

ГИБРИДОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ ГЛИАДИНА У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ПШЕНИЦЫ

HYBRIDOLOGICAL ANALYSIS OF SPARE PROTEINS OF GLIADINE OF THE INTERSPECIFIC WHEAT HYBRIDS

Садыгов Г.Б., старший научный сотрудник

Институт Генетических Ресурсов НАН Азербайджана
E-mail: hamlet.sadiqov@yahoo.com

Sadigov G.B., Senior Researcher

Genetic Resources Institute of the National Academy of Sciences of Azerbaijan
E-mail: hamlet.sadiqov@yahoo.com

Цель данного исследования — изучить характер наследования и идентифицировать новые аллельные блоки компонентов глиадинкодирующих локусов в гибридных зернах F_2 , полученных от межвидовых скрещиваний образца твердой пшеницы *v. hordeiforme* GR 8670 и образца вида тетраплоидной пшеницы *T. dicoccum v. farum* (Азербайджан). Материалом для исследований послужили гибридные зерна F_2 , полученные от скрещивания местной твердой пшеницы GR 8670 *v. hordeiforme* ($2n = 4x = 28$) с местным образцом культурной полбы двузернянки (*T. dicoccum v. farum*, $2n = 4x = 28$) с геномным строением *Au Au BB*. Идентификацию аллельных блоков компонентов глиадина проводили в электрофореграмме запасных белков глиадина в 96 зернах гибридного поколения F_2 по полиморфизму и частоте встречаемости этих аллелей в гибридном поколении. Изучение наследственного характера аллелей глиадинкодирующих локусов запасных белков гибридов поколения F_2 у материнской формы *v. hordeiforme* GR 8670 твердой пшеницы дало возможность идентифицировать новые аллельные блоки *Gld 6A9* и *Gld 6A22*. Идентифицированы новые аллельные блоки компонентов *Gld 6B19* и *Gld 6B20* при ЭФ-анализе запасных белков глиадина тетраплоидной пшеницы *T. dicoccum v. farum* (отцовская форма).

Ключевые слова: тетраплоидная пшеница, запасные белки, глиадин, locus, полиморфизм, аллель, маркер, идентификация.

The article represents a hybridological analysis with the aim of studying the character of inheritance and identification of new allelic blocks of the components of gliadin-encoding loci in F_2 hybrid grains obtained from interspecific crosses of durum wheat sample *v. hordeiforme* GR 8670 and a sample of a tetraploid wheat species *T. dicoccum v. farum* (Azerbaijan). The research is based on the hybrid grains F_2 obtained from the crossing of local durum wheat GR 8670 *v. hordeiforme* ($2n = 4x = 28$) with a local sample of a cultivated spelled gingerbread (*T. dicoccum v. farum*, $2n = 4x = 28$) with the *Au Au BB* genomic structure. The allelic blocks of the gliadin components have been identified in the electrophoregram of the gliadin storage proteins in 96 grains of the hybrid F_2 generation by polymorphism and the frequency of occurrence of these alleles in the hybrid generation. The study of the hereditary nature of the alleles of gliadin-coding loci of storage proteins of F_2 hybrids in the maternal form *v. hordeiforme* GR 8670 durum wheat made it possible to identify new allelic blocks *Gld 6A9* and *Gld 6A22*. New allelic blocks of the *Gld 6B19* and *Gld 6B20* components were identified by the EF-analysis of the storage proteins of gliadin tetraploid wheat *T. dicoccum v. farum* (father form).

Key words: tetraploid wheat, storage proteins, gliadin, locus, polymorphism, allele, marker, identification.

Изучение и сохранение генетического разнообразия растительных ресурсов в мире глобализации становится первостепенной и жизненно необходимой задачей. В последние годы широко изучаются вопросы, касающиеся перспективы использования в генетике и селекции результатов изучения полиморфизма нуклеиновых кислот и белков. Естественно, наибольшую генетическую информацию дает изучение генетического полиморфизма нуклеиновых кислот, получаемое современными методами исследований [3, 9, 11]. Значительные успехи в этом плане достигнуты при изучении генетического полиморфизма клейковинных белков — глиадина и глютеина у пшеницы [2, 5, 6, 10].

Полиморфизм белков позволяет на новом уровне развивать исследования по генетике популяции, дает возможность лучше понять закономерности реализации наследственной информации в онтогенезе. Эти белки являются первичным продуктом экспрессии генов. Изучение полиморфизма белков позволяет выяснить филогенетические связи для построения естественной системы организма [3, 4, 7, 13, 15].

Аллели глиадин- и глютеинкодирующих локусов запасных белков сцеплены с хозяйственно ценными признаками твердой и мягкой пшеницы, что важно для селекции. Отличительная сторона полиморфизма этих белковых систем как генетических маркеров — это стабильность компонентного состава этих белков, несмотря на изменчивость условий среды [2, 8, 12, 14, 16].

Изучение генетического контроля запасных белков зерна тетраплоидной пшеницы и идентификация аллелей стали возможными при создании гибридов F_1 , F_2 и F_3 анеуплоидных линий твердой пшеницы

Лангдон (*T. durum* Desf., Langdon). Электрофоретический (ЭФ) анализ показал, что компоненты глиадина так же, как у мягкой пшеницы, наследуются группами (блоками), которые контролируются кластерами генов (сложные локусы), локализованными в глиадинкодирующих локусах *Gld 1A*, *Gld 1B*, *Gld 6A* и *Gld 6B* [3, 5, 7, 10, 11, 17].

Актуальными остаются вопросы идентификации и оценки связи аллелей глиадин- и глютеинкодирующих локусов, сочетание их аллелей с качеством зерна озимой мягкой и твердой пшеницы в меняющихся условиях среды. Множественный аллелизм, кодоминантность наследования, независимость от условий выращивания делают эти маркеры эффективными. Многие местные и зарубежные сорта твердой и мягкой пшеницы по запасным белкам являются гетерогенными, что в свою очередь дает возможность сорту выявлять пластичность и адаптированность [4, 6, 10].

Аллели глиадинкодирующих локусов твердой и других видов тетраплоидной пшеницы, идентифицированных при электрофорезе в крахмальном геле (КГ) и в то же время выявленных в полиакриламидном геле (ПААГ), изучены меньше. Другие представители тетраплоидных видов пшеницы в сравнении с твердой пшеницей по запасным белкам очень мало исследованы [3, 8].

Цель данного исследования — изучить характер наследования и идентифицировать новые аллельные блоки компонентов глиадинкодирующих локусов в гибридных зернах F_2 , полученных от межвидовых скрещиваний образца твердой пшеницы *v. hordeiforme* GR 8670 и образца вида тетраплоидной пшеницы *T. dicoccum v. farum* (Азербайджан).

Материалы и методы исследований

Материалом для исследований послужили гибридные зерна F_2 , полученные от скрещивания местной твердой пшеницы GR 8670 *v. hordeiforme* ($2n = 4x = 28$) с местным образцом культурной полбы двузернянки (*T. dicoccum v. farum*, $2n = 4x = 28$) с геномным строением $Au\ Au\ BB$. Для получения гибридного поколения скрещивание проводили «колос на колос». Электрофоретический анализ запасных белков глиаина гибридных зерен F_2 тетраплоидных пшеницы проведен по методике Ф.А. Попереля (1989) в полиакриламидном геле и в глицин-ацетатном буфере (pH 3,1) [6]. Статистическую обработку данных (Доспехов 1985) по оценке достоверности расщепления по компонентному составу глиаина проводили по расчету χ^2 [1].

Результаты исследований и их обсуждение

В 96 зернах гибридного поколения F_2 , полученных от скрещивания местной твердой пшеницы *v. hordeiforme* GR 8670 ($2n = 4x = 28$) с местным образцом культурной полбы двузернянки (*T. dicoccum v. farum*), проведен электрофоретический анализ (ЭФ). Гибридологическим анализом в этой межвидовой гибридной комбинации ранее нами было идентифицированы аллели глиаинкодирующих локусов запасных белков Gld 1A и Gld 1B. На основе гомо- и гетерогенных состояний других глиаинкодирующих локусов Gld 6A и Gld 6B провели идентификацию новых аллельных блоков компонентов. Полученные электрофореграммы глиаина отображены в таблицах и на рисунках пластинок геля (табл. 1 и 2; рис. 1–2, 3–8).

Электрофоретические спектры 16; 17; 18; 19; 20 и 21, присущие материнской форме GR 8670 *v. hordeiforme* сортообразца твердой пшеницы, наследуются в форме сцепленных блоков и как независимые признаки, они являются аллельными блокам компонентов Gld 6A9, идентифицированными ранее в других гибридных комбинациях (рис. 1–2).

Сравнение компонентов сорт-маркера материнской формы с компонентами глиаина отцовской формы позволило установить, что электрофоретические компоненты 15, 16, 17, 18, 19 и 20, принадлежащие отцовской форме *T. dicoccum v. farum*, наследуются в виде блока. Эти данные подтверждаются гибридологическим анализом глиаинкодирующих локусов по расчету критерия χ^2 в гибридном поколении F_2 (табл. 1).

На основании гибридологического анализа запасных белков глиаина в зернах гибридного поколения F_2 (*T. durum v. hordeiforme* GR 8670 x *T. dicoccum v. farum*) установлено, что расщепление аллельных блоков компонентов Gld 6A9 и Gld 6A22 глиаинкодирующего локуса Gld 6A, по гомо- и гетерозиготным состояниям, по частоте встреча-

Рис. 1. Электрофореграммы запасных белков глиаина образцов твердой пшеницы 1 — *v. hordeiforme* GR 8670 (материнская форма) и образца полбы 2 — *T. dicoccum v. farum* (отцовская форма)

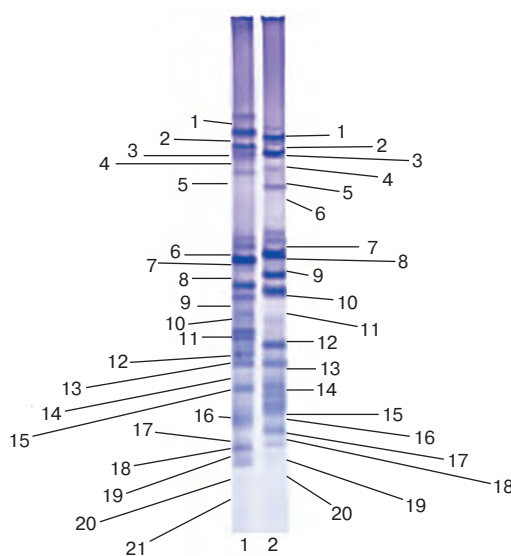
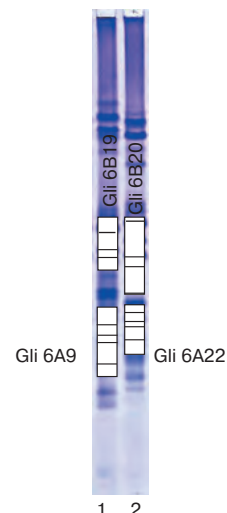


Рис. 2. Электрофореграммы запасных белков глиаина образцов твердой и тетраплоидной пшеницы (1 — *T. durum v. hordeiforme* GR 8670; 2 — *T. dicoccum v. farum*) и идентифицированные аллельные блоки компонентов



емости наследуются согласно менделевскому типу (1:2:1).

Проводили идентификацию новых аллельных блоков компонентов глиаинкодирующего локуса Gld 6A отцовской формы (*T. dicoccum v. farum*) на основании расчетного критерия χ^2 (рис. 1–2 и 3–8, табл. 1).

При наблюдении компонентов электрофореграмм глиаина родительских форм гибридной комбинации видно, что компоненты α -зоны 16; 17; 18; 19; 20 и 21 глиаинкодирующего локуса Gld 6A материнской формы *T. durum v. hordeiforme* GR 8670 являются идентифицированными ранее аллелями блоков компонентов этого локуса, а частота встречаемости их равняется 27,08%. Компоненты глиаина 15; 16; 17; 18; 19; 20 и 21 отцовской формы *T. dicoccum v. farum* наследуются в форме блоков и наблюдаются в электрофореграммах. Частота встречаемости аллельных состояний гомо- и гетерозиготных форм локуса Gld 6A в электрофореграммах зерен F_2 поколения этой гибридной комбинации равна 26,04% и 46,88% соответственно.

В зернах этого гибридного поколения встречаются три типа электрофореграмм, из них гомозиготный — Gld 6A9, гетерозиготный — Gld 6A9 + Gld 6A22 и гомозиготный — Gld 6A22. Поскольку расщепления аллелей в гибридном поколении F_2 , наследуются по монофакториальному признаку соответственно менделевского типа (в отношении 1:2:1), на уровне достоверности $P < 0,01$ расчетный критерий χ^2 равен 0,23, то новый идентифицированный аллельный блок компонентов Gld 6A22 является аллелью локуса Gld 6A. Аллельный блок компонентов Gld 1B19, присущий сортообразцу *v. hordeiforme* GR 8670 и

Таблица 1.

Гибридологический анализ аллелей Gld 6A9 и Gld 6A22 по расчету критерия χ^2 в гибридном поколении F_2 (*v. hordeiforme* GR 8670 x *T. dicoccum v. farum*)

№	Глиаинкодирующие генотипы	Теоретическое число ожидаемости расщепления гибридных зерен (1:2:1), шт.	Фактическое число частоты встречаемости аллелей компонентных блоков, шт.	χ^2	$P <$
1	Gld 6A9	24	25	0,04	0,01
2	Gld 6A9 + Gld 6A22	48	45	0,19	
3	Gld 6A22	24	26	0,23	

Рис. 2–3. Электрофореграммы глиадинкодирующих локусов зерен гибридного поколения F_2 , полученных от межвидового скрещивания (*T. v. hordeiforme* GR 8670 x *T. dicoccum v. farum*): 1 — 34, 7 — *v. hordeiforme* GR 8670 (мат. форма), 8 — *T. dicoccum v. farum* (отц. форма)

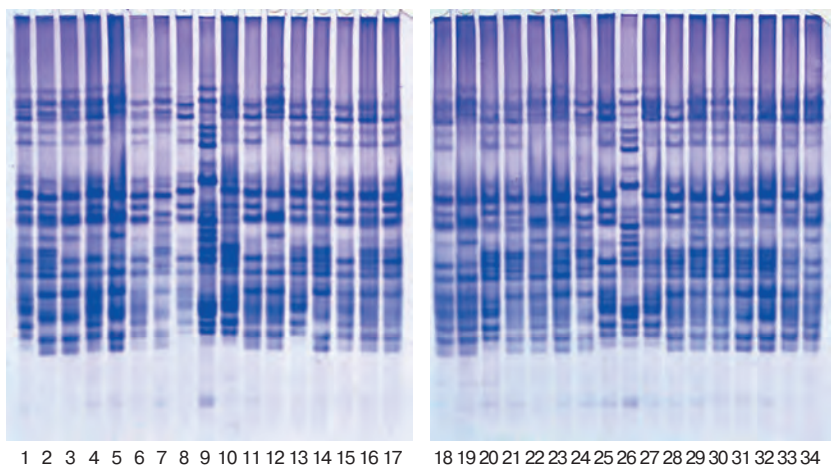


Рис. 4–5. Электрофореграммы глиадинкодирующих локусов зерен гибридного поколения F_2 , полученных от межвидового скрещивания (*T. v. hordeiforme* GR 8670 x *T. dicoccum v. farum*): 1 — 34, 7 — *v. hordeiforme* GR 8670 (мат. форма), 8 — *T. dicoccum v. farum* (отц. форма)

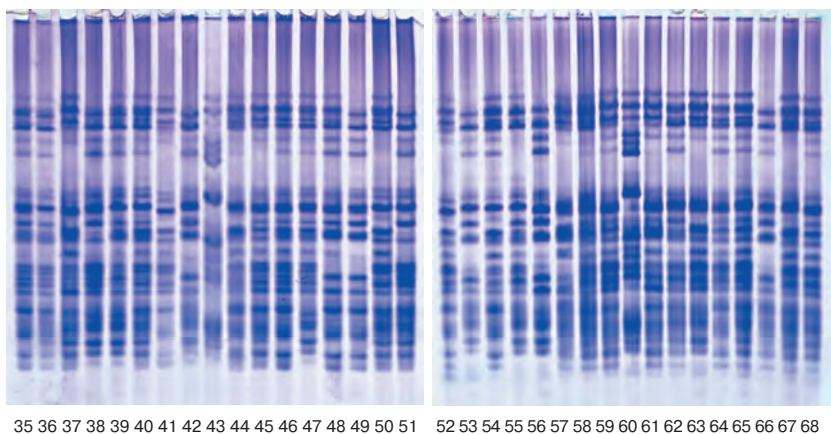


Рис. 5–6. Электрофореграммы запасных белков глиадина гибридных зерен F_2 (*v. hordeiforme* GR 8670 x *T. Dicoccum v. farum*)

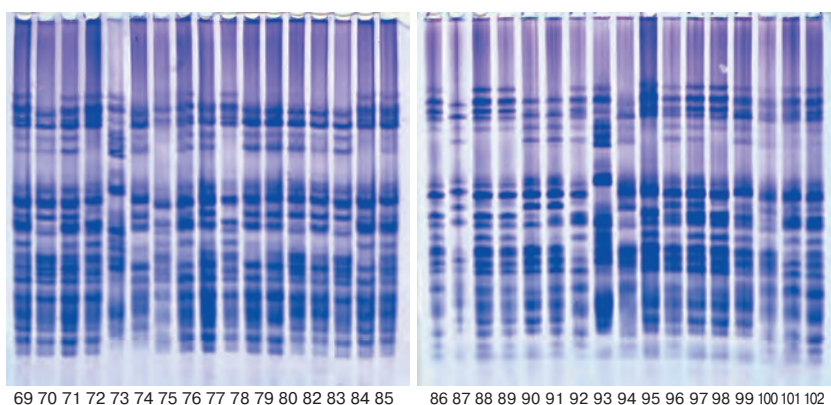


Таблица 2.

Гибринологический анализ аллелей Gld 6B19 и Gld 6B20 по расчету критерия χ^2 в гибридном поколении F_2 (*v. hordeiforme* GR 8670 x *T. dicoccum v. farum*)

№	Генотипы по глиадинкодирующим локусам	Теоретическое число ожидаемости расщепления зерен (1:2:1)	Фактическое число частоты встречаемости аллелей, шт.	χ^2	$P <$
1	Gld 6B19	24	23	0,04	0,01
2	Gld 6B19 + Gld 6B20	48	47	0,02	
3	Gld 6B20	24	26	0,16	

участвующий при гибридизации в материнской форме, отображен в электрофореграммах глиадина 1; 7; 13 и 17.

Электрофоретические компоненты 1; 2; 3; 9 и 14, присущие электрофореграмме сортообразца твердой пшеницы *v. hordeiforme* GR 8670 (рис. 1) на электрофореграмме гибридного поколения F_2 (рис. 3–8) наследуются в форме сцепленных блоков и как независимые признаки. Электрофоретические спектры материнской формы в этой гибридной комбинации передавались наследственно в виде блоков, аллели блоков компонентов локуса Gld 6B идентифицировались и были отмечены как Gld 6B19, частота встречаемости этого блока в гибридных зернах равна 23, что составляет 22,96%.

Частота встречаемости гетерозиготной формы аллелей глиадинкодирующих локусов (Gld 6B19 + Gld 6B20) в зернах гибридов равна 48,96%. В этой гибридной комбинации электрофоретические компоненты 1; 2; 11 и 13, присущие отцовской форме, перешли в гибридное поколение сцепленным блоком в гомозиготной форме Gld 6B20, а частота встречаемости составила 27,08%. Аллельные блоки компонентов Gld 6B19 и Gld 6B20, идентифицированные на основании ЭФ глиадина гибридного поколения F_2 от родительских форм сортообразца твердой пшеницы *v. hordeiforme* GR 8670 и культурной двузернянки *T. dicoccum v. farum*, наследуются из поколения в поколение по менделевскому типу в отношении 1:2:1, по критерию ($\chi^2 = 0,22$) с вероятностью $P < 0,01$ (рис. 1–2 и 3–8, табл. 2).

Выводы

1. Изучение наследственного характера аллелей глиадинкодирующих локусов запасных белков гибридов поколения F_2 у материнской формы *v. hordeiforme* GR 8670 твердой пшеницы дало возможность идентифицировать новые аллельные блоки Gld 6A9 и Gld 6A22.

2. Идентифицированы новые аллельные блоки компонентов Gld 6B19 и Gld 6B20 при ЭФ-анализе запасных белков глиадина тетраплоидной пшеницы *T. dicoccum v. farum* (отцовская форма).

ЛИТЕРАТУРА

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
2. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. / В.Г. Конарев. — М.: Колос, 1983. — 320 с.
3. Кудрявцев А.М. Генетическое разнообразие современных российских сортов яровой и озимой твердой пшеницы по глиадинкодирующим локусам. / А.Ю. Новосельская-Драгович, Л.А. Беспалова, А.А. Шишкина и др. // Генетика. — 2014. — Т. 50. — № 5. — С. 554–559.
4. Новосельская-Драгович А.Ю. Изучение генетического разнообразия сортов мягкой озимой пшеницы по глиадинкодирующим локусам / А.Ю. Новосельская-Драгович, Л.А. Беспалова, А.А. Шишкина и др. // Генетика. — 2015. — Т. 51. — № 5. — С. 324–333.
5. Панин В.М. Глиадины как генетические маркеры в генетике и селекции озимой твердой пшеницы / В.М. Панин // Сов. проблемы науки и образования. — 2011. — № 3. — С. 115–119.
6. Попереля Ф.А. Полиморфизм глиадина и его связь с качеством зерна, продуктивностью и адаптивными свойствами сортов мягкой озимой пшеницы / Ф.А. Попереля. — М.: Агропромиздат, 1989. — С. 138–149.
7. Садыгов Г.Б. Полиморфизм запасных белков глиадина и глютеина у коллекционных образцов озимой твердой пшеницы Азербайджана и пути его использования в селекции: автореф. дис. ... канд. биол. наук. / Г.Б. Садыгов. — Баку, 1994.
8. Садыгов Г.Б. Генетический анализ по глиадин- и глютеинкодирующим локусам гибридов твердой пшеницы / Г.Б. Садыгов // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. — 2013. — № 3. — С. 113–120.
9. Садыгов Г.Б. Генетическое разнообразие коллекции сортов и разновидностей *Triticum durum* Desf. из Азербайджана / Г.Б. Садыгов, А.А. Трифонова, А.М. Кудрявцев // Генетика. — 2017. — № 5.
10. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции / А.А. Созинов. — М.: Наука, 1985. — 272 с.
11. DuCros D.L. Two-dimensional analysis of gliadin proteins associated with quality in durum wheat: Chromosomal location of genes for their synthesis / D.L. DuCros, L.R. Joppa, C.V. Wrigley // Theor. and Appl. Genet. 1983. Vol. 66. P. 297–302.
12. Ganave G.D. Gliadins of Bulgarian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces: genetic diversity and geographical distribution. / G.D. Ganave, Z.G. Popova, S.P. Landjeva, A.M. Kudryavtsev // Genet. Resour. Crop. Evol. 2010 (a). Vol. 57 (4). P. 587–595.
13. Joppa L.R. Chromosomal location of genes for gliadin polypeptides in durum wheat *Triticum turgidum* L. / L.R. Joppa, K. Khan, N.D. Williams // Theor. and Appl. Genet. 1983. Vol. 64. P. 289–293.
14. Pogna N.S. Chromosome 1B encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat. Genetics and relationship to gluten strength / N.S. Pogna, J.C. Autran, F. Milloini, F.P. Lafandraand // Jour. of cereal scin., 1990. Vol. 11. № 1. P. 15–35.
15. Shepred K.W. Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye / K.W. Shepred // Proc., 3d Intern. Wheat Genet. Symp. / ed. K.W. Finlay, K.W. Shepherd. Canberra.: Austral.: Acad. Sci., 1968. P. 86–96.
16. Wrigley C.V. Electrophocusing of grain proteins from genotypes / C.V. Wrigley, K.W. Shepred // Ann. N.Y. Acad. Sci., 1973. Vol. 209. P. 154–162.
17. Zillman R.R. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. 3. Catalogue of electrophoregram formulas of Canadian wheat cultivars / R.R. Zillman, W. Bushuk // Canad. J. Plant Sci. 1979. Vol. 59. P. 287–298.

REFERENCES

1. Dospekhov B.A. Field experience / B.D. Dospekhov. M.: Agropromizdat, 1985. 351 p.
2. Konarev V.G. Plant proteins as genetic markers / V.G. Konarev. M.: Kolos, 1983. 320 p.
3. Kudryavtsev A.M. Genetic diversity of modern Russian varieties of spring and winter durum wheat by gliadin-coding loci. // Genetics, 2014. — T. 50. — № 5. — P. 554–559.
4. Novoselskaya — Dragovic A.Yu., Bespalova L.A., Shishkina A.A., Melnik V.A., Upelnik V.P., Fisenko A.V., Dedova L.V., Kudryavtsev A.M. Study of the genetic diversity of varieties of soft winter wheat for gliadin-locus / A.Yu. Novoselskaya-Dragovic, L.A. Bespalova, A.A. Shishkina et al. // Genetics. 2015. T. 51. № 5. P. 324–333.
5. Panin V.M. Gliadins as genetic markers in the genetics and breeding of winter durum wheat / V.M. Panin // Sov. problems of science and education. 2011. № 3. P. 115–119.
6. Poperelya F.A. Gliadin polymorphism and its relationship with grain quality, productivity and adaptive properties of soft winter wheat varieties / F.A. Poperelya. M.: Agropromizdat, 1989. P. 138–149.
7. Sadigov G.B. Polymorphism of reserve proteins of gliadin and glutenin in collection samples of winter durum wheat of Azerbaijan and the ways of its use in breeding: author. dis. ... cand. biol. sciences. / G.B. Sadigov. Baku, 1994.
8. Sadigov G.B. Genetic analysis of gliadin-and gluten-coding loci of durum wheat hybrids / G.V. Sadigov // Siberian Journal of Agricultural Science. 2013. № 3. P. 113–120.
9. Sadigov G.B. Genetic diversity of the collection of varieties and varieties of *Triticum durum* Desf. from Azerbaijan. / G.B. Sadigov, A.A. Trifonova, A.M. Kudryavtsev // Genetics. 2017. № 5.
10. Sozinov A.A. Polymorphism of proteins and its significance in genetics and selection / A.A. Sozinov. M.: Science, 1985. 272 p.
11. DuCros D.L. Two-dimensional analysis of gliadin proteins associated with quality in durum wheat: Chromosomal location of genes for their synthesis / D.L. DuCros, L.R. Joppa, C.V. Wrigley // Theor. And Appl. Genet. 1983. Vol. 66. P. 297–302.
12. Ganave G.D. Gliadins of Bulgarian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces: genetic diversity and geographical distribution / G.D. Ganave, Z.G. Popova, S.P. Landjeva, A.M. Kudryavtsev // Genet. Resour. Crop Evol. 2010 (a). Vol. 57 (4). P. 587–595.
13. Joppa L.R. Chromosomal location of genes for gliadin polipeptides in durum wheat *Triticum turgidum* L. / L.R. Joppa, K. Khan, N.D. Williams // Theor. and Appl. Genet. 1983. Vol. 64. P. 289–293.
14. Pogna N.S. Chromosome 1B encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat. Genetics and relationship to gluten strength / N.S. Pogna, J.C. Autran, F. Milloini, F.P. Lafandraand // Jour. of cereal scin., 1990. Vol. 11. № 1. P. 15–35.
15. Shepred K.W. Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye / K.W. Shepred // Proc., 3d Intern. Wheat Genet. Symp. / Ed. K.W. Finlay, K. W. Shepherd. Canberra: Austral.: Acad. Sci., 1968. P. 86–96.
16. Wrigley C.V. Electrophocusing of grain proteins from genotypes / C.V. Wrigley, K.W. Shepred // Ann. N.Y. Acad. Sci., 1973. Vol. 209. P. 154–162.
17. Zillman R.R. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. 3. Catalogue of electrophoregram formulas of Canadian wheat cultivars / R.R. Zillman, W. Bushuk // Canad. J. Plant Sci. 1979. Vol. 59. P. 287–298.

