

препарату нового покоління. // Физиология и биохимия культурных растений.— 2007.— Т.39, №5.— С. 426–431.

9. *Blvarez-Fernández A., Paniagua M.P., Abadia J. et al.* Effect of Fe deficiency chlorosis on yield and fruit quality in Peach (*Prunus persucae* L. Batsch) // *J. Agric. Food. Chem.*— 2003.— 51.— P. 5738–5744.

10. *Jackson R. S.* Wine Science. Principles and application. Amsterdam: Elsevier Acad. Press, 2008.— 751 p.

11. *Wellburn A. R.* The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // *Journal of Plant Physiology.*— 1994.— 144.— 3.— P. 307–313.

Резюме

Досліджені особливості антихлорозної дії мішанолігандного комплексонату заліза за даними визначення загального вмісту фотосинтетичних пігментів, їх співвідношення та урожаю ягід. Визначена залежність цих показників від дози препарату.

Исследованы особенности антихлорозного действия смешанно-лигандного комплексоната железа по данным определения общего содержания фотосинтетических пигментов, их соотношения и урожая ягод. Определена зависимость этих показателей от дозы препарата.

The effects of antychlorosis compounds such as the composite ligand iron complex on the contents of photosynthetic pigments and their ratio as well as vine yield were investigated. The dependence of these parameters on of the compound doze are presented.

РАДЧЕНКО А.Н., ПОЧИНОК В.М.

*Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев
03022, Киев, ул. Васильковская 31/17*

АЛЛЕЛЬНЫЙ СОСТАВ ЛОКУСА *GLU D3* СОРТОВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Глютенины, запасные белки пшеницы, на основании их молекулярных масс подразделяют на две основные группы: высокомолекулярные (ВМГ, 80–120 кДа) и низкомолекулярные (НМГ, 30–50 кДа). Хотя в зерне пшеницы преобладают НМГ, именно ВМГ в основном определяют экспрессию определённых признаков хлебопекарских качеств, что обусловило их более детальное изучение. НМГ являются звеньями белковой сети. Влияя своей структурой на формирование белкового каркаса клейковины, они увеличивают размер полипептидной сети и тем самым улучшают такой признак, как “сила муки” [2, 3].

Низкомолекулярные глютенины кодируют генные кластеры *Glu-A3*, *Glu-B3* и *Glu-D3*, которые расположены на коротких плечах хромосом 1A, 1B, 1D и тесно сцеплены с глиадинкодирующими локусами *Gli A1*, *Gli B1*,

Gli D1 [1, 6]. Влияние глиадинов на признаки хлебопекарного качества в Украине интенсивно исследовались на протяжении последних десятилетий. Однако иностранными авторами считается, что именно низкомолекулярные глютеины влияют на ряд признаков хлебопекарного качества, а не глиадины [6].

Результаты исследования влияния отдельных аллелей низкомолекулярных глютеинов на качество показали, что больший позитивный эффект на качество, а именно на показатель — SDS-30 среди аллелей локуса Glu-A3 имеет алель Glu-A3b, тогда как локуса Glu-B3 — аллель b. Наряду с этим, имеются аллели, которые наоборот оказывают негативное влияние на этот показатель, в частности алель Glu-B3j, связанный с транслокацией 1BL.1RS.

Zhang и соавт. [5] установили комбинацию аллелей, а именно Glu-A3b, Glu-B3b, Glu-D3b, наличие которой в генотипе обуславливает высокие технологические и хлебопекарские качества пшеничной муки. Цель данной работы состояла в анализе аллельного состава Glu-D3 сортов мягкой пшеницы и выявление аллеля **b** который положительно влияет на хлебопекарные качества.

Материалы и методы

Объектом исследования были сорта пшеницы Панна, Federer, Наталка, Скарбница, Альбатрос одесский, Трипольская, Одесская 267, Пивная, Золотоколосая, Донская полукарликовая, Магдалена, Киевская остистая, Вг 06-243 (сорта получены из коллекции Института физиологии растений и генетики НАН Украины).

Экстракцию ДНК пшеницы осуществляли из одиночных зерен (случайная выборка по 10 зерен для каждого сорта) с использованием СТАБ-метода [3]. Праймеры и состав реакционной смеси соответствовали рекомендациям Родера и соавт. [4]. Амплификацию фрагментов ДНК проводили на термоциклере Techne (Великобритания), используя следующий режим: первая денатурация 94 °С, 2 мин; заключительная элонгация 72 °С, 3 мин; 30 основных циклов: денатурация при 94 °С 1 мин; отжиг праймеров при 52 °С, 1 мин; элонгация 72 °С, 1 мин. Продукты амплификации разделяли в 2%-ном агарозном геле в 1xTBE-буфере (трис-боратном буфере) при напряженности 4 В/см в течение 2–2,5 часов. В качестве маркера молекулярного массы использовали pGEM (Fermentas, Литва). Гели документировали фотографированием после окрашивания бромистым этидием (конечная концентрация 0,5 мкг/мл). Размер аллеля определяли согласно программы TotalLab. Для проведения полимеразной цепной реакции использовали реактивы фирмы Fermentas (Литва). Электрофорез запасных белков проводили по модифицированной методике ISTA с использованием буфера уксусная кислота — глицин [7].

Результаты и обсуждение

Для исследования влияния локусов аллелей низкомолекулярных глютеинов на проявление признаков хлебопекарного качества нами использовалась модельная популяция (13 сортов). С учетом результатов анализа

технологических показателей данная популяция была разбита на четыре группы сортов, которые отличались содержанием белка в зерне и силой муки: 1) высокое содержание белка, высокое качество (Federer, Панна, Наталка); 2) умеренное содержание белка, высокое качество (Скарбница, Альбатрос одесский, Трипольская, Одесская 267); 3) высокое содержание белка, низкое качество (Донская полукарликовая, Киевская остистая, Магдалена); 4) умеренное и низкое содержание белка и низкое качество (Пивная, Золотоколосая, Вг 06-243).

Для определения аллельного состава низкомолекулярных глютенинов локуса Glu-D3 использовали 4 пары алель-специфических праймеров согласно рекомендациям Zhao и соавт. [6]. Как видно из таблицы 1, наличие аллелей a, b, d определяли по наличию ампликона размером 883 п.н., используя пару праймеров M2F12/M2R12, тогда как аллели c, e — по синтезируемым фрагментам размером 388 п.н. и 773 п.н. с применением одного из двух пар праймеров S13F2/S13R1 и M4F1/M4R1, соответственно. Аллели g соответствуют 2 ампликона размером 883 п.н. (M2F12/M2R12) и 413 п.н. (M4F3/M4R3). Результаты исследования аллельного состава низкомолекулярных глютенинов локуса Glu-D3 сортов озимой мягкой пшеницы представлены на рис. 1, 2 и обобщены в табл. 2.

Таблица 1

Алели локуса Glu D3 мягкой пшеницы и продукты их амплификации

Аллели Glu D3	Пари праймерів та продукти ампліфікації			
	S13F2/S13R1, 388 п.н.	M2F12/M2R12, 883 п.н.	M4F1/M4R1, 773 п.н.	M4F3/M4R3, 413 п.н.
a, b, d	—	+	—	—
c, e	+	—	+	—
g	—	+	—	+

Примечание: +, — присутствие и отсутствие аллеля.

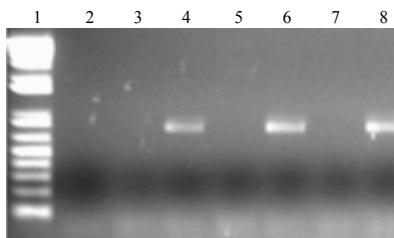


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК сортов пшеницы (2–8) в 2%-ном агарозном геле с использованием пары праймеров M2F12/M2R12 локуса Glu-D3. Присутствие ампликона размером 883 п.н. (аллели a, b, d):

1 — маркер молекулярной массы pGEM, 2 — Золотоколосая, 3 — Магдалена, 4 — Панна, 5 — Безостая 1, 6 — Пивная, 7 — Трипольская, 8 — Скарбница.

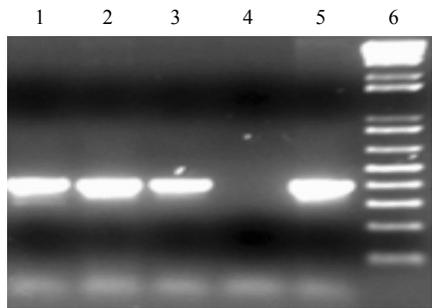


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК сортов пшеницы (1–5) в 2%-ном агарозном геле с использованием пары праймеров S13F2/S13R1 локуса Glu-D3. Присутствие ампликона размером 388 п.н.— аллель Glu-D3c: 1 — Магдалена, 2 — Киевская остистая, 3 — Вг 06-243, 4 — Альбатрос одесский, 5 — Безостая 1, 6 — маркер молекулярной массы рGEM

Таблица 2

Характеристика аллелей локуса Glu D3 сортов мягкой пшеницы

Сорт	Аллель	Сорт	Аллель
Панна	a, b, d	Магдалена	c, e
Federer	c, e	Киевская остистая	c, e
Наталка	a, b, d	Вг 06-243	c, e
Скарбница	a, b, d	Безостая 1	c, e
Альбатрос одесский	a, b, d	Пивная	a, b, d
Трипольская	c, e	Золотоколосая	c, e
Одесская 267	a, b, d	Донская полукарликовая	a, b, d

Сортами-носителями аллелей Glu D3a, Glu D3b, Glu D3c являются Панна, Наталка, Скарбница, Альбатрос одесский, Одесская 267, Пивная, Донская полукарликовая. Аллели Glu D3c, Glu D3e присутствуют в сортах Federer, Вг 06-243, Золотоколосая, Киевская остистая, Магдалена, Трипольская. Аллель Glu D3g в данной группе сортов отсутствует.

С помощью использованных аллель специфичных праймеров провести полную идентификацию аллелей локуса Glu-D3 не удалось. Поэтому следующим этапом было исследование локуса Glu-D3 с помощью метода электрофореза запасных белков. Всего у локуса Glu-D3 выявлены два аллеля 0 и 1. По классификации Поперели [7] все сорта по аллелю Glu-D3 имеют два аллеля. Так у сортов Панна, Магдалена, Наталка, Одесская 267, Альбатрос одесский присутствует аллель 0 локуса Glu-D3. Аллель 0 положительно влияет на хлебопекарные качества. Сорта Federer, Вг 06-243, Донская полу-

карликовая, Золотоколосая, Скарбница, Трипольская имеет аллель 1 локуса Glu-D3. Таким образом используя данные электрофореза запасных белков и полимеразной цепной реакции возможно разделить все сорта по аллельному составу локуса Glu D3: Панна, Наталка, Одесская 267, Альбатрос одесский имеют аллель **b**; Скарбница, Пивная, Донская полукарликовая аллели **a**, **d** для идентификации этих аллелей требуются дальнейшие исследования; Federer, Трипольская, Золотоколосая, Вг 06-243 — аллель **c**; Магдалена — аллель **e**. В целом было выявлено пять аллелей локуса Glu-D3 в данной модельной популяции. Наиболее часто встречались аллели **c** и **b** (каждый у четырех сортов). После определения аллельного состава исследованной группы пшениц мы решили проверить к каким группам относятся сорта с аллелями **b**, **c**, **e**, **a**, **d**. Сорта первой группы Наталка, Панна имеют аллель **b**, сорт Federer — аллель **c**. Сорта второй группы Одесская 267 и Альбатрос одесский — аллель **b**, Скарбница аллели **a**, **d**. Трипольская — **c**. Сорта третьей группы Магдалена аллель **c**, Донская полукарликовая аллели **a**, **d**. Аллель **b** локуса Glu-D3 присутствует у сортов которые имеют высокие показатели качества.

Особо стоит отметить сорт Federer, который имеет отличные показатели хлебопекарного качества, но имеет аллели высокомолекулярных глютенинов, которые не дают значительного положительного влияния на качество. По локусу Glu-D3 сорт Federer имеет аллель **c** вместе с сортами Трипольская, Золотоколосая, Вг 06-243, который не оказывает положительного влияния на качество. На формирование высоких показателей хлебопекарного качества у сорта Federer влияют другие генетические факторы сильного действия, которые компенсируют недостатки белков клейковины. Поэтому этот сорт необходимо исследовать в дальнейшем для поиска новых генов качества.

Применение аллель специфических ДНК-маркеров и электрофореза запасных белков к локусу низкомолекулярных глютенинов Glu D3, который принимает участие в формировании клейковины и повышает показатель “сила муки”, показало вариабельность этого локуса в сортах с разным уровнем качества. Был определен аллельный состав по локусу Glu-D3 у сортов, распространенных в Украине. В результате проведенного скрининга 13 сортов пшеницы озимой мягкой пшеницы были обнаружены 4 сорта Панна, Наталка, Одесская 267, Альбатрос одесский с аллелем **b** локуса Glu-D3 характерным для сортов с высокими хлебопекарными качествами.

Литература

1. Gupta R.B., Shepherd K.W. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. I. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats // Theoretical and Applied Genetics.— 1990.— 80.— P. 65–74.
2. Pogna N., Gazza L., Corona V., Zanier R., Niglio A., Mei E., Palumbo M., Boggini G. Puroindolines and kernel hardness in wheat species. In.: Wheat quality elucidation.— St.Paul, Minnessota.: AACCC Inc. publ., 2002.— P. 155–169.
3. Pogna N.E., Tusa P., Boggini G. Genetic and biochemical aspects of dough quality in wheat // Adv. Food Sci.— 1996.— 18.— P. 145–151.

4. Roder M.S., Korzun V., Wendehake K. et al. A microsatellite map of wheat // *Genetics*.— 1998.— 149.— P. 2007–2023.

5. Zhang X.Y., You G.X., Wang L.F. An estimation of the minimum number of SSR alleles needed to reveal genetic relationships in wheat varieties: information from 96 random accessions with maximized genetic diversity // *Proc. X. Intern. Wheat Genet. Symposium*.— 2003.— V.2.— P. 545–548.

6. Zhao X., Zhao, X., Xia, Z. Novel DNA variations to characterise low molecular weight glutenin Glu-D3 genes and develop STS markers in common wheat // *Theoretical and Applied Genetics*.— 2007.— 114.— P. 451–460.

7. Попереля Ф.О., Благодарова О.М. Генетика якості зерна перших генотипів надсильної пшениці України // *Цитология и генетика*.— 1998.— С. 11–18.

Резюме

Низкомолекулярные глютенины имеют значительное влияние на проявление определенных признаков хлебопекарского качества. Проанализированы аллели **a, b, c, e, d, g** локуса Glu-D3 20 сортов пшеницы. Показана вариабельность аллелей **a, b, c, e, d** и отсутствие аллеля **g** у всех сортов.

Низкомолекулярні глютеніни мають значний вплив на прояв певних ознак хлібопекарської якості. Проаналізовані алелі **a, b, c, e, d, g** локуса Glu-d3 20 сортів пшениці. Показана варіабельність алелей **a, b, c, e, d** і відсутність алеля **g** у всіх сортів

Low-molecular glutenins have a considerable effect on the display of certain signs of khlebopekarskogo quality. The alleles **a, b, c, e, d, g** of locus Glu-D3 of 20 sorts of wheat have been analysed. Variability of **a, b, c, e, d** as well as the absent of alleles **g** were shown.

САКАЛО В.Д., КУРЧІЙ В.М.

Институт физиологии растений и генетики Национальной Академии наук Украины, Украина, 03022, Киев, ул. Васильковская, 31/17

ОСОБЕННОСТИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЗЕРНОВКИ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ

В настоящее время хорошо известна способность сахаров регулировать в течение всего жизненного цикла растений многие биохимические процессы. Сахара контролируют синтез запасных продуктов, донорно-акцепторные связи, входят в состав макромолекул клеточных структур, мембранных рецепторов, нуклеиновых кислот, выполняют сигнальную функцию, участвуя в регуляции деления, роста и дифференциации клеток [1, 2]. Они активируют экспрессию ряда генов, кодирующих ферменты, связанные с фотосинтезом, синтезом крахмала, самой сахарозы, липидов и белков, с восстановлением и ассимиляцией азота, дыханием [3].

Для понимания механизмов регуляции процессов, определяемых углеводным обменом, необходимы исследования дифференциальной активности