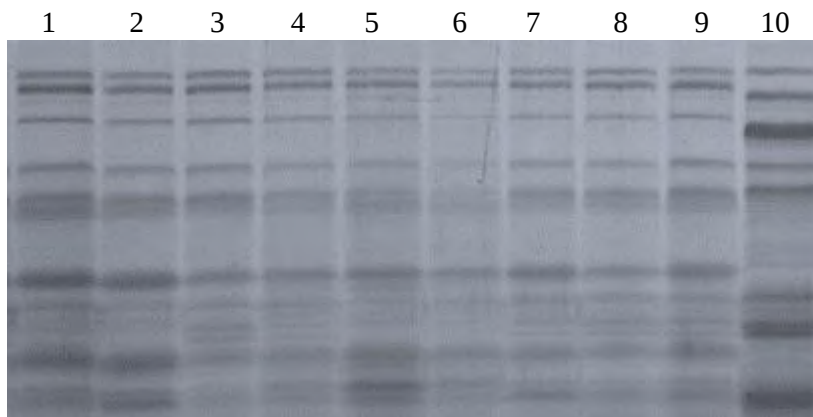


Рис. 2. Електрофореграма спектрів високомолекулярних глютенінів сортів пшениці м'якої озимої: 1–9 – Смуглянка, 10 – Донор Київський.

Серед п'яти ідентифікованих алелів локуса *Glu-B1* у сортах селекції ІФРГ НАН України з найбільшою частотою виявлені алелі *Glu-B1c* (50 %) і *Glu-B1u* (22 %) (рис. 3). У сортах СГІ НЦНС НААН України за цим локусом виявлено три алелі, серед яких переважають алелі *Glu-B1u* (55 %) і *Glu-B1al* (25 %). Алель *Glu-B1d* має негативний вплив на хлібопекарську якість, а алелі *Glu-B1al* і *Glu-B1u* впливають на неї позитивно [8].

За локусом *Glu-D1* в обох групах сортів переважає алель *Glu-D1d*, який кодує високомолекулярні субодиниці глютенінів 5+10, пов'язані з високим рівнем хлібопекарської якості [2].

Ми проаналізували частоту алелів локусів запасних білків у сортах пшениці м'якої озимої української селекції двох селекційних центрів з

різними ґрунтово-кліматичними умовами – зони Лісостепу (ІФРГ НАН України) та Степу (СГІ НЦНС НААН України). Ці групи сортів мають набори алелів, що перекриваються: *Gli-A1b*, *Gli-A1g*, *Gli-B1b*, *Gli-D1b*, *Gli-D1g*, *Gli-D1j*, *Glu-A1a*, *Glu-A1b*, *Glu-A1c*, *Glu-B1al*, *Glu-B1c*, *Glu-B1u*, *Glu-D1a*, *Glu-D1d*. Водночас групи сортів відрізняються за частотою більшості спільних алелів та мають алелі, унікальні для кожного селекційного центру. Таким чином, групи сортів селекції ІФРГ НАН України і СГІ НЦНС НААН України, створені в різних природних зонах (Лісостеп і Степ), мають алелі, характерні лише для певної групи, і відрізняються за частотою виявлення спільних алелів.

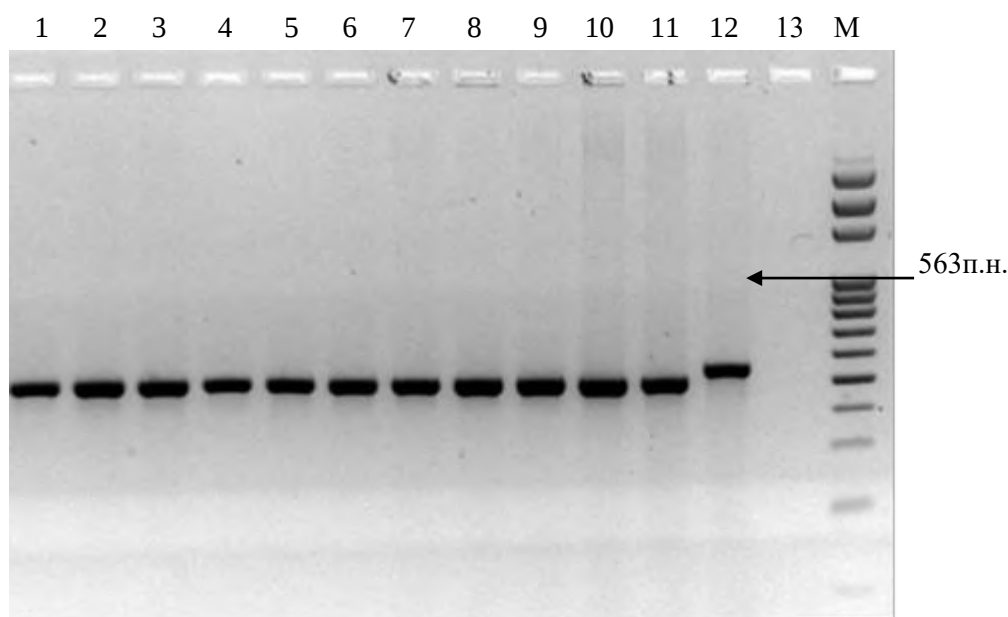


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК сортів пшениці м'якої озимої з праймерами до алеля *Glu-B1a1*: 1-4 – Наталка, 5-9 – Подолянка, 10, 11 – Зимоярка, 12 – Донор Київський, 13 – негативний контроль без додавання ДНК (ТЕ буфер), М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA LadderMix.

Висновки

Проаналізовано сорти пшениці м'якої озимої двох різних селекційних центрів – Інституту фізіології рослин і генетики та Селекційно-генетичного інституту, за гліадиновими локусами *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* і локусами високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*. Ідентифіковано алелі локусів гліадинів і високомолекулярних глютенінів, які характерні для конкретного селекційного центру. На основі проведених досліджень алелів локусів запасних білків показано, що групи сортів, створених у різних селекційних центрах, характеризуються певним набором алелів, який є результатом добору в специфічних умовах певного регіону.

Найчастіше серед сортів пшениці селекції ІФРГ НАН України були виявлені алелі локусів

високомолекулярних глютенінів *Glu-A1a*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d* і гліадинів *Gli-A1b*, *Gli-B1b*, *Gli-D1b*, серед сортів селекції СГІ НЦНС НААН України – алелі *Glu-A1b*, *Glu-B1u*, *Glu-D1d* і *Gli-A1b*, *Gli-B1b*, *Gli-D1g*. Виявлено, що майже 50 % сортів селекції ІФРГ НАН України мають пшенично-житні транслокації 1AL.1RS і 1BL.1RS. Сорти пшениці з транслокацією 1BL.1RS містять гени, що контролюють стійкість до таких хвороб, як бура іржа (*Lr26*), стеблова іржа (*Sr31*), жовта іржа (*Yr9*) та борошніста роса (*Pm8*). Сорти пшениці з транслокаціями більш посухостійкі, мають підвищену адаптаційну здатність та вищу врожайність. Лише 10 % сортів селекції СГІ НЦНС НААН України мали пшенично-житні транслокації 1AL.1RS і 1BL.1RS.

References

1. Kozub N. A., Sozinov I. A., Chaika V. M., Sozinova I. O., Yanse L. A., Blum Y. B. Changes in allele frequencies at storage proteins of winter common wheat under climate change. *Cytology and Genetics*. 2020. Vol. 54 (4). P. 30–45. <https://doi.org/10.3103/S0095452720040076>. [in Ukrainian]
2. Payne P. I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Annual Review of Plant Physiology*. 1987. Vol. 38. P. 141–153. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.38.060187.001041>.
3. Metakovsky E., Melnik V., Rodriguez-Quijano M., Upelniek V., Carrillo J. M. A catalog of gliadin alleles: Polymorphism of 20th-century common wheat germplasm. *The Crop Journal*. 2018. Vol. 6 (6). P. 628–641. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.02.003>.
4. McIntosh R. A. Catalogue of Gene Symbols, Gene Catalogue, 2013. Retrieved from: <https://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jspMacGene>.

5. Metakovsky E., Melnik V. A., Pascual L., Wrigley C. W. Gliadin genotypes worldwide for spring wheats (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity and grain-quality gliadin alleles during the 20th century. *Journal of Cereal Science*. 2019. Vol. 87. P. 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.008>.
6. Metakovsky E. V., Gomez M., Vazquez J. F., Carrillo J. M. High genetic diversity of Spanish common wheats as judged from gliadin alleles. *Plant Breeding*. 2000. Vol. 119 (1). P. 37–42. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00450.x>.
7. Vaiciulyte-Funk L., Juodeikiene G., Bartkiene E. The relationship between wheat baking properties, specific high molecular weight glutenin components and characteristics of varieties. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2015. Vol. 102 (2). P. 229–238. <https://doi.org/10.13080/za.2015.102.030>.
8. Bekes F., Wrigley C. W. Gluten alleles and predicted dough quality for wheat varieties worldwide: a great resource – free on the AACCI international website. *Cereal Foods World*. 2013. Vol. 58 (6). P. 325–328. <http://doi.org/10.1094/CFW-58-6-0325>.
9. 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 cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine. *Cytology and Genetics*. 2009. Vol. 43 (1). P. 55–62. <http://doi.org/10.3103/S0095452709010101>. [in Ukrainian]
10. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970. Vol. 227. P. 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
11. Saal D., Wricke G. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.). *Genome*. 1999. Vol. 42. P. 964–972. <https://doi.org/10.1139/g99-052>.
12. 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. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003. Vol. 107. P. 1524–1532. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1396-8>.
13. 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. *Cereal Research Communications*. 1983. Vol. 11. P. 29–34.
14. Salavati A., Sameri H., Boushehri A. A. S., Yazdi-Samadi B. Evaluation of genetic diversity in Iranian landrace wheat *Triticum aestivum* L. by using gliadin alleles. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2008. Vol. 7 (5). P. 440–446. <https://doi.org/10.3923/ajps.2008.440.446>.

SANDETSKA N. V., RADCHENKO O. M., SHEHEDA I. M.

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

ALLELE FREQUENCY OF RESERVE PROTEIN LOCI IN UKRAINIAN BREEDING VARIETIES

Aim. To determine the allele frequency of reserve protein loci in varieties of Ukrainian breeding developed by two different breeding centres: The Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine (IFRG of the National Academy of Sciences of Ukraine) and the Selection and Genetic Institute - National Centre for Seed Science and Variety Studies of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (SGI – NCSC of NAAS of Ukraine). **Methods.** The material for the study was 50 varieties of wheat of IFRG of NAS of Ukraine and 20 varieties of SGI – NCSC of NAAS of Ukraine. High molecular weight glutenin subunits were analysed by electrophoresis in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) according to the Lemmley method. PCR with primers to the microsatellite locus SCM9 and electrophoresis of the storage proteins were used to determine the translocation. **Results.** The composition and allele frequencies of loci *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* in the samples of varieties of IFRG of NAS of Ukraine and SGI – NCSC of NAAS of Ukraine were determined. The alleles of gliadin and high molecular weight glutenin loci, which are characteristic of varieties of a particular breeding centre, were identified. **Conclusions.** Based on the study of alleles of reserve protein loci, it was shown that groups of varieties developed in different breeding centres are characterised by a certain set of alleles. The most frequent alleles among wheat varieties developed by IFRG of NAS of Ukraine were those of high molecular weight glutenins *Glu-A1a*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d* and gliadins *Gli-A1b*, *Gli-B1b*, *Gli-D1b*, and among Odesa varieties - alleles of *Glu-A1b*, *Glu-B1u*, *Glu-D1d* and *Gli-A1b*, *Gli-B1b*, *Gli-D1g*. It was found that almost 50 % of varieties of IFRG of NAS of Ukraine have wheat-rye translocations 1AL.1RS and 1BL.1RS.

Keywords: *Triticum aestivum* L., grain storage proteins, loci of high molecular weight glutenins and gliadins.