

## ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ ПШЕНИЦІ, ЯКІ ВИЗНАЧАЮТЬ ЯКІСНІ ОЗНАКИ, У ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

Контроль пшеничного зерна, яке використовується для отримання борошна, є важливим моментом для отримання високоякісного хліба, локшини, здобних виробів, продуктів-напівфабрикатів із замороженого тіста тощо. Проте вимоги для сортів пшениці різного напрямку використання (хлібопекарське, виробництво локшини, кондитерських виробів тощо) є радикально різними.

Так, за даними [1] пшениця, яка придатна для випікання формового хліба, має містити інші алелі високомолекулярних глютенінів, ніж пшениці, основним напрямком використання яких є випікання подового хліба, виготовлення локшини або кондитерських виробів. Для сортів пшениці, які придатні для випікання формового та подового хліба, виготовлення локшини, оптимальним є наявність алелів *Glu-A1 1* або *Glu-A1 2\**, проте для отримання якісних кондитерських виробів бажана наявність алеля *c* (відсутність білкових субодиниць локусу — нуль-алель) [1]. Алель *al* є одним з найсильніших серед відомих у пшениці алелів локусу *Glu-B1* за своїм позитивним впливом на якість борошна і широко застосовується у селекційних програмах [2]. Алелі локусу *Glu-D1* мають найсильніший вплив на хлібопекарські властивості пшеничного борошна. За [3] алель *d* (за якого синтезуються субодиниці 5 та 10) з індексом якості 4 має виражений позитивний вплив на якість борошна. З іншого боку, поширений алель *a* (субодиниці 2 та 12) має негативний вплив на отримання якісного формового хліба, проте рекомендований для сортів, які використовуються для виготовлення подового хліба, локшини та кондитерських виробів [1].

Небажане потемніння та знебарвлення макаронних виробів, подового хліба та парових хлібобулочних виробів обумовлюється поліфенолоксидазою (ПФО) — рослинним ферментом, який каталізує окислення фенолів шляхом гідроксилування і дегідрування з утворенням орто-хінонних сполук [4–6]. Висока активність ПФО погіршує якість більшості класів локшини

та продуктів із замороженого тіста, особливо з борошна білозерних сортів пшениці [7].

Багаторічне використання і дослідження сортів з пшенично-житньою транслокацією 1BL.1RS дозволило виявити, що локус *Sec-1*, який входить до її складу, спричиняє негативний вплив на хлібопекарські якості пшениці. Важливу роль у цьому відіграють білки-секаліни, що кодується геном *sec-1* жита, який переміщений у хромосому пшениці, незалежно від того, в яку з гомологічних хромосом пшениці 1A чи 1B транслоковано плече 1RS [8, 9]. В основі погіршення хлібопекарської якості лежить неспроможність секалінів жита утворювати з пшеничними білками нерозчинні високополімерні протейнові комплекси, які є основою формування клейковини з високими фізичними показниками якості [10]. Отже, важливо контролювати алелі генів ВМГ, генів поліфенолоксидазної активності та наявність пшенично-житніх транслокацій у пшеничному борошні та харчових продуктах з нього для вибору оптимальної марки для різного технологічного використання.

### Матеріали і методи

Об'єктом дослідження була вибірка харчових продуктів, яка включала в себе: 24 зразки пшеничного борошна вітчизняного та російського виробництва, 14 зразків вітчизняної та зарубіжної локшини, 7 продуктів із замороженого тіста. В якості контролів використовували сорти пшениці вітчизняної селекції, які є носіями пшенично-житніх транслокацій 1AL.1RS1 та 1BL.1RS, різних алелів генів *Glu* та *Ppo*.

Загальна ДНК виділялася за допомогою модифікованого ЦТАБ методу [11]. Визначення алелів генів *Glu-1* базувалося на використанні специфічних праймерів, запропонованих [12, 13] шляхом мультиплексних ПЛР. Визначення поліморфізму локусу *SCM9*, який свідчить про наявність пшенично-житніх транслокацій, здійснювали із застосуванням специфічних праймерів [14] з використанням дуплексної ПЛР. Іден-

тифікація алелей високої та низької активності ферменту ПФО проводилася за допомогою двох STS маркерів PPO33 та PPO29 з використанням специфічних праймерів [15] методом дуплексної ПЛР. Розділення продуктів ампліфікації проводили методом горизонтального електрофорезу в агарозному гелі.

### Результати та обговорення

За допомогою маркерних систем нами була проаналізована вибірка харчових продуктів на наявність цінних алелів генів ВМГ, генів полі-

фенолоксидазної активності та наявність пшенично-житніх транслокацій. Зведені результати дослідження наведені в табл.

Серед досліджуваного борошна пшениці та продуктів із замороженого тіста було виявлено гетерогенність усіх зразків за локусом *Glu-A1*. Для локшини вітчизняних та російських торговельних марок «КМФ», «Макфа», «Тая», «Хуторок» та «Чумак» також спостерігали наявність декількох алелів гена, проте у локшинах марок «Букатіні» (ТЦ «Ашан»), ТМ «Циндао», «Pasta di puglia», «Sedanini Rigati» та «Spaghetti» не

Таблиця

### Зведені результати дослідження

№	Продукт, торгова марка	Виробник	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1a1</i>	<i>Glu-D1</i>	1RS <span>транс-локації</span>	<i>Ppo-A1</i>	<i>Ppo-D1</i>
Борошно								
1	Пшеничне борошно, вг	ОАО «Макфа», Російська Федерація	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	—	<i>a</i>	<i>b</i>
2	Борошно пшеничне, вг	ТОВ «Август-Кий», смт Гостомель	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
3	Борошно цілнозернове пшеничне	ПАТ «Луганськ-Нива», ТМ «Добродія», м. Луганськ	(1/0)/2*	—	5+10	1AL	<i>a</i>	<i>b</i>
4	Борошно пшеничне, вг	«Хуторок», Дніпропетровська обл.	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
5	Борошно пшеничне, вг	ПрАТ «Київмлин», м. Київ	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
6	«Такіда. Зваримо разом». Борошно пшеничне, вг	ПАТ КП Білоцерківхлібопродукт, м. Біла Церква,	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
7	«Щедрі Брати». Борошно пшеничне, вг	ТОВ «Альфа-Віста», Київська обл.	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/ 1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
8	«Веселий Кок». Борошно пшеничне, вг	ТОВ «Август-Кий», смт Гостомель	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
9	Борошно пшеничне, вг	ТОВ «Август-Кий», смт Гостомель	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
10	«Повна чаша». Борошно пшеничне, вг	ТОВ «Осавіахім», с. Скворцове, АР Крим	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
11	Борошно пшеничне покращеної якості, вг	ПАТ КП «Білоцерківхлібопродукт», м. Біла Церква	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
12	«Екород — борошно пшеничне органічне», вг	ТОВ «Органік Оригінал», м. Вишгород	(1/0)/2*	+/-	5+10	1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
13	«Добра вигода». Борошно пшеничне, вг	ПП «Агроінвест», м. Барвінкове, Харківська обл.	(1/0)/2*	+/-	5+10	1AL	<i>a</i>	<i>b</i>
14	Борошно пшеничне, вг	ТОВ «Міра-Трейд», смт Коцюбинське	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
15	Борошно пшеничне	м. Корсунь-Шевченківський, Черкаська обл.	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
16	«Богуміла». Борошно пшеничне, вг	ДП «Кулідровський комбінат хлібопродуктів», м. Одеса	(1/0)/2*	+/-	5+10	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>

Продовження табл.

№	Продукт, торгова марка	Виробник	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1a1</i>	<i>Glu-D1</i>	1RСтранс-локації	<i>Ppo-A1</i>	<i>Ppo-D1</i>
17	Борошно, вг	ТОВ «Дніпромлин», м. Дніпропетровськ	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
18	Борошно жорнове пшеничне цілозернове	ТОВ «Август-Кий», смт Гостомель, Київська обл.	1/0/ (н.д. 2*)	—	5+10/2+12	1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
19	Борошно пшеничне цілозернове грубого помелу	МПП ФПФ «Унава», с. Самгородок, Київська обл.	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL	<i>a</i>	<i>b</i>
20	Борошно пшеничне, вг, «Фуршет»	ТОВ «ЗПК», м. Бровари, Київська обл.	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL	<i>a</i>	<i>b</i>
21	Борошно пшеничне, перший гатунок. «Народна марка»	ТОВ «ЗПК», м. Бровари, Київська обл.	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
22	Борошно пшеничне	м. Тальне, Черкаська обл.	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
23	Борошно пшеничне	«Хуторок», смт Ювілейне	(1/0)/2*	—	5+10	1AL/1BL	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
24	Борошно «Extra»	«Extra», Україна	(1/0)/2*	—	5+10	1BL	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
Продукти із замороженого тіста								
1	Тісто заморожене листкове	ТМ «Премія»	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL	<i>a</i>	<i>b</i>
2	Равіолі «Русские»	ТМ «Глечик», м. Одеса	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
3	Равіолі «Домашні»	ТМ «Повна чаша»	(1/0)/2*	+/-	5+10	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
4	Фірмові пельмені	ТМ «Геркулес», м. Донецьк	(1/0)/2*	+/-	5+10	1AL	<i>a</i>	<i>b</i>
5	Тісто дріжджове	Російська Федерація	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	—	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
6	Равіолі «Застольні»	ТМ «Економька», м. Одеса	(1/0)/2*	+/-	5+10	—	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
7	Тісто дріжджове	ТМ «Премія», Україна	(1/0)/2*	+/-	5+10 (н.д. 2+12)	1AL/1BL	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
Локшина								
1	Вермішель на домашньому бульйоні «Роллтон»	ТОВ «Маревен Фуд Україна», м. Біла Церква	(1/0)/2*	+/-	5+10	—	<i>a</i>	<i>b</i>
2	Пшенична локшина Удон «JS»	ТМ «Циндао», Китай	1/0	—	2+12 (н.д. 5+10)	1BL	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
3	Спіральки з какао-порошком	ТМ «Bella Pasta», Україна	1/0	—	—	1BL	<i>a</i>	—
4	Макаронні палички	ТМ «Sedanini Rigati», Італія	1/0	—	— (н.д.)	—	<i>a</i>	—
5	Макаронні різки	ТМ «Pasta di puglia», Італія	1/0	—	— (н.д.)	—	<i>a</i>	—
6	Вермішель	ТМ «Чумаки», Україна	(1/0)/2*	+/- (н.а.)	5+10	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
7	Спагетті	ТМ «Riscoposa Pastificio», Італія	(1/0)/ (2* н.д.)	—	— (н.д.)	—	<i>a</i>	—
8	Спагетті «Spaghetti Ristorante»	ТМ «Riscoposa Pastificio», Італія	(1/0)/ (2* н.д.)	—	— (н.д.)	—	<i>a</i>	—
9	Вермішель тонка	ТМ «КМФ», Україна	(1/0)/2*	+/-	5+10/2+12	1AL	<i>a/b*</i>	<i>b</i>
10	Класичні	ТМ «Гая», Україна, м. Хмельницький	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	1AL/1BL	<i>a</i>	<i>b</i>
11	Спіральки	ТМ «Макфа», Російська Федерація	(1/0)/2*	—	5+10/2+12	—	<i>a</i>	<i>b</i>
12	«Фантазія»	ТМ «Макфа», Російська Федерація	1/0	—	—	—	<i>a</i>	—
13	«Букатіні»	ТМ «Ашан», Україна	1/0	—	—	—	<i>a</i>	—
14	Макаронні ракушки	ТМ «Хуторок», Україна	(1/0)/2*	—	5+10	1AL	<i>a/b*</i>	<i>b</i>

Примітки: «—» — відсутня реакція за локусом; «н.д.» — незначні кількості матеріалу, який несе локус; «1/0» — наявність або алеля *Glu-A1*, або *Glu-A1 null*; «(1/0)/2\*» — гетерогенність матеріалу за алелями *Glu-A1*; для стовпчика *Glu-B1a1*: «+/-» — в зразку наявна значна кількість матеріалу з алелем *a1*; «+/- -»», «+/- — —» — в зразку наявні незначні домішки матеріалу з алелем *a1*; «н.а.» — зразок несе нетиповий алель локусу *Glu-B1*, характерний для сорту Новокиївська; для стовпчика *Glu-D1*: «5+10» або «2+12» — зразок містить гомогенний пшеничний матеріал за локусом; «5+10/2+12» — зразок гетерогенний за локусом; «1AL», «1BL», «1AL/1BL» — наявність одного або 2-х типів транслокації у зразку; «*a*» — алелі *Ppo-A1a* та *Ppo-D1a*; «*b*» — *Ppo-A1b* та *Ppo-D1b*; «*a/b\**» — генотипи з нетиповим ампліконом; «вг» — вищого гатунку.

було виявлено алеля *Glu-A12\**. Для локшин ТМ «Riscossa Pastificio» спостерігали незначні домішки алеля *Glu-A12\**. Ці дані свідчать про значну гетерогенність вихідного пшеничного матеріалу у вітчизняному борошні, продуктах із замороженого тіста та локшини. Варто особливо відзначити, що для елітних італійських та вітчизняних локшин характерна гомогенність пшеничного матеріалу за локусом *Glu-A1*, окрім ТМ «Riscossa Pastificio» (це можна пояснити наявністю домішок борошна м'якої пшениці, що додатково підтверджується виявленням слідових кількостей локусу *Glu-D1*, який не характерний для твердої пшениці).

Алель *Glu-B1a1* був ідентифікований в 11 зразках борошна переважно у вигляді домішок. Крім того, алель *al* містився у трьох зразках локшини та в усіх продуктах із замороженого тіста. Проте зразку, який був би носієм суто цього алеля, не було знайдено. Необхідно відзначити, що серед зразків борошна найбільший вміст алеля *al* спостерігається для борошна пшеничного вищого сорту Богумила (м. Одеса). Це корелює з тим, що на сьогодні більшість сортів носіїв даного цінного хлібопекарського алеля належать до одеського центру селекції. Наявність алеля *al* приводить до підвищення хлібопекарської якості борошна, а отже можна прогнозувати, що борошно з ним є більш цінним для випікання формового хліба.

Було виявлено 13 гомогенних зразків за локусом *Glu-D1*, які є носіями алеля 5+10. Усі інші зразки, крім локшини з твердих сортів, виявили наявність як алеля 5+10, так і алеля 2+12. Локшина Удон «JS» виявилася практично гомогенним зразком, який містить алель 2+12. Необхідно відзначити, що алель 5+10 має значний позитивний вплив на якість формового хліба, а отже борошно, гомогенне за цим алелем, матиме підвищені хлібопекарські властивості. Проте для виробництва локшини оптимальним є наявність алеля 2+12.

Житній транслокативний матеріал був виявлений у 23 зразках борошна з 24-х. У 5-ти зразках (20,8%) виявлено суто 1AL.1RS транслокації, з них у 2-х зразках транслокація визначена у незначних кількостях. У 5-ти зразках (20,8%) ідентифіковано 1BL.1RS транслокацію, причому

у 4-х зразках — у вигляді домішок. В інших зразках (58,3%) були ідентифіковані обидва типи транслокацій, які визначалися як у значних кількостях, так і у вигляді домішок або обох типів, або одного типу транслокації. Інтрогресивний матеріал також був визначений у 5-ти продуктах з 7-ми із замороженого тіста (71,4%) та в 6-ти зразках з 14-ти локшини (42,9%).

Результати підтверджують дуже широке сучасне використання сортів з даними транслокаціями для отримання борошна та харчових продуктів з нього. Разом з тим отримані дані додатково свідчать про гетерогенність вихідного зернового матеріалу, який використовується для виробництва борошна. Враховуючи, що транслокації мають негативний вплив на якість борошна, можна прогнозувати знижені показники окремих марок борошна при приготуванні виробів з нього.

Було також виявлено, що 2 зразки борошна, 3 локшини та 4 продукти з замороженого тіста є носіями алеля *a/b\** гена *Ppo-A1a*, тому можна прогнозувати для них зменшення поліфенолоксидазної активності. Решта зразків несли алель високої активності *Ppo-A1a*. Окрім того, всі досліджувані зразки харчових продуктів (окрім локшини з твердих сортів пшениці, для яких не очікували появи позитивного сигналу) є носіями алеля *Ppo-D1b*, який обумовлює високу активність ПФО зерна пшениці. Ці дані свідчать про високу активність ПФО у харчових продуктах, а отже про потенційну здатність їх до потемніння та втрату якості під час зберігання.

## Висновки

Отримані дані щодо виявлення алелів генів, які визначають якісні показники пшениці, свідчать про значну гетерогенність вихідного матеріалу, що використовується для виготовлення борошна та виробництва локшини і продуктів із замороженого тіста. В борошні виявлено ряд алелів, які негативно впливають на хлібопекарські властивості, проте є бажаними для інших напрямків використання. Враховуючи отримані дані, системи ДНК-маркерів будуть корисними для додаткового контролю харчових продуктів на придатність їх до певного спеціалізованого технологічного напрямку використання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Cornish G. B., Bekes F., Eagles H. A., Payne P. I. Prediction of dough properties for bread wheats.— In Wrigley C. W., Bekes F., Bushuk W. Gliadin and glutenin: the unique balance of wheat quality.— St. Paul, MN, AACCI International, 2006.— P. 243–280.
2. Butow B. J., Ma W., Gale K. R., Cornish G. B., Rampling L., Larroque O., Morell M. K., 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.— 107 (8).— P. 1524–1532.
3. Payne P., Corfield K., Holt L., Blackman J. A. Correlations between the inheritance of certain high-molecular weight glutenin subunits and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat // *J. Sci. Food Agric.*— 1981.— 32.— P. 51–60.
4. Simeone R., Pasqualone A., Clodoveo M. L., Blanco A. Genetic mapping of polyphenol oxidase in tetraploid wheat // *Cell Mol Biol Lett.*— 2002.— 7.— P. 763–769.
5. McCallum J. A., Walker J. R. L. O-diphenol oxidase activity, phenolic content and colour of New Zealand wheats, flours and milling streams // *J Cereal Sci.*— 1990.— 12.— P. 83–96.
6. Dexter J. E., Preston K. R., Matsuo R. R., Tipples K. H. Development of a high extraction flour for the GRL Pilot Mill to evaluate Canadian wheat potential for the Chinese market // *Can. Inst. Food Sci. Technol.*— 1984.— 14.— P. 253–259.
7. Feillet P., Autran J. C., Icard-Verniere C. Pasta brownness: an assessment // *J. Cereal Sci.*— 2000.— 32.— P. 215–233.
8. Zeller F., Günzel G., Fischbeck G. Veränderung der backeigenschaften der weizen-roggen-chromosomen-translokation 1B/1R // *Getreide Mehl Brot.*— 1982.— 36.— P. 141–143.
9. Singh N. K., Shepherd K. W., McIntosh R. A. Linkage mapping of genes for resistance to leaf, stem and stripe rusts and  $\omega$ -secalins on the short arm of rye chromosome 1R // *Theoretical and Applied Genetics.*— 1990.— 80 (5).— P. 609–616.
10. Рибалка О. І. Якість пшениці та її поліпшення.— К.: Логос, 2011.— 495 с.
11. Stewart C. N., Via L. E. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications // *BioTechniques.*— 1993.— 14 (5).— P. 748–749.
12. Butow B. J., Gale K. R., Ikea J., Juhasz A., Bedo Z., Tamas L., Gianibelli M. C. Dissemination of the highly expressed Bx7 glutenin subunit (*Glu-B1a1* allele) in wheat as revealed by novel PCR markers and RP-HPLC // *Theor. Appl. Genet.*— 2004.— 109.— P. 1525–1535.
13. Liu S. X., Chao S. M., Anderson J. A. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat // *Theor. Appl. Genet.*— 2008.— 118.— P. 177–183.
14. Saal D., Wricke G. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereal* L.) // *Genome.*— 1999.— 42.— P. 964–972.
15. He X. Y., He Z. H., Zhang L. P., Sun D. J., Morris C. F., Fuerst E. P. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the *PPO* genes in common wheat // *Theor. Appl. Genet.*— 2007.— 115.— P. 47–58.

## STEPANENKO A.I., STEPANENKO O.V., MORGUN B.V.

*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnoho str., 148, e-mail: molgen@icbge.org.ua*

## POLYMORPHISM OF WHEAT GENES THAT DETERMINE QUALITATIVE PROPERTIES IN FOOD PRODUCTS

**Aims.** Control of wheat grain used for flour production is an important issue for high-quality bread, noodles, cakes and semi-frozen dough. Allelic variation of genes of high molecular weight glutenin (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) and polyphenol oxidase (*PPO*) genes, presence of wheat-rye 1RS translocations effect on the quality of flour and determinate the optimal direction of their use. **Methods.** We employed the system of molecular markers based on PCR for detection alleles of genes and translocations. **Results.** Considerable heterogeneity of alleles in the source material which determine the quality properties of wheat in flour and food products made of flour (noodles and frozen products of dough) was found. A number of alleles with negative effect for the baking properties was identified in flour. But these alleles are desirable to make other products. **Conclusions.** The results of the study can be applied efficiently to identify genotypes of wheat that is used to make food products.

**Keywords:** *Triticum aestivum* L., flour, quality, PCR markers, food products.