

<https://doi.org/10.15407/frg2020.03.248>

УДК 577.112.7:577.217:633.11

ДОСЛІДЖЕННЯ АЛЕЛЬНОГО РІЗНОМАНІТТЯ ЛОКУСІВ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ТА НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЛЮТЕНІНІВ СОРТІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ

О.М. РАДЧЕНКО, Н.В. САНДЕЦЬКА

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: ales2009@ukr.net

За допомогою алельспецифічних праймерів та електрофорезу запасних білків у 37 сортах м'якої пшениці визначено алельний склад локусів низькомолекулярних глютенінів *Glu-A3*, *Glu-B3* і високомолекулярних глютенінів *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*. В локусі *Glu-A3* виявлено два алелі: *Glu-A3d* та *Glu-A3c* (переважав алель *Glu-A3c*); в локусі *Glu-B3* — чотири алелі: *Glu-B3b*, *Glu-B3j*, *Glu-B3g* і *Glu-B3d* (переважав алель *Glu-B3b*). В локусі *Glu-A1* — три алелі, переважав алель *Glu-A1a*. В локусі *Glu-B1* виявлено п'ять алелів: *Glu-B1al*, *Glu-B1b*, *Glu-B1c*, *Glu-B1d*, *Glu-B1h* (переважав алель *Glu-B1c*). В локусі *Glu-D1* — два алелі: *Glu-D1a* та *Glu-D1d* (переважав алель *Glu-D1d*). Для з'ясування залежності хлібопекарської якості борошна пшениці від алельного складу локусів високомолекулярних та низькомолекулярних глютенінів визначено технологічні показники: індекс седиментації борошна, сила борошна, індекс еластичності тіста, індекс розтяжності та пружності тіста, коефіцієнт деформації та співвідношення між пружністю та розтяжністю тіста, які зумовлюються клейковинними білками. Показана залежність хлібопекарської якості борошна від алельного складу локусів низькомолекулярних глютенінів *Glu-A3* та *Glu-B3*. Встановлено, що найвищими показниками седиментації, сили борошна та індексу еластичності тіста характеризуються сорти з алелями *Glu-B3b* та *Glu-B3g*. У сортів з алелем *Glu-A3c* індекс седиментації, сила борошна, індекс розтяжності та коефіцієнт деформації тіста були більшими, ніж у сортів з алелем *Glu-A3d*. Підтверджено, що алель *Glu-B1al* локусу високомолекулярного глютеніну *Glu-B1* характерний для пшениць з найвищими показниками хлібопекарської якості борошна.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., м'яка пшениця, запасні білки зерна, локуси низькомолекулярних та високомолекулярних глютенінів, ПЛР-аналіз.

Пшениця має велике економічне значення, оскільки є однією з основних сільськогосподарських культур і забезпечує продуктами харчування більшість населення Землі. В Україні вона є головною продовольчою культурою з високим експортним потенціалом [1—3].

Питанням номер один у селекції пшениці становить якість зерна. Особливо важливим є пошук та ідентифікація нових алелів уже відомих локусів з позитивним впливом на якість зерна, а також іден-

Цитування: Радченко О.М., Сандецька Н.В. Дослідження алельного різноманіття локусів високомолекулярних та низькомолекулярних глютенінів сортів м'якої пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. 2020. 52, № 3. С. 248—257. <https://doi.org/10.15407/frg2020.03.248>

тифікація нових генетичних систем, які мають відношення до контролю цієї важливої селекційної ознаки.

Сучасний стан знань відносно генетики «хлібопекарської якості» свідчить, що ця ознака залежить від прояву цілого ряду кількісних показників. До ознак хлібопекарської якості належать вміст білка в зерні, вміст клейковини та її якість, сила борошна, консистенція ендосперму (м'якозерність, твердозерність), реологічні властивості тіста, показник седиментації, об'єм хліба.

Дослідження, проведені в ХХ столітті, сформували припущення, що на прояв ознак хлібопекарської якості впливають три генетичні системи: локус, що контролює консистенцію ендосперму, а також локуси запасних білків — гліадинів і глютенінів [4]. Роботи, проведені на початку ХХІ століття, виявили, що ця схема надзвичайно спрощена, а в геномі м'якої пшениці існують ще й інші локуси, які впливають на хлібопекарську якість.

Запасні білки — важливий компонент зернівки пшениці, який становить до 16 % її ендосперму. Запасні білки поділяють на дві фракції: спирторозчинну — гліадини, та нерозчинну — глютеніни [5]. Глютеніни поділяють на низькомолекулярні та високомолекулярні, що відіграють головну роль у визначенні хлібопекарської якості [6]. Хлібопекарська якість на 47—60 % визначається запасними білками — високомолекулярними субодинамицями глютенінів, гени яких локалізовані в довгих плечах 1А, 1В і 1D хромосом, утворюючи локуси *Glu-A1*, *Glu-B1* і *Glu-D1* [4]. Кожній субодинамиці присвоєно бал якості. Підсумовуючи ці бали, можна оцінити вплив фракції високомолекулярних глютенінів на якість хліба [4, 7, 8]. За даними електрофорезу в поліакриламідному гелі, індивідуальні субодинамиці високомолекулярних глютенінів мають молекулярну масу від 80 до 120 кД [7]. Кожен локус *Glu-1* містить два гени, один з яких кодує меншу за показником молекулярної маси субодинамицю «у», а другий — більшу за молекулярною масою субодинамицю «х» [9].

Важливим питанням є пошук зв'язку між окремими субодинамицями високомолекулярних глютенінів і показниками якості борошна. Найповніша доказова база щодо існування кореляційної залежності між алельним станом локусів *Glu-1* та хлібопекарською якістю була отримана групою вчених на чолі з доктором Пейном [цит. за 4]. Було доведено існування тісної кореляційної залежності між присутністю/відсутністю певних алелів локусу *Glu-1* та показниками хлібопекарської якості. Показано, 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 алелів локусів *Glu-1* на якість борошна. За цим показником можна характеризувати сорти пшениці. Відомі *Gli/Glu* локуси за їх впливом на якість можна розташувати в ряд *Glu-1* > *Glu-3* > *Gli-1* > *Gli-2* [4].

Цікавим сімейством запасних білків за характером генетичного поліморфізму є низькомолекулярні глютеніни. У сортів пшениці ідентифіковано близько 40 їх субодинамиць з низькою молекулярною масою. Комбінації з 5, 6, 9 різних субодинамиць складають окремі алелі локусів *Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3*, які розміщені в коротких плечах хромосом 1AS, 1BS, 1DS. Низку досліджень було виконано для вивчен-

ня впливу на якість борошна окремих алелів низькомолекулярних глютенінів [10].

Метою нашої роботи було визначення алельного складу локусів низькомолекулярних та високомолекулярних глютенінів у сортів м'якої пшениці, а також встановлення зв'язку між рівнем хлібопекарської якості борошна і наявністю певних алелів локусів *Glu-A3*, *Glu-B1*, *Glu-B3*.

Методика

Дослідження локусів високомолекулярних та низькомолекулярних глютенінів були проведені на 37 сортах озимої м'якої пшениці, які створені в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України під керівництвом академіка НАН України В.В. Моргуна, в Миронівському інституті пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України, в Селекційно-генетичному інституті—Національному центрі насіннезнавства та сортовивчення НААН України, а також в інших селекційних установах.

Електрофоретичне розділення високомолекулярних глютенінів проводили в 12,5-ному % ПААГ за методом Лемлі [11] з додаванням двох дисоціювальних агентів — додецилсульфату натрію та β -меркаптоетанолу. Розділення поліпептидів глютеніну проводили в середовищі з 1,5 М *трис*-HCl буферу, рН 8,7 з додаванням 10 % SDS. Безпосередньо перед нанесенням на гель пробірки підігрівали у воді протягом трьох хвилин. ПААГ (12,5 %) для розділення поліпептидів глютеніну (60 мл на 2 пластини) мав такий склад:

Акриламід 30 %	25,0 мл
Бісакриламід 1 %	6,2 мл
1,5 М <i>трис</i> -HCl буфер, рН 8,7	15 мл
SDS 10 %	0,6 мл
Персульфат амонію 10 %	300 мкл
ТЕМЕД	30 мкл
Дистильована вода	до 60 мл

Електродний буфер мав у складі 10 % SDS. Умови електрофорезу: струм — 60 мА, напруга — 300 В, тривалість — 4—5 год. Ідентифікацію алелів високомолекулярних глютенінів здійснювали за каталогом Пейна і Лоуренса [12].

Методи полімеразної ланцюгової реакції. Визначення алельного складу локусів глютенінів і гліадинів (*Glu-A3*, *Glu-B1*; *Glu-B3*; *Gli-B1*) здійснювали шляхом ПЛР із використанням специфічних праймерів (табл. 1) [13—16].

Аналіз проводили в декілька етапів: виділення ДНК, ампліфікація ДНК, електрофорез та візуалізація продуктів ампліфікації. ДНК виділяли ЦТАБ-методом з 5-денних етіологованих проростків, які вирощували в чашках Петрі за температури 25 °С.

Реакційна суміш для проведення ПЛР мала наступний склад: 50 мМ KCl, 20 мМ *трис*-HCl, (рН 8,4 при 25 °С); 2, 3, 4 мМ MgCl₂ (залежно від типу праймерів); 0,01 % Tween-20; 0,15 мМ кожного dNTP; 0,2 мкМ праймеру; 10—20 нг ДНК; 0,8—1 одиниць Taq-полімерази. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторах «Techne» та «Mastercycler Personal 5332 Eppendorf».

ДОСЛІДЖЕННЯ АЛЕЛЬНОГО РІЗНОМАНІТТЯ ЛОКУСІВ

ТАБЛИЦЯ 1. Алелі, досліджені методом ПЛР з використанням специфічних праймерів

Алель локусу	Нуклеотидна послідовність праймерів до досліджуваних алелів	Довжина амплікону та літературне джерело
<i>Glu-B1a1</i>	F: CCTCAGCATGCAAACATGCAGC R: CTGAAACCTTTGGCCAGTCATGTC	563 пн 520 пн [13]
<i>Glu-B3b</i>	SB2F: ATCAGGTGTA AAAAGTGATAG SB2R: TGCTACATCGACATATCCA	1570 пн [14]
<i>Glu-B3d</i>	SB4F: CACCATGAAGACCTTCCTCA SB4R: GTTGTTGCAGTAGAACTGGA	662 пн [14]
<i>Glu-B3g</i>	SB7F: CCAAGAAATACTAGTTAACACTAGTC SB7R: GTTGGGGTTGGGAAACA	853 пн [14]
<i>Glu-A3c</i>	LA1F: AAACAGAATTATTAAGCCGG SA3R: GTGGCTGTTGTGAAAACGA	573 пн [15]
<i>Glu-A3d</i>	LA3F: TTCAGATGCAGCCAAACAA R: SA4R: TGGGGTTGGGAGACACATA	967 пн [15]
<i>Gli-B1.1</i>	GligBF1: TGATCTGGCCACAAAGGGA GligBR1: CATTGGCCACCAATTCCTGT	369 пн [16]
<i>Gli-B1.2</i>	GligBF2: TGATCTGGCCACAAAGGGC GligBR1: CATTGGCCACCAATTCCTGT	397 пн [16]

Умови ПЛР: початкова денатурація за 94 °С — 2 хв, гібридизація за 50—55—60 °С (залежно від праймерів) — 30 с, елонгація за 72 °С — 1 хв, повторення цих етапів 30—40 разів, остання елонгація — 5 хв.

Розділення продуктів ампліфікації ДНК та їх візуалізація. Продукти ампліфікації аналізували електрофорезом в агарозних гелях. Електрофорез проводили в 2 %-ному агарозному гелі в 1 × TBE-буфері. Умови електрофорезу: 2—2,5 год за 2 В/см. Фрагменти ДНК в агарозному гелі забарвлювали бромистим етидієм 0,5 мкг/мл. Документували отримані електрофореграми за допомогою системи відеодокументування. Для визначення довжини фрагмента ДНК (в пн) використовували маркери молекулярної маси — pGEM (Fermentas, Литва), pUC 19/MspI (Fermentas, Литва) та Ladder Mix.

Показники седиментації борошна визначали за методом SDS-30 на автоматичному приладі з програмним управлінням, розробленому в Селекційно-генетичному інституті—Національному центрі насінництва та сортовивчення НААН України [17]. Для цього відбирали середню пробу борошна масою 3,2 г, заливали її 10 мл 4 %-ного розчину льодяної оцтової кислоти, вмішували у попередньо прогріту до 30 °С водяну баню і витримували 30 хв. Після цього додавали у кожну пробу по 20 мл 4 %-ного розчину льодяної оцтової кислоти і 2 %-ного розчину додецилсульфату натрію до об'єму 100 мл. Проби борошна вмішували в автоматичний пристрій і запускали програму циклів обертання, через 16 хв знімали показники.

Фізичні властивості тіста визначали на альвеографі Шопена. Метод аналізу заснований на розширенні зразків тіста (вода+сіль+борошно) у вигляді бульбашки під впливом надлишкового тиску повітря. Даний процес імітує деформацію тіста під дією газів,

які виділяються дріжджовими культурами або хімічними розпушувачами [18].

Результати та обговорення

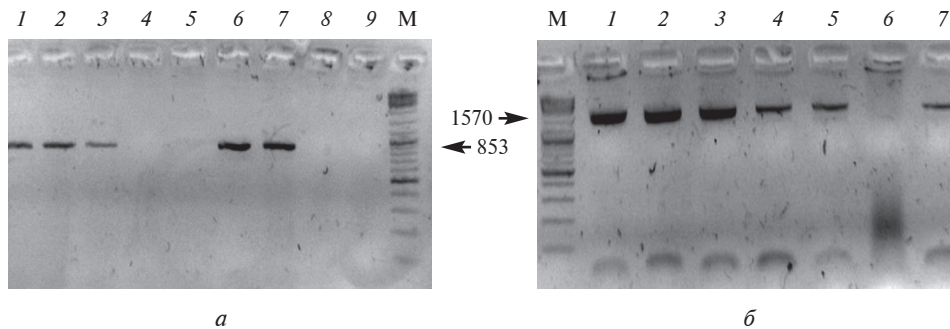
Для з'ясування зв'язку хлібопекарської якості пшениці з поліморфізмом локусів запасних білків був визначений алельний склад локусів *Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* у сучасних сортів пшениці різних груп якості, створених рядом селекційних установ.

З використанням алель-специфічних праймерів [15] у локусі *Glu-A3* виявлено два алелі: *Glu-A3c* та *Glu-A3d* (табл. 2). У переважній більшості сортів, таких як Наталка, Ласуня, Ятрань 60, Володарка, Миронівська 30, Білява, Федерер, Аранка, Грені, Недра, Переяславка, Сонечко, Тюбальт, Хуторянка за наявності амплікону довжиною 573 пн виявлено алель *Glu-A3c*. Такі сорти, як Пивна, Подолянка, Богдана, Оксана, Тризо, Нива Київщини, Новокиївська містять алель *Glu-A3d*, про що свідчить амплікон завдовжки 967 пн.

У досліджуваній вибірці сортів пшениці української та зарубіжної селекції в локусі *Glu-B3* виявлено 4 алелі (*b*, *d*, *g*, *j*). За наявності амплікону завдовжки 853 пн у сортів Панна, Федерер, Гленлі, Зимоярка, Недра виявлено алель *Glu-B3g* (рисунок, *a*). За ампліконом завдовжки 1570 пн у більшості проаналізованих сортів встановлено наявність алеля *Glu-B3b* (рисунок, *б*). Тільки для одного із проаналізованих зразків, а саме закордонного сорту Мулан, за наявності амплікону 662 пн визначено алель *Glu-B3d* [19]. Виявлено, що сорти української селекції Пивна, Фаворитка, Крижинка, Миронівська 30, Новокиївська мають алель *Glu-B3j*, наявність якого встановлена за відсутності ампліконів при використанні двох пар праймерів — *GligBF1* і *GligBR1* та *GligBF2* і *GligBR1*. У проаналізованій вибірці закордонних сортів даний алель не виявлено.

Щодо локусу *Glu-B1*, то його алелі *Glu-B1b* та *Glu-B1a1* споріднені і їх майже неможливо ідентифікувати звичайним електрофоретичним розділенням. Нами, з використанням алель-специфічних праймерів, за присутності фрагмента завдовжки 563 пн були відібрані зразки пшениці з такою комбінацією субодиниць, яка свідчить про наявність алеля *Glu-B1a1*. Загалом в локусі *Glu-B1* було виявлено 5 алелів: *a1*, *b*, *c*, *d*, *h* (див. табл. 2). З найбільшою частотою був виявлений алель *Glu-B1c* (48,4 %). Алель *Glu-B1b* мають 32,3 % сортів. Алелі *Glu-B1a1*, *Glu-B1d* та *Glu-B1h* виявлено в даній вибірці сортів відповідно з частотою 6,4 %, 9,7 та 3,2 %. Із двох алелів локусу *Glu-D1* — *Glu-D1a* і *Glu-D1d* — частота останнього становить 77,4 %. За локусом *Glu-A1* більш як у половини сортів зафіксовано наявність алеля *Glu-A1a* (54,8 %), частоти алелів *Glu-A1b* та *Glu-A1c* відповідно становили 29,1 % і 16,1 %.

Необхідною умовою впровадження маркерної системи аналізу сортів є її перевірка як на матеріалах різного походження, так і за допомогою інших методів молекулярного й біохімічного аналізу. Відомо, що алельні варіанти гліадинових генів *Gli-B1.1* та *Gli-B1.2* локусу *Gli-B1* корелюють із наявністю алелів локусів низькомолекулярних глютенінів (локуси яких тісно зчеплені з локусами гліадинів). Маркер



Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК сортів пшениці з праймерами до алелів локусів глютенінів:

Glu-B3g (а): 1 — Гленлі, 2, 3 — Федерер, 4, 5 — Грені, 6, 7 — Панна, 8 — Наталка, 9 — К0 — негативний контроль без додавання ДНК (ТЕ буфер), М — маркер молекулярної маси ДНК Ladder Mix;

Glu-B3b (б): 1, 2 — Подолянка, 3, 4 — Ятрань 60, 5 — Веснянка, 6 — К0 — негативний контроль без додавання ДНК (ТЕ буфер), 7 — Володарка, М — маркер молекулярної маси ДНК Ladder Mix

Gli-B1.1 визначає наявність алелів *Glu-B3b*, *Glu-B3c*, *Glu-B3d*, *Glu-B3e*, маркер *Gli-B1.2* — алелів *Glu-B3a*, *Glu-B3g*, *Glu-B3h*, відсутність маркерів *Gli-B1.1* та *Gli-B1.2* визначає наявність алеля *Glu-B3j* [16].

Для визначення алельного складу локусів гліадинів пшениці проводилась ампліфікація ДНК різних сортів з алельспецифічними праймерами до у-гліадинових генів *Gli-B1.1* та *Gli-B1.2* локусу *Gli-B1*. За наявністю продуктів ампліфікації досліджені сорти розділено на три групи. До першої віднесено сорти з алелем *Gli-B1.1*, в яких виявлено продукт ампліфікації завдовжки 369 пн, до другої — сорти з алелем *Gli-B1.2* (амплікон завдовжки 397 пн); до третьої — сорти, в яких не виявлено цих ампліконів при використанні даних праймерів. Подальша перевірка досліджуваних зразків з використанням алельспецифічних праймерів показала, що зразки, які мали алель *Gli-B1.1*, несли алелі *Glu-B3b*, *Glu-B3d*, тоді як зразки з алелем *Gli-B1.2* відповідно мали алель *Glu-B3g*. Це свідчить про достовірність визначення алельного складу локусів глютенінів у проаналізованих сортах пшениці.

Отже, в ході визначення алельного складу локусів низькомолекулярних глютенінів *Glu-A3*, *Glu-B3* у досліджених сортів м'якої пшениці встановлено наявність алелів *Glu-A3d*, *Glu-A3c*, *Glu-B3b*, *Glu-B3d*, *Glu-B3j*, *Glu-B3g*. Показано, що в досліджених сортах української і закордонної селекції переважає алель *Glu-B3b*. Разом з тим у сортах вітчизняної селекції не виявлено алеля *Glu-B3d*, а у сортах закордонного походження — *Glu-B3j*. В даній вибірці сортів у локусі високомолекулярних глютенінів *Glu-B1* було виявлено 5 алелів: *Glu-B1a*, *Glu-B1b*, *Glu-B1c*, *Glu-B1d*, *Glu-B1h*.

Високомолекулярні й низькомолекулярні глютеніни формують макромолекулярний каркас клейковини борошна, забезпечуючи його хлібопекарські властивості. Для з'ясування залежності хлібопекарської якості борошна пшениці від алельного складу локусів глютенінів *Glu-A3*, *Glu-B1* та *Glu-B3* визначено технологічні показники:

ТАБЛИЦЯ 2. Характеристика сортів пшениці за алельним складом локусів високо - та низькомолекулярних глютенінів

№	Сорт	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-A3</i>	<i>Glu-B3</i>	Категорія якості
1	Наталка	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	Сильна
2	Золотоколоса	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	—	<i>b</i>	Цінна
3	Пивна	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>j</i>	Філер
4	Київська остиста	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	—	Сильна
5	Ласуня	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	“
6	Фаворитка	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	—	<i>j</i>	Цінна
7	Смуглянка	<i>a</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	—	<i>b</i>	Сильна
8	Подольянка	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>b</i>	“
9	Крижинка	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	—	<i>j</i>	Цінна
10	Ятрань 60	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	Сильна
12	Володарка	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	Цінна
13	Богдана	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>b</i>	Сильна
14	Миронівська 808	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	—	<i>b</i>	“
15	Миронівська 30	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>j</i>	“
16	Астарта	—	—	—	<i>c</i>	<i>b</i>	Цінна
17	Панна	<i>a</i>	<i>al</i>	<i>d</i>	—	<i>g</i>	Сильна
18	Федерер	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>g</i>	“
19	Оксана	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>b</i>	Цінна
20	Гленлі	<i>b</i>	<i>al</i>	<i>d</i>	<i>g</i>	<i>g</i>	Сильна
21	Аранка	—	—	—	<i>c</i>	<i>b</i>	“
22	Грені	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	Цінна
23	Тризо	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>b</i>	“
24	Зимоярка	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	—	<i>g</i>	Сильна
25	Недра	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>g</i>	Цінна
26	Нива Київщини	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>b</i>	Сильна
27	Новокиївська	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>j</i>	“
28	Переяславка	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	“
29	Сонечко	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	“
30	Хуторянка	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	Цінна
31	Мулан	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	—	<i>d</i>	“
32	Веснянка	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	—	<i>b</i>	Сильна
33	Білява	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	Кондитерська
34	Торчинська	—	—	—	<i>c</i>	<i>b</i>	Сильна
35	Тюбальт	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	—	Цінна
36	Сніжана	—	—	—	<i>d</i>	<i>j</i>	Філер
37	Стрігенська	—	—	—	<i>d</i>	<i>j</i>	“

Примітка: «—» у зразках не встановлено наявності алеля з використанням даних праймерів.

індекс седиментації борошна (SDS), сила борошна (W), індекс еластичності тіста (Ie), індекс розтяжності (L) та пружність тіста (P), коефіцієнт деформації (G) та співвідношення між пружністю та розтяжністю тіста (P/L), які зумовлюються клейковинними білками.

При дослідженні залежності седиментації борошна від алельного складу локусу *Glu-B3* встановлено, що найбільшими показниками SDS-30 — майже 86,5 мл характеризувалися зразки з алелем *Glu-B3g*. В зразках, які мали алель *Glu-B3j* відмічені найменші індекси седиментації — близько 49,0 мл (табл. 3).

Виявлено, що для зразків, які мали алель *Glu-B3g*, характерні також і найвищі показники сили борошна — 406 о.а. В зразках, які мали алель *Glu-B3j*, встановлено найменші показники сили борошна — близько 215 о.а. Важливим показником при визначенні хлібопекарської якості борошна є індекс еластичності тіста: чим він вищий, тим кращі хлібопекарські властивості борошна. Відомо, що кращі за якістю зразки борошна можуть мати індекс еластичності від 60 до 70 %, тоді як зразки середньої та задовільної якості — нижче 60 % [17]. При дослідженні наших зразків спостерігалась залежність індексу еластичності від алельного складу локусу *Glu-B3*. У зразків з алелем *Glu-B3b* індекс еластичності тіста був найбільшим — майже 68,5 %. У зразках, які мали алель *Glu-B3j*, відмічено найменший індекс еластичності тіста, який в середньому становив близько 52 %.

Аналіз показників якості борошна виявив їх залежність і від алельного складу локусу низькомолекулярного глютеніну *Glu-A3*. Так, зразки борошна сортів Наталка, Ласуня та інших з алелем *Glu-A3c* переважають сорти з алелем *Glu-A3d* за такими найважливішими показниками хлібопекарської якості, як індекс седиментації та сила борошна. Індекс седиментації борошна для сортів з алелем *Glu-A3c* та *Glu-A3d* відповідно становив 79,5 та 60,0 мл. Сила борошна у таких сортів, як Переяславка, Федерер, Аранка, що несуть алель *Glu-A3c*, становила 306,0 о.а., тоді як для сортів з алелем *Glu-A3d* — 214,3 о.а.

Виявлено залежність показників хлібопекарської якості пшениці і від алельного складу локусу високомолекулярного глютеніну *Glu-B1*. Так, в сортах, які мають алель *Glu-B1a1*, встановлено найбільший

ТАБЛИЦЯ 3. Середні показники хлібопекарської якості у зразків з різним алельним складом локусу *Glu-B3*

Алелі локусу <i>Glu-B3</i>	Індекс седиментації борошна, SDS, мл	Сила борошна, W, о.а.	Індекс еластичності тіста, Ie, %	Пружність тіста, P, мм	Розтяжність тіста, L, мм	Співвідношення між пружністю та розтяжністю тіста, P/L	Коефіцієнт деформації, G
<i>Glu-B3b</i>	77,0	321,6	68,5	85,7	107,3	0,83	21,5
<i>Glu-B3d</i>	58,0	247,0	58,0	63,6	134,0	0,48	25,7
<i>Glu-B3g</i>	86,5	406,0	65,0	63,1	148,6	0,81	31,1
<i>Glu-B3j</i>	49,0	215,0	52,0	72,0	106,7	0,68	24,8
НІР ₀₅	7,0	28,0	3,0	4,0	8,0	0,07	1,9

показник сили борошна, що дорівнює 422 о.а., тоді як сорти з алелем *Glu-B1d* характеризувались найменшими показниками сили борошна — 238 о.а. У цих же зразках з алелем *Glu-B1a1* показник седиментації борошна також був найвищим — близько 93 мл, тоді як найменший — майже 47,5 мл — у зразках з алелем *Glu-B1d*. Аналогічна залежність від алельного складу локусу *Glu-B1* спостерігалась і для індексу еластичності. Було виявлено, що в сортах, які мали алель *Glu-B1a1*, показник індексу еластичності тіста був найбільший — близько 70 %, а в зразках з алелем *Glu-B1d* він був найменший — майже 51 %.

Таким чином, показано залежність хлібопекарської якості борошна від алельного складу локусів низькомолекулярних глютенінів *Glu-A3* та *Glu-B3*. Встановлено, що найвищими показниками седиментації, сили борошна та індексу еластичності тіста характеризуються сорти з алелями *Glu-B3b* та *Glu-B3g*. У сортів з алелем *Glu-A3c* індекс седиментації та сили борошна, розтяжності та деформації тіста був більшим, ніж у зразків з алелем *Glu-A3d*. Підтверджено, що алель *Glu-B1a1* локусу високомолекулярного глютеніну *Glu-B1* характерний для пшениць з найвищими показниками хлібопекарської якості борошна.

REFERENCES

1. Morgun, V.V. (2016). Contribution of genetics and plant breeding to the food security of Ukraine. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.*, 5, pp. 20-23 [in Ukrainian].
2. Morgun, V.V., Sanin, E.V. & Schwartz, V.V. (2015). Club 100 centners. Modern varieties and systems of winter wheat nutrition and protection. Kiev: Logos [in Ukrainian].
3. Morgun, V.V. & Rybalka, O.I. (2017) Strategy of cereals genetic improvement aimed at food safety, health promotion and industry needs. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.*, 3, pp. 54-64 [in Ukrainian].
4. Poperela, F.O. (1996). Three basic genetic systems for winter wheat soft wheat quality. Realization of potential possibilities of varieties and hybrids of the Breeding and Genetic Institute in Ukraine. Collection of Scientific Proceedings of SGI, pp.117-132 [in Ukrainian].
5. Gupta, R.B. & Shepherd, K.W. (1990). Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin: 1. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats. *Theor. Appl. Genet.*, 80, pp. 65-74.
6. Wurschum, T., Leiser, W., Kazman, E. & Longin, F. (2016). Genetic control of protein content and sedimentation volume in European winter wheat cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 129, No. 3, pp. 1685-1696.
7. D'Ovidio, R., Fabbri, R., Patacchini, C., Masci, S., Lafiandra, D. & Porceddu, E. (2000). Production of transgenic bread wheat lines over-expressing a LMW glutenin subunit. *Royal Society of Chemistry*, pp. 101-104.
8. Li, Y., Zhou, R., Branlard, G. & Jia, J. (2010). 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.*, 51, pp. 127-133.
9. Ibba, M., Kiszonas, A. & Morris, C. (2017). Evidence of intralocus recombination at the *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 130, No. 5, pp. 891-902.
10. Branlard, G., Dardevet, M. & Saccomano, R. (2001). Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica*, 119, pp. 169-177.
11. Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, No. 5259, pp. 680-685.

12. Payne, P.J. & Lawrence, G.J. (1983). 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. *Genet. Res. Commun.*, 11, pp. 29-35.
13. Butow, B., Gale, K. & Ikenaga, J. (2004). Dissemination of the highly expressed Bx7 glutenin subunit (*Glu-B1a* allele) in wheat as revealed by novel PCR markers and RP-HPLC. *Theor. Appl. Genet.*, 109, pp. 1525-1535.
14. Wang, L., Zhao, X. & He, Z. (2009). Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit *Glu-B3* genes and development of STS markers in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 118, pp. 525-539.
15. Wang, L., Li, G. & Pena, R. (2010). Development of STS marker and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Cereal Sci.*, 51, pp. 305-312.
16. Zhang, W., Gianibelli, M. & Ma, W. (2003). Identification of SNPs and development of AS-PCR markers for gliadin alleles in *Triticum aestivum*. *Theor. Appl. Genet.*, 107, pp. 130-138.
17. Rybalka, O.I. (2011). Quality of wheat and its improvement. Kiev: Logos [in Ukrainian].
18. Tkachik, S.O. (Ed.) (2016). The technique of conducting a qualification examination of varieties of plants for appropriateness to extension in Ukraine. Methods of visibility indicators in productivity agriculture. Vinnytsia [in Ukrainian].
19. Radchenko, O.M. (2018). Polymorphism of soft wheat varieties by loci of low molecular weight glutenins. *Fiziol. rast. genet.*, 50, No. 1, pp. 66-76 [in Ukrainian].

Received 14.04.2020

RESEARCH OF ALLELES DIVERSITY OF HIGH MOLECULAR AND LOW MOLECULAR WEIGHT GLUTENINS LOCI OF SOFT WHEAT VARIETIES

O.M. Radchenko, N.V. Sandetska

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: ales2009@ukr.net

Using allele-specific primers and protein electrophoresis, in 37 soft wheat varieties the allelic composition of low molecular weight glutenin *Glu-A3*, *Glu-B3*, and high molecular weight glutenin *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* loci was determined. Two alleles were detected at the *Glu-A3* locus: *Glu-A3d*, *Glu-A3c* (the *Glu-A3c* allele prevailed); four alleles were detected at the *Glu-B3* locus: *Glu-B3b*, *Glu-B3j*, *Glu-B3g*, *Glu-B3d* (the allele *Glu-B3b* prevailed). Three alleles were detected at the *Glu-A1* locus, the *Glu-A1a* allele prevailed. Five alleles were detected at the *Glu-B1* locus: *Glu-B1a*, *Glu-B1b*, *Glu-B1c*, *Glu-B1d*, *Glu-B1h* (the *Glu-B1c* allele prevailed). Two alleles were detected at the *Glu-D1* locus: the *Glu-D1a*, *Glu-D1d* (the *Glu-D1d* allele prevailed). To determine the dependence of wheat flour bakery quality on the allelic state of high molecular weight and low molecular weight glutenin loci, technological indices, caused by gluten proteins, were determined: flour sedimentation index, flour strength, dough elasticity index, dough tensility and resiliency index, strain factor, and dough elasticity and resiliency ratio. The dependence of flour baking quality on the allelic state of low molecular weight glutenins loci *Glu-A3* and *Glu-B3* was shown. It was found that the highest indices of sedimentation, flour strength and elasticity were characteristic of varieties with alleles *Glu-B3b* and *Glu-B3g*. In the varieties with *Glu-A3c* alleles, the sedimentation index, flour strength, elasticity and dough deformation indices were higher than in the samples with *Glu-A3d* allele. It has been confirmed that *Glu-B1a* allele of the high molecular weight glutenin *Glu-B1* locus is characteristic of wheat with the highest flour baking quality.

Key words: *Triticum aestivum* L., bread wheat, grain storage proteins, low molecular weight glutenin and high molecular weight glutenin loci, PCR analysis.