

УДК 633:11:63:523:575

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДЕКСА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СХОЖЕСТИ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СПОСОБОМ ГЛИАДИНОВОГО МАРКЕРА

Каримов А.Я.

Институт Генетических Ресурсов НАНА, Баку, Азербайджан

В эндоспермах зерен 19 сортов мягкой пшеницы, относящихся к виду *Taestivum L.* были рассмотрены идентификация глиадинкодирование аллельных локусов запасных белков и электрофоретические спектры глиадина (объем, высота, площадь и молекулярная масса). Вместе с тем был подсчитан индекс генетической схожести этих сортов по глиадин электрофоретическому спектру. После определения при помощи мономерно белковых маркеров индекса генетической схожести сортов и, проанализировав по методу SPSS статистической программы генетическую близость сортов, была составлена дендрограмма.

Ключевые слова: мягкой пшеницы, глиадин, генетической схожести, глиадиновые маркеры.

Введение

Оценка селекционного материала на основе белкового маркера дает возможность достаточно быстро и качественно проводить отбор и контролировать передачу желаемых признаков от родительских форм в гибридные популяции. Вместе с тем, для селекции необходимо выявление новых и стабильных белковых маркеров для определения качества зерна пшеницы. Наиболее широко изучаемыми белками пшеницы являются запасные белки глиадин и глютенин. Полная характеристика отдельных фракций и компонентов белков отражается во многих научных исследованиях. Поэтому изучение генетической закономерности накопления белков в зерне различных сортов пшеницы и использование при идентификации генотипов пшеницы в роли маркера компонент глиадиновых белков является наиболее актуальной проблемой современности [1].

Практически ряд молекулярных маркеров используется при исследовании пшеницы. Вместе с тем, среди изученных молекулярных маркеров более досконально изучались микросателлитные SSR (Simple Sequence Repeat) маркеры ДНК.

Помимо того, что маркеры должны обладать особой спецификой, они должны быть еще и хорошо различимы белками. Поэтому заранее изучаются биологическая

специфика, молекулярное строение и другие биохимические структуры данных белков. Так как гены располагаются в различных локусах хромосом и в целом составляют геном, основываясь на принципе ген-белок, используя их как маркер, можно получить информацию о генотипе [2,14].

Хорошо известна значимость белков глиадина и глютенина в хлебопечении [12]. Качество хлеба напрямую связано с наличием или отсутствием специальных белковых единиц [8]. Кроме того, качество хлеба зависит от соотношения мономерных белков к полимерным белкам, а также от качества и объема распространения полимерных белков [9]. Глютеновые белки, глиадины и глютенины составляют 80-85% от общих белков муки и тем самым они придают эластичность и растяжимость пшеничной муке [15].

Одним из актуальнейших вопросов целевой науки является изучение синтеза генетического надзора над запасными белками глиадин и глютенин, составляющими основу эндосперма. Так как количество клейковины в зерне составляет 80-85% от запасных белков, эти белки называют белками клейковины [3,7].

Материал и методика

В качестве материала исследований использовались местные сорта мягкой

пшеницы Азербайджанской Республики Акинчи-84, Гобустан, Нурул-99, Азаметли 95, Рузи-84, Гырмызыгюль, Баяз, Парзиван-1, Парзиван-2, Шеки-1, Шафаг, Дурдана, Бирлик, Достслуг, Бол-Бугда, интродуцированные Дагдаш, Анза, Безостая-1, Саратовская-29. В зерне эндосперма этих растений были изучены запасные белки и составлены электрофореограммы глиадинкодирующих локусов Gld 1A, Gld 1B, Gld 1D, Gld 6A, Gld 6B, Gld 6D. Электрофоретический анализ проводился по методу W.Bushuk, R.R.Zillman, модифицированный Ф.А.Попереля и др. [4,5].

Результаты и обсуждения

В проводимых нами научных исследованиях наличие в генах глиадинкодирующих локусов большого количества аллелей привело к расширению каталога компонентов блоков глиадин аллелей.

Идентификация исследуемых сортов согласно генетической формуле электрофореограмм была претворена в жизнь на

основе глиадинкодирующих локусов Gld 1A, Gld 1B, Gld 1D, Gld 6A, Gld 6B, Gld 6D и Gld 2-1A.

Во время проведения исследований запасные белки глиадина были условно разделены на 4 зоны и получили название ω -, γ -, β -, α -глиадины. Глиадины, находящиеся в зерне пшеницы-гетерогенные белки. Глиадины, будучи в форме мономерной цепи, составляют 50% зерна и по молекулярному весу в поликариламидном геле имеет 4 различные формы (α -глиадин, β -глиадин, γ -глиадин, ω -глиадин) [16]. Все глиадины считаются мономерами, несмотря на то, что у них могут быть дисульфидные связи (ω -глиадин), а также цепочковидные дисульфидные связи (α -, β -, γ -глиадины) [10,11].

Была проведена идентификация компонентов блоков глиадина аллелей двух местных сортов: Экинчи-84, Эземетли-95 на основе электрофореограмм глиадинкодирующих локусов (рис. 1).

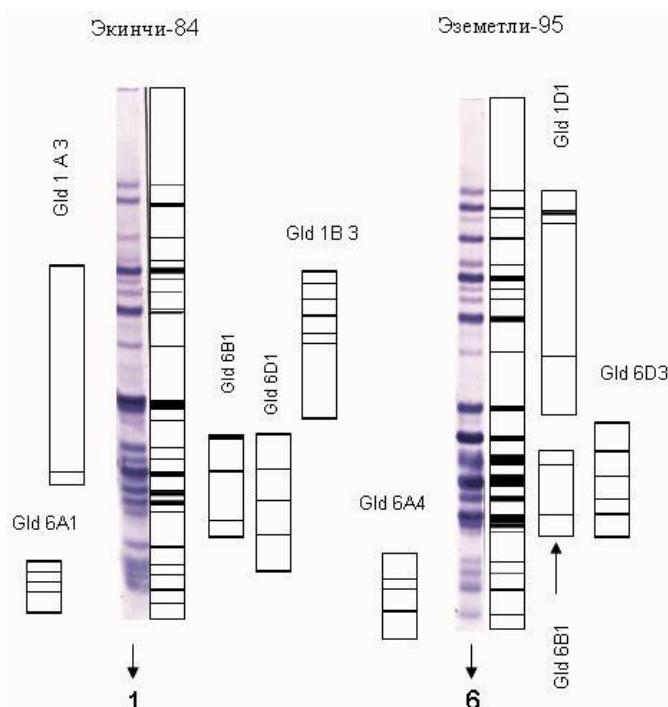


Рис. 1. Блоки компонентов аллелей в сортах мягкой пшеницы

Была определена частота встречаемости блоков компонентов аллелей в местных сортах пшеницы, таких как Акинчи-84, Gld 1A3, Gld 1B3, Gld 1D1, Gld 6A1, Gld 6B1, Gld 6D1 и Gld 2-1A3; блоков компонентов аллелей Гобустан, Gld 1A5,

Gld 1B? новый, Gld 1D1, Gld 6A4, Gld 6B2, Gld 6D3 и Gld 2-1A3; Нурул-99, Gld 1A5, Gld 1B3, Gld 1D1, Gld 6A4, Gld 6B2, Gld 6D2 и Gld 2-1A3; а также в сорте Гырмызыгюль, Gld 1A5, Gld 1B1, Gld 1D1, Gld 6A2, Gld 6B2, Gld 6D2. Однако, в сорте

Гырмызыгюль Gld 2-1A3 блоков компонентов аллелей не встречалось.

Во время проведения электрофоретического анализа стало известно, что в зернах сортов мягкой пшеницы Гобустан, Нурлу-99, Рузи-84, Гырмызыгюль, Дурдана были идентифицированы глиадинкодирующие локусы, отвечающие за синтез запасных белков Gld 1A5, в сорте Азаметли-95, Gld 1A6, в сортах Парзиван-1, Шеки-1, Достлуг, Бирлик, Дагдаш, Безостая-1 (St) и Анза Gld A4; в сортах Акинчи-84, Бол-бугда, Баяз Gld 1A10, а в сорте Шафаг Gld 1A2. Таким образом, в местных сортах мягкой пшеницы частота повторяемости блоков компонентов глиадин аллелей различна. В этих сортах блоки компонентов аллелей Gld 1A5 по сравнению с блоками Gld 1A4 и Gld 1A6 встречаются довольно чаще. Блок Gld 1A5 в азербайджанских сортах встречается чаще, поэтому высокий показатель качества семян этих сортов соответственно выше. Это дает основание сделать вывод, что качество этих семян есть молекулярный белковый маркер.

В результате вышеизложенного можно заключить, что частота встречаемости глиадинкодирующих локусов аллелей в мягкой пшенице связана с генетическим аппаратом, этих же глиадинкодирующих локусов.

В вышеуказанных сортах Экинчи-84, Нурлу-99, Эзemetli-95 и Дурдана **Gld 1B3**, Гырмызыгул, Рузи-84, Безостая-1, Анза, Бирлик, Достлуг, Парзиван-2, Шефег, Дагдаш **Gld 1B1** была проведена идентификация блоков компонентов. В сортах мягкой пшеницы Экинчи-84, Саратовская-29, Бол-бугда, Беяз, парзиван-1 **Gld 6D1**, Нурлу-99, Гырмызыгуль, Анза, Дурдана **Gld 6D2**, Гобустан, Эзemetli-95, Рузи-84, Дагдаш, Бирлик, Достлуг, Парзиван-2, Шеки-1 **Gld 6D3**, Безостая-1 (St), Шефег **Gld 6D4** была проведена идентификация блоков компонентов аллелей.

Gld 1A4 блок компонентов наблюдался у классических сортов Безостая-1 (St), Дагдаш (Турция), Парзиван-2, Шеки-1. На основании литературных данных этот блок является маркером качества хлеба [6].

Наряду с хромосомой Gld 1A глиадинкодирующих локусов выявлен локус Gld 2-1A, который локализуется там же и контролирует синтез этого спектра.

В сортах Экинчи-84, Гобустан, Нурлу-99, Эзemetli-95, Рузи-84, Бол-бугда, Беяз, Парзиван-1 **Gld 2-1A1** были выявлены блоки компонентов аллелей (табл. 1).

Во время исследований местных сортов (Гобустан, Бол-бугда, Беяз и Шеки-1) были обнаружены новые блоки компонентов аллелей (рис. 2, 3).

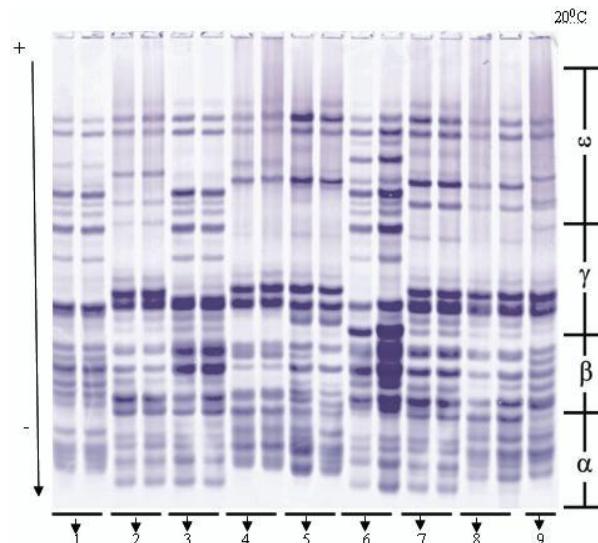


Рис. 2. Электрофорограммы глиадинкодирующих локусов мягкой пшеницы
1 – Экинчи-84, 2 – Гобустан, 3 – Нурлу-99, 4 – Гырмызыгул, 5 – Безостая (st),
6 – Эзemetli- 95, 7– Анза, 8 – Рузи- 84, 9 – Саратовская-29

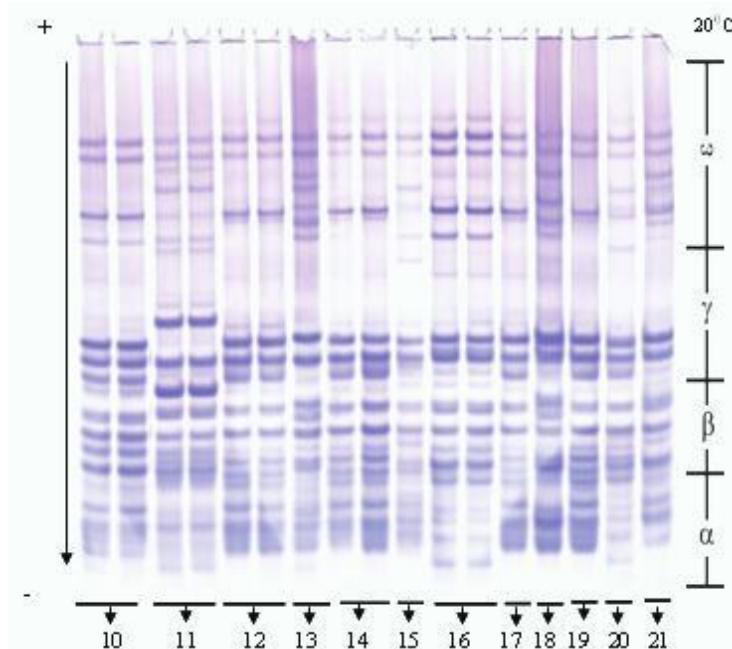


Рис. 3. Электрофорограммы запасных белков глиадина в сортах мягкой пшеницы
10 – Дагдаш, 11 – Дурдана, 12 – Бирлик, 13 – Бол-бугда, 14 – Безостая (st), 15 – Бейаз,
16 – Анза (marker), 17 – Достлуг, 18 – Парзиван-1, 19 – Парзиван-2, 20 – Шеки-1, 21 – Шефег

Таблица 1

Формулы глиадиновых локусов

s/s	Названия сорта	Gld 1A	Gld 1B	Gld1D	Gld 6A	Gld 6B	Gld 6D	Gld 2-1A
1	Экинчи-84	10 или 3	3	1	1	1	1	3
2	Гобустан	5	новый	1	4	2	3	3
3	Нурлу-99	5	3	1	4	2	2	3
4	Гырмызыгул	5	1	1	2	2	2	-
5	Безостая (st)	4	1	1	2	1	4	-
6	Эземетли- 95	6	3	1	4	1	3	3
7	Анза	4	1	1	1	2	2	3
8	Рузи- 84	5	1	1	1	3	3	3
9	Саратовская-29	5	4	1	1	1	1	3
10	Дагдаш	4	1	1	1	1	3	3
11	Дурдана	5	3	1	3	1	2	1
12	Бирлик	4	1	1	1	1	3	1
13	Бол-бугда	10 или 3	новый	1	1	1	1	3
14	Бейаз	10	новый	1	1	?	1	3
15	Достлуг	4	1	1	1	1	3	1
16	Парзиван-1	?	4?	1	2	1	1	3
17	Парзиван-2	4	1	1	1	1	3	1
18	Шеки-1	4	новый	1	4	1	3	?
19	Шефег	2?	1?	1	1?	1	4	1

Используя известные электрофоретические спектры сорта мягкой пшеницы «Анза» (Америка), а так же электрофорограммы электрофоретических спектров местных и других сортов мягкой пшеницы

при помощи статистической программы «Био Капт» были подсчитаны молекулярная масса и другие показатели (объем спектра, высота, площадь и др.), (рис. 4).

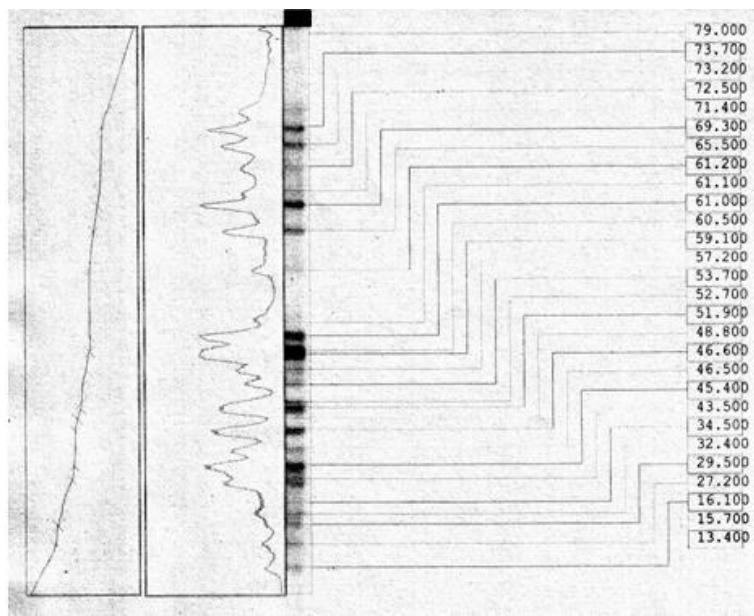


Рис. 4. Молекулярная масса у сорта мягкой пшеницы Анза

Объем 8 спектра «Анза» 348562, площадь 1564, молекулярная масса 64.200, 10 спектра объем 2770, площадь 23, молекулярная масса 61.500. Однако у местного сорта Экинчи-84 объем 1 спектра 431870, площадь 1794, молекулярная масса 97394 больше чем у «Анза» (маркер). Был подсчитан объем 10 спектра 2990, площадь 23, молекулярная масса 59.787. Объем 7 электрофоретического спектра Гобустан 398312, площадь 1728, молекулярная масса 64.690, объем 13 спектра 4272, площадь 24, молекулярная масса 52.498, У Гырмы-

зыголь объем 16 электрофоретического спектра 514028, при площади 2300, молекулярная масса 34.116, что отличает его от «Анза» и других сортов высокими показателями. Объем 14 спектра 3012, площадь 23, молекулярная масса 44281. В результате анализов молекулярная масса запасных белков глиадина и высота спектра резко отличалась по сортам. Однако объем электрофоретических спектров и их площадь в значительной степени отличалась от сорта «Анза», взятого как маркер (табл. 2).

Таблица 2

Электрофоретические спектральные анализы глиадина в сортах Анза, Экинчи-84, Гобустан и Гырмызыгуль мягкой пшеницы

Анза	Объем	высо- та	пло- щадь	моле- куляр- ная масса	Экинчи- 84	объем	высо- та	Пло- щадь	моле- куляр- ная масса
1спектр	67822	250	360	79.000	1 спектр	431870	255	1794	97.394
2спектр	3170	246	23	73.700	2 спектр	59540	250	276	73.700
3спектр	48218	248	276	73.200	3 спектр	4304	244	23	73.200
4спектр	79524	250	414	72.500	4 спектр	286782	254	1288	72.191
5спектр	121064	250	621	71.400	5 спектр	3666	242	23	67.424
6спектр	2834	238	23	69.300	6 спектр	78986	252	391	65.734
7спектр	97248	252	529	65.500	7 спектр	68040	252	322	65.201
8спектр	348562	252	1564	64.200	8 спектр	3746	244	23	64.526
9спектр	54632	246	299	62.900	9 спектр	371538	254	1702	63.947
10спектр	2770	228	23	61.500	10 спектр	2990	244	23	59.787
11спектр	40470	240	299	60.300	11 спектр	24390	250	161	58.629

12спектр	5626	236	46	59.100	12 спектр	145974	252	713	53.141
13спектр	43606	246	253	57.200	13 спектр	74190	254	414	51.013
14спектр	115350	248	575	53.700	14 спектр	3264	244	23	49.626
15 спектр	10164	232	69	52.700	15 спектр	66110	252	391	47.028
16 спектр	71030	246	391	51.900	16 спектр	32750	252	184	46.317
17 спектр	2968	232	23	48.800	17 спектр	25278	252	138	45.717
18 zolaq	106968	244	621	46.600	18 спектр	208558	255	989	36.883
19 спектр	2956	222	23	45.500	19 спектр	8362	252	46	32.211
20 спектр	41310	240	276	43.500	20 спектр	16748	252	92	31.468
21 спектр	100802	248	529	34.500	21 спектр	56258	254	299	29.364
22 спектр	30654	246	161	32.400					
23 спектр	75222	246	368	29.500					
24 спектр	105852	248	506	27.200					
25 спектр	91473	240	470	16.100					
26 спектр	97651	235	450	15.700					
27 спектр	8965	230	440	13.400					
Гобустан	объем	высо- та	пло- щадь	моле- куляр- ная масса	Гыр- мызы- гуль	объем	высо- та	пло- щадь	моле- куляр- ная масса
1 спектр	345038	252	1488	97.706	1 спектр	390020	246	1748	79.312
2 спектр	69590	246	336	79.000	2 спектр	8238	224	46	74.051
3 спектр	56618	246	288	74.051	3 спектр	45250	240	230	73.399
4 спектр	8628	238	48	73.200	4 спектр	217430	240	1081	72.254
5 спектр	204092	248	960	70 70.974	5 спектр	7416	208	46	69 69.505
6 спектр	140764	250	648	65.994	6 спектр	514028	248	2300	63.330
7 спектр	398312	250	1728	64.690	7 спектр	2642	158	23	62.041
8 спектр	56012	238	312	62.900	8 спектр	39722	206	299	60.815
9 спектр	2744	192	24	61.500	9 спектр	216960	246	1081	53.347
10 спектр	31376	218	240	60.496	10 спектр	3792	206	23	52.098
11 спектр	64908	250	360	57.734	11 спектр	54316	240	276	50.138
12 спектр	151142	250	672	54.187	12 спектр	118354	242	552	49.291
13 спектр	4272	240	24	52.498	13 спектр	57488	216	345	46.243
14 спектр	23176	244	120	51.544	14 спектр	3012	164	23	44.281
15 спектр	48400	246	216	51.013	15 спектр	62230	216	368	37.292
16 спектр	8270	238	48	49.626	16 спектр	52210	212	322	34.116
17 спектр	113318	244	600	47.706	17 спектр	3146	180	23	32.589

18 спектр	6156	226	48	46.000	18 спектр	52110	224	322	30.095
19 спектр	39108	238	264	44.488					
20 спектр	144858	246	720	34.308					
21 спектр	4596	242	24	32.779					
22 спектр	68264	246	336	30.418					
23 спектр	103502	250	504	27.734					

После проведения глиадиновой экстракции и электрофореза в зёдрах мягкой пшеницы, генетический индекс схожести между сортами был пронумерован по методу «1» и «0». Колонки, стоящие в одном и том же месте были пронумерованы «1», другие же неподходящий по площади колонки—пронумерованы «0», индекс схожести был подсчитан на основании статистической программы SPSS. Для того, чтобы выявить генетическую близость образцов по индексу схожести используется кла-

стерный анализ и составляется дендрограмма. При подсчёте индекса генетической схожести стало известно, что у сортов Нурлу-99, Дагдаш, Рузи-84, и Эземетли-95, Шеки-1 индекс схожести между ними более близок, у сортов Гырмызыгуль, Саратовская-29- сравнительно близок. Вместе с тем, между сортами мягкой пшеницы Гобустан, Рузи-84, Саратовская-29, Дурдана, Парзиван-1, Дагдаш и Шеки-1 индекс схожести был довольно далек (табл. 3).

Таблица 3

Индексы схожести между сортами мягкой пшеницы

SCорта	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1. Экинчи-84	1																
2. Гобустан	,375	1															
3. Нурлу-99	,625	,364	1														
4. Гырмызыгуль	,310	,257	,300	1													
5. Эземетли-95	,464	,382	,448	,323	1												
6. Рузи-84	,577	,343	,909	,323	,419	1											
7. Саратовская-29	,407	,333	,345	,652	,323	,367	1										
8. Дагдаш	,625	,324	,905	,300	,400	,909	,345	1									
9. Дурдана	,444	,286	,600	,345	,500	,556	,393	,538	1								
10. Бирлик	,500	,455	,433	,313	,500	,406	,500	,387	,483	1							
11. Бол-бугда	,303	,361	,222	,265	,394	,243	,265	,257	,222	,306	1						
12. Баяз	,345	,324	,250	,393	,500	,235	,444	,250	,379	,344	,222	1					
13. Достлуг	,314	,405	,306	,353	,441	,324	,353	,306	,469	,351	,457	,424	1				
14. Парзиван-1	,462	,375	,444	,310	,577	,414	,407	,444	,444	,500	,303	,393	,314	1			
15. Парзиван-2	,270	,395	,231	,270	,389	,250	,237	,231	,263	,378	,529	,231	,528	,205	1		
16. Шеки-1	,500	,412	,483	,313	,667	,552	,400	,483	,433	,484	,343	,433	,389	,500	,308	1	
17. Шефег	,345	,324	,333	,393	,400	,313	,393	,333	,333	,303	,189	,481	,237	,393	,200	,387	1

У сортов мягкой пшеницы при помощи мономерных проломиновых белковых маркеров была исследована генетическая близость и, используя статистическую программу NTSYS-pc (numerical taxonomy and multivariant analysis sistem-2.00) была построена дендрограмма. Как видно на рисунка 5 дендрограмма делится на основную большую и две малые части. Первая большая часть делится на два яруса. В

первом ярусе сгруппировались сорта Экинчи-84, Нурлу-99, Рузи-84, Дагдаш, Дурдана а во втором ярусе сорта Эзаматли-95, Шеки-1, Парзиван-1, Шефег и Бирлик, генетически более близкие друг другу. Сорта Гырмызыгуль, Саратовская-29, и Баяз составили вторую малую часть, а сорта Гобустан, Бол-бугда, Достлуг и Парзиван-2 сгруппировались в третьей малой части (рис. 5) [13].

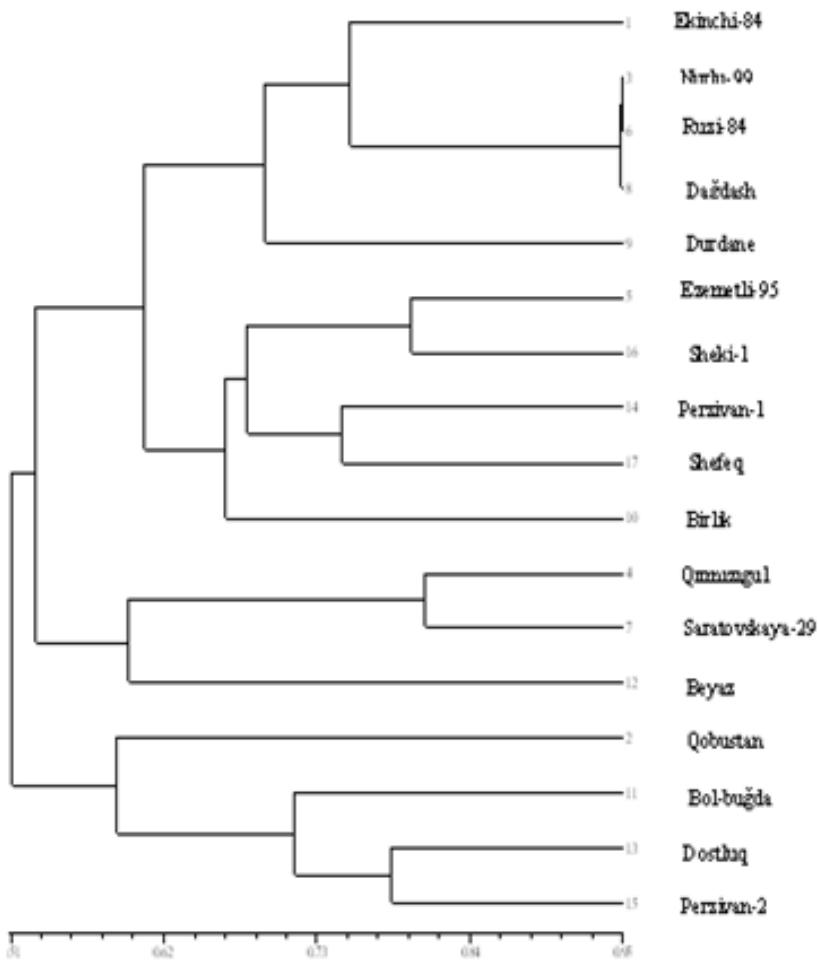


Рис. 5. Группировка сортов мягкой пшеницы по глиадиновым маркерам

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Mahmudov R.U., Buğda dəninin gliadin züllələri və seleksiyada ondan istifadə imkanları. Az.Elmi-Tədqiqat Əkinçilik İnstitutunun elmi əsərləri məscituəsi XXI cild. Bakı-2005, s.191-196
- Конарев А.В., Конарев В.Г., Губарева Н.К., Пенева Т.И. Белки семян как маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства. Цитология и генетика, 2000, т. 34, № 2, с. 91-104.
- Попереля Ф.А., Бито М., Созинов А.А. Связь блоков компонентов глиадина с выживаемостью растений и их продуктивностью, окраской колоса и качеством гибридов F2 от скрещивания сортов Безостая 1 и Црвена Звезда // Докл. ВАСХНИЛ. - 1980. № 4. С. 4-7.
- Попереля Ф.А. и др. Определение гибридности семян кукурузы по электрофоретическим спектрам зеина. Доклады ВАСХНИЛ, 1989, № 3.
- Созинов А.А., Попереля Ф.А. Методика вертикального дискового электрофореза белков в крахмальном геле.// Информационный бюллетень СЕВ, 1974, вып.№1, с.135-144.
- Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. Москва, «Наука», 1985, с. 272.
- Bashuk W. and Zillman R.R. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I.Apparatus, method and nomenclature. Cand. J. Plant Sci., 1978, vol. 58, p. 505-515.
- Gupta. R.B., Singh. N.K., Shepherd. K.W. 1989. The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on dough properties in the progeny of two bread wheats. Theoretical and Applied Genetics 77, 57-64.
- Johansson. E., Prieto-Linde. M.L. and Jönsson. J.Ö. 2001. Effects of wheat cultivar and nitrogen application on storage protein composition and breadmaking quality. Cereal Chemistry 78, 19-25.

10. Müller. S., Wieser. H. 1995. Disulphide bonds of alfa-type gliadins. Journal of Cereal Science 22, 21-27.
11. Müller. S., Wieser. H. 1997. The location of disulphide bonds in monomeric gamma-gliadins. Journal of Cereal Science 26, 169-176. 36.
12. Morrison. W.R. 1988. Lipids. In Wheat: chemistry and technology, Pomeranz, Y., ed. (St.Paul., USA, American Association of Cereal Chemists), 373-439 pp.
13. Rohlf F.J. (1998) NTSYS-PC. (Numerical Taxonomy and Multivarion Analysis System, version 1.80) Exeter Software, Setauket, NY.
14. Shepherd K.W. Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye // Proc. 3rd Intern. Wheat Genet. Sump., Canberra, Austral. Acad. Sci., 1968, p. 86-96.
15. Shewry P.R., Napier J.A., Tatham A.S. 1995. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. The Plant Cell 7, p.945-956.
16. Woychik J. H., Boundy J. A., Dimler R.J. 1961. Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea. Archieval Biochemistry and Biophysics 94, p.477-482.

IDENTIFICATION OF BREAD WHEAT VARIETIES BY USING GLIADIN MARKERS AND STUDING OF GENETIC SIMILARITY INDEX

Karimov A.Ya.

Genetic Resources Institute of ANAS, Baku, Azerbaijan

Identification of gliadin-coding locus alleles of storage proteins and analyse of gliadin electrophoretic spectrum (volume, height, area and molecular weight) were implemented in 19 varieties of bread-wheat (*T.aestivum* L.) endosperm. Besides, the similarity index was counted according to gliadin electrophoretic spectrum.

In coincides with similarity index, monomer prolamin protein markers were analyzed for determination of genetic relation of accessions by using SPSS statistical program and dendogramma was compiled.

Keywords: bread wheat, gliadin, genetic similarity, gliadin markers