

УДК 633.112.1.«324»: 575.1

## ГЛИАДИНЫ КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ

**Панин В.М.**

*ГНУ «НИИСХ Юго-Востока Россельхозакадемии», Саратов, Россия, e-mail:  
[raiser\\_saratov@mail.ru](mailto:raiser_saratov@mail.ru)*

Показаны основные этапы генетических исследований полиморфизма глиадинов – спирторастворимых запасных белков зерна озимой твёрдой пшеницы. Идентифицированы серии аллельных кластеров глиадин-кодирующих генов, расположенных в четырёх полигенных локусах: Gli-A1dw, Gli-B1dw, Gli-A2dw и Gli-B2dw, которые контролируют блоки глиадинов. С помощью рекомбинационного анализа выявлены два «отщеплённых» локуса Gli-A1-2dw и Gli-A1-3dw, контролирующих, соответственно, два и один ω-глиадин. Определен порядок расположения пяти локусов на сегменте короткого плеча хромосомы 1A: Hg - Bla1 - Gli-A1dw - Gli-A1-3dw - Gli-A1-2dw. Показана сопряжённость глиадин-кодирующих локусов генома А с элементами продуктивности колоса и уборочным индексом. В северных регионах с резко континентальным климатом (Саратов, Харьков) преобладают сорта и формы, относящиеся к разновидности hordeiforme, характеризующиеся специфичным набором блоков («северным» глиатипом). В южных районах России, Украины и в Молдавии наиболее распространены белоколосые разновидности с другим набором блоков («южным» глиатипом). Набор блоков глиадинов и морфологические признаки первого сорта озимой твёрдой пшеницы саратовской селекции Янтарь Поволжья соответствуют вышеуказанным закономерностям. Ключевые слова: озимая твёрдая пшеница, генетика, селекция, глиадины, морфология колоса, генетическое сцепление, геногеография.

## GLIADINS AS GENETIC MARKERS FOR THE GENETICS AND BREEDING OF WINTER DURUM WHEAT

**Panin V.M.**

*Institute for South-East Region. Russia, Saratov, e-mail: [raiser\\_saratov@mail.ru](mailto:raiser_saratov@mail.ru)*

The basic steps of genetic researches of gliadin polymorphism (seed storage proteins dissolved in 70% ethanol) of winter durum wheat are shown. Allele clusters series of the gliadin-encoding genes located in four polygene loci were identified: Gli-A1dw, Gli-B1dw, Gli-A2dw and Gli-B2dw. These gene clusters encode blocks of gliadins. Recombination mapping revealed two additional loci Gli-A1-2dw and Gli-A1-3dw, controlling, accordingly, two and one ω-gliadins. The order of five loci on a segment on the short arm of a chromosome 1A was established: Hg - Bla1 - Gli-A1dw - Gli-A1-3dw - Gli-A1-2dw. The associatively of gliadin-encoding loci of genome A with elements of ear productivity and with a harvest index was shown. In the northern regions of winter durum wheat growing with sharply continental climate (Saratov, Kharkov), the cultivars and the forms belonging to var. hordeiforme prevailed. These cultivars are characterized by specific gliadin set (“northern” gliatipe). Whereas, in the southern areas of Russia, Ukraine and in Moldova the white-spike cultivars prevailed with another gliadin set (“southern” gliatipe). The gliadin set and the morphological traits of Yantar Povolzh’ya, the first cultivar developed in the Saratov region, correspond to the above-stated regularities.

Key words: winter durum wheat, breeding, gliadins, morphological traits of ear, genetic linkage, genogeographic.

В условиях нарастающего дефицита продуктов питания в мире возрастает значение производства пшеницы и её существенной составляющей (5%) – твёрдой пшеницы (*Triticum durum* Desf.), валовое производство которой составляет 30–35 млн т. В то же время в России производство яровой твёрдой пшеницы сокращается из-за её относительно низкой урожайности по сравнению с озимой мягкой пшеницей. В связи с общим потеплением и созданием более урожайных сортов озимой мягкой пшеницы этот процесс ещё более ускоряется. Остановить его может лишь селекция сортов озимой твёрдой пшеницы с

высокой урожайностью. Создание озимой твёрдой пшеницы, начатое Е.Н. Кобальтовой в 20-х годах прошлого века, получило своё дальнейшее развитие в середине 50-х годов. Сразу в нескольких селекцентрах России и Украины началась селекция этой культуры. К началу 80-х годов в восьми селекцентрах Советского Союза было создано свыше десятка сортов, большинство из которых так и не были районированы из-за невысокой и нестабильной урожайности по сравнению с озимой мягкой пшеницей и (или) недостаточного качества макаронной крупки. Активизировалась селекция этой культуры в Болгарии, Румынии и особенно в Италии [4].

В то же время генетика этой культуры оставалась неизученной, хотя она представляет особый интерес, учитывая межвидовое происхождение озимой твёрдой пшеницы. В 80-х годах прошлого века в Проблемной лаборатории озимой твёрдой пшеницы, созданной при Саратовском СХИ им. Н.И. Вавилова, наряду с решением чисто селекционных задач, были начаты исследования по генетике полиморфизма глиадинов – спирторастворимых запасных белков зерна этой культуры.

В основе этих исследований был генетико-биохимический подход, разработанный в конце 70-х годов во Всесоюзном селекционно-генетическом институте (г. Одесса) и успешно применённый к изучению генетического контроля глиадинов озимой мягкой пшеницы [17]. В частности, они впервые показали, что глиадины наследуются кодоминантно и группами – блоками, контролируемые тесно сцепленными группами генов – кластерами, расположенными в хромосомах первой и шестой гомеологической группы геномов А, В и D. Используя метод электрофореза глиадинов в крахмальном геле и гибридологический анализ их наследования, исследователи выявили множественный аллелизм этих полигенных структур, расположенных в шести глин-кодирующих локусах. Это объясняло большое разнообразие компонентного состава глиадина и его высокую сортоспецифичность.

На основе полученных данных в ВСГИ (Одесса) был составлен каталог блоков глиадинов озимой мягкой пшеницы, который постоянно пополнялся. С помощью набора выявленных блоков были определены белковые по форме и генетические по сути формулы десятков сортов этой культуры. Гибридологический и дисперсионный анализы глиадинов озимой мягкой пшеницы в поколениях  $F_3 - F_7$  позволил выявить сопряжённость отдельных блоков с рядом морфологических и хозяйственно-ценных признаков: опушением и красной окраской колосковых чешуй, устойчивостью к болезням, показателями качества клейковины и силы муки, а также некоторыми элементами продуктивности растений и урожайностью с делянки [18]. Таким образом, для озимой мягкой пшеницы впервые была создана на генетической основе система белковых маркеров, позволяющая не только изучать структуру генотипа, но и повысить эффективность селекционного процесса этой культуры.

Именно такой подход реализовывался в Проблемной лаборатории на материале

озимой твёрдой пшеницы. Задача усложнялась тем, что к началу 80-х годов ещё не была изучена генетика запасных белков тетраплоидных пшениц, а электрофоретические спектры (ЭФС) глиадинов яровой твёрдой пшеницы существенно отличались от спектров глиадинов озимой мягкой пшеницы, то есть не было сортов-тестеров, позволяющих с ходу начать гибридологический анализ глиадинов озимой твёрдой пшеницы. В то же время были и положительные моменты: сортов этой культуры в то время было мало, и в спектрах их глиадинов встречались группы компонентов, фенотипически сходные с некоторыми блоками озимой мягкой пшеницы. Что было вполне ожидаемо, так как в родословной первых сортов озимой твёрдой пшеницы были яровая твёрдая и озимая мягкая.

Первым этапом наших исследований стало изучение разнообразия полиморфизма глиадинов коллекции сортов озимой твёрдой пшеницы с целью выявления гомозиготных линий как потенциальных тестеров с визуально узнаваемыми блоками глиадинов. Наиболее полезными с этой точки зрения оказались сорта южной селекции – Кристалл, Кристалл 2 (Краснодарский НИИСХ), Мичуринка, Новомичуринка, Одесская Юбилейная (ВСГИ), Кишинёвская Крупнозёрная, Кишинёвская 2 (Молдавский НИИ Экологической Генетики). К сожалению, все они, кроме некоторых биотипов Одесской Юбилейной, почти полностью вымерзли. Единственный сорт, достаточно стабильно перезимовывавший на Саратовском Правобережье, был сорт Харьковская 1 (Харьковский НИИ РСГ им. Юрьева). Но биотипы этого сорта содержали ЭФС глиадинов, непохожие на спектры глиадинов озимой мягкой пшеницы [5].

Популяционный анализ глиадинов ряда сортов и гибридных форм озимой твёрдой пшеницы показал высокую гетерогенность глиадиновых спектров не только у гибридных форм, но и у сортов озимой твёрдой пшеницы, что подтверждало наличие активного формообразовательного процесса в генофонде этой молодой культуры [6]. Частая встречаемость в образцах гетерозиготных по составу глиадинов зёрен натолкнула на возможность поиска в исследуемых популяциях колосьев гетерозиготных по этому признаку растений, зёрна с которых можно было рассматривать как потомство F<sub>2</sub>. Поэтому классический популяционный анализ разнообразия генотипов по ЭФ-спектрам глиадинов был дополнен элементами гибридологического анализа, выявляющего особенности генетического контроля этих белков. Такой двухуровневый популяционный анализ подтвердил кодоминантный и блочный характер наследования глиадинов у озимой твёрдой пшеницы, выявил четыре независимо наследуемых группы сцепления глиадин-кодирующих генов, по целому ряду признаков, обозначенных как локусы *Gli-A1dw*, *Gli-B1*, *Gli-A2dw* и *Gli-B2dw*, позволил не только подобрать линии-тестеры, но и спланировать пары для скрещивания [5].

Устойчивые к перезимовке и весенне-летней засухе линии-тестеры с необходимым

набором глиадинов удалось выделить из селекционного материала, созданного Н.Н. Салтыковой первоначально в НИИСХ Юго-Востока. Наиболее удачной оказалась форма Эритромелан 8/72 [14]. В ходе её популяционного анализа были выбраны несколько линий, гомозиготных, но контрастных по ЭФ-спектрам глиадинов и морфологическим признакам колоса. Скрещивая их между собой, а также с несколькими линиями, выделенными из сортов Одесская Юбилейная, Харьковская 1 и, годом позже, с линиями тургидной пшеницы Новинка 2, впервые удалось провести гибридологический анализ глиадинов тетраплоидных пшениц [7].

За 80-е годы были изучены гибриды 14 комбинаций скрещивания сначала на зёрнах  $F_2$ , а затем на растениях  $F_2$ . Среди них были как моногибридные, так и дигибридные по глиадин-кодирующим локусам комбинации (рис. 1).

На полученном гибридном материале также впервые на тетраплоидном уровне был выполнен рекомбинационный анализ сцепления глиадин-кодирующих локуса *Gli-A1dw* и выявленных локусов *Gli-A1-2dw* и *Gli-A1-3dw* между собой и с локусами, контролирующими красную окраску колосковой чешуи (*Rg1*), опушение колосковой чешуи (*Hg*) и чёрную окраску остей (*Bla1*) [8–10]. В результате был составлен фрагмент карты сцепления пяти локусов на коротком плече хромосомы 1А озимой твёрдой пшеницы (рис. 2).

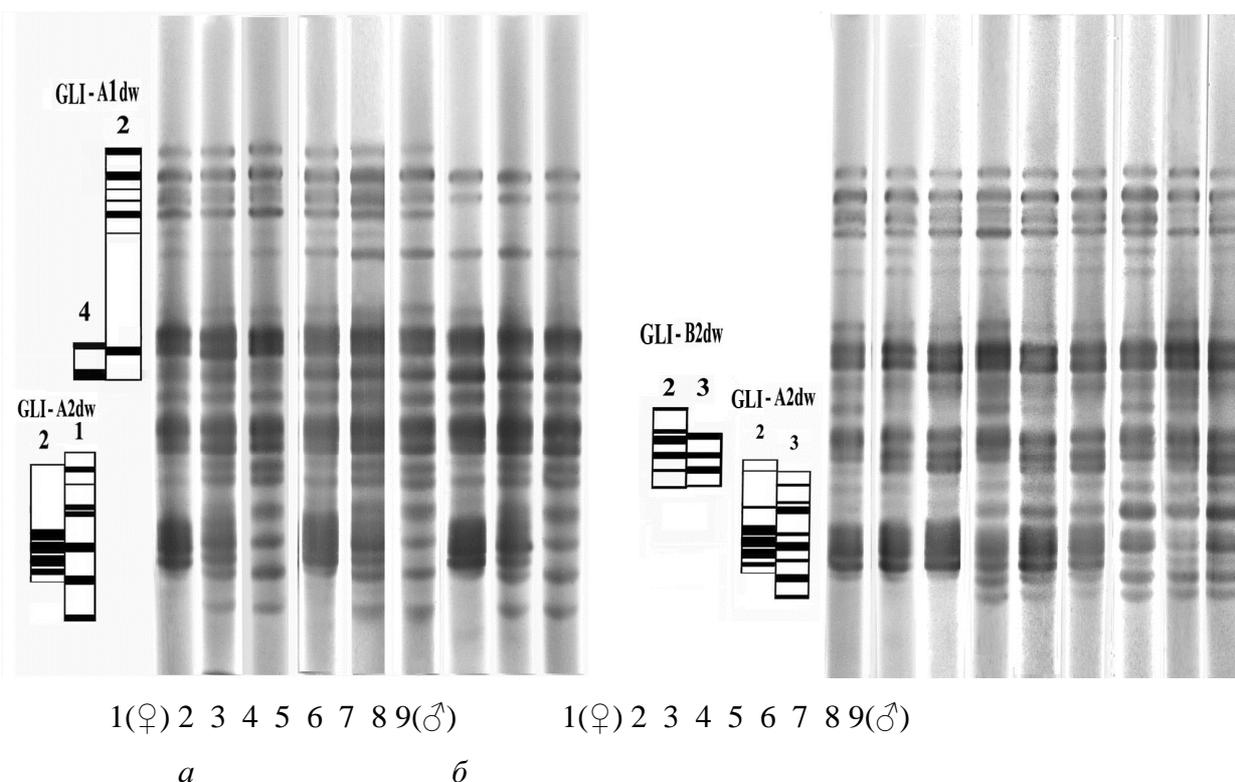


Рис. 1. Фенотипы ЭФС глиадинов зёрен  $F_2$  комбинаций М6 (а) и М14 (б) и схемы идентифицированных блоков глиадинов

Проведённые гибридологический и рекомбинационный анализы позволили генетически корректно идентифицировать 28 блоков гиадинов *T.durum* и *T.turgidum* по четырём основным и двум «отщеплённым» локусам, тесно сцепленным с локусом *Gli-A1*. Ещё 27 блоков выявлены предварительно, без генетического анализа, по их расположению на электрофоретическом спектре (рис. 3).

Впоследствии эти данные были включены в международный каталог генетических символов под редакцией Р.А. Макинтоша [20] и были подтверждены рядом других исследователей на сортах яровой твёрдой пшеницы [2].

Также нашло подтверждение выявленное в озимой твёрдой пшенице варьирование частоты кроссинговера локуса *Gli-B1* и локуса *Rgl* [13] от 2%, как у озимой мягкой пшеницы [15; 16], до 12%, как у яровой твёрдой [19]. Такое варьирование указывает на различное происхождение хромосомы *1B* в разных генотипах озимой твёрдой пшеницы.

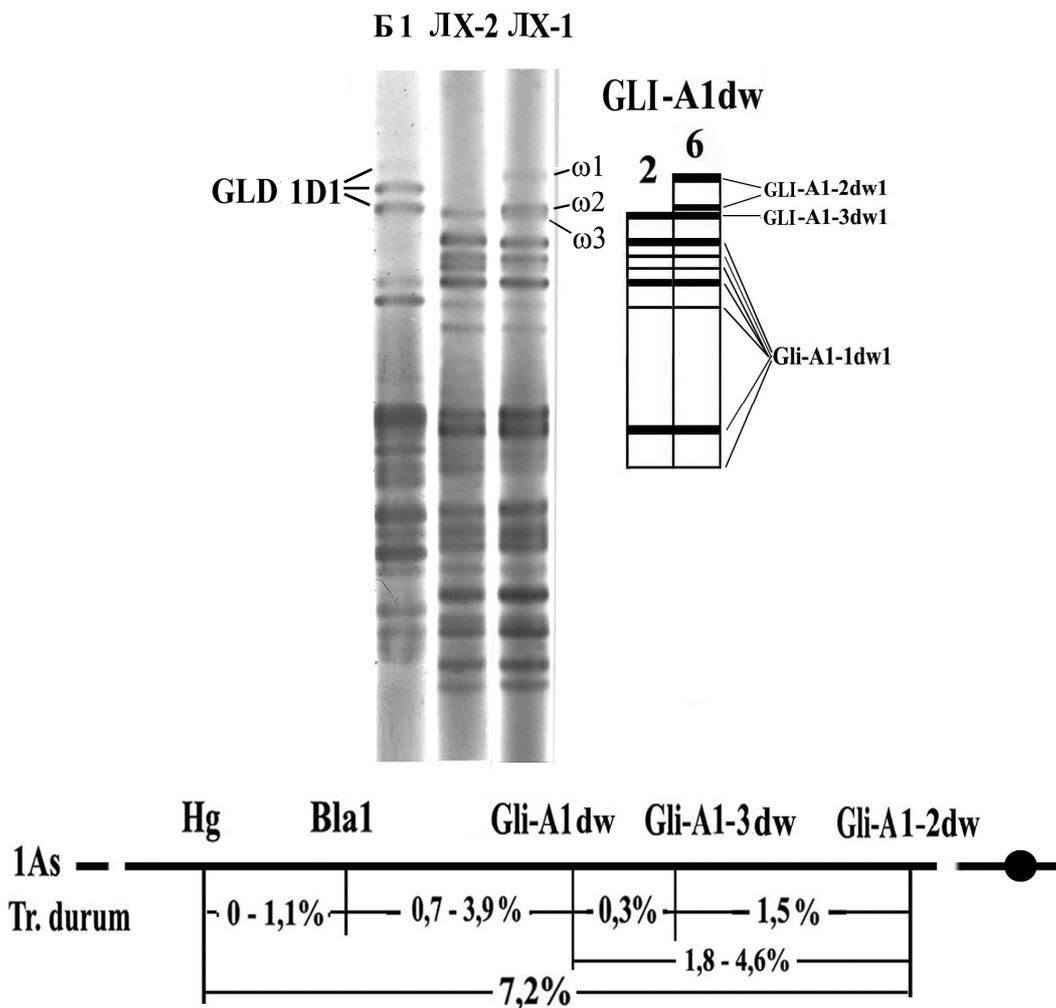


Рис. 2. Карта сцепления пяти локусов в коротком плече 1А хромосомы озимой твёрдой пшеницы сорта Харьковская 1 и электрофореграммы двух линий ЛХ-1, ЛХ-2 и сорта Безостая 1. Hg – ген опушения колосковой чешуи, Bla1 – ген чёрной окраски остей,

*Gli-A1-1dw*, *Gli-A1-2dw*, *Gli-A1-3dw* – локусы, контролирующие компоненты блока *GLI-A1dw6*. *GLD-1D1* – блок глиадинов локуса на хромосоме *1D* озимой мягкой пшеницы

В гибридах  $F_2$  ряда комбинаций показана сопряжённость глиадин-кодирующих локусов генома А с элементами продуктивности колоса и уборочным индексом [11].

Анализ динамики накопления аллельных блоков глиадинов и их сочетаний в сортах и формах озимой твёрдой пшеницы в течение 10 лет, а также особенности их географического распространения (особенно в широтном

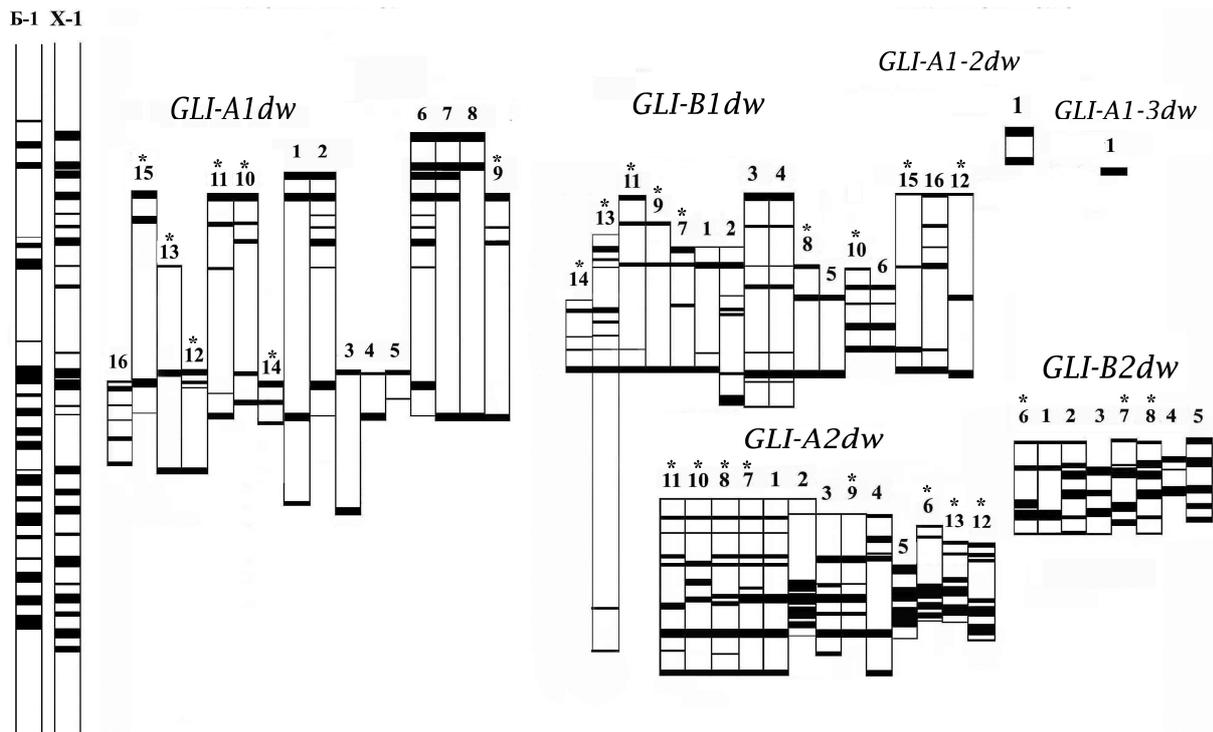


Рис. 3. Каталог блоков глиадинов озимой твёрдой пшеницы. Б-1 и Х-1 – схемы электрофоретических спектров глиадинов в крахмальном геле сортов Безостая 1 и Харьковская 1. \* – блоки глиадинов, визуально, без генетического анализа, выявленные в сортах и формах озимой твёрдой пшеницы

направлении) привели к предположению о существовании некоей оптимальной для зоны Саратовского Поволжья «белковой формулы» глиадинов – «идеальном» глиатипе [12]. На основе этих данных были сформулированы рекомендации о предпочтительном аллельном составе глиадин-кодирующих локусов для первого сорта озимой твёрдой пшеницы Янтарь Поволжья, переданного на сортоиспытание из Проблемной лаборатории в 1992 году и включённого в Госреестр селекционных достижений в 1996 г. В других селекцентрах также отмечают высокую зимо-, морозостойкость и засухоустойчивость этого сорта, как и ряда других форм саратовской селекции [4]. А его блоки глиадинов, в значительной степени

унаследованные от сорта Харьковская 1, все эти годы устойчиво накапливались в сортах и формах озимой твёрдой пшеницы России и Украины. Так, в одесских сортах Коралл и Айсберг состав блоков глиадинов аналогичен составу одного из глиатипов с. Харьковская 1 – *GLI-A1dw2*, *GLI-B1dw3*, *GLI-A2dw3*, *GLI-B2dw3*, а блоки *GLI-B1dw3* и *GLI-A2dw3* встречаются в сорте тургидной пшеницы Новинка 3, созданном в НПО «Дон» (Зерноград) [12] и ряде последующих сортов.

Таким образом, полиморфизм глиадин-кодирующих локусов существенно отражал геногеографию сортов озимой твёрдой пшеницы и их эволюцию на протяжении, по крайней мере, трёх её этапов с конца 50-х до конца 80-х годов прошлого столетия. За последние пятнадцать-двадцать лет на юге России и Украины продолжался интенсивный процесс создания новых сортов озимой твёрдой пшеницы. Это позволило поднять там урожайность в 1,5–2 раза прежде всего за счет изменения архитектуры растений, повышения устойчивости сортов к болезням и неблагоприятным климатическим факторам [4].

К сожалению, нет данных об особенностях полиморфизма глиадинов в этих сортах, так как эти исследования в селекцентрах не ведутся. Однако следует отметить, что очевидной особенностью большинства новых сортов озимой твёрдой пшеницы является их принадлежность к *var. leucurum* и практически полное исчезновение остальных разновидностей. Хотя в родословной всех новых сортов присутствуют черноостые и (или) красноколосые сорта и формы. Возможно, начало этому процессу положено сортом Айсберг одесский, который, имея глиадиновую формулу одного из глиатипов с. Харьковская 1, «потерял» её красную окраску колоса. Вероятно, в погоне за урожайностью селекционеры вынуждены освобождаться от энергетических и пластических затрат на «рубашку» колоса, что оказалось возможным в относительно благоприятных условиях юга России и Украины. Тем интереснее было бы проследить изменения состава глиадинов на новом этапе селекции озимой твёрдой пшеницы.

Созданная генетически обоснованная система белковых и морфологических маркеров может быть полезна не только для селекции и семеноводства озимой твёрдой пшеницы, но и для изучения генотипов гексаплоидного тритикале с геномами *ABR*, одним из родителей которого она является.

Таким образом, исследование генетического контроля глиадинов – запасных белков зерна, является эффективным инструментом изучения генетических особенностей озимой твёрдой пшеницы, создаёт генетически обоснованную систему регистрации сортов и форм этой культуры и способствует ускорению её селекционного процесса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кобальтова Е.А. Характеристика межвидового скрещивания (*T. durum* Desf. яровая × *T. vulgare* Will. озимая) // Тр. Всесоюзн. Съезда по ген. сел. и плем. животнов., Ленинград, 10–16 янв. 1929. – Л., 1930. – Т.4. – С. 159–175.
2. Кудрявцев А.М., Попова Т.А. Генетическое сцепление между глиадинкодирующими генами и генами окраски и опушения колоса у яровой твёрдой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) // Генетика. – 1994. – Т. 30. – № 12 – С. 1587–1592.
3. Кудрявцев А.М. Создание генетических маркеров твёрдой пшеницы (*T. durum* Desf.) и её применение в научных исследованиях и практических разработках: авт. дис. ... док. биол. наук. – М., 2007. – 47 с.
4. Мудрова А.А. Селекция озимой твёрдой пшеницы на Кубани. – Краснодар: КНИИСХ, 2004. – 190 с.
5. Панин В.М., Салтыкова Н.Н. Популяционно-генетический анализ разнообразия глиадинов зерна озимой твердой пшеницы Эритромелан 8/72 // Селекция и семеноводство полевых культур: сб. науч. работ Саратов. с.-х. ин-та. – Саратов, 1983. – С. 28–36.
6. Панин В.М. Генетический полиморфизм глиадина в популяциях озимой твёрдой пшеницы: с. Одесская Юбилейная // Физиолого-генетические основы интенсификации селекционного процесса: Материалы Всес. конф., 4–6 июля 1983 г. – Саратов, 1984. – Ч. 2. – С. 47.
7. Панин В.М., Салтыкова Н.Н. Гибридологический анализ наследования глиадинов озимой твердой пшеницы // Доклады ВАСХНИЛ. – 1986. – № 5. – С. 4–7.
8. Панин В.М., Салтыкова Н.Н. Особенности организации аллеля глиадинкодирующего локуса хромосомы 1А твёрдой озимой пшеницы Харьковская 1 // Доклады ВАСХНИЛ. – 1986. – № 10. – С. 7–9.
9. Панин В.М., Нецветаев В.П. Генетический контроль глиадина и некоторых морфологических признаков колоса твёрдой озимой пшеницы // Науч.-техн. бюлл. ВСГИ. – 1986. – № 2 (60). – С. 31–36.
10. Панин В.М., Нецветаев В.П. Картирование локусов Gld3-1A и Gld4-1A у озимой твёрдой пшеницы // Науч.-техн. бюлл. ВСГИ. – 1987. – № 2 (64). – С. 29–35.
11. Панин В.М., Прейгель И.А. Сопряжённость блоков компонентов глиадина с элементами продуктивности твёрдой озимой пшеницы // Вопросы генетики и селекции зерновых и зернобобовых культур на Юго-Востоке РСФСР: сб. науч. работ. – Саратовский с.-х. институт им. Н.И. Вавилова. – Саратов, 1987. – С. 80–86.
12. Панин В.М. Генетический контроль глиадина и аллельный состав глиадинкодирующих локусов твердой озимой пшеницы // Вопросы генетики и селекции зерновых культур на Юго-Востоке: сб. науч. работ. – Саратовский с.-х. институт им. Н.И.

Вавилова. – Саратов, 1991. – С. 27–33.

13. Панин В.М. Особенности сцепления генетических факторов, контролирующих компонентный состав глиаина и красную окраску колоса в генотипах твёрдой озимой пшеницы // Вопросы генетики и селекции зерновых культур на Юго-Востоке: сб. науч. работ. – Саратовский с.-х. институт им. Н.И. Вавилова. – Саратов, 1993. – С. 16–21.

14. Салтыкова Н.Н. Озимая пшеница Поволжья. Теория формообразования и практическая селекция // Саратовская Гос. С.-Х.А. – 1994. – 208 с.

15. Собко Т.А., Созинов А.А. Генетический контроль морфологических признаков колоса и взаимосвязь аллельной изменчивости маркерных локусов хромосом 1А и 1В озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 1993. – Т. 27. – № 5. – С. 15–22.

16. Собко Т.А., Созинов А.А. Картирование локусов, контролирующих морфологические признаки колоса и запасные белки зерна, в хромосоме 1А озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 1997. – Т. 31. – № 4. – С. 18–26.

17. Созинов А.А., Попереля Ф.А. Полиморфизм проламинов и селекция // Вестн. с.-х. науки. – 1979. – № 10. – С. 21–34.

18. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции // М.: Наука. – 1985. – 272 с.

19. Leisle D. Inheritance and linkage relationships of gliadin proteins and glume color in durum wheat // Can. J. Genet. Cytol. – 1985. – V. 27. – № 6. – P. 716–721.

20. McIntosh R.A. Catalog of gene symbols for wheat 1986 supplement // Wheat Inf. Serv. – 1987. – № 61–62. – P. 80–93.

21. Metakovsky E.V. Gliadin allele identification in common wheat II: Catalogue of gliadin alleles in common wheat // J. Genet. Breeding. – 1999. – V. 145. – P. 325–344.

#### **Рецензенты:**

Лазарев А.В., д.б.н., доцент, профессор кафедры биотехнологии и микробиологии, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.

Кудрявцев А.М., д.б.н., зам. директора по науке, зав. отделом генетики растений Учреждения российской академии наук Института Общей Генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва.

**Работа получена 15.08.2011**