

UDK

## ДИНАМИКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ПО ГЛИАДИНКОДИРУЮЩИМ ЛОКУСАМ ЗА 35-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД НАУЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ В ЦЕНТРЕ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР Г. КРАГУЕВАЦ

НОВОСЕЛЬСКАЯ-ДРАГОВИЧ А.Ю.<sup>1</sup>, КНЕЖЕВИЧ Д.<sup>2</sup>, ФИСЕНКО А.В.<sup>1</sup>

*Проведен электрофоретический анализ глиадина сортов, созданных в Центре зерновых культур. Согласно родословным выявлено 3 периода в развитии селекционного процесса в Крагуевце, в ходе которого произошло изменение генетического облика создаваемых сортов. Показано изменение набора аллелей глиадинкодирующих локусов и их частот, эрозия генетического материала, увеличение генетического разнообразия во времени. Составлены генетические формулы глиадина, наиболее предпочтительные для каждого периода селекции. Эти и другие данные, полученные в результате исследования, могут служить вспомогательными характеристиками в процессе создания новых сортов.*

### Введение

Направление селекции, как известно, изменяется в зависимости от требований, предъявляемых к создаваемым сортам. Для внедрения в сорта тех или иных желаемых признаков используются сорта-доноры, несущие искомые признаки. Эти сорта часто имеют инорайонное происхождение и их генотипы существенно отличаются от генотипов местных сортов. Использование таких сортов-доноров в качестве родителей приводит к изменению генофонда сортов нового поколения. Однако изменения генотипа зависят не только от искусственного, но и от естественного отбора, так как природно - климатические характеристики среды обитания растений предъявляют к генотипу определенные требования (Allard, 1996; Li et al., 2000). Таким образом, в результате селекции, с одной стороны, отбираются хозяйственно-ценные признаки, а, с другой – признаки, способствующие адаптации растений к условиям окружающей среды. Для исследования динамики генетических преобразо-

ваний, происходящих в результате селекционного процесса у мягкой пшеницы необходимо проводить регулярный мониторинг генетической структуры сортов, созданных в разное время (Алтухов и др., 2004).

Современные Сербские сорта мягкой пшеницы создавались на основе объединения генофонда местных адаптивных форм и генофонда Западно-Европейских, в основном, Итальянских сортов. Позже в селекционный процесс включается ряд сортов из России (Безостая 1, Кавказ, Аврора, Скороспелка и др.), широко используются сорта, обладающие генами карликовости (Joly and Cox, 1989; S. Vorojevič, 1990; K. Vorojevič, 2003). Процесс включения в генофонд местных сортов обширного генетического материала из других географических зон неизбежно должен был привести к генетическим преобразованиям.

Наблюдение за изменением генетической структуры сортов мягкой пшеницы в процессе их создания предполагает наличие эффективных генетических маркеров, с помощью которых можно быстро и точно дифференцировать разные сорта и следить за изменением

Originalni naučni rad (Original scientific paper)

<sup>1</sup> Dr ALEKSANDRA NOVOSIJSKA-DRAGOVIČ, viši naučni saradnik, dr. A. FISENKO, viši naučni saradnik, Institut opšte genetike Dr Borilov, Moskva

<sup>2</sup> Dr DESIMIR KNEŽEVIĆ, naučni savetnik, Centar za strna žita, Kragujevac

их генотипа в процессе воспроизводства. К таким маркерам относятся множественные аллели глиадинкодирующих локусов, детерминирующие синтез запасного белка зерновки – глиадина. Синтез глиадина контролируется шестью несцепленными глиадинкодирующими локусами (ГКЛ), расположенными на коротких плечах хромосом первой и шестой гомеологических групп. Каждый локус характеризуется множественным аллелизмом, выявляемым методом одномерного электрофореза. Один аллель контролирует обычно несколько тесно сцепленных электрофоретических компонентов, наследующихся единым блоком как менделевский признак. Аллели одного локуса различаются по числу и электрофоретической подвижности контролируемых ими компонентов. Комбинация различных аллелей этих шести локусов позволяет получить большое разнообразие электрофоретических спектров, что даст уникальную возможность идентификации генотипов разных сортов. Одновременно, гены глиадина, не подвергаясь отбору в процессе селекции, но, будучи тесно сцепленными с некоторыми количественными признаками, могут служить эффективными маркерами для их отбора (Shepherd, 1968; Созинов и др., 1979; Wrigley et al., 1982, Tanaka et al., 2005). Для определения аллелей ГКЛ используются каталоги, построенные на основе сравнения аллелей по числу и подвижности компонентов (Metakovsky et al., 1984; Metakovsky, 1991). Каждый локус в каталоге обозначается как Gli, затем идет буква, обозначающая геном А, В или D и номер локуса. Таким образом, локусы на хромосомах 1A, 1B, 1D, 6A, 6B, 6D будут обозначаться как Gli-A1, Gli-B1, Gli-D1, Gli-A2, Gli-B2, Gli-D2 соответственно. Каждый аллель в таком каталоге обозначается буквой латинского алфавита. Записывая номер аллеля каждого локуса в указанном порядке, получают глиадиновую формулу сорта, которая в дальнейшем может использоваться как одна из его характеристик. Каждый сорт имеет свою глиадиновую формулу. Спектр сорта Безостая 1 признан эталонным и используется для определения аллелей ГКЛ у других сортов. Формула глиадина сорта Безостая 1 - Gli-A1b. Gli-B1b. Gli-D1b. Gli-A2b. Gli-B2b. Gli-D2b или просто - b. b. b. b. b. b. - по буквам, обозначающим аллели.

Цель нашей работы - проследить с помощью генетических маркеров (аллелей глиадинкодирующих локусов) динамику генети-

ческих преобразований, происходящих в результате селекционного процесса в сортах озимой мягкой пшеницы, созданных в Центре зерновых культур (г.Крагуевац) с 1966 по 2001 г.

## Материалы и Методы

В работе были исследованы 24 сорта озимой мягкой пшеницы, созданные в Центре зерновых культур (г. Крагуевац).

Методом электрофореза исследовано от 10 до 30 зерен каждого сорта.

Глиадин экстрагировали 70% -ным этанолом из муки отдельных зерновок сорта. Экстракт глиадина одной зерновки считается одним образцом.

Электрофорез в полиакриламидном геле. Электрофорез проводили в вертикальных пластинах 8,3% полиакриламидного геля (ПААГ) с последующей фиксацией в 10% ТХУ и окрашиванием в 0,04% растворе

Кумасси по методике, описанной ранее (Новосельская и др., 1983; Metakovsky & Novoselskaya, 1991).

## Результаты

Исследованные нами Крагуевские сорта пшеницы можно разделить на 3 временные группы, различающиеся своим происхождением (табл.1). К первой группе мы отнесли 5 сортов, зарегистрированных до 1973 г. В родословных этих сортов в основном присутствуют итальянские сорта. Во вторую группу включены сорта, созданные в 1973-1989 гг. на основе российских сортов Безостая 1, Кавказ, Аврора, которые в то время зарекомендовали себя как высококачественные сорта с ценными хозяйственными характеристиками. Из родословных можно видеть, что сорта Безостая 1 и Кавказ участвуют в каждом сорте, зарегистрированном в этот период, причем скрещивания часто бывают насыщающими. Третья группа объединяет сорта, созданные в 1990-2001 гг. В родословных этих сортов входят в основном сорта отечественной селекции, созданные в селекционных центрах страны.

Как видно из табл. 1, сорта хорошо отличаются друг от друга по своим глиадиновым формулам. Одинаковыми наборами аллелей ГКЛ характеризуются только сорта KG-56, KG-56s и KG-58. И это закономерно, т.к. KG-56 и KG-58 созданы из одной гибридной комбинации, а сорт KG-56s представляет собой отбор из сорта KG-56.

Всего у Крагуевских сортов выявлено 34 аллеля ГКЛ, при этом в первой группе выявлено 17, во второй и третьей по 22 аллеля. Из таблицы 1 видно, что группы, выделенные согласно родословным, отличаются между собой по набору аллелей ГКЛ. Частоты аллелей ГКЛ в разных группах, представленные на рисунке, позволяют проследить динамику изменения набора и частот аллелей по группам. Так, в 1-й группе по локусу Gli-A1 был выявлен только один аллель, это Gli-A1a, полученный сортами этой группы от своих итальянских родителей. Во второй группе появляются 3 новых аллеля, причем два из них Gli-A1b (от Безостой 1) и Gli-A1f с высокой частотой, составляющей в сумме 91%. Частота же аллеля Gli-A1a падает со 100% (в первой группе) до 5% (во второй), что выводит его на уровень редких аллелей. В 3-й группе частота "итальянского" аллеля Gli-A1a увеличивается до 55% в основном за счет уменьшения с 54% до 15% частоты Gli-A1f, а частота аллеля Gli-A1b

поддерживается примерно на том же 30% уровне, что и в предыдущей группе. Подобное уменьшение во 2-й и 3-й группе частот аллелей, присущих 1-й группе, характерно для аллелей Gli-D2k, Gli-A2g и Gli-B2o, частота которых уменьшается с 50 до 10%, с 80 до 20% и с 80 до 10 % соответственно. У сортов 2-й и 3-й группы появляются новые аллели по всем ГКЛ, а также наблюдается исчезновение ряда аллелей, характерных для первой более старой группы сортов. Так, в третьей группе по локусам Gli-B1 и Gli-D2 исчезло по 3 аллеля (это Gli-B1k, Gli-B1e, Gli-B1g, Gli-D2r, Gli-D2k, Gli-D2o), а по локусам Gli-D1 и Gli-A2 - по одному аллелю (это Gli-Dg и Gli-A2f). Всего к концу 3-го периода из употребления вышли 8 аллелей из 17, характерных для 1-го периода и добавилось 14 новых аллелей (это Gli-A1b, Gli-A1f, Gli-B1b, Gli-B1f, Gli-D1a, Gli-A2b, Gli-A2m, Gli-A2e, Gli-A2h, Gli-B2b, Gli-B2e, Gli-D2b, Gli-D2m, Gli-D2j).

Таб.1 Аллели шести глиадинкодирующих локусов Крагуевских сортов с их родословными

Название сорта	Год	ЛОКУСЫ						Родословные исследуемых сортов
		Gli-A1	Gli-B1	Gli-D1	Gli-A2	Gli-B2	Gli-D2	
KG-75	1966	a	g	k+g	f	o	r	Krusevacka 9083 x Mara
Shumadija	1968	a	l	b	g	?	k	Mara x Funoto
Kosmajka	1971	a	k	k+f	g	o	o	Fiorelo x Mara x Leonardo
Gruzhanka	1972	a	k	b+k	g	o	r+a	Leonardo x Argento
Morava	1972	a	e	k	g	o	a	Mara x Fortunatoto
Zastava	1973	b+a	b+l	b	b	b	b+a	Bezostaya 1 x Abbondanza
KG-56	1975	f	b	b	b	b	b	(Bezostaya 1 x Halle Stamm) x Bezostaya 1
Orashanka	1976	f	f	g	g	b	a	(Bezostaya 1 x Halle Stamm) x Bezostaya 1
KG-58	1977	f	b	b	b	b	b	(Bezostaya 1 x Halle Stamm) x Bezostaya 1
KG-78	1978	b+f+o	b+f	b+g	b+e+g	b+p+o	b+a	(Bezostaya 1x Halle Stamm) x Bezostaya 1
Oplenka	1982	b	b	f	g	b	b	Kavkaz x Kragujrvacka 56
Ljubishevka	1985	f+b	b	b	b	b	b+m	(Bez.1 x H. S.) x Bez.1/Bez.1 x Abbondanza
Srbijanka	1986	f	l	b	b	b	b	Kavkaz x L-29/60
Studenica	1989	b	l	a	m	e	a	(Kavkaz x L-5393) x Tena
Ravanica	1990	b	l	a	e	e	b	Kavkaz x L-5393) x Tena
Takovchanka	1990	b	b	b	e	b	b	Kavkaz x L-5393) x Partizanka
KG-56s	1992	f	b	b	b	b	b	Отбор из сорта KG-56
Lazarica	1995	a	b	f	e	b	a	Yugoslavia x KG 56
KG 100	1997	a	l	k	h	b	j	Morava x Skopjanka
Toplica	1997	a	b	b	g	b	b	Yugoslavia x KG 56
Matica	1999	a	l	f	b	o	b	KG-V/3 x Nova Posavka
Vizija	1999	b	f	b	g	b	m	Kozara x Skopjanka ) x Zelengora
Bujna	1999	a	b	a	e	e	m	Partizanka x ZG-3497
Ana Morava	2001	f+a	l	b	e	?	a	Morava x Una

Примечание. Bez.1- сорт Безостая 1; H. S - сорт Halle Stamm

Для каждой группы сортов можно составить формулу глиадина, состоящую из наиболее часто встречающихся аллелей в каждом ГКЛ (табл.2). Эта формула показывает, какие аллели наиболее часто попадали в новые сорта определенной группы.

Как видно из табл.2 для первой группы характерна уникальная формула, а 2-я и 3-я

группы отличаются между собой лишь наличием в локусе Gli-A1 аллеля "f" и "a" в дополнение к аллелю Gli-A1b. Совпадение формул 2-ой и 3-й групп между собой и формулой сорта Безостая 1 составляет 92%. Таким образом, наиболее часто встречающиеся аллели во 2-й и 3-й группах, это аллели сорта Безостая 1.

Таб. 2. Наиболее часто встречающиеся аллели ГКЛ в 3-х группах сортов

Группа	Gli-A1	Gli-B1	Gli-D1	Gli-A2	Gli-B2	Gli-D2
1-я (1966-1972г.)	a	k	k	g	o	a
2-я (1973-1989г.)	f+b	b	b	b	b	b
3-я (1990-2001г.)	a+b	b	b	b	b	b
Безостая 1	b	b	b	b	b	b

### Обсуждение

Исследование частот аллелей ГКЛ Крагуевских сортов, созданных за период 1966-2001 гг, позволило выявить 3 временные группы в селекционном процессе этого периода (таблица 1). Эти группы отличаются между собой как по родительским сортам, вовлекаемым в селекцию, так и по генотипам созданных сортов. Если 1-я группа сортов характеризуется в основном наличием генетического материала итальянских сортов, то 2-я и 3-я - генетическим материалом сортов Безостая 1, Кавказ. Несмотря на то, что сорта 3-й группы создавались на основе сортов отечественной селекции, в них обнаруживается большое влияние генотипа сорта Безостая 1 (табл.2, рис.). Это можно объяснить тем, что родительские сорта 3-й группы были созданы в период, когда Безостая 1 и Кавказ непосредственно использовались в селекции. В 3-й группе сортов по сравнению со 2-й группой частоты аллелей сорта Безостая 1 уменьшаются по всем локусам. Но в целом они удерживают лидирующую позицию. Это, вероятно, связано с высоким качеством и урожайностью сортов, полученных на основе Безостой. Известно, что урожайность сортов, созданных в Воеводине в период активного использования в селекции сорта Безостая 1, повысилась с 1,65 до 5,21 т/га (Вогојевић, 1990). Кроме того, генотип Безостой 1, созданный в климатической зоне близкой к условиям Сербии, хорошо адаптирован к местным условиям, что также повышает его конкурентоспособность при отборе. Аллели ГКЛ, встречающиеся с наибольшей частотой (табл. 2), очевидно маркируют генные комплексы, являющиеся предпочтительными на опреде-

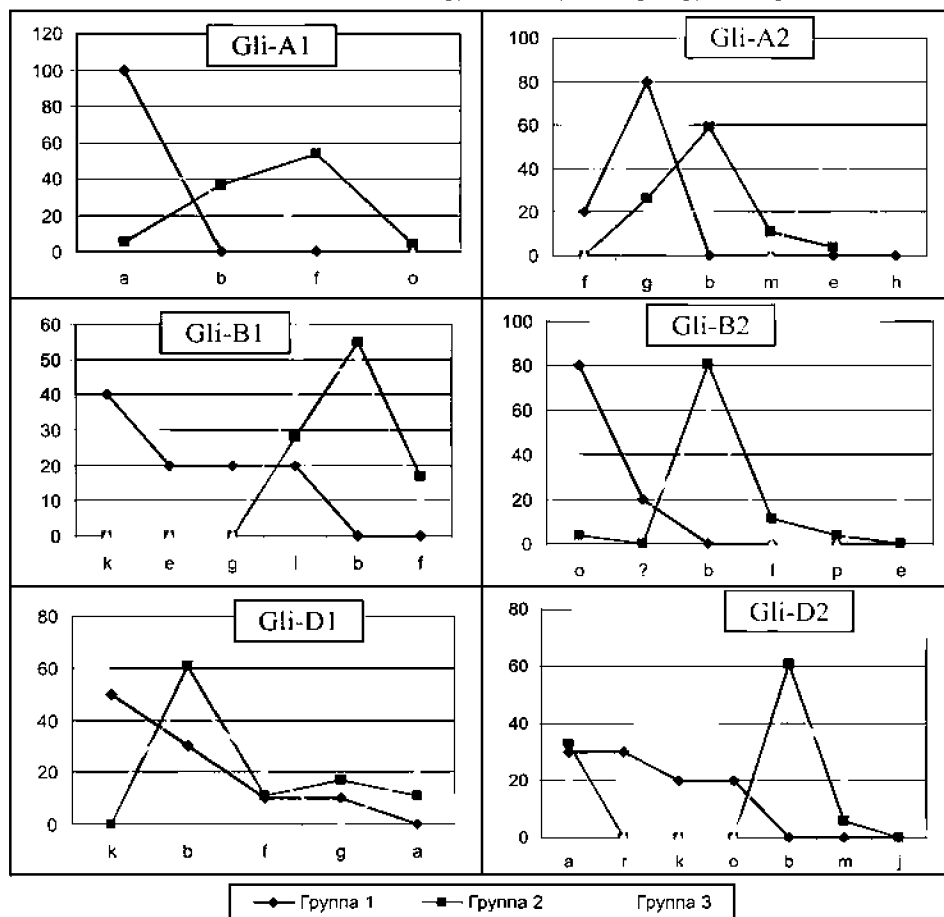
ленном этапе селекции. Поскольку в процессе создания новых сортов отбираются лучшие растения (линии), то высокая частота аллелей сорта Безостая 1 среди них свидетельствует, что аллели, характерные для Безостой, могут служить маркерами лучших растений (линий).

С 1966 по 2001 год увеличилась и генетическая изменчивость сортов: количество аллелей возросло с 17 до 22. Изменился и аллельный состав ГКЛ исследуемых сортов (табл. 1, рис.). В 3-й группе не обнаруживается 8 аллелей, характерных для 1-й группы, появляется 13 новых аллелей. Увеличение их числа во второй и третьей группе связано с появлением в селекционном процессе новых (иностраных) сортов, обладающих другим составом аллелей ГКЛ. Наличие традиционных и новых аллелей увеличивает генетическую изменчивость сортов, и следовательно, возможности отбора благоприятных признаков.

Что касается исчезновения аллелей, присутствующих старым сортам и местным формам, то это явление описывается во многих работах, использующих молекулярно-генетическое маркирование генома пшеницы (Новосельская - Драгович, 2003; Fu et al., 2005 и др.). Это явление, получившее название эрозии, объясняется изменением направления селекционного процесса (появлением новых приоритетов), заменой старых родительских сортов на новые (часто инорайонные), а также использованием в качестве родителей ограниченного набора сортов.

Частота некоторых аллелей, появившихся во 2-м периоде, таких как Gli-A2e, Gli-D2m, в 3-м периоде увеличивается с 4 до 50% и с 6 до 20% соответственно. Можно предположить,

Рис. 1. Частоты аллелей шести глиадинкодирующих локусов в трех группах сортов



По оси абсцисс – аллели. По оси ординат – частоты этих аллелей.

что эти аллели маркируют некоторые ценные для селекции ассоциации генов, отбираемые селекционерами в последнее десятилетие.

### Заключение

Таким образом, нами показано, что за исследуемый 35-летний период научной селекции в Центре зерновых культур произошли значительные изменения генетического облика создаваемых сортов, выража-

ющиеся в смене аллелей ГКЛ и их частот, увеличении генетического разнообразия за счет иностранных сортов-доноров, эрозией, т.е. потерей части генетической информации, которой обладали старые сорта. В ходе работы выделены аллели ГКЛ, которые чаще других отбираются в создаваемые сорта и, вероятно, являются маркерами ассоциаций генов наиболее предпочтительных для сортов, создаваемых в данном регионе в настоящее время.

### ЛИТЕРАТУРА

ALLARD, R. V. (1996): Genetic basis of the evolution of adaptedness in plant. *Euphytica*, 92: 1-11.  
 BOROJEVIĆ, K. (2003): Art and science of Italian wheat breeding and its influence on breeding in

South and Central Europe. Proc. 10th Inter. Wheat Genet. Symp./Eds N.E Pogna, M. Romaro, E.A Pogna, G.Galterio. Paestum, Italy, 1: 109-112.

- BOROJEVIĆ, S. (1990): Genetic improvement in wheat yields potential. *Savremena poljoprivreda* (Novi Sad), 38: 25-47.
- FU, Y-B., PETERSON, G.W., RICHARDS, K.W. et al. (2005): Allelic reduction and genetic shift in the Canadian hard red spring wheat germplasm released from 1845 to 2004. *Theor. Appl. Genet.*, 110: 1505-1516.
- JOŠT, M. and COX, T.S. (1989): History of wheat breeding in Yugoslavia. *Podravka*, 7, 1: 1-15.
- LI, Y.-C., RODER, M.S., FAHIMA, T. et al. (2000): Natural selection causing microsatellite divergence in wild emmer wheat at the ecologically variable microsite at Ammiad, Israel. *Theor. Appl. Genet.*, 100: 985-999.
- METAKOVSKY, E.V. (1991): Gliadin allele identification in common wheat. II. Catalogue of gliadin allele in common wheat. *J. Genet. & Breed.*, 45: 325-344.
- METAKOVSKY, E.V., NOVOSELSKAYA, A.Yu. (1991): Gliadin allele identification in common wheat I. Methodological aspects of the analysis of gliadin patterns by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Genet and Breed*, 45(m4): 317-324.
- METAKOVSKY, E.V., NOVOSELSKAYA, A. Yu., KOPUS, M.M. et al. (1984): Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theor. Appl. Genet.*, 67: 559-568.
- SHEPHERD, K.W. (1968): Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye. *Proc. 3rd Inter. Wheat genet. Symp./Eds K.W. Finlay, K.W. Shepherd. Canberra: Austral. Acad. Sci.*, 1: 86-96.
- TANAKA, H., SHIMIZU, R., TSUJIMOTO, H. (2005): Genetic analysis of contribution of low-molecular-weight glutenin subunits to dough strength in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 141: 157-162.
- WRIGLEY, C.W., ROBINSON, P.J., WILLIAMS, W.T. (1982): Association between individual gliadin proteins and quality, agronomic and morphological attributes of wheat cultivars. *Aust. J. Res.*, 33: 409-418.
- АЛТУХОВ, Ю.П., САЛМЕНКОВА, Е.А., КУРБАТОВА О.А. и др. (2004): Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях. Москва, Наука.
- НОВОСЕЛЬСКАЯ, А.Ю., МЕТАКОВСКИЙ, Е.В., СОЗИНОВ, А.А. (1983): Изучение полиморфизма глиадина некоторых сортов пшеницы методами одномерного и двумерного электрофореза. *Цитология и генетика*, 17: 45-58.
- НОВОСЕЛЬСКАЯ - ДРАГОВИЧ, А.Ю., КРУПНОВ, В.А., САЙФУЛИН, Р.А. и др. (2003): Динамика генетического разнообразия Саратовских сортов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. (по глиадинкодирующим локусам) за 80-летний период научной селекции. *Генетика*, 39 (10): 1338-1346.
- СОЗИНОВ, А.А., ПОПЕРЕЛЯ, Ф.А. (1979): Полиморфизм проламинов и селекция. *Вестник сельскохозяйственной науки*, 10: 21-34.

Работа частично финансирована Программой Президиума РАН "Динамика генофондов растений, животных и человека".

#### **DYNAMICS OF GENETIC VARIATION AT GLIADIN-CODING LOCI IN BREAD WHEAT CULTIVARS DEVELOPED IN SMALL GRAINS RESEARCH CENTER (KRAGUJEVAC) DURING LAST 35 YEARS**

NOVOSELSKAYA-DRAGOVICH A.Yu., KNEZEVIC D., FISENKO A.V.

#### SUMMARY

Multiple alleles of gliadin-coding loci are well-known genetic markers of common wheat genotypes. Based on analysis of gliadin patterns in common wheat cultivars developed at the Small Grains Research Center in Kragujevac, dynamics of genetic variability at gliadin-coding loci has been surveyed for the period of 35 years. It was shown that long-term breeding of the wheat cultivars involved gradual replacement of ancient alleles for those widely spread in some regions in the world, which belong to well-known cultivars-donor of some important traits. Developing cultivars whose pedigree involved much new foreign genetic material has increased genetic diversity as well as has changed frequency of alleles of gliadin-coding loci. So we can conclude that the genetic profile of modern Serbian cultivars has changed considerably.

Genetic formula of gliadin was made for each the cultivar studied. The most frequent alleles of gliadin-coding loci among modern cultivars should be of great interest of breeders because these alleles are probably linked with genes that confer advantage to their carriers at present.