

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТИПОВ СИНТЕТИЧЕСКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ МАРКЕРОВ ПРОЛАМИНОВОГО БЕЛКА

УДК 633.11:581.192.4

Аннотация. В исследовании проведена идентификация аллелей глиадинкодирующих локусов и паспортизация генотипов синтетической пшеницы, описан использованный для этого метод электрофоретического анализа запасных белков глиадинов, с помощью статистической компьютерной программы SPSS установлено наличие положительной и отрицательной линейной корреляции между показателями качества зерна. Проведен кластерный анализ с разделением образцов на 8 групп, по каждой из которых рассчитаны индексы генетического разнообразия (H-) глиадинкодирующих локусов.

Ключевые слова: синтетическая пшеница, кластер, глиадин, паттерн, блок аллельных компонентов, идентификация.

Для цитирования: Бабаева М., Керимов А., Мамедова С., Акперов З. Изучение генотипов синтетической пшеницы на основе маркеров проламинавого белка // Наука и инновации. 2023. №12. С. 68–72. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2023-12-68-72>

Пшеница – источник важнейших продуктов питания, содержащих помимо углеводов, белков и жиров витамины, пищевые волокна и некоторые фитохимические вещества, оказывающие положительное влияние на здоровье человека, в частности снижающие риск развития диабета, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2].

В селекционных программах ведущих мировых центров активно используется син-

тетическая пшеница, свойства которой включают в себя генетический потенциал ближайшего родственника пшеницы – *Aegilops L.* Это значительно расширяет генотипическое разнообразие исходного материала для создания новых форм данной культуры, устойчивых к биотическим и абиотическим воздействиям [3]. Повышение продуктивности достигается в основном за счет выведения сортов, способных производить максимальное число полноценных зерен на единицу пло-

Матанет Бабаева,
научный сотрудник Отдела биохимической генетики и технологии Института генетических ресурсов Министерства науки и образования Азербайджана;
ameagei@mail.ru

Акпер Керимов,
ведущий научный сотрудник отдела биохимической генетики и технологии Института генетических ресурсов Министерства науки и образования Азербайджана, доцент;
akber_xocali@yahoo.com

Севиндж Мамедова,
заведующая лабораторией гермоплазмы Института генетических ресурсов Министерства науки и образования Азербайджана, кандидат биологических наук, доцент;
smamedova2002@mail.ru

Зейнал Акперов,
генеральный директор Института генетических ресурсов Министерства науки и образования Азербайджана, член-корреспондент Национальной академии наук Азербайджана, доктор аграрных наук;
akparov@yahoo.com; dir@genres.science.az

щади [4, 5]. Так, было установлено, что синтетическая гексаплоидная пшеница ($2n = 6x = 42$; AABBDD) обладает более высоким потенциалом урожайности [6], устойчива к неблагоприятным условиям окружающей среды, поэтому, что немаловажно для некоторых регионов, ее можно выращивать на бедных почвах в климатических условиях высокогорья [7].

Сравнение качественных характеристик генотипов мягкой и синтетической пшеницы показало статистически более высокий процент белка у второй [8]: согласно литературным научным данным, общее его содержание в семенах гексаплоидов колеблется в пределах 12,5–23,6% [9]. Кроме того, эта разновидность культуры отличается более высоким уровнем лизина, крахмала и витаминов группы В по сравнению с мягкими сортами [11]. Особую ценность в ее составе представляют запасные, или клейковинные белки, которые вместе со спирторастворимым глиадином и щелочерастворимым глютелином составляют 80% эндосперма пшеницы [11]. Запасные белки выступают в роли маркеров устойчивых ассоциаций генов, обуславливающих адаптацию генотипов к определенным усло-

виям среды, что на конечном этапе выражается в высоких хлебопекарных качествах продукции, а на стадии роста растений – в их устойчивости к ряду заболеваний, позволяющей использовать данные образцы для решения практических задач селекции [12, 13].

Материалы и методы

Материалом для исследований служили полученные из Международного центра улучшения кукурузы и пшеницы и интродуцированные в 2018 г. на Апшеронской экспериментальной станции Института генетических ресурсов Министерства науки и образования (МНиО) Азербайджана 68 образцов гексаплоидной синтетической пшеницы: SYT-2, SYT 4, SYT-5, SYT-6 и др., а также в качестве маркеров – стандартный сорт Безостая-1 и сорт Анза.

Электрофоретический анализ запасных белков эндосперма зерновок-глиадинов генотипов синтетической пшеницы проводили на полиакриламидном геле (Acid-PAGE) по методике Ф.А. Поперели с соавторами [14]. Использовался метод одномерного электрофореза в полиакриламидном геле в кислом глицин-ацетатном

буфере (pH=3,1). Глиадин экстрагировали 70%-ным этанолом из муки отдельных зерновок. К супернатанту добавляли равный объем 0,009М глицин-ацетатного буфера (pH=3,1), содержащего краситель метиленовый зеленый и 80% сахарозы. Электрофорез проводили в вертикальных пластинах геля (1,8×150×150 мм), содержащего 8,3% акриламида, 0,4% органического соединения метиленисакриламида, 0,1% аскорбиновой кислоты и 0,001% сульфата железа. Полимеризацию инициировали добавлением к 150 мл геля 50 мкл 30%-ной перекиси водорода. Электрофорез проводили в течение 2–3 часов при 550 В и температуре около 30 °С. По окончании электрофореза пластины геля фиксировали в 10%-ном растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ), окрашивали в 0,04%-ном растворе трифенилметанового красителя Кумасси 11–250. Частоту встречаемости аллелей глиадинкодирующих локусов среди образцов синтетической пшеницы, индекс генетического разнообразия для всех зон рассчитывали по следующей формуле [15]:

$$H = 1 - \sum P_i^2,$$

где H – индекс генетического разнообразия, P_i – частота каждого паттерна по зонам.

Результаты и их обсуждение

В нашем исследовании генетическая идентификация и паспортизация образцов синтетической пшеницы проводилась на основе белковых маркеров, среди которых одним

из важнейших является проламин. При вертикальном электрофоретическом анализе методом A-PAGE запасные белки глиаина условно были разделены на 4 известные зоны: ω -, γ -, β - и α -глиаины. Аллельные варианты глиаинкодирующих локусов образцов синтетиче-

ской пшеницы отличались друг от друга количеством электрофоретических спектров, относительной электрофоретической подвижностью и интенсивностью окрашивания отдельных компонентов. Во время электрофоретического анализа аллельные варианты блоков компонентов глиаина наблюдались в 7 локусах 6б образцов синтетической пшеницы. Идентификация исследуемых генотипов определялась по локусам Gli 1A, Gli 1B, Gli 1D, Gli 6A, Gli 6B и Gli 6D каталога стандартного сорта Безостая-1. В качестве маркерных сортов были взяты Безостая-1 и Анза (рис. 1–5). Данный метод широко используется как эффективный и действенный научный подход к целенаправленной гибридизации на основе белковых маркеров, ускоряющий процесс селекции и получения чистого материала.

По результатам электрофоретического анализа генотипов мягкой пшеницы усовершенствован каталог аллельных генов, кодирующих те белки, которые идентифицированы аллельными вариантами блоков компонентов глиаинкодирующих локусов, что открывает возможности для создания новых сортов и форм.

После экстракции глиаина из зерен синтетической пшеницы и электрофоретического анализа полученные спектры были пронумерованы.

Для определения генетической близости образцов синтетической пшеницы на основе мономерного белкового маркера проламина использовалась компьютерная программа SPSS-16, с помощью которой была построена дендрограмма. Как видно на рис. 6, она разделена на 8 основных кластеров.

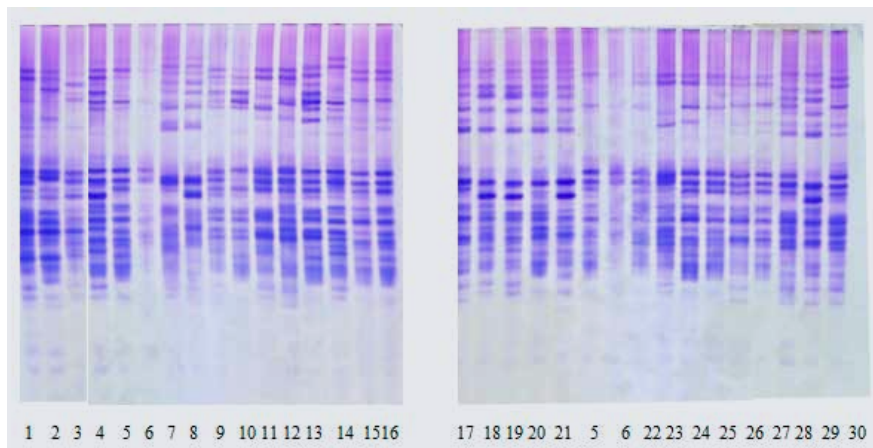


Рис. 1, 2. Электрофорез глиадинов генотипов синтетической гексаплоидной пшеницы после нумерации спектров образцов: №1 – SYT-4, 2 – SYT-5, 3 – SYT-6, 4 – SYT-8, 5 – Безостая-1, 6 – Анза (маркер), 7 – SYT-9, 8 – SYT-10, 9 – SYT-11, 10 – SYT-12, 11 – SYT-13, 12 – SYT-14, 13 – SYT-15, 14 – SYT-16, 15 – SYT-17, 16 – SYT-18, 17 – SYT-19, 18 – SYT-21, 19 – SYT-22, 20 – SYT-23, 21 – SYT-24, 5 – Безостая-1, 6 – Анза (маркер), 22 – SYT-25, 23 – SE-26, 24 – SE-27, 25 – SE-29, 26 – SE-30, 27 – SE-32, 28 – SE-33, 29 – SE-34, 30 – SE-35

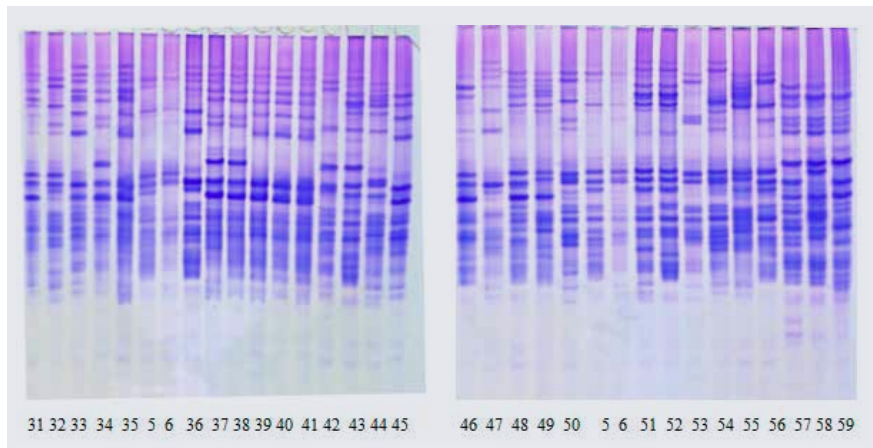


Рис. 3, 4. Спектры генотипов синтетической пшеницы: №31 – SE-36, 32 – SE-37, 33 – SE-38, 34 – SE-39, 35 – SE-41, 5 – Безостая-1, 6 – Анза (маркер), 36 – SE-42, 37 – SE-44, 38 – SE-45, 39 – SE-46, 40 – SE-47, 41 – SE-48, 42 – SE-49, 43 – SE-50, 44 – SE-51, 45 – SE-53, 46 – SE-55, 47 – SE-56, 48 – SE-57, 49 – SE-58, 50 – SE-60, 5 – Безостая-1, 6 – Анза (маркер), 51 – SE-61, 52 – SE-62, 53 – SE-63, 54 – SE-64, 55 – SE-66, 56 – SE-67, 57 – I-3, 58 – I-5, 59 – I-12

Генотипы №4 – SYT-8, 5 – Безостая-1, 6 – Анза (маркер), 12 – SYT-14, 13 – SYT-15, 15 – SYT-17, 16 – SYT-18, 23 – SE-26, 24 – SE-27, 25 – SE-29, 26 – SE-30, 27 – SE-32, 28 – SE-33, 29 – SE-34, 30 – SE-35, 31 – SE-36, 32 – SE-37, 33 – SE-38, 34 – SE-39, 35 – SE-41, 37-SE-44, 38 – SE-45, 39 – SE-46, 40 – SE-47, 41 – SE-48, 42 – SE-49, 43 – SE-50, 44 – SE-51, 45 – SE-53, 48 – SE-57, 49 – SE-58, 50 – SE-60, 51 – SE-61, 52 – SE-62, 54 – SE-64, 55 – SE-66, 56 – SE-67, 67 – I-35 сгруппировались в первом большом кластере. Ко второму относятся образцы №3 – SYT-6, 8 – SYT-10, 9 – SYT-11, 10 – SYT-12, 14 – SYT-16, 17 – SYT-19, 18 – SYT-21, 19 – SYT-22, 20 – SYT-23, 21 – SYT-24, 36 – SE-42. Сорта №2 – SYT-5, №57, 58, 59, №60 – I-15, 61 – I-16, 62 – I-17, 63 – I-18, 64 – I-19, 65 – I-25, 66 – I-26, 68 – SYT-2 объединились в третьем кластере; еще два, под номерами 53 (SE-63) и 11 (SYT-13), – в четвертом.

По одному образцу (№47 – SE-56, №46 – SE-55, №22 – SYT-25 и №7 – SYT-9) оказались в пятом, шестом, седьмом и восьмом кластерах соответственно.

В ходе исследования электрофореза глиадинокодирующих локусов образцов синтетической пшеницы обнаружено 30 электрофоретических спектров и 128 паттернов. Определено, что все генотипы обладают полиморфизмом.

В ω-зоне образцов синтетической пшеницы наблюдалось 11 спектров и 57 паттернов. Среди них спектр ω-3S отличался высокой частотой – 88,2%, ω-8S – средней (53,03%), спектр ω-1S – низкой (10,3%). Паттерн ω-2P обнаружен в 4 образцах, что составляет 5,9%; паттерны ω-18P, ω-35P, ω-16P, ω-5P – в 2 образцах (3,5%), а ω-2P – в 1,47%. Индекс генетического разнообразия в ω-зоне (H) составил 0,981.

В γ-зоне исследуемых образцов обнаружили 6 спектров

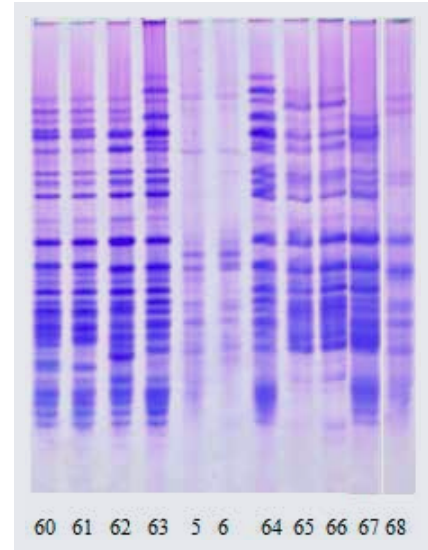


Рис. 5. Спектры генотипов пшеницы: №60 – I-15, 61 – I-16, 62 – I-17, 63 – I-18, 5 – Безостая-1, 6 – Анза (маркер), 64 – I-19, 65 – I-25, 66 – I-26, 67 – I-35, 68 – SYT-2

и 15 паттернов. Высокая частота встречаемости выявлена у спектра γ-3S (88,4%), средняя – у γ-5S (56,9%), у спектра γ-2S она оказалась низкой (14,7%).

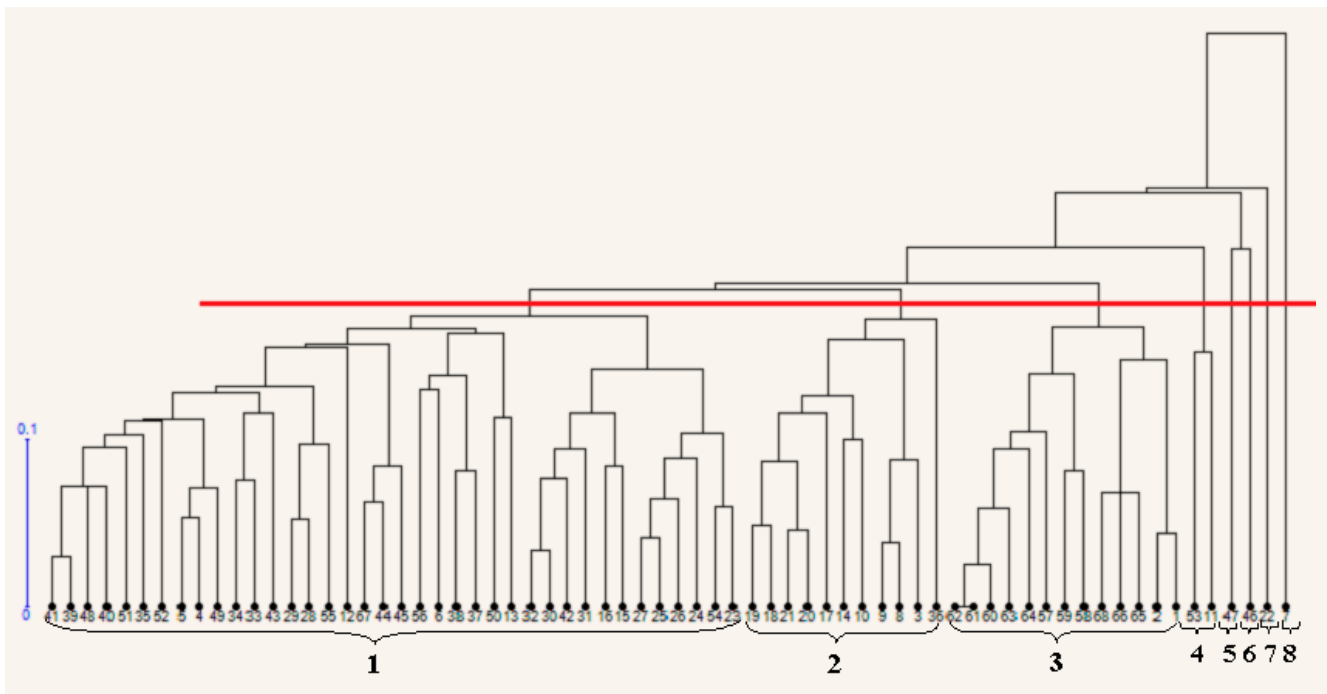


Рис. 6. Дендрограмма образцов синтетической пшеницы на основе запасного белка глиадины

В ходе анализа паттерн γ -5P был идентифицирован в 22 генотипах (32,4%), а γ -2P – в 14 (20,6%). Индекс генетического разнообразия в γ -зоне определен как $H=0,833$.

В следующей, β -зоне выявлено 5 электрофоретических спектров и 18 паттернов. Частота встречаемости спектра β -3S была рассчитана как высокая (86,8%), β -2S – средняя (75,0%) и β -5S – низкая (25,0%). Паттерн β -3P имел высокую встречаемость (38,2%): он обнаружен в 26 образцах; β -10P – в 9 (13,2%), распространенность паттерна β -13P (в 4 образцах) составила 5,9%. В целом индекс генетического разнообразия в β -зоне – 0,819.

В α -зоне генотипов синтетической пшеницы зарегистрировано 8 спектров и 38 паттернов. Наиболее высокой оказалась частота встречаемости спектра α -4S – 83,8%, у спектра α -6S она была средней (56,0%), у α -1S – низкой (28,0%). Эта же величина для паттерна α -23P составила 8,82% (при совпадении в 6 образцах), α -6P был зарегистрирован в 4 (5,9%), α -24P – в 2 (2,9%). Исходя из полученных данных, индекс генетического разнообразия для α -зоны $H=0,912$. Подводя итог, отметим, что упомянутая величина оказалась наибольшей ($H=0,981$) в ω -, а наименьшей ($H=0,819$) – в β -зоне.

Таким образом, в результате кластерного анализа образцы SYT-9, SYT-25, SE-55 и SE-56 на генетическом уровне отличались от других генотипов. Использование этих образцов синтетической пшеницы в селекционных программах считаем наиболее перспективным. ■

■ **Summary.** In the study, the identification of alleles of gliadin-coding loci and the certification of synthetic wheat genotypes were carried out, the method of electrophoretic analysis of gliadin storage proteins used in the study was described, and the presence of a positive and negative linear correlation between grain quality indicators was established using the SPSS statistical computer program. A cluster analysis was carried out with the division of samples into 8 groups, for each of them the indices of genetic diversity of (H-) gliadin-coding loci were calculated.

■ **Keywords:** synthetic wheat, cluster, gliadin, pattern, block of allelic components, identification.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2023-12-68-72>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Долгополова Н.В., Скрипни В.А., Шершнева О.М., Алябьева Ю.В. Значение озимой и яровой пшеницы в производстве продуктов питания // <https://cyberleninka.ru/article/n/znachenie-ozimoy-i-yarovoy-pshenitsy-v-proizvodstve-produktov-pitaniya/viewer>.
2. Shewry P.R., Hey S.J. The contribution of wheat to human diet and health // <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4998136/>.
3. Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Шепелев С.С. [и др]. Оценка линий синтетической пшеницы (*Triticum durum*/Aegilops tauschii) по вегетационному периоду и устойчивости к болезням // <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/19166/58986.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
4. Крупнова О.В. О взаимосвязи урожайности с содержанием белка в зерне у зерновых и бобовых культур // <http://www.agrobiology.ru/articles/3-2009krupnova.pdf>.
5. Пономарев С.Н., Пономарева М.Л., Маннапова Г.С., Илалова Л.В. Урожайность и содержание белка в зерне коллекционных образцов озимой тритикале // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2021. №22 (4). С. 495–506. DOI: <https://cyberleninka.ru/article/n/urozhaynost-i-soderzhanie-belka-v-zerne-kollektsionnyh-obraztsov-ozimoy-tritikale/viewer>.
6. Mujeeb-Kazi A., Gul A., Farooq M., Rizwan S., Ahmad I. Rebirth of synthetic hexaploids with global implications for wheat // <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301543333>.
7. Ming Hao, Jiangtao Luo, Lianquan Zhang, Zhongwei Yuan, Youwei Yang, Meng Wu, Wenjie Chen, Youliang Zheng, Huaigang Zhang, Dengcai Liu. Production of hexaploid triticale by a synthetic hexaploid wheat-rye hybrid method // https://www.researchgate.net/publication/257561576_Production_of_hexaploid_triticale_by_a_synthetic_hexaploid_wheat-rye_hybrid_method.
8. Lage J., Skovmand B., Pena R.J. and Andersen S.B. Grain quality of Emmer wheat derived synthetic hexaploid wheats // https://www.researchgate.net/profile/Jacob-Lage/publication/225666173_Grain_Quality_of_Emmer_Wheat_Derived_Synthetic_Hexaploid_Wheats/links/54b776c70cf2bd04be3394fc/Grain-Quality-of-Emmer-Wheat-Derived-Synthetic-Hexaploid-Wheats.pdf.
9. Лапочкина И.Ф., Адам Аль Лаббан, Макарова И.Ю., Гайнуллин Н.Р., Жемчужина А.И. Оценка и характеристика образцов коллекции синтетической пшеницы (2n = 42) как новых источников устойчивости к бурой ржавчине и мучнистой росе в условиях Нечерноземной зоны РФ // [https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-i-harakteristika-obraztsov-kollektsii-sinteticheskoy-pshenitsy-2n-42-kak-novykh-istochnikov-ustoychivosti-k-buroy-rzhavchine-i-viewer](https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-i-harakteristika-obraztsov-kollektsii-sinteticheskoy-pshenitsy-2n-42-kak-novykh-istochnikov-ustoychivosti-k-buroy-rzhavchine-i-muchinistoy-rose-v-usloviyah-nechernozemnoy-zony-rf).
10. McGovern C.M., Snyder F., Muller N., Botes W., Fox G., Manley M. A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality // <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jsfa.4338>.
11. Каримов А.Я. Исследование индекса генетической схожести и идентификация сортов мягкой пшеницы способом глиадинового маркера // <https://science-education.ru/ru/article/view?id=1421>.
12. Карпова Т.А. Генетическое разнообразие вида пшеницы *Triticum spelta* L. по аллелям глиадинкодирующих локусов / автореф. дисс. ... канд. биол. наук // http://www.vigg.ru/fileadmin/user_upload/Avtoferaty_dissertacii/Kandidatskie/Karpova_T.A_avtoferat_15.03.2012.pdf.
13. Брежнева (Карпова) Т.А., Упельник В.П. Эндемичные аллели глиадинкодирующих локусов гексаплоидной пшеницы *T. spelta* L. // V съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров. Часть I. Москва. 21–28 июня 2009 г. – М., 2009. С. 192.
14. Ф.А. Попереля. Полиморфизм глиадина и его связь с качеством зерна, продуктивностью и адаптивными свойствами сортов мягкой озимой пшеницы // Селекция, семеноводство и интенсивная технология возделывания озимой пшеницы. – М., 1989.
15. Nei M., Li W.H. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonucleases // <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>.

Статья поступила в редакцию 10.02.2023 г.

