

ORIGINAL PAPER

## Приложение на глиадиновия алелен състав като маркер за студоустойчивост в селекцията на хлебна пшеница

Соня Донева<sup>1</sup> • Румяна Александрова<sup>1</sup> • Татяна Петрова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Добруджански земеделски институт - Генерал Тошево, 9521, България

Автор за кореспонденция: Соня Донева; E-mail: [sonya\\_doneva@yahoo.com](mailto:sonya_doneva@yahoo.com)

## Application of the gliadin allelic composition as a marker for cold resistance in the wheat breeding

Sonya Doneva<sup>1</sup> • Romyana Aleksandrova<sup>1</sup> • Tatyana Petrova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dobrudzha Agricultural Institute - General Toshevo, 9521, Bulgaria

Corresponding Autor: Sonya Doneva, E-mail: [sonya\\_doneva@yahoo.com](mailto:sonya_doneva@yahoo.com)

Received: June 2019 / Accepted: June 2019 /

Published: June 2019 © Author(s)

### Abstract

*Doneva S., Aleksandrova R., Petrova T. (2019). Application of the gliadin allelic composition as a marker for cold resistance in the wheat breeding. Field Crops Studies, XII(2), 213-226.*

Bulgaria is located in a geographical area where high productivity and quality are mainly realized from winter wheat type (*Triticum aestivum* L.). In this connection, the cold resistance of wheat is a very important feature.

In order to increase the scope for targeted selection in this area, genetic markers that are directly or indirectly related to the cold-resistance attribute can be more frequently used and can be evaluated in the initial stage of the breeding process. Particularly suitable for this purpose are the wheat endosperm proteins - glutenins and gliadins.

In the present study the genetic variation of gliadin storage proteins by polyacrylamide gel electrophoresis (A-PAGE) was evaluated in a collection of winter common wheat (*Triticum aestivum* L.) with established high levels of cold resistance for the Dobroudzha region and the country. In the three *Gli-1* locus (*Gli-A1*, *-B1*, *-D1*) the alleles marked with the latin letter „b“ have been identified

at the highest frequency. This is due to the extensive use of Bezostaia 1 variety in the DAI wheat breeding program, which leads to the creation of varieties with a higher average degree of cold resistance - Pchelina, Merilyn, Laska, Iveta, Stoyana, Goritsa, Aglika, Slaveya, Bolyarka and others. A small group of varieties (Neda, Lider and Zlatitsa) and the poorly resistant San Pastore (check variety) have the same allelic composition in the locus *Gli-A1* - allele „m“. It is very likely that the low frost resistance of the listed varieties is determined precisely by this allele. The high-strength check variety Mironovskaya 808 and the Milena and Albena varieties that are around it, have the *Gli-A1f* allele, which alone or in combination with the *Gli-B1* and *Gli-D1* alleles can be associated with their high frost resistance. Part of the newer varieties of DAI is characterized by a gliadins configuration with the *Gli-B11* allele. The main characteristic of these varieties is the participation in their origin of Russian high-yielding varieties Aurora and Kavkaz. They are carriers of wheat-rye translocation 1BL / 1RL. It has an adverse effect on their baking properties. On the other hand it increases the cold resistance of the varieties in combination with high and stable productivity. The *Gli-D1a* allele, identified in the spectra of Todora, Demetra, Christy, Nicodim, Karina and Galateya, is associated with a high adaptability of wheat to different climatic conditions. Evidence for this is its widespread use in wheat genotypes of different geographical regions.

The established relationships between the gliadins allelic composition and the cold-resistance feature as a result of the conducted study present is a modern approach to the use of biochemical markers in the conventional breeding process of winter wheat.

**Key words:** A-PAGE, Cold resistance, Genetic polymorphism, Gliadin genetic formula (GGF), Gliadins, *Gli* loci, Winter bread wheat.

## Въведение

Пшеницата е едно от първите зърнено-житни растения, които са били култивирани от хората. Способността за самоопрашване допълнително е улеснила отбора на редица сортове в определени региони на света. Отглеждана първоначално в Близкия изток, пшеницата постепенно бива разпространена по цялото земно кълбо. Годишно с нея се засяват около 2.5 милиарда декара.

Студоустойчивостта на пшеницата е важен признак и селекцията в това направление се води в продължение на десетилетия, защото България е разположена в географска зона, в която високата продуктивност и качество се реализират основно от зимен тип пшеница (Tsenov et al., 2012; Tsenov and Petrova, 2006; Tsenov et al., 2003 ). За да се увеличат възможностите за провеждане на целенасочена селекция в това направление все по-често се използват генетични маркери, които са пряко или косвено свързани с

признака студоустойчивост и могат да бъдат оценени още в началния етап на селекционния процес. Особено подходящи за целта са запасните белтъци на пшеничния ендосперм. От една страна структурата на глутена, който е съставен от глиадинови и глутенинови белтъци е определяща за качеството на пшеничното зърно и брашното, а от друга страна редица комбинации от глиадинови алели в отделни генотипове се асоциират с по-добрата им адаптивност към ниски зимни температури (Chebotar et al., 2012). Глиадините заемат 40% от протеина на брашното. Те са мономерни протеини с молекулна маса от порядъка на 35000 до 70000 далтона. При фракциониране в кисела среда се разделят на четири основни групи –  $\omega$ -,  $\gamma$ -,  $\beta$ - и  $\alpha$ - (Metakovski et al., 2018; Doneva, 2017; Qi et al., 2006; Todorov, 2006). Намират се в късите рамена на 1 и 6 хромозома. Те са кодирани от гени, локализирани в локуси *Gli-1* (*Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*) и *Gli-2* (*Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*). Малка група глиадинови фракции са кодирани от дисперсни гени, разположени в така наречените *Gli-3* локуси. При глиадините съществува особено сложен полиморфизъм. Всеки глиадинов алел кодира транскрипцията на клъстер от субединици съставен от различни глиадинови компоненти, които са свързани помежду си и се унаследяват по този начин. Отделните глиадинови групи могат да се различават по броя на компонентите, тяхната електрофоретична мобилност, молекулно тегло и степента на експресия (Sozinov & Popereleya, 1980). Глиадиновият алелен състав на всеки генотип се представя чрез ‘Глиадинова генетична формула’ (GGF) според каталога за хлебната пшеница (Metakovsky et al., 2018; Metakovsky, 1991). В редица публикации се съобщава, че пшеничните сортове от дадена държава често имат еднакви GGF въпреки липсата на целенасочена селекция по отношение на глиадините (Utabayev et al., 2019; Nailegiorgis et al., 2017; Novoselskaya-Dragovich et al., 2011; Salavati et al., 2008; Хуняс et al., 2006). Наличието на връзки между глиадиновите алели и други гени или група от гени, кодиращи важни признаци могат да бъдат много полезни в селекцията на хлебната пшеница.

През последните години все по-широко се използват и молекулните маркери, основаващи се на DNA анализи за генотипна и генетична идентификация на различни култури (Burrige et al., 2018; Scheben et al., 2017). Прилагането на молекулните маркери е много успешно при проучване на пшеничните гени кодиращи показатели като: масата на 1000 зърна, съдържание на протеин и глутен, твърдозърност, добив на брашното при смилане на зърното, качество на хляба и др. (Zhang et al., 2018; Henry et al., 2018; Nirmal et al., 2017; Nirmal et al., 2016). Основният недостатък на молекулните маркери е, че те са сравнително скъпи по отношение на апаратура и необходими реактиви. Освен това синтезата на белтъци е кодирана от гени, чиято експресия в отговор на

промените в околната среда директно води до различни нива на съответните протеини. За разлика от тях, биохимичните маркери на основата на запасни белтъци и ензими са алтернативен метод, който е евтин, бърз и лесен за приложение в комбинация с класическите методи на селекция (Utubaev et al., 2019; Hailegiorgis et al., 2017; Al-Doss et al., 2010; Shewry & Halford, 2001), а получените електрофоретичните спектри не се влияят от климатичните условия (Todorov, 2006).

Целта на настоящото проучване е да се идентифицира и анализира генетичното вариране на глиадиновите алели и да се установи кои от тях се срещат с висока честота в колекция от зимна обикновена пшеница (*Triticum aestivum* L.) с доказани нива на студоустойчивост при климатичните условия на Добруджа и страната. По този начин ще бъдат получени данни за определени алели и алелни комбинации, които са пряко или косвено свързани с признака студоустойчивост. Тези резултати ще дадат възможност за бърз скрининг на голям брой образци – местни форми, сортове, линии и материали от началните звена на селекционния процес. Така ще се ускори процеса на целенасочено създаване на качествени сортове зимна обикновена пшеница в съчетание с висока студоустойчивост.

## **Материали и методи**

### **Материали**

В изследването са включени 41 сорта зимна обикновена пшеница, създадени в Добруджански земеделски институт в периода от 1992 до 2016 година (Таблица 1).

За да се оцени приложимостта на глиадините като генетичен маркер за признака студоустойчивост са използвани данни от Лабораторията по физиология на растенията на ДЗИ, получени през 2016/2017, 2017/2018, и 2018/2019 реколтни години по полско-лабораторен метод, описан от Tsenov & Petrova (1984). Студоустойчивостта на анализираните сортове е сравнявана с тази на сортове от стандартната скала, притежаващи различни нива на изследвания признак: Мироновская 808 (най-висока устойчивост), Безостая 1, № 301, Русалка (средно ниво) и San Pastore (най-ниска устойчивост).

### **Методи**

Анализът е осъществен чрез електрофореза на единични зърна. Те се стриват на фино брашно, след предварително отстраняване на зародишите им с помощта на скалпел. Първо се екстрахират глиадините, а в утайката след тази екстракция се съдържат glutенините.

Таблица 1. Сортове, обект на настоящото изследване  
Table 1. Varieties subject to this investigation

Сорт, Variety	Период* Period*
Милена (Milena), Тодора (Todora), Кристал (Kristal), Ласка (Laska), Албена (Albena), Аглика (Aglika), Енола (Enola), Галатея (Galateya), Карат (Karata), Славей (Slaveya), Ивета (Iveta)	1992-2001
Златица (Zlatitsa), Кристи (Kristi), Антоновка (Antonovka), Неда (Neda), Деметра (Demetra), Болярка (Bolyarka), Корона (Korona), Лазарка (Lazarka), Драгана (Dragana), Стояна (Stoyana), Горица (Goritsa), Катаржина (Katarjina), Жана (Jana), Венка 1** (Venka 1), Сладуна (Sladuna), Косара (Kosara), Фани (Fani), Кристалина (Kristalina), Никодим (Nikodim), Тина (Tina), Божана (Bojana), Киара (Kiara), Копринка (Koprinka), Рада (Rada), Карина (Karina), Ками (Kamii), Калина (Kalina), Лидер (Lider)	2002-2016

\* Година на признаване/Year of release

\*\* Сорт на ИЗС “Образцов чифлик” – Русе, с участието на колектив от ДЗИ – Генерал Тошево

### *Електрофореза и идентификация на глиадиновите алели*

Екстракцията на глиадините е извършена със 70% етилов алкохол, а самото разделяне на белтъчните фракции е осъществено с едномерна кисела вертикална електрофореза (A-PAGE) по Khan et al. (1983) с известни модификации, направени в лабораторията по биохимия на зърнено-житните култури на ДЗИ – Генерал Тошево. Методът 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.

Глиадиновите компоненти са идентифицирани по каталога за глиадиновите белтъци в обикновената пшеница (Metakovsky et al., 1991). Установените алели, кодиращи глиадините са в съответствие с каталога на McIntosh et al. (2008) за *Gli-1* (-A1, -B1 и -D1) и *Gli-2* (-A2, -B2, -D2). Алелите от глиадиновите локуси са обозначени с латински букви и всеки генотип е описан с пълна или съкратена глиадинова генетична формула (GGF). Напр. за стандарт Безостая1 пълната GGF е: *GliA1b, GliB1b, GliD1b*, а съкратената: *b, b, b*.

### *Статистически анализ*

Генетичното вариране (H) в глиадиновите локуси е изчислено чрез индекс

на Nei (1973), където  $P_i$  е честотата на алелите в съответния локус:  $H = 1 - \sum P_i^2$ .

## Резултати

### 1. Фракционен състав на глиадините

Идентифицираните алели в локус *Gli-1* на сортовете пшеница, включени в проучването (41 образца), стандартните сортове за студоустойчивост (Мироновская 808, Безостая 1, №301, Русалка и San Pastore) и техните GGF – формули са предствени в Таблица 2. Установено е високо ниво на генетичен полиморфизъм, който е много характерен за тези белтъци. 79% от сортовете са хомогенни, а 21% са хетерогенни и са идентифицирани с няколко генотипа, различаващи се по алелния си състав в един или повече глиадинови локуса. Идентифицирани са общо 16 *Gli-1* алела – 7 в локус *Gli-A1*, 5 в локус *Gli-B1* и 4 в *Gli-D1*.

Таблица 2. Глиадинови генетични формули на сортове обикновена пшеница от ДЗИ, подредени по студоустойчивост спрямо стандартни сортове  
 Table 2. Gliadin geneic formulas of common wheat varieties from DAI arranged in cold resistance against check varieties

Сорт/Variety	<i>Gli-A1</i>	<i>Gli-B1</i>	<i>Gli-D1</i>
Милена/Milena	<i>f</i>	<i>g</i>	<i>b</i>
<i>Mir. 808*/Mir. 808*</i>	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>g</i>
Пчелина/Pchelina	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Мерилин/Merilin	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>j</i>
Албена/Albena	<i>f</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Лазарка/Lazarka	<i>g</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Ласка/Laska	<i>o+b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Ивета/Iveta	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>g</i>
Стояна/Stoyana	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>b</i>
Горица/Goritsa	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Катаржина/Katarjina	<i>b</i>	<i>l</i>	<i>g</i>
Аглика/Aglika	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Славей/Slaveya	<i>b+m</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
<i>Безостая1*/Bezostaya1*</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Болярка/Bolyarka	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>j</i>
Жана/Jana	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>j</i>
Венка 1/Venka 1	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Сладуна/Sladuna	<i>g+o</i>	<i>b+d</i>	<i>b</i>
Косара/Kosara	<i>b</i>	<i>l</i>	<i>b</i>
Драгана/Dragana	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Кристал/Kristal	<i>m</i>	<i>l</i>	<i>a</i>

Таблица 2. Продължение

Table 2. Continued

Фани/Fani	<i>b</i>	<i>l</i>	<i>b</i>
Тодора/Todora	<i>b</i>	<i>g</i>	<i>a</i>
Енола/Enola	<i>b</i>	<i>l</i>	<i>b</i>
Кристалина/Kristalina	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Никодим/Nikodim	<i>b</i>	<i>l</i>	<i>a</i>
Тина/Tina	<i>o</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Деметра/Demetra	<i>d</i>	<i>b</i>	<i>a</i>
Божана/Vojana	<i>b</i>	<i>l</i>	<i>b</i>
Киара/Kiara	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Корона/Korona	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Копринка/Koprinka	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>b</i>
Рада/Rada	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>j</i>
Карина/Karina	<i>b</i>	<i>e+g</i>	<i>a</i>
Кристи/Kristi	<i>m+g</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Ками/Kami	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Калина/Kalina	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
№ 301*	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g</i>
Антоновка/Antonovka	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Карат/Karat	<i>b</i>	<i>l</i>	<i>b</i>
Русалка*/ <i>Rusalka*</i>	<i>m+b</i>	<i>d</i>	<i>j</i>
Галатея/Galateya	<i>b</i>	<i>e+d</i>	<i>a+b</i>
Неда/Neda	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Лидер/Lider	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
Златица/Zlatitsa	<i>m</i>	<i>d+b</i>	<i>b</i>
<i>San Pastore*</i>	<i>g</i>	<i>k</i>	<i>b</i>

\*Стандартни сортове/Check varieties

Честотата на алелите в отделните *Gli-1* локуси и стойностите на генетичното вариране (H) в тях са изчислени за анализирания сортове пшеница (без стандартите) и са представени в Таблица 3. Поради установената хетерогенност на сортовете Ласка (2 биотипа), Славя (2 биотипа), Сладуна (2 биотипа), Карина (2 биотипа), Кристи (2 биотипа), Галатея (2 биотипа) и Златица (2 биотипа) общият брой на генотиповете нараства до 48. По отношение на алелния състав в локуси *Gli-A1* и *Gli-B1* са хетерогенни по 4 образца, а в локус *Gli-D1* – 1 образец. Това има значение при изчисляване на честотите на алелите, които се получават чрез разделяне на броя на сортовете, носители на съотв. алел на общия брой генотипове установени в проучването.

Таблица 3. Честота на алелите и гнетично вариране в локус *Gli-1* на сорове обикновена пшеница от ДЗИ  
Table 3. Frequency of alleles and genetic variation in locus *Gli-1* of common wheat varieties from DAI

Локус Locus	Алели Alleles	Брой сортове Number of varieties	Честота,% Frequency, %
<i>Gli-A1</i> H=0.62	<i>b</i>	26	57.7
	<i>f</i>	2	4.5
	<i>m</i>	9	20.0
	<i>g</i>	3	6.7
	<i>d</i>	1	2.2
	<i>o</i>	3	6.7
	<i>a</i>	1	2.2
<i>Gli-B1</i> H=0.41	<i>b</i>	27	60.0
	<i>l</i>	8	17.8
	<i>g</i>	3	6.7
	<i>d</i>	5	11.1
	<i>e</i>	2	4.4
<i>Gli-D1</i> H=0.47	<i>b</i>	29	70.7
	<i>a</i>	6	14.6
	<i>j</i>	4	9.8
	<i>g</i>	2	4.9

## Обсъждане

В трите *Gli-1* локуса с най-висока честота са алелите отбелязани с латинската буква ‚b‘, което е установено и в други проучвания (Doneva et al., 2019; Todorov, 2006). Дължи се на широкото използване на сорт Безостая 1 в селекционната програма по пшеницата на ДЗИ (Panayotov & Kostov, 2007). Това от своя страна води до създаването на сортове с по-високо средно ниво на студоустойчивост, близка до тази на родителската форма. Според изследването на Tsenov et al. (2012) сортовете, които не отстъпват на еталона Безостая 1 по студоустойчивост са създадените през последните 15 години: Пчелина, Мерилин, Ласка, Ивета, Стояна, Горица, Аглика, Славея, Болярка и др.

Следващият по честота в локус *Gli-A1* е алел ‚m‘. Той е установен в 9 сорта. Прави впечатление, че обособената малобройна група около слабоустойчивия стандарт San Pastore, включваща сортовете Неда, Лидер и Златица притежава един и същ алелен състав *GliA1m*, *GliB1b*, *GliD1b* (за сорт Златица е характерен и биотип с алел *GliB1d*). Имайки предвид установените GGF за трите сорта и благоприятния ефект на алелите *GliB1b*, *GliD1b* върху студоустойчивостта, твърде вероятно е причината за ниските нива на този признак при изброените



сортове да се дължи както на алел 'm', така и на комбинацията му с алели *GliB1b* и *GliD1b/ GliD1d*.

Със сравнително по-ниска честота в локус *Gli-A1* са идентифицирани алели 'f', 'o', 'g', 'a' и 'd'. Високоустойчивият стандарт Мироновская 808 и сортовете Милена и Албена, които са от неговата категория, притежават алел *GliA1f*. Този алел самостоятелно или в комбинация с алел *GliD1b*, който е характерен и за двата образца може да се асоциира с тяхното много високо ниво на студоустойчивост, което е добре доказано в предишни изследванията (Tsenov et al., 2012; Tsenov & Petrova, 2006). Сортовете Ласка и Тина и един от биотиповете на сорт Сладуна, които в класацията по студоустойчивост не отстъпват на стандарт Безостая 1, са носители на алел *GliA1o*. Той произхожда от руската селекция и е характерен за сортовете, отглеждани в северозападен Сибир. Имайки предвид това Metakovsky et al. (2006) и Utabaev et al. (2016) считат, че използването на алел *GliA1o* може да промени селекционния процес по отношение на студоустойчивостта в положителна посока. Сортовете, носители на алели *GliA1g*, *GliA1a* и *GliA1d* показват от висока до средна студоустойчивост, което може би се дължи и на комплексното влияние на алелите от другите два *Gli-1* локуса .

За голяма част от по-новите сортове на ДЗИ е характерна глиадинова конфигурация с алел *Gli-B1l*– Енола, Катаржина, Косара, Кристал, Фани, Никодим, Божана, Карат. Основната характеристика на тези сортове е участието в техния произход на руските високопродуктивни сортове Аврора и Кавказ, носители на пшенично-ръжена транслокация 1BL/1RL. Тя оказва неблагоприятен ефект върху хлебопекарните им качества, но от друга страна използването ѝ в селекционната програма по пшеницата на ДЗИ води до повишаване студоустойчивостта на новосъздадените сортове до нивата на устойчивия стандарт Безостая 1 и средноустойчивия - №301. Приложеният селекционен подход има и друг положителен ефект - високото ниво на студоустойчивост е успешно комбинирано с висока и стабилна продуктивност, дължаща се основно на пшенично-ръжената транслокация (Doneva, 2017; Todorov, 2006).

Алелите *GliB1g*, *GliB1e* и *GliB1d* се срещат с по-ниска честота. Тъй като те са идентифицирани в сортове, заемащи различни позиции в класацията по студоустойчивост не е възможно да се даде реална оценка за влиянето им върху изследвания показател. За алел *GliB1g* е известно, че произхожда от региони с различно географско положение и климат - държави от Скандинавската група (Metakovsky et al., 2018), Украйна (Chernakov & Metakovsky, 1994), Франция (Metakovsky & Branlard, 1998) и Китай (Novoselskaya-Dragovich et al., 2011). Поради това е трудно да се оцени неговото конкретно въздействие върху студоустойчивостта. Алел *GliB1e* има по-добре изразено влияние върху

сухоустойчивостта и качеството на зърното, защото е прехвърлен от широко използваните в селекцията руски сортове с високо ниво на тези селекционни признаци (Mutabeev et al. 2016).

Наследственият потенциал на локус *Gli-D1* е концентриран в много висока степен в алел 'b'. Останалите алели – 'a', 'j' и 'g' са идентифицирани с пониски честоти. Алел *Gli-Da*, който е установен в спектрите на Тодора, Деметра, Кристи, Никодим, Карина и Галатей се асоциира с високата адаптивност на пшеницата към различни климатични условия. Доказателство за това е неговото широко разпространение в пшенични генотипове от различни географски ширини – Хърватия, Финландия, Испания, Русия (Metakovsky et al., 2018; Sontag-Strohm, 1997).

Съществува хипотеза, че глиадиновите алели са свързани от една страна директно с качеството на зърното и брашното и тяхното подобряване (Li et al., 2009), а от друга страна с възможността за адаптиране на растенията към различни климатични условия. Установено е обаче, че по-съществено влияние върху способността на хлебната пшеница да се приспособява към различни географски ширини оказват алелите от трите хомеоложни локуса *Gli-A2*, *-B2*, *-D2*, локализиращи в шеста хромозома (Utebayev et al., 2019; Novoselskaya-Dragovich et al., 2013).

Получените зависимости в настоящото проучване между глиадиновия алелен състав в локус *Gli-1* и признака студоустойчивост не са абсолютно доказани. Необходимо е те да се разширят и задълбочат за по-голям брой сортове и линии с различен произход, както и да се установят връзките между *Gli-2* алелите и признака студоустойчивост. Все пак представените тенденции и резултати са нов подход за приложение на биохимичните маркери в конвенционалната селекция на зимна обикновена пшеница.

## Изводи

Проучено е генетичното разнообразие на алелите в локус *Gli-1* и са установени глиадиновите генетични формули на 41 сорта зимна обикновена пшеница селектирани през последните 15 години в ДЗИ. Получени са определени зависимости и тенденции между някои *Gli-1* алели и признака студоустойчивост, които се изразяват в следните изводи:

1. В трите глиадинови локуса с най-висока честота са идентифицирани алелите отбелязани с латинската буква 'b', дължащо се на широкото използване на сорт Безостая 1 в селекционната програма по пшеницата на ДЗИ. Тази алелна комбинация е една от най-често срещаните се в българските сортове, което от една страна дава възможност те да се използват като родителски форми за високо качество на зърното, а от друга страна като изходен материал при селекцията на сортове с по-високо средно ниво на студоустойчивост

каквито са: Пчелина, Мерилин, Ласка, Ивета, Стояна, Горица, Аглика, Славей, Болярка

2. Обособена малобройна група около слабоустойчивия стандарт San Pastore, включваща сортовете Неда, Лидер и Златица притежава един и същ алелен състав в локус *Gli-A1* – алел “m”. Много вероятно е ниската студоустойчивост на изброените сортове да е обусловена именно от този алел, както и от комбинацията му с алели *Gli-B1b* и *Gli-D1b*.

3. Високоустойчивият стандарт Мироновская 808 и сортовете Милена и Албена, които са от неговата категория, притежават един и същ алел *Gli-A1f*, който може да се асоциира с високата им студоустойчивост.

4. Голяма част от по-новите сортове на ДЗИ притежават глиадинова конфигурация с алел *Gli-B1l* – Енола, Катаржина, Косара, Кристал, Фани, Никодим, Божана, Карат. Основната характеристика на тези сортове е участието в техния произход на руските високопродуктивни сортове Аврора и Кавказ, носители на пшенично-ръжена транслокация 1BL/1RL. Тя оказва неблагоприятен ефект върху хлебопекарните им качества, но от друга страна води до повишаване студоустойчивостта на сортовете в комбинация с висока и стабилна продуктивност.

5. Алел *Gli-D1a*, който е установен в спектрите на Тодора, Деметра, Кристи, Никодим, Карина и Галатея се свързва с високата адаптивност на пшеницата към различни климатични условия. Доказателство за това е неговото широко разпространение в пшенични генотипове от различни географски ширини – Хърватия, Финландия, Испания, Русия.

6. Установените зависимости между глиадиновия алелен състав и признака студоустойчивост са нов подход за приложение на биохимичните маркери в конвенционалната селекция на зимна обикновена пшеница.

## Литература

## References

- Al-Doss, A.A., Al-Hazmi A.S., Dawabah, A.A.M., Abdel-Mawgood, A.A., Al-Rehiyani, S.M., Solaiman, A., Moustafa, K. & Motawei, M. (2010). Impact of Cre and peroxidase genes of selected new wheat lines on cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* woll) resistance. *Australian Journal of Crop Science*, 4(9), 737-743.
- Burridge, A., Wilkinson, P., Winfield, M., Barker, G., Allen, A., Coghill, J., Waterfall, C. & Edwards, K. (2018). Conversion of array-based single nucleotide polymorphic markers for use in targeted genotyping by sequencing in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biotechnology Journal*, 16(4), 867-876, DOI 10.1111/pbi.12834.

- Chebotar, S., Blagodarova, E., Kurakina E., Semenyuk, I., Polishchuk, A., Kozub, N., Sozinov, I., Khokhlov, A., Ribalka, A. & Sivolap, Y. (2012). Genetic polymorphism of loci determining bread making quality in Ukrainian wheat varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 16(1), 87-98.
- Chernakov V. & Metakovsky E. (1994). Diversity of gliadin-coding locus allelic variations and evaluation of genetic similarity of common wheat varieties from different breeding counters. *Genetica*, 30(4), 509-517.
- 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 (Bg).
- Hailegiorgis, D., Lee, C.A. & Yun, S.J. (2017). Allelic variation at the gliadin coding loci of improved Ethiopian durum wheat varieties. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 20(4), 287-293, DOI 10.1007/s12892-017-0106-0.
- Henry, R. J., Furrado, A. & Rangan, P. (2018). Wheat seed transcriptome reveals genes controlling key traits for human preference and crop adaptation. *Current Opinion in Plant Biology*, 45, 231-236, DOI 10.1016/j.pbi.2018.05.002.
- 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.
- Li, Y., Song, Y., Zhou, R., Branlard, G. & Jia, J. (2009). Detection of QTLs for bread making quality in wheat using a recombinant inbred line population. *Plant Breeding*, 128, 235-243, DOI 10.1111/j.1439-0523.2008.01578.x.
- Nirmal, R., Furtado, A., Rangan, P. & Henry, R. (2017). Fasciclin-like arabinogalactan protein gene expression is associated with yield of flour in the milling of wheat. *Scientific Reports*, 7:12539, DOI 10.1038/s41598-017-12845-y.
- Nirmal, R., Furtado, A., Wrigley, C. & Henry, R. (2016). Influence of gene expression on hardness in wheat. *PLoS One*, 11(10):e0164746, DOI 10.1371/journal.pone.0164746.
- McIntosh, R. A., Yamazaki, Y., Devos, K. M., Dubkovsky, J., Roger, J. & Apples, R. (2008). MacGene 2003. Catalogue of gene symbols for wheat. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Wheat Genetics Symposium. Paestum, Italy. Available at: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/wgc/2003>.
- Metakovsky, E. & Branlard, G. (1998). Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin alleles. *Theoretical Applied Genetics*, 96, 209-218, DOI 10.1007/s001220050729.
- Metakovsky, E.V., Branlard, G.P. & Graybosch, R.A. (2006). Gliadins of common wheat: Polymorphism and genetics. In: Wrigley, C., Bekes, F., Bushuk, W., ed. Gliadin and Glutenin: the Unique Balance of Wheat Quality. St. Paulo: American Association of Cereal Chemistry, 36.
- Metakovsky, E., Melnik, V., Quijano, M.R., Upelnik V. & Carrilo, J.M., (2018).

- A catalog of gliadin alleles: Polymorphism of 20<sup>th</sup>-century common wheat germplasm. *Crop Journal*, 6(6), 628-641, DOI 10.1016/j.cj.2018.02.003.
- Metakovsky, E. & Novoselskaya, A. (1991). Gliadin allele identification in common wheat. I. Methodological aspects of analysis of gliadin pattern by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Genetics and Breedings*, 45, 317-324.
- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(2), 3321-3323, DOI 10.1073/pnas.70.12.3321.
- Novoselskaya-Dragovich, A., Fisenko, A. & Puhalskii, V. (2013). Genetic differentiation of common wheat cultivars using multiple alleles of gliadin coding loci. *Russian Journal of Genetics*, 49(5), 487-496, DOI 10.1134/S1022795413020087.
- Novoselskaya-Dragovich, A., Fisenko, A., Yankovsky, N., Kudryavtsev, A., Yang, Q., Lu, Z. & Wang, D. (2011). Genetic diversity of storage protein genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars from China and its comparison with genetic diversity of cultivars from other countries. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(4), 533-543, DOI 10.1007/s10722-010-9596-y.
- Panayotov, I. & Kostov, K. (2007). Combining the Bulgarian and Ukrain breedings to improve wheat quality and productivity, International Scientific Conference “The gene pool of plants – Bases of Modern Agriculture”, 2-3, 371-374 (Bg).
- Qi, P., Wei, Y., Yue, Y., Yan, Z. & Zheng, Y. (2006). Biochemical and molecular characterization of gliadins. *Molecular Biology*, 40(5), 713-723, DOI 10.1134/S0026893306050050.
- Salvati, A., Sameri, H., Boushehri, A. & Yazdi-Samadi, B. (2008). Evaluation of genetic diversity in Iranian landrace wheat *Triticum aestivum* L. By using gliadin alleles. *Asian Journal Plant Science*, 7(5), 440-446, DOI 10.3923/ajps.2008.440.446.
- Scheben, A., Batley, J. & Edwards, D. (2017). Genotyping-by-sequencing approaches to characterize crop genomes: choosing the right tool for the right application. *Plant Biotechnology Journal*, 15(2), 149-161, DOI 10.1111/pbi.12645.
- Shewry, R.P. & Halford, N.G. (2001). Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 947-958, DOI 10.1093/jexbot/53.370.947.
- Sontag-Strohm, T. (1997). Gliadin and glutenin subunit alleles on group 1 chromosomes in Finnish spring wheats. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil and Plant Science*, 47, 98-105, DOI 10.1080/09064719709362446.
- Sozinov, A. & Poperelya, F. (1980). Genetic classification of prolamins and its use for plant breeding. *Annales de Technologie Agricole*, 29, 229-245.

- 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., Chamurlyisky, P., Petrova T. & Penchev, E. (2012). Breeding of cold tolerance the common winter wheat (*Triticum aestivum* L.) at Dobrudzha Agricultural Institute. *Field Crops Studies*, 8(1), 53-64 (Bg).
- Tsenov, N. & Petrova, T. (2006). Tolerance to cold and drought of winter wheat varieties, created in Dobrudzha Agricultural Institute, National Conference “Enhancing the Competitiveness of Bulgarian Agriculture – Priority of Scientific Research, 60-65 (Bg).
- Tsenov, N., Petrova, T. & Tsenova, E. (2003). Breedin for increasing the cold resistance in winter bread wheat. Scientific conference of Bulgarian Scientists, Stara Zagora, 10-18 (Bg).
- Utabaev, M., Dashkevich, S., Babkenov, A., Shtefan, G., Fahrudanova, I., Bayahmetova, S., Sharipova, B., Kaskarbayev, Z. & Shavrukov, Y. (2016). Application of gliadin polymorphism for pedigree analysis in common wheat (*Triticum aestivum* L.) from Northern Kazakhstan. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(8), 204, DOI 10.1007/s11738-016-2209-4.
- Utabaev, M., Dashkevich, S., Bome, N., Bulatova, K. & Shavrukov, Y. (2019). Genetic diversity of gliadin-coding alleles in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) from Northern Kazakhstan. DOI 10.7717/peerj.7082.
- Xianias, I., Kozub, N. & Sozinov, I. (2006). Seed storage protein composition of Hellenic bread wheat cultivars. *Plant Breeding*, 125(4), 408-410, DOI 10.1111/j.1439-0523.2006.01242.x.
- Zhang, Y., Li, D., Zhang, D., Zhao, X., Cao, X., Dong, L., Liu, J., Chen, K., Zhnag, H., Gao, C. & Wang, D. (2018). Analysis of the functions of *TAGW2* homoeologs in wheat grain weight and protein content traits. *Plant Journal*, 94(5), 857-866, DOI 10.1111/tpj.13903.