

ORIGINAL PAPER

Проучване на генетичното разнообразие на нови сортове хлебна пшеница, създадени в Добруджански земеделски институт

Соня Донева¹ • Дияна Йорданова¹ • Румяна Александрова¹

¹Добруджански земеделски институт, Генерал Тошево, България

Автор за кореспонденция: Соня Донева; E-mail: sonya_doneva@yahoo.com

Study on the genetic variability of bread wheat cultivars developed at Dobrudzha Agricultural Institute

Sonya Doneva¹ • Diyana Yordanova¹ • Romyana Aleksandrova¹

¹Dobrudzha Agricultural Institute, General Toshevo, Bulgaria

Corresponding Autor: Sonya Doneva; E-mail: sonya_doneva@yahoo.com

Received: October 2018 / Accepted: February 2019 /

Published: March 2019 © Author(s)

Abstract

Doneva, S., Yordanova, D. & Alexandrova, R. (2019). Study on the genetic variability of bread wheat cultivars developed at Dobrudzha Agricultural Institute. Field Crops Studies, XII(1), 141-160.

In the last 25 years, the storage endosperm proteins of wheat have been widely used in the breeding program of Dobrudzha Agricultural Institute (DAI) as genetic markers of quality. The object of this study were 34 common winter wheat cultivars developed during 2000 – 2016. In the high molecular glutenins (HMW-GS), an increase was found of the percent of the subunits/fraction pairs related to high quality – ‘1’ and ‘2*’ in locus *Glu-A1*, ‘7+8’ in locus *Glu-B1* and ‘5+10’ in locus *Glu-D1*, as well as decrease in the percent of the subunits with low baking properties – ‘Null’ from locus *Glu-A1* and ‘2+12’ from locus *Glu-D1*. Significant changes were identified in the allele composition of the low molecular glutenins (LMW-GS), which are an important component of quality. They were expressed as higher percent of the allele determining high quality *Glu-A3c* at locus *Glu-A3* and lower percent of allele *Glu-A3e*, which is related to low quality. The negative effect of the rye translocation 1BL/1RS (*Glu-B3j*) was compensated for by the significantly higher percent of the alleles, related to high quality score *Glu-B3b* and *Glu-D3c*. ω - and γ - gliadins from group *Gli-1* and α - and β - gliadins from group *Gli-2* were characterized with a high level of genetic polymorphism. The changes, determined in the genetic potential of the most recent

cultivars of DAI, were considerably influenced by the initial breeding material. They were positive for both HMW-GS and LMW-GS and the gliadins, which contributed for the significant increase of the total score and opened opportunities to use the wheat accessions as sources of quality-valuable alleles.

Key words: *Triticum aestivum*, storage endosperm proteins, genetic markers, HMW glutenins, LMW glutenins, SDS-PAGE, gliadins, A-PAGE

Въведение

Пшеницата е основната зърнено-житна култура в световен мащаб, култивирана преди повече от 10 000 години. Характеризира се с големи биологични възможности, което се обуславя от нейните генетични особености – тя съчетава в себе си заложибите на три различни вида, които и сега се срещат в диво състояние. Особеностите на тези видове дават възможност за създаването на сортове с по-добри студо- и сухоустойчивост, по-качествено зърно и широка екологична пластичност (Panayotov, 2013; Daskalova, 2015; Doneva, 2017). Високото съдържание на протеини, въглехидрати, липиди, витамини и други съставки в зърното определят използването на пшеницата като най-важната и основна храна за повече от 40% от хората на планетата. Тенденцията за непрестанно нарастване на населението (около 9 милиарда до 2050 г.) налага глобалното производство на пшенично зърно да се увеличава с 2% годишно (Rosegrant and Agcaoili, 2010; Goutam et al., 2013).

Изискванията към качеството на пшеницата в различните държави са специфични и се определят от традициите и наложилите се продукти за консумация (Shewry, 2009). Един от основните проблеми на селекцията за качество е не само да се постигне високо ниво на показателите при новите сортове, но и тяхното проявление да е стабилно през различните години и условия на отглеждане (Drezner et al., 2006; Williams et al., 2008 Ivanova and Tsenov, 2009; Tsenov et al., 2010; Chamurlyiski et al., 2016). От друга страна изискванията на пазара налагат търсенето на подходи за съчетаване на високото качество с висока продуктивност. Това е сложен селекционен процес, още повече, че между тези две величини съществува отрицателна корелативна връзка (Yanchev and Ivanov, 2004; Tsenov et al., 2009; Tsenov et al., 2014). В тази връзка усилията за създаването на сортове с големи потенциални възможности на продуктивност и качество са насочени в много направления: използване на запасните ендоспермови белтъци като генетични маркери за сполучлив подбор на родителските сортове в хибридните комбинации (Todorov, 2006; Tsenov et al., 2010; Tsenov et al., 2013; Varzakas et al., 2014; Vandana and Khatkar, 2015; Doneva, 2017); проучване на комбинативната способност на изходния материал; провеждане на правилен от методична

гледна точка отбор за качество в т.ч. и чрез прилагане на електрофоретичния метод (Dotlacil et al., 2002; Todorov, 2006; Tsenov et al., 2009; Liang et al., 2010; Tsenov et al., 2010; Tsenov et al., 2010; Tabasum et al., 2011; Costa et al., 2013; Doneva, 2017); оценка на влиянието на условията върху технологичните и хлебопекарни качества (Stoeva et al., 2006; Atanasova et al., 2010) и редица други проблеми.

Запасните белтъци на пшеницата (глутенините и глиадините) се натрупват в ендосперма на зърното и тяхната основна биологична роля се свежда до осигуряване на хранителни вещества за покълване на пшеничното зърно. При смесване на пшеничното брашно с вода, съдържащите се в него глутенини и глиадини формират непрекъсната протеинова мрежа наречена глутен (Shewry et al., 1994; Shewry, 1995), който притежава уникални физико-химични свойства и определя основно технологичните показатели на хляба.

Глиадините са мономерни протеини с молекулна маса от порядъка на 35000 до 70000 далтона, които заемат 40% от протеина на брашното. Те са разтворими във воден разтвор на алкохол (70% етанол или 55% изопропанол). При тях липсват дисулфидни и вътреверижни връзки. При фракциониране в кисела среда се разделят на четири основни групи- ω -, γ -, β - и α - глиадини (Bushuk, 1993; Stoyanova et al., 2001; Stoyanova et al., 2002; Todorov, 2006).

Глутенините са мултимерни агрегати. Те се състоят от множество фракции, съединени помежду си с междумолекулни дисулфидни мостове. От своя страна те се подразделят на две групи – високомолекулни глутенини (ВМГ) с молекулно тегло над 100000 далтона и нискомолекулни глутенини (НМГ) с молекуло тегло близко до това на глиадините (Yasmeen et al., 2015). Най-общо генетичният контрол на запасните белтъци се състои в следното (Payne, 1987^b; Pogna et al., 1990^b):

а/ гените, кодиращи високомолекулните глутенини (*Glu-1*) са разположени в дългите рамена на хромозоми 1A, 1B и 1D;

б/ гените, контролиращи нискомолекулните глутенини (*Glu-3*) и ω - и γ -глиадините се намират в късите рамена на хромозоми 1A, 1B и 1D;

в/ гените, контролиращи α - и β - глиадините се намират в късите рамена на хромозоми 6A, 6B и 6D.

Локусите, съдържащи алелите, които кодират високомолекулните глутенинови субединици носят общото название *Glu-1*, поотделно *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*. Всеки локус съдържа 2 алела, които обуславят експресията на два типа фракции – x -, с по-високо молекулно тегло и по-слаба електрофоретична подвижност при гел-електрофореза и y -, с по-голяма подвижност.

Локусите, съдържащи гените, кодиращи НМГ фракции носят общото название *Glu-3* (*Glu-A3*, *Glu-B3* и *Glu-D3*). Тези белтъци се характеризират

със значителен полиморфизъм (Gupta and Shepherd, 1990, Todorov, 2006).

При глиадините съществува особено сложен полиморфизъм. Гените, кодиращи γ - и ω - глиадините са локализирани в три локуса, носещи общото название *Gli-1* (*Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*). Гените, кодиращи останалите 2 групи глиадини - α - и β - са локализирани в *Gli-2* локуси (*Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*). Малка група глиадинови фракции са кодирани от дисперсни гени, разположени в така наречените *Gli-3* локуси.

Характерна особеност на генетичния контрол на запасните белтъци е техният множествен алелизъм, което означава, че в един и същи локус при различните сортове са локализирани различни алели, които обуславят експресията на различни белтъчни фракции (субединици), всяка от които е свързана с различно качество. Payne et al. (1987) предлагат *Glu-1* скор като числена мярка за изразяване на специфичната връзка между отделните ВМГ фракции и качеството. За разлика от ВМГ, връзката на НМГ и глиадините с качеството все още не е добре проучена. На този етап съществуват данни за влиянието само на отделни алели върху качествените показатели и са оценени *Glu-3* скоровете на някои от НМГ субединици. Въз основа на своите проучвания Тодоров (2006) предлага общ *Glu*-скор с два компонента – високомолекулен *Glu-1* скор и нискомолекулен *Glu-3* скор и доказва чрез методите на корелационния и регресионния анализ, че този показател може успешно да се използва за оценка на генетичната основа на качеството на различни пшенични образци.

Целта на настоящото проучване е да се идентифицира алаления състав на ВМГ, НМГ и глиадините на колекция от 34 сорта хлебна пшеница, селектирани в ДЗИ през периода 2000-2016 г. и да се установи степента на тяхната хомогенност. Въз основа на получените резултати да бъдат определени скоровете на високо- и нискомолекулните глутенинови субединици, които са двата компонента на общия *Glu*-скор. Получените данни ще разширят резултатите от проучването на Тодоров (2006) и ще бъдат използвани за потвърждаване и установяване на връзките между отделните субединици с различни качествени показатели.

Материали и методи

1. Материали

Обект на изследване са 34 сорта обикновена пшеница (*T. aestivum* L., 2n=28), селектирани в ДЗИ през периода 2000 – 2016 г. (Таблица 1)

Таблица 1. Характерен признак и произход на стандартните сортове пшеница
Table 1. Typical trait and origin of wheat varieties

Сортове/Varieties	Характерен признак/Typical trait	Произход/Origin
Тодора/Todora	Зимна, обикновена пшеница Winter, common wheat	ДЗИ/DZI - Г. Тошево/G. Toshevo България/Bulgaria
Божана/Bozhana	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Аглика/Aglika	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Стояна/Stoyana	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Милена/Milena	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Рада/Rada	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Карат/Karat	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Кристи/Kristi	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Антоновка/Antonovka	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Карина/Karina	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Корона/Korona	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Косара/Kosara	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Неда/Neda	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Болярка/Bolyarka	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Лазарка/Lazarka	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Деметра/Demetra	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Горица/Goritsa	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Жана/Zhana	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Кристалина/Kristalina	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Ласка/Laska	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Фани/Fani	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Мерилин/Merilin	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Галатея/Galateya	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Сладуна/Sladuna	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Калина/Kalina	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Катаржина/Katarzhina	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Енола/Enola	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево

Таблица 1. Продължение
Table 1. Continued

Ками/Kami	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Киара/Kiara	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Кристал/Kristal	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Драгана/Draganana	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Ивета/Iveta	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Пчелина/Pchelina	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево
Тина/Tina	Зимна, обикновена пшеница	ДЗИ - Г. Тошево

2. Методи

Анализът е осъществен чрез електрофореза на единични зърна. От всеки сорт се анализират по 10 зърна, за да се установи степента на неговата хомогенност. Те се стриват на фино брашно, след предварително отстраняване на зародишите им с помощта на скалпел. Първо се екстрахират глиадините, а утайката след тази екстракция се използва за анализ на глютеините.

Екстракция и електрофореза (A-PAGE) на глиадини

Глиадините са екстрахирани със 70% етилов алкохол, а самото разделяне на белтъчните фракции е извършено с едномерна кисела вертикална електрофореза (A-PAGE) по Khan et al. (1983) с известни модификации, направени в ЛБХЗЖК на ДЗИ – Генерал Тошево. Електрофорезата е осъществена на 8% разделящ гел, а дебелината на гелната плака е 2 mm при постоянна сила на тока от 60 mA, която след 1 час се увеличава на 120 mA. Продължителността на електрофорезата при тези условия е около 5 часа при постоянна температура от 10 °C. След това геловите се фиксират и оцветяват с 0.15 % кумаси брилянт блу (СВВ) R250, 20 % етанол и 12 % трихлороцетна киселина за 24 часа. Следва обезцветяване с дестилирана вода и сканиране.

Екстракция и електрофореза (SDS-PAGE) на глютеини

Екстракцията на високомолекулните глютеини е осъществена по метода на Singh et al. (1991). Към всяка стрита на брашно проба се добавя 0.50 ml 50% пропанол, за да се отстранят албумините и глобулините. Следва екстрахиране на глютеините, като първо към пробата се добавя 0.1 ml 50% (v/v) пропанол, 0.08 M Tris – HCl, pH 8.0, съдържащ 1% (w/v) прясно добавен дитиотреитол (DTT). След инкубиране за 1 час при 65°C към всяка проба се добавя 0.1 ml 50% (v/v) пропанол, съдържащ 1.4% (v/v) прясно добавен 4–винилпиридин (VP). По този начин се извършва алкилиране на SH–групите в пробите.

Следва инкубация за 1 час при 65°C и центрофугиране за 10 минути при 12000 g. 0.2 ml от всеки супернатант се прехвърля в нова епендорфка и към него се добавят 0.2 ml от разтвор, съдържащ 2% SDS, 0.08 M Tris – HCl (pH 8.0), 40% глицерол и 0.02% бромфенол блу. Пробите се разбъркват, инкубират се за 1 час при 65 °C, центрофугират се при 12000 g за 10 минути, след което могат да се използват за SDS–PAGE анализ.

С помощта на тази екстракционна процедура, която се осъществява на четири етапа, се постига максимално отстраняване на остатъчните глиадини, които съвпадат по молекулна маса с нискомолекулните глутенини и оказват пречка за точното им идентифициране. Още по-ясна електрофореграма се получава след допълнително алкилиране на белтъчните молекули преди да бъдат обработени със SDS.

Основното предимство на SDS-PAGE електрофорезата е, че тя дава възможност за едновременно разделяне на високо- и нискомолекулните глутенини. Извършва се при постоянна сила на тока от 20 mA на гел при стайна температура за 18 – 20 часа. Оцветяването на геловите се осъществява с 1% разтвор на кумаси брилянт блу (СВВ) R 250g в оцетна киселина, метанол и вода в съотношение (1:5:4) за една нощ. Обезцветяването на гелните плаки се извършва с разтвор: оцетна киселина, метанол, дестилирана вода (1:2:7). Обезцветяващият разтвор се сменя многократно до изчистване на фона, след което гелните плаки се сканират. Електрофорезата се осъществява на вертикален апарат по метода на Laemmli (1970) в два варианта: а) класическа едномерна полиакриламидна гелна електрофореза на 12% гел и б) едномерна SDS-PAGE на 10% гел с добавка на 4M урея в разтворите на разделящия и концентриращия гел (Lafiandra et al., 1993).

Методи за идентификация на запасните белтъци

Използвани са универсална система за подреждане и номериране на високомолекулните алели и субединици в обикновената пшеница (Payne and Lawtence, 1983) и номенклатура на нискомолекулните алели и субединици в обикновената пшеница (Gupta and Shepherd, 1988, 1990).

Приложен е комбиниран метод за идентифициране на нискомолекулните глутенини и каталог за идентифициране на глиадиновите белтъци в обикновената пшеница (Metakovsky et al., 1991).

Резултати

1. Фракционен състав на високомолекулните глутенини

В трите ВМГ локуса са идентифицирани общо 8 субединици/фракционни двойки (Таблица 2). Анализът диференцира два биотипа по отношение на

ВМГ за сортовете Ласка (различен алелен състав в локус *Glu-A1*) и Галатея (различен алелен състав в локуси *Glu-A1* и *Glu-D1*) и три за сорт Сладуна (различен алелен състав в локуси *Glu-A1* и *Glu-B1*), което води до нарастване на броя на анализирани сортове до 38.

Таблица 2. Алелен състав на ВМГ в локус *Glu-1* на сортове пшеница през периода 2000-2016 г. (включително и два биотипа за сорт Ласка, два за сорт Галатея и три за сорт Сладуна).

Table 2. HMW glutenins composition in *Glu-1* locus of wheat varieties during the period 2000-2016 (including two biotypes for the Laska variety, two for the Galateya variety and three for the Sladuna variety).

Локус/ Locus	Алели/ Alleles	Субединици/ Subunits	Glu-1 качествен скор/ Glu-1 quality score	Брой сортове/ Number of varieties	Честота, %/ Frequency, %
<i>Glu-A1</i> H*=0.65 Скор – 2.16	<i>a</i>	1	3 ^a , 2 ^b	10	26.3
	<i>b</i>	2*	3	17	44.7
	<i>c</i>	Null	1	11	29.0
<i>Glu-B1</i> H=0.52 Скор – 2.40	<i>b</i>	7+8	3	15	39.5
	<i>c</i>	7+9	2	23	60.5
<i>Glu-D1</i> H=0.27 Скор – 3.68	<i>a</i>	2+12	2	5	13.2
	<i>b</i>	3+12	2	1	2.6
	<i>d</i>	5+10	4	32	84.2

^aPayne et al., 1987^a ; ^bTodorov, 2006

*Индекс на генетично разнообразие/Genetic diversity index (Nei, 1973; Hintum and Elings, 1991)

Идентифицираните субединици/фракционни двойки в локуси *Glu-A1*, *Glu-B1* и *Glu-D1* формират 12 ВМГ конфигурации (Таблица 3)

Таблица 3. Високомолекулни глутенинови конфигурации на сортове пшеница през периода 2000-2016 г.

Table 3. HMW glutenins configurations of wheat varieties during the period 2000-2016

ВМГ конфигурации HMW configurations						Glu-1 скор	Брой сортове	Честота, %
на фракционния състав of the fractional composition			на алелния състав of the allelic composition			Glu-1 quality score	Number of varieties	Frequency, %
<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>			
2*	7+8	5+10	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	10	7	18.5
1	7+8	5+10	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	9	4	10.5
2*	7+9	5+10	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	9	8	21.1
1	7+9	5+10	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	8	4	10.5
2*	7+8	2+12	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	8	1	2.6
Null	7+8	5+10	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	8	2	5.3
Null	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	7	7	18.5
2*	7+9	2+12	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	7	1	2.6
1	7+9	2+12	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	6	1	2.6
1	7+9	3+12	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	6	1	2.6
Null	7+8	2+12	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	6	1	2.6
Null	7+9	2+12	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	5	1	2.6
						8.24 (10)	38	100.0

2. Фракционен състав на нискомолекулните глутенини

Установеният фракционен състав на НМГ е представен в Таблица 4. Идентифицирани са 12 алела – 5 в локус *Glu-A3*, 5 в локус *Glu-B3* и 2 в локус *Glu-D3*. Електрофоретичният анализ доказва наличието на два биотипа на НМГ за сортовете: Ласка (различен алелен състав в локус *Glu-A3*), Фани и Галатея (различен алелен състав в локус *Glu-B3*) и Тина (различен алелен състав в локуси *Glu-A3* и *Glu-B3*). За сорт Сладуна са диференцирани три биотипа поради присъствието на различни алели в локуси *Glu-A3* и *Glu-B3*. Установената хетерогенност води до увеличаване на броя на анализирани сортове до 40.

Таблица 4. Алелен състав на НМГ в локус *Glu-3* на сортове пшеница през периода 2000-2016 г. (включително и два биотиपा за сорт Ласка, два за сорт Галатея, два за сорт Тина и три за сорт Сладуна)

Table 4. LMW glutenins composition in *Glu-3* locus of wheat varieties during the period 2000-2016 (including two biotypes for the Laska variety, two for the Galateya variety, two for the Tina variety and three for the Sladuna variety)

Локус Locus	Алели Alleles	Glu-3 качествен скор Glu-3 quality score	Брой сортове Number of varieties	Честота,% Frequency, %
<i>Glu-A3</i> H=0.45 Скор – 2.53	<i>c</i>	3	29	72.5
	<i>f</i>	3	1	2.5
	<i>b</i>	2	1	2.5
	<i>e</i>	1	6	15.0
	<i>d</i>	1	3	7.5
<i>Glu-B3</i> H=0.59 Скор – 3.00	<i>b</i>	4	24	60.0
	<i>f</i>	2	3	7.5
	<i>g</i>	2	2	5.0
	<i>h</i>	2	3	7.5
	<i>j</i>	1	8	20.0
<i>Glu-D3</i> H=0.22 Скор –2.75	<i>c</i>	3	35	87.5
	<i>a</i>	1	5	12.5

Рекомбинацията на алелите от трите *Glu-3* локуса формира 13 нискомолекулни глутенинови конфигурации (Таблица 5).

3. Фракционен състав на глиадините

В Таблица 6 е предствен алелния състав глиадините от група *Gli-1*. В анализирания сортове пшеница са идентифицирани 16 *Gli-1* алела. Сортовете Ласка (2 биотипа), Фани (2 биотипа), Галатея (2 биотипа), Тина (2 биотипа) и Сладуна (3 биотипа) са хетерогенни по отношение на глиадиновия си алелен състав, поради което общият брой на анализирания сортове нараства до 40.

Таблица 5. Нискомолекулни глутенинови конфигурации на сортове пшеница през периода 2000-2016 г.

Table 5. LMW glutenins configurations of wheat varieties during the period 2000-2016

НМГ конфигурации LMW configurations			<i>Glu-3</i> скор <i>Glu-3</i> quality score	Брой сортове Number of varieties	Честота, % Frequency, %
<i>Glu-A3</i>	<i>Glu-B3</i>	<i>Glu-D3</i>			
<i>c</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	10	15	37.5
<i>b</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	9	1	2.5
<i>c</i>	<i>h</i>	<i>c</i>	8	2	5.0
<i>c</i>	<i>f</i>	<i>c</i>	8	1	2.5
<i>c</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	8	1	2.5
<i>e</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	8	5	12.5
<i>d</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	8	2	5.0
<i>c</i>	<i>j</i>	<i>c</i>	7	7	17.5
<i>f</i>	<i>f</i>	<i>c</i>	7	1	2.5
<i>c</i>	<i>g</i>	<i>a</i>	6	2	5.0
<i>c</i>	<i>f</i>	<i>a</i>	6	1	2.5
<i>d</i>	<i>h</i>	<i>c</i>	6	1	2.5
<i>e</i>	<i>j</i>	<i>a</i>	3	1	2.5
			8.25 (10)	40	100

Обсъждане

Чрез прилагане на методите на електрофоретичния анализ (SDS-PAGE и A-PAGE) е извършена оценка на фракционния състав на запасните белтъци на отделните сортове пшеница, създадени в ДЗИ през периода 2000-2016 г. Въз основа на получените резултати са установени тяхната хомогенност, генетичен потенциал и възможности за използването им като източници на ценни алели за качеството.

Локус *Glu-A1* (Таблица 2) се характеризира със сравнително високо генетично разнообразие, $H=0.65$. Неговият наследствен потенциал се формира от три алела - *Glu-A1a*, *Glu-A1b* и *Glu-A1c*. Субединица '2*', свързана с високо качество на глутена, се среща с най-голяма честота (44.7%). Следващата по честота (29.0%) е субединица 'Null'. Тя се характеризира с нулева синтеза на белтък и обуславя ниски хлебопекарни качества. Субединица '1' е с най-ниска честота – 26.3%. Според Payne et al. (1987^a) нейният качествен скор е 3. На по-късен етап, Todorov (2006) го коригира на 2. Основание за това са резултатите

от негово проучване за влиянието на тази субединица върху качеството на различни пшенични образци, при което се установява, че фракция '1' заема средно положение спрямо '2*' и 'Null'. При този фракционен състав скорът на локус *Glu-A1* е 2.16 при максимално възможен 3. Въпреки, че алелното разнообразие в локус *Glu-B1* на *T. aestivum* е много голямо, в настоящото изследване са идентифицирани само два алела (Таблица 2).

Таблица 6. Глиадинов алелен състав в локус *Gli-1* на сортове пшеница през периода 2000-2016 г. (включително и два биотипа за сорт Ласка, два за сорт Галатея, два за сорт Тина и три за сорт Сладуна)

Table 6. Gliadins compositions in *Gli-1* locus of wheat varieties during the period 2000-2016 (including two biotypes for the Laska variety, two for the Galateya variety, two for the Tina variety and three for the Sladuna variety)

Локус Locus	Алели Alleles	Брой сортове Number of varieties	Честота,% Frequency, %
<i>Gli-A1</i> H=0.55	<i>b</i>	26	65.0
	<i>f</i>	1	2.5
	<i>m</i>	6	15.0
	<i>g</i>	2	5.0
	<i>d</i>	1	2.5
	<i>o</i>	3	7.5
	<i>a (h)</i>	1	2.5
<i>Gli-B1</i> H=0.59	<i>b</i>	24	60.0
	<i>l</i>	8	20.0
	<i>g</i>	3	7.5
	<i>d</i>	3	7.5
	<i>e</i>	2	5.0
<i>Gli-D1</i> H=0.48	<i>b</i>	28	70.0
	<i>a</i>	5	12.5
	<i>j</i>	5	12.5
	<i>g</i>	2	5.0

Това обуславя средно по своята стойност генетично разнообразие – H=0.52. Наследственият потенциал на този локус е концентриран във висока степен (60.5%) във фракционна двойка '7+9', която е свързана с добри хлебопекарни качества. Фракционна двойка '7+8', която обуславя високо качество се среща с по-ниска честота – 39.5%. В сравнение със сортовете пшеница, създадени в ДЗИ през периода 1967-1999 г., за новите сортове не са характерни свързаните с ниски хлебопекарни качества субединици '7' и '6+8' в този локус. Освен това, в новоселекционирани сортове делът на висококачествената фракционна

двойка 7+8 е 39.5% от наследствения потенциал на locus *Glu-B1* спрямо 11.3% за сортовете пшеница през периода 1967-1999 г. (Todorov, 2006).

В locus *Glu-D1* установените фракционни двойки – ‘5+10’, ‘2+12’ и ‘3+12’ заемат съответно 84.2%, 13.2% и 2.6% от неговия наследствен потенциал (Таблица 2). Нетипичната фракционна двойка ‘3+12’ е характерна само за двата биотипа на сорт Фани. Счита се, че тя е мутантна форма от ‘х-’ и ‘у-’ субединиците на основната фракционна двойка ‘2+12’ (Todorov, 2006; Lafandra et al, 1993; Margiotta et al., 1993) и притежава същия качествен скор – 2. Сравнително ниското генетично разнообразие в locus *Glu-D1* ($H=0.27$) се дължи на високата концентрация на наследствен потенциал в благоприятната за качеството фракционна двойка ‘5+10’. Тя е и в основата на неговия висок *Glu-1* скор – 3.68 при максимално възможен 4.

Средният *Glu-1* скор на установените 12 ВМГ конфигурации (Таблица 3) е 8.24. Той може да се класифицира като много добър спрямо максимално възможния скор при ВМГ, който е 10. Три конфигурации – ‘2*, 7+8, 5+10’, ‘2*, 7+9, 5+10’ и ‘Null, 7+9, 5+10’, контролират основната част (58.1%) от наследствения потенциал на ВМГ. Те са свързани съответно с високо (скор 10 и скор 9) и сравнително добро (скор 7) качество. 22 % от този потенциал се контролират от 2 конфигурации – ‘1, 7+9, 5+10’ и ‘1, 7+8, 5+10’. Техният скор варира от 8 до 9 и обуславя високо качество. Останалите 6 конфигурации, които са свързани с ниски или средни хлебопекарни качества се срещат в един или два сорта и контролират 18.3% от наследствения потенциал.

Настъпилите промени във фракционния състав на сортовете водят до нарастване на стойностите на скоровете в трите ВМГ локуса – в locus *Glu-A1* – 2.16 (през 2000-2016 г.) спрямо 1.63 (през 1967-1999 г.), в locus *Glu-B1* – 2.40 (през 2000-2016 г.) спрямо 1.90 (през 1967-1999 г.) и в *Glu-D1* – 3.68 (през 2000-2016 г.) спрямо 3.42 (през 1967-1999 г.).

Въпреки съществуващата положителна връзка на ВМГ с качеството, само те не са достатъчни за обяснение на варирането при отделните качествени показатели в пшеницата. Значение имат и другите запасни белтъци – нискомолекулните глутенини и различните глиадини (Todorov, 2006; Doneva, 2017).

В locus *Glu-A3* се повишава дела на сортовете с алел *Glu-A3c*, който обуславя високо качество на пшеничния глутен (от 68.0% през 1980-1999 г. до 72.5% през 2000-2016 г.) и намалява дела на алел *Glu-A3e*, който е свързан с ниско качество (от 17.9% през 1980-1999 г. до 15.0% през 2000-2016 г.). Останалите три алела, обуславящи лошо качество – ‘d’, ‘f’ и ‘b’ се срещат с много ниски честоти. При този фракционен състав стойността на показателя на генетично разнообразие, $H=0.45$ е малко под средното ниво, а качественият скор е сравнително добър – 2.53 при максимално възможен 3 (Таблица 4). Лocus

Glu-B3 се характеризира с по-високо генетично разнообразие в сравнение с останалите два нискомолекулни локуса. Ръжената транслокация – 1BL/1RS (*Glu-B3j*), която обуславя ниски хлебопекарни качества е характерна за 20% от най-новите сортове пшеница спрямо 11.3% от сортовете през периода 1967-1999 г. Нейното неблагоприятно влияние се компенсира чрез значително повишаване на дела на свързаните с висок качествен скор алели - *Glu-B3b* (от 47.4% през 1967-1999 г. до 60.0% през 2000-2016 г.) и *Glu-D3c* (от 81.4% през 1967-1999 г. до 87.0% през 2000-2016 г.). Качественият скор на локус *Glu-B3* е по-висок от този на другите два НМГ локуса, но е сравнително по-нисък от максимално възможния за този локус скор – 4 (Таблица 4). Локус *Glu-D3* е с най-ниска стойност на показателя на генетично разнообразие – $H=0.22$ и ограничен алелен състав, представен само от два алела – ‘a’ и ‘c’. Основната част от наследствения потенциал на локуса се контролира от свързания с високо качество алел ‘c’. При този фракционен състав качественият скор е 2.75. Той е сравнително висок спрямо максимално възможния скор за локус *Glu-D3*, който е 3 (Таблица 4).

От формираните 13 нискомолекулни конфигурации (Таблица 5) с най-висока честота (37.5%) се среща *Glu-A3c*, *GluB3b*, *Glu-D3c*, която е с максимален качествен скор – 10. Според Todorov (2006) основен източник на тази конфигурация е руският сорт Безостая 1, който пряко или косвено участва в родословието на сортовете на ДЗИ. Следващата по честота (17.5%) е конфигурация *Glu-A3c*, *GluB3j*, *Glu-D3c*. Нейният по-нисък качествен скор – 8 се дължи на алел ‘j’ (пшенично-ръжена транслокация 1BL/1RS), който е характерен за голяма част от по-новите сортове на ДЗИ – Енола, Ками, Кристал, Карат, Косара, Божана, Фани. Основната характеристика на тези сортове е участието в техния произход на руските високопродуктивни сортове Аврора и Кавказ, носители на пшенично-ръжена транслокация 1BL/1RS. Тенденцията е и в бъдеще пшенично-ръжените транслокации да бъдат използвани в селекционната програма по пшеницата, защото те обуславят повишаване на продуктивността и устойчивостта към абиотичен и биотичен стрес (Todorov, 2006). Наложително е обаче да се търсят подходи за намаляване на неблагоприятния им ефект върху хлебопекарните качества. На трето място по честота (12.5%) е конфигурация *Glu-A3e*, *GluB3b*, *Glu-D3c* със скор 8. Тя съдържа в локус *Glu-A3* обуславящият ниско качество алел ‘e’. Основен източник на тази конфигурация са сортовете Янтър и Пряспа (Todorov, 2006). Останалите 10 нискомолекулни глутенинови конфигурации се срещат с по-ниски честоти – от 2.5% до 5%. Те контролират 32.5% от наследствения потенциал на локус *Glu-3*. Средният *Glu-3* скор е 8.25 спрямо 7.83 (през 1967-1999 г.).

Електрофоретичният анализ показва високо ниво на генетичен

полиморфизъм при глиадините, който е много характерен за тези белтъци (Таблица 6). В трите *Gli-1* локуса с най-висок относителен дял са алелите, отбелязани с латинска буква 'b'. Този резултат, установен и в проучването на Todorov (2006) се дължи на широкото използване на сорт Безостая 1 (*GliA1b*, *GliB1b*, *GliD1b*) в селекционната програма по пшеницата на ДЗИ.

При идентифицирането на алелния състав на резервните протеини е установено, че малка част от новите сортове хлебна пшеница са хетерогенни. Многобройните изследвания показват, че това явление се среща често при пшеничните сортове (Metakovsky et al.; 1986, Metakovsky et al., 1991; Metakovsky and Branlard, 1998). В някои случаи възникването на биотипове е резултат на спонтанна хибридизация в процеса на семепроизводството (Todorov, 2006). Такъв е случаят със сорт Галатея, включен в това проучване. Тодоров (2006) идентифицира сорт Галатея с един биотип по отношение на ВМГ, НМГ и глиадините (*GluA1c*, *GluB1c*, *GluD1d*; *GluA3c*, *GluB3g*, *GluD3a*; *GliA1b*, *GliB1e*, *GliD1a*), докато в настоящото изследване за този сорт е установен и втори биотип (*GluA1b*, *GluB1c*, *GluD1a*; *GluA3c*, *GluB3h*, *GluD3c*; *GliA1b*, *GliB1d*, *GliD1b*). От друга страна, на по-ранен етап е установено, че сортовете Кристи, Кристал и Карат са с два биотипа, а сортовете Неда и Болярка - с три биотипа (Todorov, 2006), а в нашето проучване те са идентифицирани с един биотип. В тези случаи хомогенността им е постигната чрез избор на биотипа с по-добри стопански качества и с по-висок качествен скор. За сортовете Ласка, Фани и Тина изследването ни показва наличието на два биотипа, а за сорт Сладуна - три. Фактът, че установените биотипове в тези сортове са идентични по основната част от алелите, а се различават само по малък брой алели показва, че най-вероятната причина за тази хетерогенност е отсъствието на електрофоретичен контрол на селекционните материали в отделните звена на селекционния процес (Stoyanova and Kolev, 1996; Todorov, 2006; Doneva, 2017).

Направеният анализ на фракционния състав на запасните белтъци на новите сортове, създадени в ДЗИ показва, че установените промени в техния генетичен потенциал са съществено повлияни от изходния селекционен материал и могат да се обобщят като положителни както за ВМГ и НМГ, така и за глиадините. Това води до повишаване на общия скор, което създава възможности за използването на изследваните пшенични сортове като източници на ценни алели за високо качество.

Изводи

1. При ВМГ се повишава дела на субединиците свързани с високо качество – '1' и '2*' в локус *Glu-A1*, '7+8' в локус *Glu-B1* и '5+10' в локус *Glu-D1*, което води до нарастване на стойностите на скоровете в трите ВМГ локуса.

2. При НМГ нараства дела на сортовете с алел *Glu-A3c*, който обуславя високо качество.

3. Неблагоприятното влияние на ръжената транслокация – 1BL/1RS (*Glu-B3j*) върху хлебопекарните качества се компенсира чрез значително повишаване на дела на свързаните с висок качествен скор алели - *Glu-B3b* и *Glu-D3c*.

4. ω - и γ - глиадините от група *Gli-1* и α - и β - глиадините от група *Gli-2* се характеризират с високо ниво на генетичен полиморфизъм.

Литература References

- Atanasova, D., Tsenov, N., Stoeva, I. & Todorov, I. (2010). Performance of Bulgarian winter wheat varieties for main end-use quality parameters under different environments, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 16(1), 22-29.
- Bushuk, W. (1993). Wheat flour proteins: Composition, structure and functionality in breadmaking. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2/ 43, 5–23.
- Chamurliysky, P., Tsenov, N., Stoeva, I., Doneva, S. & Penchev, E. (2016). Quality of grain and flour of foreign bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) under the conditions of South of Dobrudzha region. Agricultural science and Technology, Vol. 8, № 4, 283-288.
- Costa, M., Scholz, B. & Franco, C. (2013). Effect of high and low molecular weight glutenin subunits and subunits of gliadin on physicochemical parameters of different wheat genotypes. Ciênc.Tecnol. Aliment., 33, supl.1. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013000500024>
- Daskalova, N. (2015). Select in synthetic wheat and hybrids to improve some selection characteristics. PhD Thesis, SSA, Sofia, Bulgaria. (Bg)
- Doneva, S. (2017). Characterization of the spare proteins in synthetic wheat in connection with their use as a starting material for the selection. PhD Thesis, SSA, Sofia, Bulgaria. (Bg)
- Dotlacil, L., Gregova, E., Hermuth, J., Stehno, Z. & Kraic, J. (2002). Diversity of HMW - Glu alleles and evaluation of their effects on some characters in winter wheat landraces and old cultivars. Czech J. Genet. Plant Breed., 38, (3–4), 109–116.
- Drezner, G., Dvojkovic, K., Horvat, D., Novoselovic, D., Lalic, A., Babic, D. & Kovacevic, J. (2006). Grain yield and quality of winter wheat genotypes in different environments. Cer. Res. Communications, 34 (1), 457-460.
- Goutam, U., Kukreja, S., Tiwari, R., Chaudhury, A., Gupta, R.K., Dholakia, B. B. & Yadav, R. (2013). Biotechnological approaches for grain quality improvement in wheat: Present status and future possibilities. Australian Journal for Crop Science, 7(4), 469-483.

- Gupta, R.B. & Shepherd, K.W. (1988). Low-molecular glutenin subunits in wheat: their variation, inheritance and association with bread-making quality. Proc of 7th Intre. Wheat Genet. Symposium, Cambridge, Uk, 13-19 July, 943-949.
- Gupta, R.B. & Shepherd, K.W. (1990). Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. 1. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats. *Theor. Appl. Genet.*, 80, 65-74.
- Ivanova, A. & Tsenov, N. (2009). Biological and economic signs of common wheat varieties according to the conditions of cultivation. *Field Crops Studies*, 5(1), 173-182. (Bg)
- Khan, K., McDonald E. & Banasik, O.J. (1983). Polyacrylamide gel electrophoresis of gliadin proteins for wheat variety. Identification-procedural modifications and observations. *Cereal Chem.*, 60 (2), 178-181.
- Laemmli, U.K. (1970). Clavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 (5259), 680-685.
- Lafiandra, D., D'Ovidio, R., Porceddu, E., Margiotta, B. & Colaprico, G. (1993). New data supporting high Mr glutenin subunits as the determinant of quality differences among the pairs 5+10 vs.2+12. *Journal of Cereal Science*, 18, 197-205.
- Liang, D., Tang, J., Peña R.J., Singh, R., He, X., Shen, X., Yao, D., Xia, X. & He, Z. (2010). Characterization of CIMMYT bread wheats for high and low - molecular weight glutenin subunits and other quality - related genes with SDS - PAGE, RP - HPLC and molecular markers. *Euphytica*, 172, 235-250.
- Margiotta, B., Colaprico, G., D'Ovidio, R. & Lafiandra, D. (1993). Characterization of High Molecular Subunits of glutenin by combined chromatographic (RP-HPLC) and electrophoretic separations and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses and their encoding genes. *Journal of Cereal Science*, 17, 221-236.
- Metakovsky, E.V., Akhmedov, M.G. & Sozinov, A.A. (1986). Genetic analysis of gliadin-encoding genes reveals gene clusters as well as single remote genes. *TAG*, 73, 278-285.
- Metakovsky, E.V. & Novoselskaya, A.Y. (1991). Gliadin allele identification in common wheat. I. Methodological aspects of analysis of gliadin pattern by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Genet and Breed.*, 45, 325-344.
- Metakovsky E.V. & Branlard, G. (1998). Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin alleles. *Theor. Appl. Genet.*, 96, 209-218.
- Panayotov, I. (2013). *Wheat. Genetic and selective research*. Abagard Publishing House, VelikoTarnovo (Bg).
- Payne, P.I., Nightingale, M.A., Krattiger, A.F. & Holt, L.M. (1987^a). The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of

- British-brown wheat varieties. *J. Sci. Food Agric.*, 40, 51-65.
- Payne, P.I., Seekings, J.A., Jarvis, M.G. & Holt, L.M. (1987^b). Allelic variation of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: analysis of F5 Orogeny from Chinese Spring x Chinese Spring (Hope 1A). *Journal of Cereal Science*, 6, 103-118.
- Payne, P.I. & Lawrence, G.J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu – A1, Glu – B1 and Glu – D1 which code for high-molecular - weight subunit in hexaploid wheat. *Cereal Rresearch Communication*, 11(1), 29-35.
- Pogna, N., Mellini, F., Redaelli, R. & Bianchi, A. (1990^b). Genetic aspects of protein affecting technological and nutritional quality in heat. *Proceedings of international symposium. Wheat breeding-prospects and future approaches*, June 4-8, Albena, 103-112.
- Rosegrant, M.W. & Agcaoili, M. (2010). *Global food demand, supplay and food prospects*. International food policy research Institute. Washington, D. C., USA.
- Shewry, P.R. (1995). Plant storage proteins. *Biol. Rev.Camb.Philos Soc.*, 70 (3), 375–426.
- Shewry, P.R. (2009). *Wheat*. *J. Exp. Bot.*, 60 (6), 1537-1553.
- Shewry, P.R., Miles, M.J. & Tatham, A.S. (1994). The prolamin storage proteins of wheat and related cereals. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 61 (1), 37–59.
- Singh, N.K., Shepherd, K.W. & Cornish, G.B. (1991). A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science*, 14, 203-208.
- Stoeva, I., Tsenov, N. & Penchev, E. (2006). Environmental impact on the quality of bread wheat varieties. *Field Crops Studies*, 3 (1), 7-17
- Stoyanova, S.D. (2002). Wheat genetic resources avaluation by electrophoretic separation of gliadins. *Biotechnol. Biotec.* 16 (1), 3-7.
- Stoyanova, S.D., Boyadjieva, D.B. & Phylipov, Ch. (2001). Gliadin analysis for identification of 1BL/1RS wheat-rye translocations and for assessment of protein patterns in aluminium tolerant genotypes. *Bulg. J. Agric. Sci.* 7 (3), 255-260.
- Stoyanova, S. & Kolev. (1996). Identification of common wheat varieties by electrophoresis of the gliadin fraction. *Plant Breeding Sciences*, IXXIII, 7, 5-9 (Bg).
- Tabasum, A., Iqbal, N., Hamed, A. & Arshad, R. (2011). Evaluation of Pakistan wheat germaplasm for bread quality based on allelic variation in HMW glutenin subunits. *Pakistan journal of Botany*, 43 (3), 1735-1740.
- Todorov, I. (2006). *Investigation of the spare wheat proteins and their use as genetic markers in the wheat selection*. PhD Thesis, NCAS, Sofia, Bulgaria. (Bg)
- Tsenov, N., Atanasova, D., Nankova, M., Ivanova, A., Tsenova, E., Chamurliyski, P. & Raykov, G. (2014). *Approaches for grading breeding evaluation of winter*

- wheat varieties for grain yield. Scientific Works of Institute of Agriculture-Karnobat, 3 (1), 21-35. (Bg)
- Tsenov, N., Atanasova, D., Chamurliyski, P. & Stoeva, I. (2013). Influence of extreme environmental changes on grain quality of winter common wheat (*Triticum aestivum* L.). Bul. J. Agric. Sci., 19 (4), 685-690.
- Tsenov, N., Atanasova, D., Todorov, I., Ivanova, I. & Stoeva, I. (2009). Allelic diversity in Bulgarian winter wheat varieties based on polymorphism of glutenin subunit composition, . Cereal Research Communications, 37 (4), 551-558.
- Tsenov, N., Atanasova, D., Todorov, I., Ivanova, I. & Stoeva, I. (2010). Quality of winter common wheat advanced lines depending on allelic variation of Glu - A3. Cereal Research Communications, 38 (2): 250-258.
- Tsenov, N., Kostov, K., Todorov, I., Panayotov, I., Stoeva, I., Atanasova, D., Mankovski, I. & Chamurliyski, P. (2009). Problems, achievements and perspectives in the productivity selection of winter wheat. Field Crops Studies, V-2, 261-273. (Bg)
- Tsenov, N., Stoeva, I. & Atanasova, D. (2010). Selection of grain quality in bread winter wheat in DZI, General Toshevo-present and perspectives. Field Crops Studies, VI-2, 217-233. (Bg)
- Vandana, D. & Khatkar, B.S. (2015). Effects of gliadin/glutenin and HMW-GS / LMW-GS ratio on dough rheological properties and bread-making potential of wheat varieties. Journal of Food Quality, 38 (2), 71-82.
- Varzakas, T., Kozub, N. & Xynias, I.N. (2014). Quality determination of wheat: genetic determination, biochemical markers, seed storage proteins-bread and durum wheat germplasm. J. Sci. Food Agric. 94 (14), 2819-2829.
- Williams R.M., O'Brien, L., Eagles, H.A., Solah, V.A. & Jayasena, V. (2008). The influences of genotype, environment, and genotype x environment interaction on wheat quality. Australian Journal for Agricultural Research, 59, 95-111.
- Yanchev, I. & Ivanov, K. (2004). Comparative studies on the chemical composition, technological and baking properties of grain from new common wheat varieties. Plant Studies, 41, 260-266. (Bg)
- Yasmeen, F., Khurshid, H. & Ghafour, A. (2015). Genetic divergence for high - molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) in indigenous landraces and commercial cultivars of bread wheat of Pakistan. Genet. Mol. Res., 14 (2), 4829-4839.

