

# Электрофоретические спектры глиаина как маркеры генотипов в анализе староместного сорта твердой пшеницы Кубанка

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-127-135



УДК 633.112.1:547.96:543.545.2

Поступление/Received: 03.07.2020

Принято/Accepted: 23.12.2020

Т. И. ПЕНЕВА, О. А. ЛЯПУНОВА

Федеральный исследовательский центр  
Всероссийский институт генетических ресурсов  
растений имени Н.И. Вавилова,  
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44  
✉ [lyapuolga@yandex.ru](mailto:lyapuolga@yandex.ru)

Electrophoretic patterns of gliadin  
as markers of genotypes in the analysis  
of the durum wheat landrace Kubanka

Т. И. ПЕНЕВА, О. А. ЛЯПУНОВА

N.I. Vavilov All-Russian Institute  
of Plant Genetic Resources,  
42, 44 Bolshaya Morskaya Street,  
St. Petersburg 190000, Russia  
✉ [lyapuolga@yandex.ru](mailto:lyapuolga@yandex.ru)

**Актуальность.** Коллекция отечественных староместных сортов твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) ВИР содержит уникальный материал, относящийся к «русской северной ветви», который не встречается ни в одной другой коллекции мира. Изучение генетического разнообразия этих пшениц по спектрам глиаина как маркерам генотипов важно для идентификации и сохранения подлинности их генофонда. **Материал и методы.** Впервые с использованием молекулярных маркеров проведена дифференциация по молекулярным маркерам 38 образцов местного сорта твердой пшеницы с общим названием «Кубанка», собранных в коллекцию ВИР в 10–40 годах XX века и пяти образцов из генетических банков семян США и Канады. В качестве маркеров генотипов полиморфного (или гетерогенного) сорта использовали электрофоретические спектры глиаина. Регистрация спектров в виде «белковых формул» позволяет оценивать полиморфизм каждого образца и разнообразие образцов в пределах коллекции. Анализ глиаина проводили на единичных зерновках по стандартной методике, принятой в ВИР и утвержденной Международной ассоциацией по семенному контролю (ISTA). **Результаты и выводы.** Выявлено 14 биотипов, маркированных спектрами глиаина. В зависимости от компонентного состава  $\alpha$ -зоны, кодируемой аллелями локуса *GLI-2A*, биотипы объединены в 4 группы. В пределах групп биотипы определяются аллелями локусов *GLI-1A*, *GLI-1B*, *GLI-2B*. Выделены генетически близкие монотипные образцы и политипные, включающие от 2 до 6 биотипов. Так, I группа характерна для Европейской части России, особенно Поволжья, а также для Казахстана и Киргизии. Образцы этой группы можно отнести к волжскому степному экотипу. Биотипы II группы распространены в Алтайском крае, Оренбургской и Астраханской областях России; III – в предгорьях Кавказа в Ставропольском крае России и в предгорьях Тянь-Шаня в Киргизии; IV – только в Алтайском крае. Наибольшим генетическим разнообразием обладают образцы сорта ‘Кубанка’ из Алтайского и Краснодарского края и один образец из Киргизии.

**Ключевые слова:** молекулярные маркеры, регистрация, биотипный состав, генетическое разнообразие, географическое распространение.

**Background.** The collection of durum wheat landraces (*Triticum durum* Desf.) at VIR contains unique material of the “Russian northern branch”, which is not found in any other collections worldwide. Studying the genetic diversity of such wheat accessions according to their gliadin bands as markers of genotypes is important for identification and conservation of their gene pool authenticity. **Materials and methods.** For the first time, molecular markers were used to differentiate among 38 accessions of the local durum wheat variety known under the name of “Kubanka”, collected and placed into the VIR collection in the 1910–1940s, and five accessions from the seed genebanks of the USA and Canada. Electrophoretic patterns of gliadin were used as markers of genotypes within the polymorphic cultivar. Recording bands in the form of “protein formulas” allows the researcher to evaluate the polymorphism of each accession and the diversity within the collection. Gliadin analysis was performed on single grains according to the standard method adopted at VIR and approved by ISTA. **Results and conclusions.** Fourteen major biotypes marked with gliadin bands were identified. Depending on the component composition of the  $\alpha$ -zone encoded by alleles of the *GLI-2A* locus, biotypes were combined into 4 groups. Within the groups, biotypes are determined by alleles of the *GLI-1A*, *GLI-1B*, *GLI-2B* loci. Genetically close monotypic accessions and polytypic ones incorporating 2 to 6 biotypes were identified. Group I is typical for the European part of Russia as well as for Kazakhstan and Kyrgyzstan. Accessions of this group can be attributed to the Volga steppe ecotype. Group II biotypes are widespread in Altai Territory, Orenburg and Astrakhan Provinces of Russia; Group III in Stavropol Territory, Russia, and Kyrgyzstan; Group IV only in Altai Territory. The greatest genetic diversity was exhibited by the ‘Kubanka’ accessions from Altai and Krasnodar Territories, and Kyrgyzstan.

**Key words:** molecular markers, recording, biotypic composition, genetic diversity, geographic distribution.

## Введение

Изучение староместных сортов (ландрас) твердой пшеницы имеет большое значение для надежного сохранения их биоразнообразия в коллекциях генетических банков семян и определения путей эффективного использования в современной и будущей селекции. Формирование местных сортов происходило в течение длительного времени при невысоком уровне земледелия, в различных почвенно-климатических условиях и при значительном влиянии естественного отбора. В ходе распространения твердой пшеницы по очагам земледелия постепенно накапливались различия в геноме и возникали сложные ко-адаптивные комплексы генов. В результате местные сорта обладают высоким полиморфизмом и такими важными адаптивными свойствами, как жаро-, холодо- и засухоустойчивость, устойчивость к различным патогенам (Dorofeev et al., 1987; Lyapunova, 2018). Это имеет особое значение в связи с наблюдаемой эрозией генофонда пшеницы под влиянием интенсивной селекции, антропогенных и климатических факторов. Большинство местных сортов твердой пшеницы России и республик бывшего СССР формировалось в условиях степного, достаточно сурового климата, который характеризуется в основном очень жарким и засушливым летом и холодной зимой. Они относятся к волжской экологической группе, образуя так называемую «северную ветвь», отличную от «южной средиземноморской ветви» твердой пшеницы. Эти две генетически обособленные древние ветви послужили исходным материалом для создания разных групп селекционных сортов.

В коллекции ВИР местные сорта твердой пшеницы представлены образцами, собранными в 10–40-х годах прошлого века в различных регионах бывшего СССР. Наиболее распространенные названия сортов – ‘Кубанка’, ‘Белотурка’, ‘Арнаутка’ и ‘Гарновка’. Число образцов каждого из них в коллекции ВИР не единично. Однако староместные сорта твердой пшеницы коллекции ВИР с использованием электрофоретических спектров глиадина практически не изучены, при том что последние два десятилетия анализу генетического разнообразия мировых ресурсов твердой пшеницы с помощью молекулярных маркеров посвящен ряд фундаментальных работ (Aguiriano et al., 2006; Kudryavtsev, 2006; Melnikova, Kudryavtsev, 2009; Melnikova et al., 2010; Kudryavtsev et al., 2014). Изучение генетического разнообразия отечественных староместных сортов коллекции твердой пшеницы ВИР, относящихся к «русской северной ветви» с применением методов электрофореза в пределах группы образцов каждого сорта, выявление сходства и различий между ними имеет значение для оценки и сохранения этого уникального материала.

На первом этапе исследования мы анализировали образцы сорта ‘Кубанка’. В коллекции твердой пшеницы ВИР есть 37 образцов, имеющих название «Кубанка» и 7 сортов с добавлением определения – ‘Кубанка черноколоска’, ‘Кубанка черная’, ‘Кубанка белая’ и ‘Кубанка акбидай’ (с казахского – белая пшеница). Сорта собраны сотрудниками ВИР в различных регионах России: Алтайском, Краснодарском и Ставропольском краях, Астраханской, Волгоградской, Новосибирской и Саратовской областях, в Южном Казахстане и Киргизии. Кроме того, в коллекции есть два селекционных сорта: ‘Кубанка каракольская’ (Киргизия, Пржевальская ГСС) и ‘Кубанка 3’ – районированный в 1953 г. сорт Краснодарского НИИСХ, созданный методом индивидуального отбора из

местного образца Мечетинского района Ростовской области. Также есть четыре линии – Kubanka 21, Kubanka 31, Kubanka 78 и Kubanka 8, поступившие в коллекцию из Канады и США.

Генетическая дифференциация по молекулярным маркерам является эффективным инструментом контроля за состоянием коллекции. В качестве молекулярно-генетических маркеров генотипов в анализе пшеницы хорошо зарекомендовали себя запасные белки эндосперма семян, маркирующие генотипы по принципу «отпечатков пальцев». Электрофоретическое исследование состава запасных белков является эффективным и удобным методом характеристики генотипа растения, пригодным для идентификации сортов (Pomortsev et al., 2004). При исследовании образцов пшеницы для маркирования используются электрофоретические спектры глиадина – генетически полиморфного запасного белка эндосперма зерновки (Sozinov, Poperelya, Koparev V.G., 1980, 1983, 1998; Sozinov, 1985). Спектры глиадина тетраплоидной пшеницы контролируются множественными аллелями глиадинкодирующих локусов, локализованных на коротких плечах I и VI группы хромосом геномов А и В. Компоненты спектра глиадина наследуются блоками, контролируемые генами данных локусов (Metakovsky et al., 1984; Payne et al., 1984; Kudryavtsev, 1994). Детальная изученность генетического контроля глиадина, простота и доступность стандартных методов электрофореза, не требующих дорогостоящего оборудования, дают возможность сравнить образцы по полученным спектрам глиадина и выявить степень их сходства и/или различия.

Для регистрации результатов электрофоретического анализа глиадина используются два способа записи в зависимости от номенклатуры компонентов спектра: биохимической, основанной на электрофоретической подвижности, и генетической, основанной на генетическом контроле компонентов.

Первый способ, разработанный в отделе молекулярной биологии ВИР под руководством академика ВАСХНИЛ В. Г. Конарева в 1970–1980 гг., принят и утвержден в 1983 году международной организацией по семенному контролю (ISTA) в качестве стандартного метода идентификации сортов и семенного контроля пшеницы. Спектры глиадина в целом маркируют конкретные генотипы, особенности компонентного состава регистрируются в виде «белковых формул» в форме, удобной для последующей обработки. Анализ проводится на индивидуальных зерновках (Koparev V.G., 2000).

Второй способ основан на выявлении, путем гибридологического анализа, блоков сцеплено наследуемых компонентов, кодируемых аллельными локусами генов (Kudryavtsev et al., 1988). По каждому локусу составлены каталоги блоков компонентов. Регистрацию генетической структуры образца (сорта) проводят путем указания названия локуса, индекса соответствующего аллеля и его частоты в составе каждого образца.

В нашей работе в качестве маркера биотипа (генотипа) пшеницы используется спектр глиадина в целом.

*Цель работы* – на основании анализа полиморфизма различных образцов сорта твердой пшеницы ‘Кубанка’ по спектрам глиадина как маркерам генотипов, определить их генетическое разнообразие, выявить монотипные (генетически сходные) образцы и особенности биотипного состава политипных образцов, установить эколого-географическое распространение выявленных биотипов.

### Материал и методы

Объектом исследований служили 38 образцов староместного сорта тетраплоидной твердой пшеницы 'Кубанка', собранных в разных регионах бывшего Советского Союза, в том числе: шесть образцов на территории Европейской части России (точное место сбора не известно); по одному в Волгоградской, Астраханской и Оренбургской областях; по два – в Саратовской области и Краснодарском крае; четыре – в Ставропольском и девять – в Алтайском краях; восемь – в Казахстане; четыре – в Киргизии. Кроме того, изучали пять линий, созданных методом индивидуального отбора из сорта 'Кубанка', полученных из коллекций США и Канады. Для сравнения состава биотипов старых местных и современных селекционных сортов взяты два сорта яровой твердой пшеницы 'Солнечная 573' (к-66255, Алтайский край) и 'Целинница' (к-66519, Оренбургская обл.). Для четырех образцов был проведен сравнительный анализ биотипного состава различных лет репродукции.

Анализ проводили на индивидуальных зерновках каждого образца (выборка 13–26 зерновок) по стандартной методике, принятой в ВИР (Konarev V.G., 2000). Глиадин экстрагировали 6М-раствором мочевины в течение 10–12 часов. Электрофорез выполняли в пластинах ПААГ в ацетатном буфере РН3,1 в течение 5 часов. Спектры регистрировали в виде «белковых формул», отражающих компонентный состав каждой зоны спектра с учетом подвижности компонентов, их интенсивности, наличием субкомпонентов, обозначаемых подстрочными индексами 1 и 2. В качестве стандартов для обозначения зон спектра и нумерации отдельных компонентов использовали хорошо изученные спектры глиадина сортов мягкой пшеницы 'Мионовская 808' и 'Кавказ'. Идентичные по составу спектры объединяли и определяли частоту встречаемости вариантов биотипов в каждом образце и во всех образцах сорта 'Кубанка'. Анализ генетического разнообразия проводили не только по спектру в целом, но и по составу  $\alpha$ -зоны, особенности которой определяются аллельной структурой локуса *GLI-6A* (*GLI-2A*), локализованного в хромосоме 6A (Kudryavtsev et al., 1988). Состав компонентов в  $\alpha$ -зоне позволил провести дифференциацию образцов на генетические группы. По остальным глиадинкодирующим локусам *GLI-1A*, *GLI-1B*, *GLI-2B* без гибридологического анализа и из-за некоторых особенностей выделения глиадина и проведения электрофореза идентифицировать блоки компонентов и обозначать их аллели в соответствии с каталогами в нашем исследовании не представляется возможным.

### Результаты и обсуждение

Проанализировано в общей сложности более 800 спектров глиадина единичных зерновок образцов сорта 'Кубанка'. Спектры многокомпонентные, особенности их состава зарегистрированы в виде «белковых формул», что удобно для дальнейшей обработки. Было выявлено 14 вариантов спектра глиадина, маркирующих отдельные биотипы. В соответствии с компонентным составом  $\alpha$ -зоны биотипы разделены на четыре группы, маркированные следующими блоками компонентов: I –  $\alpha$  2 4 6 7; II –  $\alpha$  5 7<sub>1</sub>; III –  $\alpha$  3 4 6 7<sub>2</sub>; IV –  $\alpha$  3 5 6 7. Особенности структуры  $\alpha$ -зоны сорта 'Кубанка', очевидно, связаны с древним происхождением пшениц ряда *durum-turgidum* от различных биотипов *Triticum*

*urartu* Thum. ex Gandil. Еще в 1970-х годах было установлено, что именно этот вид является донором генома А пшениц данного ряда (Konarev A.V. et al., 1974). Электрофоретический анализ образцов *T. urartu* из разных регионов Ближнего Востока выявил в  $\alpha$ -зоне блоки компонентов (Konarev V.G., 1980), идентичные обнаруженным нами в спектрах образцов сорта 'Кубанка'. Различия между биотипами в пределах каждой группы, обусловленные аллельными локусами *GLI-1A*, *GLI-1B*, *GLI-6B*, обозначены индексами «а», «б», «в» и «г». Группы включают разное число вариантов спектра глиадина. Наиболее полиморфны вторая и третья группы, имеющие по четыре различающихся между собой варианта спектра. По три варианта выявлены в I и IV группах. Отдельные варианты в пределах группы могут быть близкими по всему спектру, например, IIa и IIб, либо по отдельным зонам ( $\omega$ -зона у вариантов Ia и Ib). Наибольшие отличия имеют редкие варианты с индексами «в» и «г». Все различия между группами и в пределах групп отражены в «белковых формулах» (рисунок). Полиморфизм по спектрам глиадина указывает на генетическое разнообразие образцов сорта 'Кубанка'.

Среди изучаемых образцов сорта 'Кубанка' имеются монотипные образцы, состоящие из одного биотипа в составе той или иной группы, и политипные, включающие два и более биотипов с различной частотой встречаемости (табл. 1). Монотипные образцы одного варианта в составе группы генетически близки между собой. Скорее всего, они происходят из одного источника и, возможно, являются дублетами. Это можно уточнить, используя другие методы анализа.

Первая группа биотипов, маркированная блоком компонентов  $\alpha$  2 4 6 7, включает три варианта, из которых биотип Ia с частотой от 4% до 100% выявлен в составе 58% образцов из разных мест сбора. Таким образом, данный биотип широко распространен в разных географических зонах, как у монотипных образцов, так и в составе политипных образцов сорта 'Кубанка'. Биотип Ib составляет 100% у образца к-1948 ранней репродукции (РФ, Саратовская обл.), 92% – у образца к-24991 (РФ, Волгоградская обл.) и практически полностью отсутствует во всех других образцах. Биотипы Ia и Ib близки между собой, но отличаются по составу  $\beta$ - и  $\gamma$ -зон, кодируемых локусом *GLI-2B*. Можно предположить, что с особенностями их генетической структуры связаны различные адаптивные свойства и на этой основе географическое распространение. Биотип Iv относится к категории редких и встречается в составе только трех образцов сорта 'Кубанка'.

Вторая группа ( $\alpha$  5 7<sub>1</sub>) включает 7 образцов. Монотипными во второй группе являются: вариант IIa – сорт 'Солнечная 573' (к-62555, РФ, Алтайский край); IIб – сорт 'Целинница' (к-66519, РФ, Оренбургская обл.) и образцы сорта 'Кубанка' к-22426, к-23326, к-26454 (РФ, Алтайский край); IIв – 'Кубанка' (к-24995, РФ, Астраханская обл.); IIг – 'Кубанка черная' (к-26602, РФ, Алтайский край). Таким образом, вторая группа содержит большое число мономорфных вариантов, которые чаще всего встречаются в Алтайском крае, Оренбургской и Астраханской областях России. В целом биотипы второй группы выявлены в составе 20 образцов сорта 'Кубанка' с разной частотой встречаемости, а биотип IIг является редким для них. Современные селекционные сорта твердой пшеницы 'Солнечная 573' и 'Целинница' показывают, что отдельные биотипы II группы обладают важными хозяйственными признаками.

Группа, вариант	Электрофоретический спектр глиадина				Белковая формула			
	ω	γ	β	α	α	β	γ	ω
*St					5̄ 6̄ 7̄	2̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ 5̄	2̄ 3̄ 5̄	2̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ 6̄ <sub>1</sub> 7̄ 8̄ 9̄
I	a				2̄ 4̄ 6̄ 7̄	1̄ 2̄ 3̄ <sub>1</sub> 3̄ <sub>2</sub> 4̄ <sub>2</sub> 5̄	2̄ 3̄ <sub>1</sub> 5̄	2̄ <sub>2</sub> 3̄ 4̄ <sub>1</sub> 6̄ <sub>1</sub> 7̄ 7̄ <sub>2</sub> 8̄ <sub>1</sub>
	б				2̄ 4̄ 6̄ 7̄	1̄ 2̄ 3̄ <sub>1</sub> 3̄ <sub>2</sub> 4̄	1̄ 5̄	2̄ <sub>2</sub> 3̄ 4̄ <sub>1</sub> 6̄ <sub>1</sub> 7̄ 7̄ <sub>2</sub>
	в				2̄ 4̄ 6̄ 7̄	1̄ 2̄ 3̄ <sub>1</sub> 3̄ <sub>2</sub> 4̄	1̄ 4̄ 5̄ <sub>1</sub>	2̄ <sub>2</sub> 3̄ 6̄ <sub>1</sub> 7̄ <sub>2</sub>
II	a				5̄ <sub>1</sub> 7̄ <sub>1</sub>	1̄ 2̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ 5̄ <sub>1</sub>	2̄ 3̄ 5̄	3̄ <sub>1</sub> 4̄ 4̄ <sub>2</sub> 6̄ 7̄ 7̄ <sub>2</sub> 8̄ <sub>1</sub>
	б				5̄ <sub>1</sub> 7̄ <sub>1</sub>	1̄ 2̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ 5̄ <sub>1</sub>	2̄ 5̄	1̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ 4̄ <sub>2</sub> 5̄ 6̄ 6̄ 7̄ 8̄ <sub>1</sub>
	в				5̄ <sub>1</sub> 7̄ <sub>1</sub>	1̄ 2̄ 3̄ 4̄ 5̄	1̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ 5̄	1̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ 4̄ <sub>2</sub> 5̄ 6̄ 7̄ <sub>1</sub> 8̄ <sub>1</sub>
	г				5̄ <sub>1</sub> 7̄ <sub>1</sub>	3̄ 4̄ 5̄	2̄ 3̄ 4̄	3̄ <sub>2</sub> 6̄ 7̄ 8̄ <sub>1</sub>
III	a				3̄ 4̄ 6̄ 7̄ <sub>2</sub>	1̄ 3̄ <sub>2</sub> 4̄ 5̄ <sub>1</sub>	1̄ 2̄ 4̄ 5̄	1̄ 2̄ 3̄ 4̄ <sub>1</sub> 4̄ 5̄ 6̄ 7̄ 8̄ <sub>1</sub>
	б				3̄ 4̄ 6̄ 7̄ <sub>2</sub>	1̄ 3̄ <sub>2</sub> 4̄ <sub>2</sub> 5̄ <sub>1</sub>	1̄ 5̄	1̄ 3̄ 4̄ <sub>1</sub> 4̄ 5̄ 6̄ 7̄ 8̄ <sub>1</sub>
	в				3̄ 4̄ 6̄ 7̄ <sub>2</sub>	1̄ 2̄ 3̄ <sub>2</sub> 4̄	1̄ 5̄	1̄ 2̄ 3̄ 4̄ <sub>1</sub> 4̄ 6̄ 7̄ 8̄ <sub>1</sub>
	г				3̄ 4̄ 6̄ 7̄ <sub>2</sub>	1̄ 2̄ 3̄ 5̄ <sub>1</sub>	2̄ 3̄ 4̄	2̄ 3̄ <sub>1</sub> 6̄ 7̄
IV	a				3̄ 5̄ 6̄ 7̄	2̄ 3̄ 4̄ 5̄ <sub>1</sub> 5̄	2̄ 4̄ 5̄	1̄ 2̄ 3̄ <sub>1</sub> 4̄ <sub>1</sub> 4̄ 5̄ 6̄ 7̄
	б				3̄ 5̄ 6̄ 7̄	2̄ 3̄ 4̄ 5̄	2̄ 3̄ <sub>1</sub> 5̄	3̄ 4̄ 5̄ 6̄
	в				3̄ 5̄ 6̄ 7̄	2̄ 3̄ 4̄ 5̄	1̄ 5̄	2̄ 4̄ 5̄ 7̄ 8̄ 9̄

**Рисунок.** Электрофоретические спектры глиадина и варианты I–IV групп биотипов различных образцов староместного сорта твердой пшеницы ‘Кубанка’ и их «белковые формулы»

**Figure.** Electrophoretic patterns of gliadin and variants of Group I–IV biotypes in different accessions of the Kubanka durum wheat landrace and their “electrophoretic protein formulas”

Примечание: St – спектр и белковая формула стандартного сорта мягкой пшеницы ‘Кавказ’; I–IV – группы биотипов; а, б, в, г – варианты биотипов; α, β, γ, ω – зоны спектра

Note: St – the spectrum and electrophoretic protein formula of the reference bread wheat cv. ‘Kavkaz’; I–IV – groups of biotypes; а, б, в, г – variants of biotypes; α, β, γ, ω – spectral zones

Третья группа (α 3̄ 4̄ 6̄ 7̄<sub>2</sub>) включает 17 образцов. Из них монотипными по IIIa являются: к-4866, к-4837 (РФ, Ставропольский край), а также близкий к ним образец к-8087 из Европейской части России. В образце линии Кубанка 21 (к-15172, Канада) биотип IIIa составляет 71%. В образцах из Киргизии вариант IIIб присутствует с разной частотой. Варианты IIIв и IIIг являются сравнительно редкими и встречаются с биотипами других групп в составе полиморфных образцов.

Четвертая группа (α 3̄ 5̄ 6̄ 7̄) включает три образца: к-26490, к-26491, к-26452, близкие к мономорфным (вариант IVa с частотой 93–94%), и один полиморфный образец к-26454. Все они происходят из Алтайского края. К четвертой группе по спектру глиадина отнесен также образец к-22199 (Казахстан), который на 92% состоит из биотипа IVб и включает редкий, трудно идентифицируемый по спектру глиадина вариант.

Многие образцы сорта ‘Кубанка’ полиморфны по спектру глиадина и включают от двух до шести биотипов, относящихся к разным группам. Так, высоким полиморфизмом отличаются образцы: к-40709 (РФ, Краснодарский край), в составе которого выявлены все четыре варианта второй группы (IIa – 47%, IIб – 24%, IIв – 14%, IIг – 5%), и два варианта третьей группы (IIIв – 5%, IIIг – 5%); к-26454 (РФ, Алтайский край) – (Ia – 12%, Iв – 8%, IVa – 72%, IVв – 8%); к-8913 (Киргизия) – (IIIa – 50%, IIIб – 16%, IIIв – 8%, IIIг – 16%, IVa – 8%); к-15172 (Канада) – (Ia – 14%, IIa – 8%, IIб – 7%, IIIa – 71%). Наибольшее разнообразие биотипов отмечено у ‘Кубанки

черной’ (к-22483, РФ, Краснодарский край). В образце выявлены почти все указанные в таблице 1 варианты и еще несколько трудно идентифицируемых.

Таким образом, анализ различных образцов твердой пшеницы сорта ‘Кубанка’ по спектрам глиадина показал:

- данная группа образцов отличается значительным генетическим разнообразием;
- биотип Ia, как в мономорфном виде, так и в составе популяции биотипов, наиболее распространен в образцах Поволжья (Саратовская область), в Европейской части России, в Ставропольском крае (один образец), практически во всех исследуемых образцах из Казахстана, в трех образцах из Киргизии и во всех пяти образцах из Канады и США. Отсутствует в трех образцах из Ставропольского края, в семи из девяти образцов из Алтайского и в двух – из Краснодарского края. Биотипы первой группы относятся к степному русскому экотипу. Наиболее адаптированным и благодаря этому широко распространенным является вариант Ia;
- биотипы второй группы присутствуют в различных образцах сорта ‘Кубанка’. Наиболее часто они встречаются у образцов из Алтайского и Краснодарского краев, в Европейской части России, Оренбургской и Астраханской областях, а также в двух образцах из Канады и в одном из США. Изредка варианты IIв и IIг обнаруживаются в образцах из Казахстана и Киргизии;
- биотипы третьей группы наиболее характерны для образцов, собранных в Ставропольском крае Рос-

**Таблица 1.** Распределение биотипов, маркированных спектрами глиадина, в составе различных образцов староместного сорта 'Кубанка' из коллекции ВИР

**Table 1.** Distribution of biotypes marked with gliadin bands within different accessions of the Kubanka landrace from the VIR collection

№ по каталогу ВИР	Название образца	Происхождение	Год репродукции	Группа, варианты биотипов, их частота (%) в составе образцов сорта 'Кубанка'													
				I группа			II группа			III группа			IV группа				
				а	б	в	а	б	в	а	б	в	а	б	в		
3692	Кубанка	РФ, Европейская часть	2008	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6163	«	«	2008	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6374	«	«	2008	83	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6289	«	«	2008	15	-	-	77	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-
8087	«	«	2008	8	-	-	-	-	-	-	-	92	-	-	-	-	-
23284	«	«	2011	15	-	-	-	-	-	-	-	77	-	-	8	-	-
1948	«	РФ, Саратовская обл.	1952	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
«	«	«	2004	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24991	«	РФ, Волгоградская обл.	2008	-	92	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24995	«	РФ, Астраханская обл.	2008	-	-	-	5	-	95	-	-	-	-	-	-	-	-
4836	«	РФ, Ставропольский край	2008	84	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4866	«	«	2016	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
4837	«	«	1993	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
«	«	«	2003	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
40709	«	РФ, Краснодарский край	2012	-	-	-	47	24	14	5	-	-	5	-	-	-	-
26937	«	«	2008	-	-	-	75	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-
22426	«	РФ, Алтайский край	2008	4	-	-	-	96	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23326	«	«	2008	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26454	«	«	1957	12	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	72	8
«	«	«	2008	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26490	«	«	2008	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	93	-

Таблица 1. Окончание  
Table 1. The end

№ по каталогу ВИР	Название образца	Происхождение	Год репродукции	Группа, варианты биотипов, их частота (%) в составе образцов сорта 'Кубанка'												
				I группа			II группа			III группа			IV группа			
				а	б	в	а	б	в	а	б	в	а	б	в	
26491	«	«	2008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	94	-	-
26532	«	«	2008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	93	-	7
26602	Кубанка черная	«	2008	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
1476	Кубанка ак-бидай	Казахстан	2008	83	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5973	Кубанка	«	2008	92	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-
22199	«	«	2008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	92	-
25038	«	«	1959	92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25570	«	«	1951	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29507	«	«	2008	83	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-
35319	«	«	2008	84	-	-	-	8	-	-	-	8	-	-	-	-
35599	«	«	2008	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8913	«	Киргизия	2016	-	-	-	-	-	-	50	16	8	16	-	-	-
35322	«	«	1956	92	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-
«	«	«	2011	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35594	«	«	2008	-	5	-	-	5	-	-	90	-	-	-	-	-
39147	«	«	2011	33	-	-	-	-	-	-	67	-	-	-	-	-
15165	Кубанка-31	Канада	2008	75	-	-	-	8	-	-	17	-	-	-	-	-
15168	Кубанка-78	«	2008	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15172	Кубанка-21	«	2008	14	-	-	-	7	-	-	71	-	-	-	-	-
6003	Кубанка-8	США	2006	83	-	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-
29505	Кубанка	«	2002	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65255	Солнечная 573	РФ, Алтайский край	2016	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
66519	Целинная	РФ, Саратовская обл.	2017	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-

сии и в Киргизии. Вероятно, для них более благоприятны агроклиматические условия предгорных районов Кавказа и Тянь-Шаня;

- четвертая группа биотипов выявлена только в образцах из Алтайского края, за исключением одного образца из Казахстана (к-22199). Образцы из Алтайского края в целом отличаются значительным генетическим разнообразием по сравнению с другими представителями сорта 'Кубанка'.

- состав биотипов у образцов из США и Канады указывает на возможность присутствия в их родословных образцов сорта 'Кубанка' из Поволжья или Ставропольского края России.

В связи с тем что работа была выполнена на образцах различных лет репродукции, мы провели небольшой эксперимент по проверке сохранности четырех образцов сорта 'Кубанка' в процессе пересева. Для этого был выполнен сравнительный анализ по спектрам глиаина наиболее ранних репродукций и репродукций последних лет (табл. 2). В процессе репродукции из четырех исследуемых образцов только один к-4837 полностью сохранил идентичность. Образец к-26454 в процессе репродукции претерпел существенные изменения, у образца к-35322 изменилось соотношение биотипов. Более ранняя репродукция образца к-1948 из Саратовской области включала только биотип Ib, а в более поздней репродукции выявлен биотип Ia (100%). Вероятно, изначально присутствовали оба биотипа, но преобладал Ib. В процессе репродукции стал доминировать высокопластичный биотип Ia. Это позволило ему широко распространиться в большинстве районов России и ближнего зарубежья, за исключением Краснодарского и Алтайского краев. Биотип Ib сохранился только в образце к-24991 из Волгоградской области.

образцов необходимо увеличивать размер исследуемой выборки.

### Выводы

Анализ полиморфизма различных образцов местного сорта твердой пшеницы 'Кубанка' по электрофоретическим спектрам глиаина как маркерам генотипов, позволил зарегистрировать и охарактеризовать генетическое разнообразие данного уникального материала, относящегося к «русской северной ветви», сохраняемого в ВИР.

Выявлены и зарегистрированы в виде «белковых формул» 14 биотипов 'Кубанки'. Биотипы объединены в четыре группы в зависимости от компонентного состава  $\alpha$ -зоны спектра, кодируемой локусом *GLI-2A* на хромосоме 6A. Каждая группа включает несколько вариантов, различающихся по составу компонентов  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\omega$ -зон спектра.

Получены специфические для каждого образца характеристики по качественному и количественному составу биотипов. Выделены генетически близкие монотипные образцы и политипные, включающие в себя варианты биотипов одной или нескольких групп. Наличие в составе большинства образцов сорта 'Кубанка' двух-трех основных биотипов указывает на возможность отбора отдельных биотипов и использования наиболее ценных из них в селекции.

Состав биотипов у образцов из генетических банков семян США и Канады указывает на возможность участия в их родословных образцов сорта 'Кубанка', интродуцированных из Поволжья или Ставропольского края России.

Полученные результаты подтверждают, что изучение образцов твердой пшеницы по спектрам глиаина

**Таблица 2.** Состав биотипов, маркированных спектрами глиаина, в образцах местного сорта 'Кубанка' различных лет репродукции

**Table 2.** Composition of biotypes marked with gliadin bands in the Kubanka landrace accessions reproduced in different years

№ по каталогу ВИР	Происхождение	Наиболее ранняя репродукция	Более поздняя репродукция
1948	РФ, Саратовская обл.	1952 г. монотипный (Ib – 100%)	2004 г. монотипный (Ia – 100%)
4837	РФ, Ставропольский край	1993 г. монотипный (IIIa – 100%)	2003 г. монотипный (IIIa – 100%)
26454	РФ, Алтайский край	1957 г. политипный (Ia – 12%, Ib – 8%, IVa – 72%, IVb – 8%)	2008 г. монотипный (IIb – 100%)
35322	Киргизия	1956 г. политипный (Ia – 92%, IIIb – 8%)	2011 г. монотипный (Ia – 100%)

Полученные результаты указывают на возможные изменения соотношения состава биотипов при репродукции образцов 'Кубанки'. Для контроля за сохранением целостности и оригинальности коллекционных

является эффективным инструментом оценки генетического разнообразия и обеспечения контроля за сохранением целостности и подлинности образцов в коллекциях.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы, а также ведущих специалистов отдела биохимии и молекулярной биологии ВИР Н. М. Мартыненко и В. В. Васипову за помощь в выполнении анализов и оформлении иллюстраций.

The work was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 "Search for and viability maintenance, and disclosing the potential of hereditary variation in the global collection of cereal and groat crops at VIR for the development of an optimized genebank and its sustainable utilization in plant breeding and crop production".

The authors are grateful to the reviewers for their contribution to the peer review of this work as well as to N. M. Martynenko and V. V. Vasipova, leading experts of the Biochemistry and Molecular Biology Department of VIR, for their help in performing analyses and designing illustrations.

## References / Литература

- Aguiriano E., Ruiz M., Fité R., Carillo J.M. Analysis of genetic variability in a sample of the durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Spanish collection based on gliadin markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2006;53(8):1543-1552. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-005-7767-z>
- Dorofeev V.F., Filatenko A.A., Migushova E.F., Udachin R.A., Jakubziner M.M. Cultivated flora of the USSR. Vol. 1. Wheat (Pshenitsa). Leningrad: Kolos; 1979. [in Russian] (Дорофеев В.Ф., Филатенко А.А., Мигушева Э.Ф., Удачин Р.А., Якубцинер М.М. Культурная флора СССР. Т. 1. Пшеница. Ленинград: Колос; 1979).
- Konarev A.V., Gavrilyuk I.P., Migushova E.F. Differentiation of diploid wheats according to immunochemical analysis of gliadins (Differentsiatsiya diploidnykh pshenitov po dannym immunokhimicheskogo analiza gliadinov). *Doklady VASKhNIL = VASKhNIL Reports*. 1974;6:12-14. [in Russian] (Конарев А.В., Гаврилюк И.П., Мигушова Э.Ф. Дифференциация диплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа глиадинов. Доклады ВАСХНИЛ. 1974;6:12-14).
- Konarev V.G. (ed.). Identification of varieties and registration of crop genetic diversity according to seed proteins (Identifikatsiya sortov i registratsiya genofonda kulturnykh rasteniy po belkam semyan). St. Petersburg: VIR. 2000. [in Russian] (Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / под ред. В.Г. Конарева. Санкт-Петербург: ВИР; 2000).
- Konarev V.G. Morphogenesis and molecular-biological analysis of plants (Morfogenez i molekulyarno-biologicheskii analiz rasteniy). St. Petersburg: VIR; 1998. [in Russian] (Конарев В.Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. Санкт-Петербург: ВИР; 1998).
- Konarev V.G. Plant proteins as genetic markers (Belki rasteniy kak geneticheskiye markery). Moscow: Kolos; 1983. [in Russian] (Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры Москва: Колос; 1983).
- Konarev V.G. Wheat proteins (Belki pshenitsy). Moscow: Kolos; 1980. [in Russian] (Конарев В.Г. Белки пшеницы. Москва: Колос; 1980).
- Kudryavtsev A.M. Genetics of gliadin of spring durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Russian Journal of Genetics*. 1994;30(1):77-84. [in Russian] (Кудрявцев А.М. Генетика глиадина яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.). *Генетика*. 1994;30(1):77-84).
- Kudryavtsev A.M. Intravarietal heterogeneity of durum wheat is an important component of the species biodiversity. *Russian Journal of Genetics*. 2006;42(3): 1208-1210. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1022795406100139>
- Kudryavtsev A.M., Dedova L.V., Melnik V.A. Shishkina A.A., Upelnik V.P., Novoselskaya-Dravovich A.Y. Genetic diversity of modern Russian durum wheat cultivars at the gliadin-coding loci. *Russian Journal of Genetics*. 2014;50(5):483-488. DOI: 10.7868/S0016675814050099
- Kudryavtsev A.M., Metakovsky E.V., Sozinov A.A. Polymorphism and inheritance of gliadin components controlled by chromosome 6A of spring durum wheat. *Biochemical Genetics*. 1988;26:693-703. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02395516>
- Lyapunova O.A. Mediterranean landraces of durum wheat preserved in the Vavilov collection (VIR). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(3):68-84. [in Russian] (Ляпунова О.А. Средиземноморские староместные сорта твердой пшеницы, сохраняемые в коллекции ВИР. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2018;179(3):68-84). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-68-84
- Melnikova N.V., Kudryavtsev A.M. Allelic diversity at gliadin-coding gene loci in cultivars of spring durum wheat (*Triticum durum* Desf.) bred in Russia and former Soviet republics in the 20th century. *Russian Journal of Genetics*. 2009;45(10):1208-1214.
- Melnikova N.V., Kudryavtsev A.M., Mitrofanova O.P., Liapounova O.A. Global diversity of durum wheat *Triticum durum* Desf. for alleles of gliadin-coding loci. *Russian Journal of Genetics*. 2010;46(1):43-49.
- Metakovsky E.V., Novoselskaya A.Yu., Kopus M.M., Sobko T.A., Sozinov A.A. Block of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theoretical and Applied Genetics*. 1984;67:559-568. DOI: 10.1007/BF00264904
- Payne P.I., Holt L.M., Jackson E.A., Law C.N. Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philosophical Transactions of the Royal Society. Biological Sciences*. 1984;304:359-371. DOI: 10.1098/rstb.1984.0031
- Pomortsev A.A., Kudryavtsev A.M., Upelnik V.V., Konarev V.G., Konarev A.V., Gavrilyuk I.P. et al. Technique for laboratory varietal control by groups of agricultural plants (Metodika provedeniya laboratornogo sortovogo kontrolya po gruppam selskokhozyaystvennykh rasteniy). Moscow: Rosinformagrotech; 2004. [in Russian] (Поморцев А.А., Кудрявцев А.М., Упелник В.В.,

Конарев В.Г., Конарев А.В., Гаврилук И.П. и др. Методика проведения лабораторного сортового контроля по группам сельскохозяйственных растений. Москва: Росинформагротех; 2004). URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200113117> [дата обращения: 12.08.2020].

Sozinov A.A. Protein polymorphism and its importance in genetics and breeding (Polimorfizm belkov i ego znacheniye v genetike i selektsii). Moscow: Nauka; 1985.

[in Russian] (Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. Москва: Наука; 1985).

Sozinov A.A., Popereya F.A. Polymorphism of prolamines and plant breeding (Polimorfizm prolaminov i selektsiya). *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 1979;10:21-34. [in Russian] (Созинов А.А., Поперея Ф.А. Полиморфизм проламинов и селекция. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 1979;10:21-34).

#### Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

#### Для цитирования / How to cite this article

Пенева Т.И., Ляпунова О.А. Электрофоретические спектры глиадины как маркеры генотипов в анализе староместного сорта твердой пшеницы Кубанка. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(4):127-135. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-127-135

Peneva T.I., Lyapunova O.A. Electrophoretic patterns of gliadin as markers of genotypes in the analysis of the durum wheat landrace Kubanka. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(4):127-135. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-127-135

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

#### Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-4-127-135>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

#### ORCID

Peneva T.I. <https://orcid.org/0000-0001-5835-0685>

Lyapunova O.A. <https://orcid.org/0000-0003-2164-4510>