

## Žieminio kviečio (*Triticum aestivum* L.) selekcinų linijų genetinė įvairovė pagal grūdų atsarginių baltymų kompozicijas

Vanda PAPLAUSKIENĖ, Vytautas RUZGAS, Žilvinas LIATUKAS

Lietuvos žemdirbystės institutas

Instituto al. 1, Akademija, Kėdainių r. sav.

El. paštas: vanda@lzi.lt, ruzgas@lzi.lt, liatukas@lzi.lt

### Santrauka

Įvertintos žieminio kviečio (*Triticum aestivum* L.) 2005–2008 m. augintų 333 selekcinų linijų didelės molekulinės masės gliuteninų (DMMG) ir D zonos omega gliadinų elektroforezinės kompozicijos. DMMG elektroforeziniame spektre nustatyta 12 alelių ir jų koduojamų baltymų komponentų arba jų derinių. Dažniausiai pasikartojantys DMMG komponentai: *Glu-A1* genų lokuse – 1 (49,4 %) ir 0 (46,6 %), *Glu-B1* – 7 + 9 (57,5 %) ir 6 + 8 (33,2 %), *Glu-D1* – 5 + 10 (76,4 %). Pagal trijų genų lokusų koduojamus baltymus nustatytos 24 DMMG kompozicijos. Tarp tirtų selekcinų linijų daugiausia (23,5, 21,2 ir 13,1 %) buvo turinčių tokias kompozicijas: 0, 7 + 9, 5 + 10; 1, 7 + 9, 5 + 10 ir 0, 6 + 8, 5 + 10. Selekcinių linijų D zonos omega gliadinų elektroforeziniame spektre nustatyta 13 alelių ir jų koduojamų baltymų komponentų arba jų derinių: *Gli-A1* – 3, *Gli-B1* – 8, *Gli-D1* – 2. Bendroje D zonos omega gliadinų kompozicijoje baltymų komponentų skaičius kito nuo 2 iki 7. Pagal šios baltymų grupės kompozicijas nustatyta kiek mažesnė selekcinių linijų įvairovė – 18 kompozicijų. Dauguma (54,0 %) tirtų selekcinų linijų turėjo *d9*, *d2d4*, *d11d12* D zonos omega gliadinų kompozicijas.

Dalies selekcinių linijų grūdų baltymų kompozicijos buvo polimorfiškos. Kai kuriais metais 11,4–19,1 % linijų turėjo skirtingas DMMG ir 4,3–28,1 % – D zonos omega gliadinų kompozicijas. Vidutiniais duomenimis, 14,8 % selekcinių linijų pagal DMMG kompozicijas yra genetiškai nevienalytės ir susideda iš 2–4 artimų genotipų, turinčių skirtingus vieno ir dviejų genų lokuso koduojamus baltymų komponentus. D zonos omega gliadinų kompozicijos buvo polimorfiškos 11,5 % tirtų linijų. Šių baltymų polimorfiškumas buvo ryškesnis *Gli-A1* ir *Gli-B1* lokusuose. Kadangi skirtingas baltymų kompozicijas turintys grūdai pasižymi nevienodomis savybėmis, galima daryti norimo požymio genotipų atranką.

Reikšminiai žodžiai: *Triticum aestivum* L., didelės molekulinės masės gliuteninai (DMMG), omega gliadinai, baltymų kompozicijos, genetinė įvairovė.

### Įvadas

Kviečiai – labiausiai paplitę duoniniai javai pasaulyje. Europos Sąjungoje kasmet užauginama daugiau kaip 120 mln. t kviečių grūdų. Jie vartojami žmonių maistui, konditerijos pramonėje, nemaža dalis skiriama naminių gyvulių pašarui /Gutierrez-Alamo et al., 2008/. Pastaruoju metu padidėjo susidomėjimas veislėmis nemaistinių kviečių, skirtų specializuoto krakmolo bei bioetanolio gamybai /Liu et al., 2008; Sedlaček et al., 2008/. Selekcinio darbo sėkmė priklauso nuo turimos medžiagos įvairovės, kurią norint atskleisti remiamasi ne tik morfologiniais bei fiziologiniais

požymiais, bet ir biocheminiais-molekuliniais metodais /Zheleva et al., 2007/. Molekulinius metodus galima taikyti įvairiais selekcinio proceso etapais: vertinant pradinę medžiagą, parenkant poras kryžminimams, nustatant hibridiškumą, stebint genomo pokyčius bei vertinant paveldėjimo stiprumą. Javų grūdų baltymų – prolaminų kompozicija yra nekintamas augalų genetinis požymis. Nustatytas glaudus priklausomumas tarp baltymų komponentinės sudėties ir grūdų kokybės rodiklių, derliaus struktūros elementų, augalų atsparumo neigiamiems veiksniams /Liatukas et al., 2008; Witkowski et al., 2008/. Žieminių kviečių veislių identifikavimas bei genotipų, pasižyminčių geros kokybės rodikliais, atranka sėkmingai atliekama pagal baltymų elektroforezinio spektro kompoziciją /Rashed et al., 2007; Tahir, 2008/. Kviečių grūdų baltyminių medžiagų pagrindinę dalį (apie 80 %) sudaro vadinamieji atsarginiai baltymai – gliuteninai ir gliadinai. Šie baltymai formuoja glitimą – elastingą hidratuotų baltymų gelį, pagal kurio kiekį ir kokybę sprendžiama apie miltų kepamąsias savybes. Glaudų koreliacinių didelės molekulinės masės gliuteninų (DMMG) kompozicijos ir kviečių kokybės rodiklių ryšį nustatė ir kiti tyrėjai /Pena et al., 2005; Horvat et al., 2006; Rashed et al., 2007/. Trys skirtingi lokusai, išsidėstę pirmos grupės chromosomų ilguose pečiuose, koduoja DMMG komponentų sintezę /Payne, 1987/. Tokia baltymų kompozicija turi reikšmės ne tik miltų kokybės rodikliams, bet ir kai kuriems derliaus struktūros elementams bei atsparumui neigiamiems veiksniams. Chromosomos 1 A koduojami gliuteninai siejami su grūdų derliumi, varpos grūdų skaičiumi bei svoriu ir atsparumu miltligei /Węgżyn, Waga, 1999/. Nustatytas priklausomumas tarp *Glu-A1 a, c* alelių ir atsparumo šalčiui bei lapų dėmėtligėms /Witkowski et al., 2008/. Įvertinus 24 agromorfologinių požymių ryšį su *Glu-A1* ir *Glu-B1* alelių koduojamais baltymais, nustatyta stipri koreliacija tarp *Glu-B1* alelių ir atsparumo šalčiui bei vidutinio stiprumo tarp *Glu-A1* alelių ir augalų vešlumo rudeninio augimo laikotarpiu bei atsparumo miltligei /Liatukas et al., 2008/. Nustatyta tam tikra sąsaja tarp DMMG bei GIKS (granulei darančios įtaką krakmolo sintetazės) baltymų ir kokybės rodiklių; GIKS genai yra svarbūs amilozės sintezei /Morell et al., 2001/.

Kita atsarginių baltymų grupė yra gliadinai. Gliadinų baltyminiai žymenys plačiai naudojami veislėms identifikuoti, gryniumui patikrinti, kviečių kokybės rodikliams įvertinti /Konarev et al., 2000; Rashed et al., 2007/. Vertinant kviečių miltų savybes, daugiau dėmesio yra skiriama didelės molekulinės masės D zonos omega gliadinams. Lietuvoje registruotų kviečių veislių omega gliadinai sudaro 32,9–47,9 % atsarginių baltymų /Jokubauskienė, Juodeikienė, 2005/. Nustatyta kai kurių šios grupės komponentų įtaka sedimentacijos rodikliui ir glitimo kokybei /Johansson et al., 2003/. Tiriant Vokietijoje užaugintų kviečių grūdų kokybę, nustatytas duonos kepalėlio tūrio priklausomumas nuo omega gliadinų kompozicijos /Bronneke et al., 2000/. Šių baltymų komponentų sintezė kontroliuojama genų, esančių ant chromosomų 1A, 1B ir 1D ilgųjų pečių, jie žymimi lokusais *Gli-A1*, *Gli-B1* ir *Gli-D1*. Kiekviename genų lokuse yra tam tikras šios baltymų grupės komponentų kiekis.

Žieminių kviečių genetinę įvairovę dažnai yra vertinama pagal įvairių baltymų grupių kompozicijas /Liu et al., 2008; Xu et al., 2009/.

Darbo tikslas – ištirti 2005–2008 m. augintų perspektyvių žieminių kviečių selekcinę linijų genetinę įvairovę pagal DMMG ir D zonos omega gliadinų kompozicijas.

## Sąlygos ir metodai

Tiriama selekcinė medžiaga buvo sukurta naudojant Vakarų Europos žieminių kviečių veisles. Selekcinės linijos pasižymi daugeliu agronominiu atžvilgiu pageidautinų požymių. Žieminių kviečių selekcinų linijų DMMG ir D zonos omega gliadinų elektroforezinės kompozicijos tirtos atrinktuose grūduose pagal P. Payne'io bei D. Khelifi ir bendraautorių metodikas /Payne et al., 1980; Khelifi et al., 1992/.

Pirmiausia grūdas sutrupintas tarp popieriaus lakštų ir sutrintas trintuvėje, gauti miltai supilti į 1,5 ml centrifugavimo mėgintuvėlius. *DMMG išskyrimas*. Miltai užpilti 300 μl buferinio tirpalo (5 % SDS – 40 ml, 50 % glicerolio – 20 ml, 1 M tris-HCl, pH 6,8–6,25 ml, 2-merkaptoetanolio – 5 ml, bromfenolio mėlyno arba pironino – 1 mg, H<sub>2</sub>O – iki 100 ml), išmaišyta stikline lazdele ir palikta 2 val. kambario temperatūroje. Kartkartėmis tirpalas papurtytas. Po to mėgintuvėliai 2 min. pastatyti į verdančio vandens vonią. Atvėsinus tirpalą iki kambario temperatūros, centrifuguota 5 min. esant 8–12 tūkst. aps./min. Mikropipete paimta 50–60 μl baltymų ištraukos, kuri ir naudota DMMG elektroforezei.

*D zonos omega gliadinų išskyrimas*. Sutrinti grūdai mėgintuvėliuose užpilti 500 μl 50 % propanolio, gerai išmaišyta ir laikyta +70 °C temperatūros vandens vonioje arba šildymo spintoje 30 min. Periodiškai pamaišyta, po to atvėsinta iki kambario temperatūros ir centrifuguota. Imta 60 μl gautos ištraukos ir sumaišyta su 60 μl specialiai paruošto buferinio tirpalo (9,3 dalies glicerolio, 4 dalys H<sub>2</sub>O ir 1 dalis merkaptoetanolio). Skystį mėgintuvėliuose gerai išmaišius, 2 min. pavirinta vandens vonioje. Gauta baltymų ištrauka naudota gliadinų elektroforeziniam tyrimui. Kiekvienos selekcinės linijos išanalizuota 10, o esant polimorfiškoms baltymų kompozicijoms – 30 ir daugiau grūdų.

Elektroforezė atlikta aparatu „Multigel-Long“ („Sigma“, Vokietija) dvisluoksniame (5 ir 10 %) poliakrilamidiniame gelyje. Atliekant DMMG elektroforezę, kol baltymai pereina per 5 % gelį, palaikyta 6–8 mA srovė, vėliau ji padidinta iki 12–15 mA. Elektroforezės trukmė – 24–28 val. Omega gliadinų elektroforezės metu palaikyta 25–30 mA srovė (stengiantis neviršyti 60 voltų įtampos), trukmė – 6–7 val. Elektroforezės metu palaikyta +8–10 °C temperatūra. Po elektroforezės išimti geliai dažyti 25–45 min., kiuvetės su dažu periodiškai judintos ir stebėta, kad dažas vienodai apsemtų gelį. Po to geliai nuplauti 7 % acto rūgštimi ir vertinta spektro kompozicija. Į kiekvieną gelį buvo įdėti mėginiai (etalonai) su žinomais baltymų spektrais.

## Rezultatai ir jų aptarimas

Vertinant DMMG kompoziciją, naudotasi P. Payne'io su bendraautoriais sudarytu katalogu /Payne et al., 1980/. Šiuo metu yra nustatyta žymiai įvairesnė DMMG sudėtis, negu nurodyta minėtame kataloge. Nustatyti nauji gliuteninų komponentai *Glu-A1* ir *Glu-B1* genų lokusuose /Juhasz et al., 2003; Singh et al., 2007/.

Visais tyrimų metais tirtų selekcinų linijų *Glu-A1* genų lokuse nustatyti trys aleliai: *a*, *b* ir *c* (1 lentelė). Alelių *a* ir *c* koduojami baltymai randami daugelio selekcinų linijų grūduose. Ankstesnių tyrimų duomenimis, lietuviškų veislių žieminių kviečių grūdų *Glu-A1* lokuse dominuojantis (60,9 %) yra alelis *a*, o selekcinų linijų – *c* (52,4 %) /Paplauskienė, Ruzgas, 2002/. Tarp *Glu-A1* alelių retas yra *b* alelis. Tiriant 123 veisles iš Europos šalių, *b* alelis taip pat buvo nustatytas retai /Dotlačil et al., 2002/. Įvertinus kai kurių Lietuvos, Latvijos ir Estijos žieminių kviečių veislių bei selekcinų linijų *Glu-1*

alelių pasikartojimų dažnumą, nustatyta, kad *b* alelis dažnesnis estiškų veislių grūduose /Johanson et al., 2003/. *Glu-A1* aleliai turi nevienareikšmę svarbą kviečių miltų kokybės rodikliams, ir tai yra svarbu atliekant selekciją, siekiant sukurti kuo geresnės kokybės veisles. Įvertinus veislių, kurių genų lokuse yra *a* ar *c* alelių, sedimentacijos rodiklį, nustatyta, kad esant *a* aleliui sedimentacijos rodiklis buvo 70,1, o esant *c* – 60,3 ml /Witkowski et al., 2008/. Neigiamą alelio *c* poveikį miltų kokybei patvirtino ir kiti tyrėjai /Johanson, 1996; Liu et al., 2008/. Chromosomos 1A koduojami gliuteninai labai siejasi su kai kuriais agromorfologiniais požymiais: derlingumu /Węgzyn, Waga, 1999/, ankstyvumu /Dotlačil et al., 2002/, atsparumu šalčiui bei lapų ligoms /Liatukas et al., 2008; Witkowski et al., 2008/.

**1 lentelė.** Žieminių kviečių selekcinųjų linijų DMMG aleliai ir jų pasikartojimo dažnis %  
**Table 1.** Frequencies (%) of HMWG alleles in winter wheat breeding lines

Genų lokusas <i>Gene locus</i>	Alelis <i>Allele</i>	Komponentai <i>Subunits</i>	Metai / <i>Year</i>				Vidurkis <i>Mean</i>
			2005	2006	2007	2008	
<i>Glu-A1</i>	<i>a</i>	1	53,2	42,3	37,5	64,7	49,4
	<i>b</i>	2*	1,7	7,9	5,0	1,5	4,0
	<i>c</i>	0	45,1	49,8	57,5	33,8	46,6
<i>Glu-B1</i>	<i>a</i>	7	2,9	1,7	1,9	1,5	2,0
	<i>b</i>	7 + 8	2,8	1,1	1,0	4,4	2,3
	<i>c</i>	7 + 9	58,5	49,6	60,4	61,8	57,5
	<i>c+k</i>	7 + 22	0,7	0	0,5	0	0,3
	<i>k</i>	22	0,8	0	0,5	0	0,3
	<i>d</i>	6 + 8	32,8	40,5	31,7	27,9	33,2
	<i>i</i>	17 + 18	1,5	7,1	4,9	4,4	4,4
<i>Glu-D1</i>	<i>d</i>	5 + 10	74,5	83,9	75,0	72,1	76,4
	<i>a</i>	2 + 12	25,5	16,1	25,0	27,9	23,6

*Glu-B1* genų lokuse alelių yra daugiau (7), ir dažniausiai aptinkami *c* bei *d* aleliai, – jie sudarė atitinkamai 57,5 ir 33,2 %. Šie aleliai taip pat būdingi ir Šiaurės bei Vidurio Europoje auginamų kviečių veislėms /Tohver, 2007/. Kiti aleliai (*a*, *b*, *k* ir *i*) nustatyti pavienių linijų grūduose. Šie aleliai rečiau aprašomi ir kitų autorių darbuose /Johanson et al., 2003; Tohver, 2007/. Aleliai *b* ir *i* turi aukštesnę kokybės balą, palyginti su *a* ir *d* aleliais /Payne et al., 1980/. Alelio *k* reikšmė miltų kokybės rodikliams nėra pakankamai ištirta.

*Glu-D1* genų lokuse gauti du – *d* ir *a* – aleliai, kontroliuojantys baltymų komponentų 5 + 10 ir 2 + 12 sintezę. Dauguma (76,4 %) tirtų selekcinųjų linijų turėjo *d* alelį, – jis būdingas Baltijos šalių žieminių kviečių veislėms /Johanson et al., 2003/. Teigiamas *d* alelio kontroliuojamų baltymų 5 + 10 komponentų poveikis miltų kokybės rodikliams įrodytas ir kitų autorių /Pena et al., 2005; Liu et al., 2008/.

Pagal trijų genų lokusų koduojamus baltymus nustatytos 24 DMMG kompozicijos; dažniausiai (23,5 ir 21,2 %) tirtų selekcinųjų linijų grūduose rasta *Glu-A1* – 0 arba 1, *Glu-B1* – 7 + 9 ir *Glu-D1* – 5 + 10 (2 lentelė). Kita didesnė grupė selekcinųjų linijų *Glu-A1* ir *Glu-D1* genų lokusuose turėjo tuos pačius alelius bei baltymų kompo-

mentos, o *Glu-B1* 7 + 9 komponentai buvo pakeisti į 6 + 8. Kadangi pastaraisiais metais selekcija buvo atliekama siekiant kuo geresnės miltų kokybės, dauguma (76,4 %) tirtų linijų *Glu-D1* lokuse turėjo *d* alelį ir atitinkamai 5 + 10 komponentų derinį. 1996–2001 m. atliekant tyrimus su žieminių kviečių veislėmis, nustatytas priklausomumas tarp Zeleny sedimentacijos vertės ir DMMG kompozicijos. Labai geras kepamąsias savybes turinčių veislių grupėje vyravo veislės, turinčios 1, 7 + 9, 5 + 10 ir 0, 7 + 9, 5 + 10, o patenkinamų kepamųjų savybių grupėje – veislės su 0, 6 + 8, 2 + 12 DMMG kompozicijomis /Mašauskienė et al., 2002/. Stipri gliuteninų kompozicijos bei kokybės rodiklių sąsaja buvo nustatyta ir kitų tyrėjų /Horvat et al., 2006; Liu et al., 2008/.

**2 lentelė.** Žieminių kviečių DMMG kompozicijos ir jų pasikartojimo dažnis

**Table 2.** The composition of HMWG subunits and their frequency in winter wheat breeding lines

Eil. Nr. No.	Genų lokusas <i>Gene locus</i>						Kompozicijos pasikartojimo dažnis <i>Frequency of composition</i> %				Vidurkis <i>Mean</i>
	<i>Glu-A1</i>		<i>Glu-B1</i>		<i>Glu-D1</i>		2005	2006	2007	2008	
	alelis <i>allele</i>	baltymas <i>subunit</i>	alelis <i>allele</i>	baltymas <i>subunit</i>	alelis <i>allele</i>	baltymas <i>subunit</i>					
1	<i>c</i>	0	<i>c</i>	7 + 9	<i>d</i>	5 + 10	14,1	18,2	31,2	30,9	23,5
2	<i>a</i>	1	<i>c</i>	7 + 9	<i>d</i>	5 + 10	29,6	21,5	15,5	19,1	21,2
3	<i>b</i>	2*	<i>c</i>	7 + 9	<i>d</i>	5 + 10	0	3,4	1	0	1,1
4	<i>c</i>	0	<i>a</i>	7	<i>d</i>	5 + 10	1,4	2,2	1	0	1,2
5	<i>a</i>	1	<i>a</i>	7	<i>d</i>	5 + 10	1,4	0	1,1	0	0,6
6	<i>c</i>	0	<i>d</i>	6 + 8	<i>d</i>	5 + 10	11,3	16,8	11,4	13,2	13,1
7	<i>a</i>	1	<i>d</i>	6 + 8	<i>d</i>	5 + 10	14,1	14,9	10,3	1,5	10,2
8	<i>b</i>	2*	<i>d</i>	6 + 8	<i>d</i>	5 + 10	0	2,2	2,1	0	1,1
9	<i>a</i>	1	<i>b</i>	7 + 8	<i>d</i>	5 + 10	0	0	1	3,0	1
10	<i>c</i>	0	<i>b</i>	7 + 8	<i>d</i>	5 + 10	1,4	0	0	0	0,7
11	<i>b</i>	2*	<i>b</i>	7 + 8	<i>d</i>	5 + 10	0	1,1	0	0	0,6
12	<i>a</i>	1	<i>k</i>	22	<i>d</i>	5 + 10	0,9	0	0,5	0	0,3
13	<i>a</i>	1		7 + 22	<i>d</i>	5 + 10	0,5	0	0	0	0,1
14	<i>a</i>	1	<i>i</i>	17 + 18	<i>d</i>	5 + 10	1,4	3,5	1	4,4	2,5
15	<i>c</i>	0	<i>i</i>	17 + 18	<i>d</i>	5 + 10	0	2,3	1,1	0	0,8
16	<i>c</i>	0	<i>a</i>	7	<i>a</i>	2 + 12	0	0		1,5	0,5
17	<i>c</i>	0	<i>c</i>	7 + 9	<i>a</i>	2 + 12	9,7	5,8	9,4	10,2	8,7
18	<i>a</i>	1	<i>c</i>	7 + 9	<i>a</i>	2 + 12	4,2	1,1	3,1	1,5	2,5
19	<i>b</i>	2*	<i>c</i>	7 + 9	<i>a</i>	2 + 12	1,6	0	2,1	0	0,9
20	<i>c</i>	0	<i>d</i>	6 + 8	<i>a</i>	2 + 12	7,0	4,6	5,1	10,2	6,6
21	<i>a</i>	1	<i>d</i>	6 + 8	<i>a</i>	2 + 12	1,4	1,2	0	3,0	1,4
22	<i>b</i>	2*	<i>d</i>	6 + 8	<i>a</i>	2 + 12	0	1,2	0	1,5	0,7
23	<i>c</i>	0	<i>i</i>	17 + 18	<i>a</i>	2 + 12	0	0	1	0	0,2
24	<i>a</i>	1	<i>i</i>	17 + 18	<i>a</i>	2 + 12	0	0	2,1	0	0,5

Selekcinų linijų D zonos omega gliadinų *Gli-A1* (kaip ir *Glu-A1*) genų lokuse nustatyti trys aleliai, iš kurių dažniau aptinkami *b* ir *d*, – jie sudarė atitinkamai 59,1 ir 30,9 % (3 lentelė).

**3 lentelė.** Žieminių kviečių selekcinų linijų D zonos omega gliadinų aleliai ir jų pasikartojimo dažnis

**Table 3.** Frequencies of D zone omega gliadin alleles in winter wheat breeding lines

Genų lokusas <i>Gene locus</i>	Alelis <i>Allele</i>	Komponentai <i>Subunits</i>	2005	2006	2007	2008	Pasikartojimo dažnis <i>Frequency</i> %
<i>Gli-A1</i>	<i>b</i>	<i>d9</i>	59,2	54,9	62,2	60,3	59,1
	<i>d</i>	<i>d8d9d10</i>	30,9	30,4	25,2	33,8	30,1
	<i>e</i>	<i>0</i>	9,9	14,7	12,6	5,9	10,8
	<i>b</i>	<i>d2d4</i>	76,1	66,3	80,6	85,5	77,1
	<i>c</i>	<i>d4</i>	0,7	0	0	2,9	0,9
<i>Gli-B1</i>	<i>d</i>	<i>d3</i>	7,0	15,7	3,9	2,9	7,4
	<i>e</i>	<i>d5</i>	1,4	1,1	5,8	1,4	2,4
	<i>g</i>	<i>0</i>	9,9	11,2	9,7	2,9	8,4
		<i>d6</i>	0	1,1	0	4,4	1,4
		<i>4,6</i>	4,9	3,4	0	0	2,1
<i>Gli-D1</i>	<i>f</i>	<i>5,6</i>	0	1,1	0	0	0,3
	<i>a</i>	<i>d7</i>	1,5	10,1	9,8	4,3	6,4
	<i>b</i>	<i>d11d12</i>	98,5	89,9	90,2	95,7	93,6

Pastebėtas alelių *b* ir *e* kontroliuojamų baltymų teigiamas poveikis sedimentacijos rodikliui /Johansson, 1996/. *Gli-B1* lokuse – 8 alelių variantai. Dalis jų nėra įtraukta į katalogą /Khelifi et al., 1992/. *Gli-B1* aleliai taip pat turi nevienareikšmį poveikį miltų kokybės rodikliams; pastebėta *g* alelio neigiama įtaka sedimentacijos dydžiui /Johansson, 1996/. Tiriant Baltijos šalių žieminių kviečių veislių D zonos omega gliadinų kompozicijas *Gli-B1* lokuse, buvo nustatyti 6 aleliai /Johansson et al., 2003/, o Portugalijoje auginamų žieminių kviečių veislėse – 8 /Igrejas et al., 1999/. *Gli-D1 c* alelis, nors ir daro teigiamą poveikį kokybės rodikliams, tačiau selekcinėse linijose labai retai aptinkamas ne tik Lietuvos, bet ir kitų šalių tyrėjų /Zeller et al., 2007/. Tirtų selekcinų linijų grūduose *Gli-D1* lokuse nustatyti du aleliai bei jų koduojami atitinkami baltymai – *d7* ir *d11d12*. Dažniausiai nustatomas *b* alelis (93,6 %); jis dažniau randamas atliekant tyrimus ir kitose šalyse /Igrejas et al., 1999; Johansson et al., 2003/.

Trys ketvirtadaliai selekcinų linijų turėjo *Gli-A1* lokuse *b* ir *d*, *Gli-B1* – *b* ir *Gli-D1* – *b* alelius. Šių alelių koduojama baltymų kompozicija būdinga daugumai Baltijos šalių kviečių veislių bei linijų /Johansson et al., 2003/. Tarp Švedijoje sukurtų selekcinų linijų dažniau pasitaikančios baltymų kompozicijos koduojamos *Gli-B1* ir *Gli-D1 b* alelių /Johansson, 1996/. Kitos omega gliadinų kompozicijos buvo būdingos pavienėms selekcinėms linijoms.

**4 lentelė.** Žieminių kviečių D zonos omega gliadinų kompozicijos ir jų pasikartojimo dažnis

**Table 4.** The composition of *D zone omega gliadin* subunits and their frequency in winter wheat breeding lines

Eil. Nr. No.	Genų lokusas <i>Gene locus</i>						Kompozicijos pasikartojimo dažnis <i>Frequency of composition</i> %				Vidurkis <i>Mean</i>
	<i>Gli-A1</i>		<i>Gli-B1</i>		<i>Gli-D1</i>		2005	2006	2007	2008	
	<i>alelis allele</i>	<i>baltymas subunit</i>	<i>alelis allele</i>	<i>baltymas subunit</i>	<i>alelis allele</i>	<i>baltymas subunit</i>					
1	<i>b</i>	<i>d9</i>	<i>b</i>	<i>d2,d4</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	54,8	48,8	54,9	57,6	54,0
2	<i>d</i>	<i>d8,d9d10</i>	<i>b</i>	<i>d2,d4</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	24,6	17,1	19,3	25,8	21,7
3	<i>d</i>	<i>d8,d9d10</i>	<i>b</i>	<i>d4</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	0	0	0	3,0	0,8
4	<i>d</i>	<i>d8,d9d10</i>		<i>d6</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	0	1,2	0	1,5	0,7
5	<i>e</i>	<i>0</i>		<i>d6</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	0	0	0	3,0	0,8
6	<i>d</i>	<i>d8,d9d10</i>	<i>b</i>	<i>d2,d4</i>	<i>a</i>	<i>d7</i>	0	1,2	1,0	1,5	0,9
7	<i>b</i>	<i>d9</i>	<i>b</i>	<i>d2,d4</i>	<i>a</i>	<i>d7</i>	0	0	4,9	0	1,2
8	<i>d</i>	<i>d8,d9d10</i>	<i>d</i>	<i>d3</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	0	3,7	1,0	0	1,2
9	<i>d</i>	<i>d8,d9d10</i>		<i>0</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	0	4,9	4,9	1,5	2,8
10	<i>b</i>	<i>d9</i>	<i>e</i>	<i>d5</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	1,4	0	0	0	0,4
11	<i>b</i>	<i>d9</i>	<i>b</i>	<i>d2,d4</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	1,4	0	0	0	0,3
12	<i>e</i>	<i>0</i>		<i>d5</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	2,8	0	4,9	0	1,9
13	<i>e</i>	<i>0</i>	<i>f</i>	<i>d5,d6</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	0	1,2	0	1,5	0,7
14	<i>b</i>	<i>d9</i>		<i>d4,d6</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	0	1,2	0	0	0,3
15	<i>e</i>	<i>0</i>	<i>d</i>	<i>d3</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	12,3	8,5	1,0	1,5	5,8
16	<i>e</i>	<i>0</i>		<i>0</i>	<i>b</i>	<i>d11,d12</i>	2,7	7,3	5,9	1,5	4,4
17	<i>b</i>	<i>d9</i>	<i>d</i>	<i>d3</i>	<i>a</i>	<i>d7</i>	0	3,6	1,1	1,6	1,6
18	<i>b</i>	<i>d9</i>	<i>e</i>	<i>d5</i>	<i>a</i>	<i>d7</i>	0	1,3	1,1	0	0,5

**5 lentelė.** Žieminių kviečių selekcinų linijų heterogeniškumas pagal baltymų kompozicijas

**Table 5.** The heterogeneity of winter wheat breeding lines for protein composition

Metai <i>Years</i>	DMMG <i>HMWG</i>					D zonos omega gliadinai <i>D zone omega gliadins</i>		
	Heterogenišku mėginių <i>Heterogenic samples</i> %	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	Heterogenišku mėginių <i>Heterogenic samples</i> %	<i>Gli-A1</i>	<i>Gli-B1</i>	<i>Gli-D1</i>
2005	12,7	7,0	7,0	1,4	7,0	5,6	4,2	2,8
2006	19,1	10,1	5,6	5,6	28,1	15,7	18,0	5,6
2007	16,2	1,5	8,6	5,7	6,7	4,8	1,9	1,9
2008	11,4	8,6	5,7	2,9	4,3	4,3	0	0
Vidurkis <i>Average</i>	14,8	6,8	6,7	3,9	11,5	7,6	6,0	2,6

Analizuojant selekcinų linijų baltymų kompozicijas nustatyta, kad kai kurios jų yra polimorfiškos. Kai kuriais metais 11,4–19,1 % linijų turėjo skirtingas DMMG ir 4,3–28,1 % – D zonos omega gliadinų kompozicijas (5 lentelė). Vidutiniais duomenimis, 14,8 % selekcinų linijų pagal DMMG kompozicijas yra genetiškai nevienalytės ir sudarytos iš 2–4 artimų genotipų, turinčių skirtingus vieno ir dviejų genų lokuso koduojamus baltymų komponentus. D zonos omega gliadinų kompozicijų polimorfiškumas buvo ryškesnis *Gli-A1* ir *Gli-B1* lokusuose. Įvertinus 66 Baltijos šalyse auginamas kviečių veisles nustatyta, kad iš jų tik 27 buvo vienalytės pagal DMMG, mažos molekulinės masės gliuteninų, D zonos omega gliadinų bei bendrų gliadinų kompozicijas /Johansson et al., 2003/. Kadangi nevienodas baltymų kompozicijas turintys grūdai pasižymi skirtingomis savybėmis, norimo požymio genotipų atranką galima daryti pagal jų baltymų kompozicijas.

### Išvados

1. Įvertinus žieminių kviečių 333 selekcinų linijų DMMG elektroforezines kompozicijas, buvo nustatyta 12 alelių ir jų koduojamų baltymų komponentų arba jų derinių. Dažniausiai pasikartojantys DMMG komponentai yra *Glu-A1* genų lokuse – 1 (49,4 %) ir 0 (46,6 %), *Glu-B1* – 7 + 9 (57,5 %) ir 6 + 8 (33,2 %), *Glu-D1* – 5 + 10 (76,4 %).

2. Žieminių kviečių selekcinų linijų D zonos omega gliadinų elektroforeziniame spektre nustatyti 13 alelių ir jų koduojamų baltymų komponentų arba jų derinių: *Gli-A1* – 3, *Gli-B1* – 8, *Gli-D* – 2. Dauguma (54,0 %) tirtų selekcinų linijų turėjo *d9*, *d2d4*, *d11d12* D zonos omega gliadinų kompoziciją.

3. Vidutiniais duomenimis, nežymi dalis selekcinų linijų buvo polimorfiškos pagal DMMG ir omega gliadinų kompozicijas (atitinkamai 14,8 ir 11,5 %).

### Padėka

Tyrimą parėmė Lietuvos valstybinis mokslo ir studijų fondas (projekto Nr. 07004, „Kvietpolimer“).

Gauta 2009 08 10

Pasirašyta spaudai 2009 09 03

### LITERATŪRA

1. Bronneke V., Zimmermann G., Killermann B. Effect of high molecular weight glutenins and D-zone gliadins on bread-making quality in German wheat varieties // Cereal Research Communications. – 2000, vol. 28, No. 1–2, p. 187–193

2. Dotlačil L., Gregová E., Hermuth J. et al. Diversity of HMW-*Glu* alleles and evaluation of their effects on some characters in winter wheat landraces and old cultivars // Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. – 2002, vol. 38, p. 109–116

3. Gutierrez-Alamo A., Perez de Ayala P., Verstegen M. W. A. et al. Variability in wheat: factors affecting its nutritional value // World's Poultry Science Journal. – 2008, vol. 64, p. 20–39



4. Horvat, D., Drezner, G., Jurković, Z. The importance of high-molecular-weight glutenin subunits for wheat quality evaluation // *Agriculture: Scientific and Professional Review*. – 2006, vol. 12, p. 53–57
5. Igrejas G., Guedes-Pinto H., Carnide V. et al. The high and low molecular weight glutenin subunits and  $\omega$ -gliadin composition of bread and durum wheats commonly grown in Portugal // *Plant Breeding*. – 1999, vol. 118, p. 297–302
6. Johanson E. Quality evaluation of D zone omega gliadins in wheat // *Plant Breeding*. – 1996, vol. 115, p. 57–62
7. Johanson E., Kuktaite R., Prieto-Linde M. L. et al. Grain storage protein composition in Baltic wheat // *Journal of Genetics and Breeding*. – 2003, vol. 57, p. 137–146
8. Jokubauskiene L., Juodeikiene G. The relationship between protein fractions of wheat gluten and the quality of ring-shaped rolls evaluated by the echolocation method // *Food Technology and Biotechnology*. – 2005, vol. 43, p. 247–253
9. Juhasz A., Larroque O. R., Tamas L. et al. Bankuti 1201-an old Hungarian wheat variety with special storage protein composition // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2003, vol. 107, p. 697–704
10. Khelifi D., Brandlard G., Bourgoin-Greneche M. Diversity of some D zone omega gliadins of bread wheat as revealed by 2 step A-PAGE/SDS-PAGE technique // *Journal of Genetics and Breeding*. – 1992, vol. 46, p. 351–358
11. Konarev A. V., Konarev V. G., Gubareva N. K. et al. Seed proteins as markers in resolving the problems of genetic plant resources, selection and seed production // *Cytology and Genetics*. – 2000, vol. 34, p. 91–104
12. Kuktaite R., Johanson E., Juodeikiene G. Composition and concentration of protein in Lithuanian wheat cultivars: relationships with bread-making quality // *Cereal Research Communications*. – 2000, vol. 28, p. 195–203
13. Liatukas Ž., Ruzgas V., Paplauskienė V. Relationships between HMW-GS *GluA1*, *GluB1* alleles and agronomic traits // *Biologija*. – 2008, vol. 54, p. 12–16
14. Liu L. X., Li W., Chen H. P. et al. Variation for glutenin and waxy alleles and their effect on quality properties in Sichuan wheat landraces // *Journal of Plant Sciences*. – 2008, vol. 3, p. 266–276
15. Mašauskienė A., Paplauskienė V., Cesevičienė J. Evaluation of protein composition and interdiversity of indirect bread-making parameters of Lithuania-grown winter wheat cultivars // *Zemdirbyste-Agriculture*. – 2002, vol. 78, No. 2, p. 42–50
16. Morell M. K., Rahman S., Regina A. et al. Wheat starch biosynthesis // *Euphytica*. – 2001, vol. 119, p. 55–58
17. Payne P. I., Harris P. I., Law C. N. et al. The high-molecular-weight subunits of glutenin: structure, genetics and relationship of bread making quality // *Annales de Technologie Agricole*. – 1980, vol. 29, p. 309–320
18. Payne P. J. Genetics of wheat proteins and the effect of allelic variation on bread wheat quality // *Annual Reviews of Plant Physiology*. – 1987, vol. 38, p. 141–153
19. Paplauskienė V., Ruzgas V. Composition of high molecular weight glutenin subunits in Lithuanian winter wheat // *Zemdirbyste-Agriculture*. – 2002, vol. 78, No. 2, p. 27–34
20. Pena E., Bernardo A., Soler C. Relationship between common wheat (*Triticum aestivum* L.) gluten proteins and dough rheological properties // *Euphytica*. – 2005, vol. 143, p. 169–177
21. Rashed M. A., Abou-Deif M. H., Sallam M. A. A. et al. Identification and prediction of the flour quality of bread wheat by gliadin electrophoresis // *Journal of Applied Sciences Research*. – 2007, vol. 3, p. 1393–1399

22. Sedlaček T., Dvoraček V., Ružek P. et al. Effect of different crop management and locality on starch and bioethanol production in grain of selected winter wheat varieties // Modern variety breeding for present and future needs / eds. J. Prohens, M. L. Badenes. – Valensia, Spain, 2008, p. 716–721
23. Singh A. M., Deveshwar J. J., Ahlawat A. K. et al. Identification of novel variants of high molecular weight glutenin subunits I Indian bread wheat landraces // Cereal Research Communications. – 2007, vol. 35, p. 99–108
24. Tahir M. Characterization and glutenin diversity in tetraploid wheat varieties in Sulaimanyah by wheat storage proteins // African Journal of Biotechnology. – 2008, vol. 7, p. 4031–4036
25. Tohver M. High molecular weight (HMW) glutenin subunit composition of some Nordic and Middle European wheats // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2007, vol. 54, p. 67–81
26. Węgzyn S., Waga J. The connections between glutenin proteins and variation in the agronomic traits I winter wheat strains and cultivars // Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roslin. – 1999, No. 211, p. 55–69
27. Witkowski E., Waga J., Witkowska K. et al. Association between frost tolerance and the alleles of high molecular weight glutenin subunits present in Polish winter wheats // Euphytica. – 2008, vol. 159, p. 377–384
28. Xu L. L., Li W., Wei Y. M. et al. Genetic diversity of HMW glutenin subunits in diploid, tetraploid and hexaploid *Triticum* species // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2009, vol. 56, No. 3, p. 377–391
29. Zeller F. J., Wenzel G., Hsam S. L. K. Glutenin and gliadin allelic variation and their relationship to bread making quality in wheat varieties grown in Germany // Wheat production in stressed environments: proceedings of the 7<sup>th</sup> international wheat conference, 27 November–2 December 2005. – Mar del Plata, Argentina, 2007, p. 471–477
30. Zheleva D, Todorovska E., Christov N. et al. Assessing the genetic variation of Bulgarian bread wheat varieties by biochemical and molecular markers // Biotechnology and Biotechnological Equipment. – 2007, vol. 21, p. 311–321

## **Genetic diversity in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breed lines based on seed storage protein composition**

V. Paplauskienė, V. Ruzgas, Ž. Liatukas  
Lithuanian Institute of Agriculture

### **Summary**

Winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding lines (333) developed during 2005–2008 at the Lithuanian Institute of Agriculture were evaluated by electrophoretic spectrum of high molecular weight glutenins (HMWG) and D zone gliadins. The 12 alleles and proteins coded by them were detected in electrophoretic spectrum of HMWG. The most frequent components of HMWG were *Glu-A1* – 1 (49.4%) and *Glu-A1* – 0 (46.6%), *Glu-B1* – 7 + 9 (57.5%) and *Glu-B1* – 6 + 8 (33.2%), *Glu-D1* – 5 + 10 (76.4%). It was determined that three gene loci coded proteins which composed 24 HMWG compositions. The most frequent compositions (23.5, 21.2 and 13.1%) were 0, 7 + 9, 5 + 10; 1, 7 + 9, 5 + 10 and 0, 6 + 8, 5 + 10. The 13 alleles and their coded protein combinations (*Gli-A1* – 3, *Gli-B1* – 8, *Gli-D1* – 2) were detected in electrophoretic spectrum of D zone gliadins in breeding lines. Protein components varied from 2 to 7 in the total composition of D zone gliadins. The lower variability – 18 compositions were determined among breeding lines by these group proteins. The majority (54.0%) of investigated breeding lines possessed D zone omega gliadins combination *d9*, *d2d4*, *d11d12*.

Some of lines were characterized by heterogenic protein combinations. In some years, 11.4–19.1% of lines were characterized by different HMWG and 4.3–28.1% of lines by different D zone gliadin compositions. During investigation period, an average of 14.8% of lines were genetic heterogenic by HMWG compositions. These lines were composed of 2–4 genetically similar genotypes which possessed 1–2 protein components. D zone omega gliadin compositions were heterogenic in 11.5% of the tested lines. Heterogeneity of these proteins was more characteristic for *Gli-A1* and *Gli-B1* loci. The grains, possessing different protein combinations, in turn possess different quality traits. Therefore, it is possible to select lines and individual plants with desirable traits.

**Key words:** *Triticum aestivum* L., high molecular weight glutenin (HMWG), omega gliadin, protein composition, genetic variation.