

ЗМІНИ ЧАСТОТ АЛЕЛІВ ЛОКУСІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ЗА УМОВ КЛІМАТИЧНИХ ЗМІН

Н.О. КОЗУБ^{1,2}, І.О. СОЗІНОВ¹, В.М. ЧАЙКА³, О.І. СОЗІНОВА^{1,2}, Л.А. ЯНСЕ¹, Я.Б.БЛЮМ²

¹ Інститут захисту рослин НААН України, 03022, Київ, вул. Васильківська, 33, Україна

² ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а, Україна

³ Національний університет біоресурсів і природокористування України, 03041, Київ, вул. Героїв Оборони, 15, Україна

E-mail: natalkozub@gmail.com

Досліджено частоти алелів та популяційну структуру за локусами запасних білків *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, *Gli-A3* у групах сортів пшениці м'якої озимої, створених у різні періоди селекції в різних ґрунтово-кліматичних зонах: в Лісостепу України – Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла (МІП) та Степу України – Селекційно-генетичний інститут (СГІ), разом 275 сортів. Сорти ділили на три групи за часом реєстрації: до 1996 р., з 1996 по 2010 р. включно та після 2010 р. Відмінності за середньорічною температурою в періоди створення цих сортів становили 0,6 та 0,7 °С між 1 і 2 періодом і 0,9 та 1,0 °С між 2 і 3 періодом для зон Лісостепу і Степу, відповідно. У групах озимих сортів пшениці МІП і СГІ, створених після 2010 р., в основному, зберігаються характерні набори переважаючих алелів локусів запасних білків. Водночас спостерігається чітка пов'язаність змін частот певних алелів досліджених локусів у групах сортів зі змінами температури в зоні, де відбувається відбір генотипів в процесі селекції (майбутніх сортів). Найбільш яскраві зміни частот алелів маркерних локусів виявлено при вивченні сортів, що створюються в Степовій зоні України: для сортів СГІ такі монотонні зміни частот стосувались 10 алелів за 4 локусами. З великою ймовірністю це пов'язано з тим, що саме у цій зоні температури досягли більшого абсолютного значення, і в процесі селекції формуються та відбираються нові коадаптивні асоціації генів. Можна прогнозувати зростання внеску вихідного матеріалу з регіонів з вищою температурою в селекції озимих сортів Степу.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., сорти, гліадини, високомолекулярні субодиниці глютенінів, популяційна структура, глобальне потепління

Вступ. Пшениця м'яка *Triticum aestivum* L. ($2n = 6x = 42$, AABBDD) є важливим джерелом білку для населення багатьох країн світу [1, 2]. Зерно пшениці містить біля 10–15 % білку від сухої маси [2]. Основними запасними

білками зерна пшениці є гліадини і глютеніни, які становлять біля 80 % від загального білку зерна [3, 4]. Гліадини – мономерні спирто-розчинні білки, тоді як глютеніни – великі агрегати субодиниць, зв'язаних дисульфідними зв'язками. Гліадини *T. aestivum* кодуються шістьма основними локусами на коротких плечах хромосом першої (*Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*), і шостої (*Gli-A2*, *Gli-B2* і *Gli-D2*) гомеологічних груп [5]. Ці локуси містять кластери генів, а контрольовані ними білки успадковуються як єдиний блок [3]. Основні гліадинові локуси пшениці характеризуються високим рівнем поліморфізму, що виражається у різноманітності електрофоретичних спектрів за кількістю та рухомістю гліадинових компонентів при електрофорезі в кислому середовищі. За останніми даними у генофонді пшениці м'якої ідентифіковано більше 180 алелів за цими шістьма локусами [6]. Крім основних локусів, на коротких плечах хромосом першої гомеологічної групи ідентифіковано мінорні локуси гліадинів, що кодують до двох компонентів [7]. Мінорний локус *Gli-A5* знаходиться дистально від *Gli-A1* на відстані біля 2 сМ, локус *Gli-A6* локалізовано дистально від *Gli-A1* на відстані біля 2–5 сМ [8]. Локус *Gli-B5*, що кодує два омега-гліадини, локалізовано на відстані біля 1,4 сМ дистально від локусу *Gli-B1* [9]. Через тісне зчеплення відповідних основних і мінорних локусів різноманітність за цими мінорними локусами враховується при ідентифікації алелів локусів *Gli-A1* і *Gli-B1* [6]. Мінорні локуси *Gli-A3* та *Gli-B3* (*Glu-B2*), прокартовано на відстані біля 20 сМ проксимально від *Gli-A1* і *Gli-B1*, відповідно [8, 10, 11].

3 локусами *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* тісно зчеплені локуси, які кодують більшість низькомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3* [5]. За даними Metakovsky et al. [12], де-

© Н.О. КОЗУБ, І.О. СОЗІНОВ, В.М. ЧАЙКА,
О.І. СОЗІНОВА, Л.А. ЯНСЕ, Я.Б.БЛЮМ, 2020

які низькомолекулярні субодиниці глютенінів кодуються також *Gli-2* та власне *Gli-1* локусами. На довгих плечах хромосом першої гомеологічної групи розміщені локуси високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, які містять по два гени, що кодують х-та у-субодиниці, причому в локусі *Glu-A1* експресується лише х-субодиниця або не експресується жодної [5]. Високомолекулярні субодиниці глютенінів також є високополіморфною білковою системою, за винятком *Glu-A1*, де у сортів пшениці м'якої зустрічаються лише три алелі.

На основі численних досліджень алелів локусів запасних білків показано, що групи сортів, створених у різних селекційних центрах або країнах, характеризуються певним набором алелів, який є результатом добору в специфічних ґрунтово-кліматичних умовах певного регіону [6, 13].

Відповідно, зміни кліматичних умов можуть відображатись і в змінах частот деяких алелів локусів запасних білків груп сортів у результаті зміни адаптивного значення генів, зчеплених з локусами запасних білків. Для того, щоб дослідити, чи спостерігається така закономірність, нами було досліджено частоти алелів та популяційну структуру за локусами запасних білків у групах сортів пшениці м'якої озимої, створених в різні періоди селекції в українських селекційних центрах з більш ніж сторічною історією.

Матеріали і методи. Матеріалом дослідження слугували сорти пшениці м'якої озимої (табл. S1, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>) селекції Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла Національної академії аграрних наук України (НААН) (далі МІП) (108 сортів) та Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннезнавства і сортовивчення (СГІ) (м. Одеса) (167 сортів). Сорти МІП та СГІ ділили на три групи за часом реєстрації: до 1996 р., з 1996 по 2010 р. включно та після 2010 р. Групи за періодами реєстрації, відповідно, містили 24, 63 і 21 сортів МІП та 56, 59 і 52 сорти СГІ. Зерно сортів було люб'язно надано Національним центром генетичних ресурсів рослин України (Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН), селекціонерами МІП, СГІ.

Електрофорез гліадинів у кислому середовищі проводили за методикою [14] у 10%-ному

поліакриламідному гелі. Високомолекулярні субодиниці глютенінів аналізували електрофорезом у 10%-ному розділяючому гелі в присутності додецилсульфату натрію за методикою Laemmli [15]. Для кожного сорту аналізували 10–20 окремих зернівок. Генотипи більшої частини сортів, створених до 2010 р., за локусами *Gli-1* та *Glu-1* було визначено раніше [14, 16], проте у деяких з них було уточнено генотипи.

Алелі локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* ідентифікували за каталогом Пейна і Лоуренса [17], з врахуванням пізніших поправок для алелів локусу *Glu-B1*. Згідно з Wrigley et al., Baracskai et al. [18, 19], позначення алеля *Glu-B1u* використовується для алеля, який раніше позначали *Glu-B1b* за каталогом [17]. Алель *Glu-B1u* (7*+8) кодує х-субодиницю 7* з рухомістю як у х-субодиниці, кодованої алелем *Glu-B1c* сорту Безоста 1 (7*+9) [20], яка трохи більша за рухомість субодиниці 7 (як у алелів *a*, *al*, та власне *b* сорту Chinese Spring). Цю поправку враховано і для генотипів за локусом *Glu-B1* сортів МІП і СГІ, визначених раніше як *Glu-B1b* [14, 16].

Алелі локусів гліадинів *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* позначали на основі каталогів Метаковського [6, 21] з доповненнями [14]. Як алель *Gli-A1w* було позначено присутність 1A1/1RS транслокації типу Amigo, маркером якої є експресія характерного блоку секалінів [14], раніше позначеного GLD 1A17 [22]. Генотипи за локусом *Gli-A1* позначали з врахуванням алелів за тісно зчепленими локусами *Gli-A5*, *Gli-A6*, як рекомендовано Метаковським [6]. На відміну від каталогу блоків гліадинів [6], відрізняли алель, що експресує гама-гліадин з рухомістю на кислих електрофореграмах трохи меншою за рухомість гама-гліадин, кодованого алелем *Gli-A1f* (як у сорту Миронівська 808), який було позначено *Gli-A1x* в публікації 2009 р. [14] (блок GLD 1A9 за [22]). Слід відзначити, що в пізнішій статті Metakovsky et al. (2018) [6] алель *Gli-A1x* стосується іншого гліадинового блоку (комбінація гліадинових компонентів, кодованих алелями *Gli-A1a* і *Gli-A6b*). Згідно з [6], *Gli-A6b* кодує характерний омега-гліадин, який присутній у сортів з алелем *Gli-A1f* як у сорту Миронівська 808. У каталозі [7] цей же алель позначено як *Gli-A6c*. Комбінацію алелів

Gli-A1x(9) та *Gli-A6b* нами позначено як алель *Gli-A1ag*. Для комбінації алелів *Gli-A1b* та *Gli-A6b* залишено позначення *Gli-A1y* [14]. Алель локусу *Gli-B1* сорту Миронівська сторічна, позначений 'x' в статті 2009 р. [14], відрізняється від алеля, позначеного 'x' в [6], який кодує інший блок гліадинів. Рідкісні алелі, що відсутні у відомих каталогах алелів локусу *Gli-B1*, позначені з *: *b1** як у біотипу сорту Одеська 267 [16], який, ймовірно, має мутантне походження і відрізняється від алеля *Gli-B1b* більшою рухомістю кодованого ним омега-гліадин з більшою рухомістю, та *bLast** як у сорту Ластівка.

Алель, що контролює блок GLD 1D10 [22], позначили як *Gli-D1x*. Алелі локусу *Gli-D1* ідентифікували без врахування кодованого цим локусом мінорного гама-гліадин з високою рухомістю, тобто алелі *a* і *f* у даному дослідженні не розрізняли і умовно позначили як *f*. Відсутність синтезу гліадинів (нуль-алель), контрольованих локусом *Gli-D1*, позначили *null*.

Частоти алелів локусів *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, *Gli-A3* у групах сортів визначали з врахуванням гетерогенності сортів (частоту кожного з двох алелів за локусом у гетерогенного сорту приймали за 0,5). Для аналізу відмінностей за частотами алелів між різними групами сортів використовували критерій χ^2 або точний критерій Фішера, якщо очікувана кількість принаймні одного з класів дорівнює або менша 5 (<http://vassarstats.net/tab2x2.html>). Популяційну структуру загальної групи сортів (275), окремо для сортів МІП (108), СГІ (167) досліджували за допомогою програми STRUCTURE, в якій використовується Байєсовський алгоритм [23]. Для аналізу використовували дані про генотипи за сімома локусами запасних білків, записані з використанням бінарної системи 0, 1 через гетерогенність значної частини сортів [16], з врахуванням сумарної кількості алелів 46 (як 46 локусів). Для визначення оптимального числа підгруп *K* проводили по 20 незалежних аналізів для кожного *K* (від 1 до 10) з періодом напрацювання 10 000 і 100 000 МСМС (Markov Chain Monte Carlo) повторень з моделлю без домішок (no admixture) з незалежними частотами алелів. Оптимальну кількість кластерів визначали за алгоритмом Evanno et al. [24] за максимальною величиною ΔK з використанням вебсайту і програми STRUC-

TURE HARVESTER [25]. Аналіз розподілу сортів та груп сортів методом головних координат проводили з використанням програми GenA1Ex 6.5 [26, 27].

На основі частот алелів досліджуваних локусів визначали попарні евклідові відстані між групами сортів і будували дендрограму методом об'єднання найближчих сусідів (NJ) за допомогою програми MEGA [28].

Кліматичні дані. Аналізували дані показників по державних метеостанціях, найближчих до селекційної установи (Черкаси для МІП та Одеса для СГІ): місячна і річна сума опадів, середня місячна і річна температура повітря в різні періоди селекції. З врахуванням тривалості періоду від добору селекційної лінії до створення (реєстрації) сорту не менше 5 років, для сортів першого періоду, створених до 1996 р., аналізували наявні кліматичні дані з 1961 по 1991 р. включно, для другої групи (сортів, створених в 1996–2010 р.) – дані за 1992–2005 р., для третьої групи сортів (створених після 2010 р.) – дані за 2006–2015 р. Визначали середнє значення показника і стандартну похибку. Достовірність відмінностей між показниками за різні періоди визначали за допомогою критерія Уелча. Також визначали середні значення річної температури в Одесі для періодів 1960–1990 рр., 1991–1997 рр., 1998–2005 рр., 2006–2009 рр., 2010–2015 рр. Кореляцію між середніми кліматичними показниками періоду і присутністю певного алеля (у випадку поділу на 3 періоди) або частотою алеля (у випадку 5 періодів) рахували окремо для груп сортів МІП і СГІ за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмена ρ [29].

Результати. Для дослідження використано групи сортів пшениці м'якої озимої селекції двох провідних селекційних центрів України – МІП, розміщений в зоні Лісостепу України, та селекційний центр зони Степу – СГІ. Середні для трьох періодів створення сортів показники місячної і річної кількості опадів та середньомісячної і середньорічної температури за даними для найближче розташованих державних метеостанцій наведено в табл. S2–S5 (<http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>). Не спостерігалось істотної різниці між досліджуваними періодами за середніми значеннями сумарної кількості опадів за рік, також у переважній

більшості випадків не було істотних відмінностей між відповідними місячними кількостями опадів у різні періоди (табл. S2, S3, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>). Водночас досліджувані періоди статистично істотно відрізнялись за середньорічною температурою повітря (табл. S4, S5). У другий період у зоні Лісостепу (Черкаси – найближча метеостанція до МІП) середньорічна температура збільшилась на 0,6 °С, а в третій період – на 0,9 °С, порівняно з другим. У зоні Степу (Одеса) середньорічна температура повітря збільшилась на 0,7 та 1 °С, відповідно.

У загальних групах сортів МІП і СГІ сумарно за три періоди селекції виявлено приблизно однакові кількості алелів, однак групи сортів відрізняються за набором і частотами алелів запасних білків (табл. S6, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>). Частка спільних алелів за ок-ремим локусом у двох груп становить від 50 % (*Gli-A1*, *Gli-B1*, *Glu-B1*) до 100 % (*Glu-A1*). Сорти СГІ та МІП мають низку переважаючих (частота яких більша за 10 %) спільних алелів: *Gli-A1b*, *Gli-A1o*, *Gli-B1b*, *Gli-D1b*, *Gli-D1g*, *Glu-A1a*, *Glu-A1b*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d*, *Gli-A3a*, *Gli-A3b*. Серед приватних алелів (алелів, що зустрічаються лише в одній групі) більшість є рідкісними, за винятком алелів *Gli-A1g* і *Gli-A1x*. Характерною особливістю групи сортів МІП є висока частка сортів з пшенично-житніми транслокаціями: 1BL.1RS транслокації від жита (*Secale cereale* L.) Petkus (маркер – *Gli-B1l* [21]) та 1AL.1RS як у сорту Amigo (маркер – *Gli-A1w* [14]). У сортів МІП присутні рідкісні алелі рекомбінантного походження, які відрізняються присутністю омега-гліадинового компонента, кодованого алелем тісно зчепленого мінорного локусу *Gli-A6b* (як у аеля *f* відомого сорту Миронівська 808): раніше описаний алель у [14] та новий алель *ag* (у сортів Господиня миронівська, Естет). Групи сортів МІП і СГІ істотно відрізняються за частотами алелів *b*, *f* і *g* локусу *Gli-A1*, *b* і *l* локусу *Gli-B1*, *b*, *g*, і *j* локусу *Gli-D1*, *Glu-A1b*, алелів *al*, *u*, *c* і *d* локусу *Glu-B1*, алелів *a* і *d* локусу *Glu-D1*.

При дослідженні популяційної структури загальної колекції 275 сортів пшениці з використанням Байєсовського алгоритму програми STRUCTURE [23] та алгоритму Evanno et al. [24] визначено, що оптимальною кількістю субпопуляцій є $K = 2$ (рис. 1).

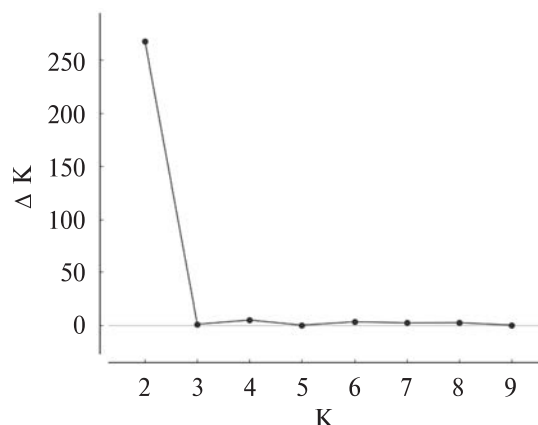


Рис. 1. Оцінка числа груп для об'єднаної вибірки 275 сортів МІП і СГІ, що базується на результатах аналізу за допомогою STRUCTURE та алгоритму [24]

Виявилось, що сорти МІП у більшій мірі відносяться до першого кластера, а сорти СГІ – переважно до другого кластера (табл. 1). Популяційну структуру 275 сортів графічно показано на рис. 2. Таким чином, на основі мультилокусного аналізу за досліджуваними маркерами більшість сортів відносяться до двох різних кластерів, які відповідають двом селекційним центрам.

Аналіз методом головних координат також показав подібний розподіл сортів на дві групи (рис. S1, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>), де на графіку зліва переважно розміщуються сорти СГІ 2 і 3 періоду, а справа – МІП. Група сортів СГІ першого періоду є більш гетерогенною і значна частина сортів цієї групи також кластеризується в правій частині графіка разом із сортами МІП. Отже за результатами

Таблиця 1. Частка участі груп сортів МІП (М) і СГІ (S) в кожному з двох кластерів, визначена за допомогою програми STRUCTURE

| Група сортів, кількість | Кластер 1 | Кластер 2 |
|-------------------------|--------------|--------------|
| M1 (24) | 0,723 | 0,277 |
| M2 (63) | 0,888 | 0,112 |
| M3 (21) | 0,823 | 0,177 |
| S1 (56) | 0,306 | 0,694 |
| S2 (59) | 0,081 | 0,919 |
| S3 (52) | 0,083 | 0,917 |

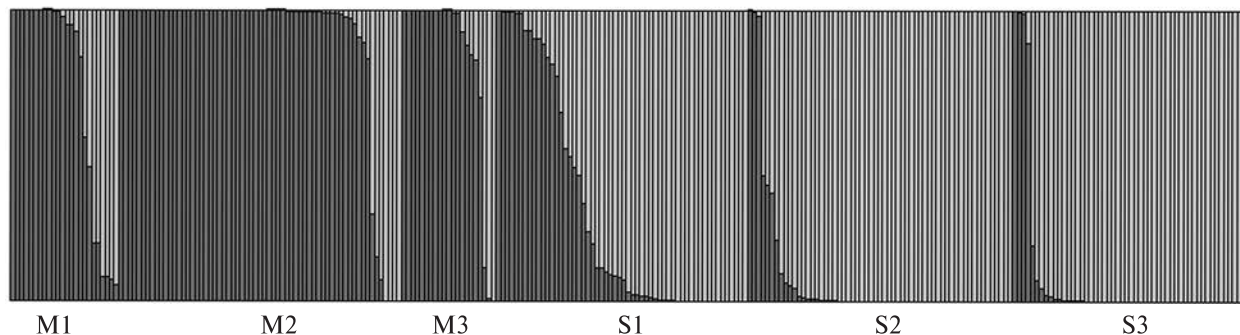


Рис. 2. Популяційна структура 275 сортів пшениці м'якої озимої селекції сортів МІП (М) і СГІ (S), зареєстрованих до 1996 р. (1), з 1996 по 2010 р. (2), після 2010 р. (3), за локусами запасних білків, оцінена за Байєсовським алгоритмом програмою STRUCTURE (K = 2)

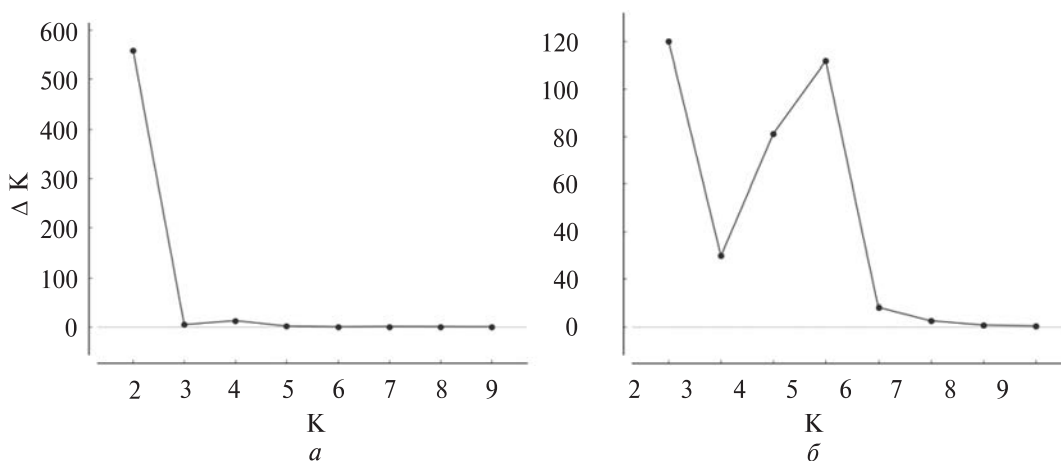


Рис. 3. Оцінка числа груп сортів МІП (а) і СГІ (б), що базується на результатах аналізу за допомогою програми STRUCTURE та алгоритму [24]

мультилокусного аналізу у більшості випадків можливо диференціювати сорти МІП і СГІ на основі генотипів за сімома локусами запасних білків. З використанням вищенаведених підходів було проаналізовано популяційну

структуру окремо для сортів МІП та СГІ. Для обох груп сортів, проаналізованих окремо, оптимальною виявилась кількість кластерів $K = 2$, хоча у випадку сортів СГІ трохи менший пік ΔK спостерігався і при $K = 5$.

Таблиця 2. Частка участі груп сортів МІП в кожному з двох кластерів, визначена за допомогою програми STRUCTURE

| Група сортів (кількість) | Кластер 1 | Кластер 2 |
|--------------------------|-----------|--------------|
| M1 (24) | 0,010 | 0,990 |
| M2 (63) | 0,259 | 0,741 |
| M3 (21) | 0,140 | 0,860 |

Всі три групи сортів МІП переважно відносяться до одного кластера з часткою приналежності 0,741 і більше (табл. 2). Найбільш гомогенною за генетичною структурою за локусами запасних білків є популяція сортів першого періоду (рис. 4).

При використанні методу головних координат сорти різних періодів розподіляються на графіку приблизно рівномірно (рис. S2, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>). Однак цим методом загальна вибірка сортів МІП розділяєть-

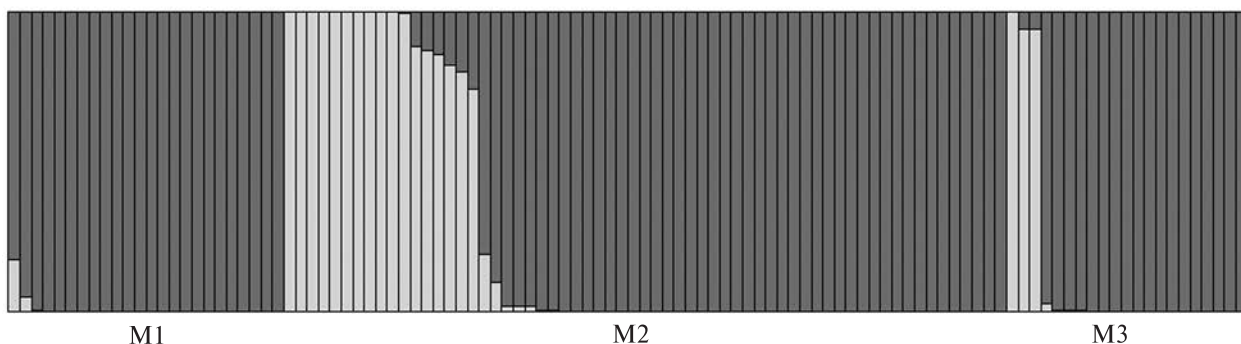


Рис. 4. Популяційна структура 108 сортів пшениці м'якої озимої селекції МІП (сорта, зареєстровані до 1996 р. (M1), з 1996 по 2010 р. (M2), після 2010 р. (M3)) за локусами запасних білків, оцінена за Байєсовським алгоритмом програмою STRUCTURE (K = 2)

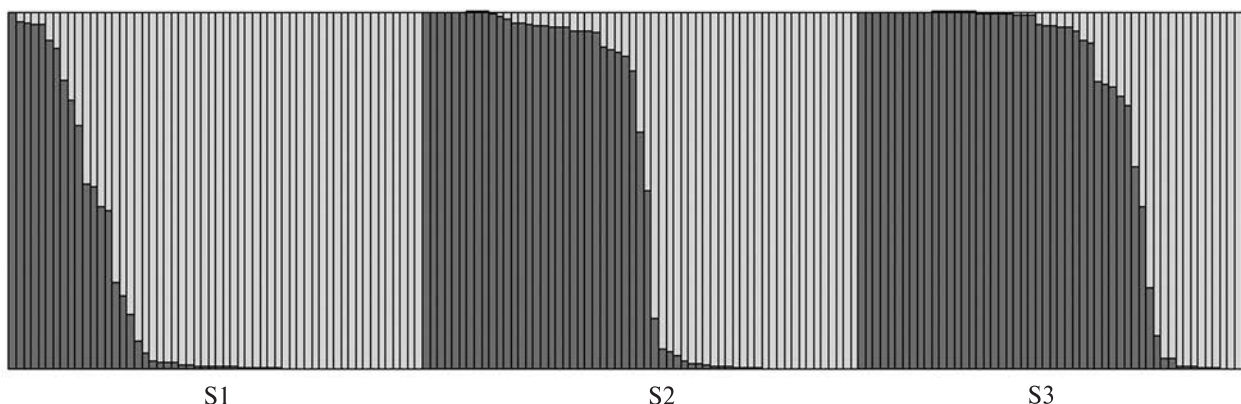


Рис. 5. Популяційна структура 167 сортів пшениці м'якої озимої селекції СГІ (сорта, зареєстровані до 1996 р. (S1), з 1996 по 2010 р. (S2), після 2010 р. (S3)) за локусами запасних білків, оцінена за Байєсовським алгоритмом програмою STRUCTURE (K = 2)

ся на дві групи, залежно від присутності пшенично-житньої транслокації 1BL.1RS (рис. S3, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>).

У сортів СГІ спостерігається інша ситуація. Якщо в перший період селекції сорти переважно відносились до кластера 2, в другий період були рівномірно розподілені між обома кластерами, то в третій період відбувся зсув в сторону першого кластера (табл. 3, рис. 5).

При K = 5 сорти СГІ першого періоду селекції переважно відносяться до кластеру 4, а сорти, створені після 2010 р., мають найбільшу частку в кластері 1 (табл. S7, рис. S4, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>).

Отже, як у випадку K = 2, так і K = 5 (табл. 3, S7, рис. 5, S4, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>), можна бачити, що відбулась зміна попу-

Таблиця 3. Частка участі груп сортів СГІ в кожному з двох кластерів, визначена за допомогою програми STRUCTURE

| Група сортів (кількість) | Кластер 1 | Кластер 2 |
|--------------------------|--------------|--------------|
| S1 (56) | 0,210 | 0,790 |
| S2 (59) | 0,498 | 0,502 |
| S3 (52) | 0,709 | 0,291 |

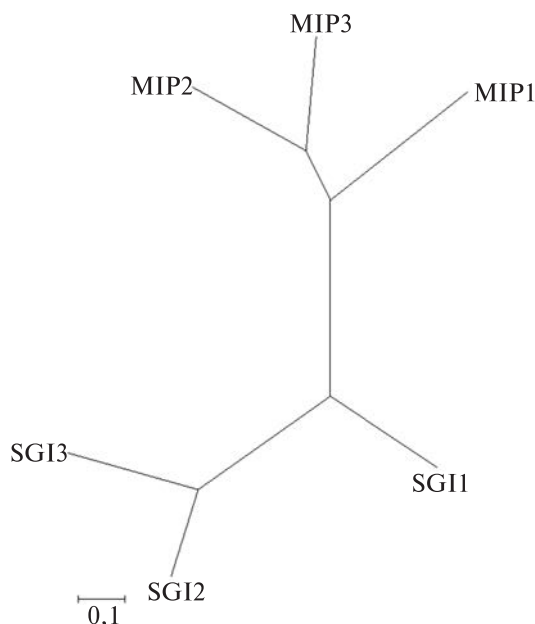


Рис. 6. Дендрограма генетичної подібності між групами сортів пшениці м'якої озимої селекції МІП (MIP) і СГІ (SGI) на основі генотипів за локусами запасних білків, побудована з використання методу NJ: 1 – сорти, створені до 1996 р.; 2 – 1996–2010 рр.; 3 – після 2010 р.

ляційної структури сортів СГІ у різні періоди селекції. Якщо в перший період переважає частка в одному кластері, то в третій період переважає частка в іншому кластері, при близьких частках у цих кластерах в другий період. На відміну від сортів СГІ популяція сортів МІП зберігає подібну структуру у всі періоди селекції.

Таблиця 4. Попарні генетичні (евклідові) відстані між групами сортів селекції МІП (М) і (СГІ) (сорти, зареєстровані до 1996 р. (1), з 1996 по 2010 р. (2), після 2010 р. (3)) за частотами 46 алелів 7 локусів запасних білків

| Група сортів | M1 | M2 | M3 | S1 | S2 | S3 |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| M1 | 0,000 | | | | | |
| M2 | 0,757 | 0,000 | | | | |
| M3 | 0,774 | 0,520 | 0,000 | | | |
| S1 | 1,059 | 1,105 | 1,019 | 0,000 | | |
| S2 | 1,364 | 1,395 | 1,298 | 0,734 | 0,000 | |
| S3 | 1,358 | 1,444 | 1,373 | 0,985 | 0,476 | 0,000 |

ції (рис. 4, табл. 2). На рис. S5 (<http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>) показано кластеризацію сортів СГІ за допомогою методу головних координат. Більшість сортів СГІ першого періоду знаходяться в правій частині графіка, тоді як сорти третього періоду переважно – у лівій, а сорти другого періоду розподілені рівномірно.

Результати кластерного аналізу за евклідовими відстанями між шістьма групами сортів СГІ і МІП на основі частот досліджених локусів запасних білків (табл. 4). показують чіткий поділ цих груп сортів на два кластери, відповідно з походженням (рис. 6).

Сорти СГІ першого періоду селекції були генетично ближчими до сортів МІП, ніж сорти СГІ 2 і 3 періодів. Дендрограма вказує на зростання відмінностей між групами сортів МІП і СГІ після 1996 р.

Було проаналізовано зміни частот окремих алелів у три періоди селекції для кожного селекційного центру, які призвели до такої диференціації груп сортів. Частоти алелів наведено в табл. 5. У різні періоди селекції відбулись статистично істотні зміни частот певних алелів локусів запасних білків (табл. S8, <http://cytgen.com/articles/544030s.pdf>).

Основними змінами в частотах алелів сортів МІП з часом є зменшення частоти алеля *Gli-A1f*, який раніше вважався характерним для сортів МІП [16], одночасно збільшилась частота алеля *Gli-A1x*. За локусом *Gli-D1* збільшилась частота алеля *b* та дещо зменшилась частота алеля *g* (табл. S8).

У сортів СГІ відбулось зниження частоти алеля *Gli-A1o* та значне наростання частоти алеля *Gli-A1g*. На відміну від сортів МІП, за локусом *Gli-D1* у сортів СГІ зменшилась частота алеля *b* та зросла частота алеля *g*. Особливістю сортів СГІ є зростання частоти алеля *Glu-B1a1* в 2 і 3 періоди селекції від 2 до 12 і 24 %. Алель *Glu-B1a1* пов'язують з високою хлібопекарною якістю [18, 20, 30]. У сортів СГІ відбулась істотна зміна частот алелів за мінорним локусом *Gli-A3*: значне зростання частоти алеля *Gli-A3a* від 30 % серед сортів першого періоду селекції, до 58 % серед сортів другого періоду і до 74 % серед сортів останнього періоду селекції. Одночасно частота алеля *Gli-A3b* зменшилась від 70 до 40 % і потім до 21 % (табл. 5, S8).

Таблиця 5. Частоти алелів локусів запасних білків у групах сортів СГІ (S) і МПІ (M), створених у різні періоди часу, та значення коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (ρ), в дужках – кількості сортів

| Локус, алель | S1(56) | S2(59) | S3(52) | ρ | M1(24) | M2(63) | M3(21) | ρ |
|---------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|----------|
| <i>Gli-A1</i> | | | | | | | | |
| <i>b</i> | 0,634 | 0,669 | 0,500 | | 0,146 | 0,198 | 0,286 | |
| <i>c</i> | 0,080 | 0,017 | 0,000 | –0,21 ** | 0,125 | 0,048 | 0,000 | |
| <i>f</i> | 0,009 | 0,008 | 0,010 | | 0,396 | 0,214 | 0,095 | –0,24 ** |
| <i>g</i> | 0,027 | 0,178 | 0,394 | 0,44 *** | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| <i>m</i> | 0,063 | 0,000 | 0,010 | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| <i>o</i> | 0,188 | 0,127 | 0,038 | –0,19 * | 0,208 | 0,230 | 0,214 | |
| <i>w</i> | 0,000 | 0,000 | 0,048 | 0,17 * | 0,000 | 0,159 | 0,048 | |
| <i>x</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,042 | 0,103 | 0,310 | 0,22 * |
| <i>ag</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,000 | 0,016 | 0,048 | |
| <i>y</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,083 | 0,032 | 0,000 | |
| <i>Gli-B1</i> | | | | | | | | |
| <i>b</i> | 0,875 | 0,737 | 0,788 | | 0,583 | 0,413 | 0,429 | |
| <i>c</i> | 0,045 | 0,051 | 0,000 | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| <i>d</i> | 0,045 | 0,076 | 0,048 | | 0,063 | 0,032 | 0,048 | |
| <i>e</i> | 0,018 | 0,119 | 0,087 | | 0,000 | 0,016 | 0,000 | |
| <i>f</i> | 0,000 | 0,008 | 0,000 | | 0,042 | 0,048 | 0,071 | |
| <i>h</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,000 | 0,079 | 0,000 | |
| <i>l</i> | 0,018 | 0,000 | 0,038 | | 0,271 | 0,405 | 0,452 | |
| <i>x</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,042 | 0,008 | 0,000 | |
| <i>b*</i> | 0,000 | 0,008 | 0,000 | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| <i>bLast*</i> | 0,000 | 0,000 | 0,038 | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| <i>Gli-D1</i> | | | | | | | | |
| <i>b</i> | 0,357 | 0,144 | 0,087 | –0,31 ** | 0,458 | 0,762 | 0,667 | 0,19 * |
| <i>f</i> | 0,107 | 0,025 | 0,067 | | 0,188 | 0,063 | 0,048 | |
| <i>g</i> | 0,277 | 0,466 | 0,529 | 0,18 * | 0,354 | 0,127 | 0,262 | |
| <i>i</i> | 0,000 | 0,017 | 0,000 | | 0,000 | 0,016 | 0,000 | |
| <i>j</i> | 0,214 | 0,305 | 0,250 | | 0,000 | 0,016 | 0,000 | |
| <i>l</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,000 | 0,016 | 0,000 | |
| <i>x</i> | 0,045 | 0,042 | 0,058 | | 0,000 | 0,000 | 0,024 | |
| <i>null</i> | 0,000 | 0,000 | 0,010 | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| <i>Glu-A1</i> | | | | | | | | |
| <i>a</i> | 0,429 | 0,297 | 0,298 | | 0,542 | 0,421 | 0,333 | |
| <i>b</i> | 0,536 | 0,695 | 0,683 | | 0,375 | 0,452 | 0,667 | |
| <i>c</i> | 0,036 | 0,008 | 0,019 | | 0,083 | 0,127 | 0,000 | |
| <i>Glu-B1</i> | | | | | | | | |
| <i>a</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,042 | 0,048 | 0,000 | |
| <i>al</i> | 0,018 | 0,119 | 0,240 | 0,28 *** | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| <i>u</i> | 0,411 | 0,593 | 0,462 | | 0,000 | 0,103 | 0,143 | |
| <i>c</i> | 0,563 | 0,280 | 0,298 | –0,21 ** | 0,958 | 0,667 | 0,810 | |
| <i>d</i> | 0,009 | 0,008 | 0,000 | | 0,000 | 0,175 | 0,048 | |
| <i>i</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,000 | 0,008 | 0,000 | |
| <i>Glu-D1</i> | | | | | | | | |
| <i>a</i> | 0,018 | 0,017 | 0,048 | | 0,021 | 0,183 | 0,143 | |
| <i>d</i> | 0,982 | 0,983 | 0,952 | | 0,979 | 0,794 | 0,857 | |
| <i>e</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,000 | 0,024 | 0,000 | |

| Локус, алель | S1(56) | S2(59) | S3(52) | ρ | M1(24) | M2(63) | M3(21) | ρ |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------|
| <i>Gli-A3</i> | | | | | | | | |
| <i>a</i> | 0,300 | 0,576 | 0,740 | 0,32 *** | 0,476 | 0,277 | 0,300 | |
| <i>b</i> | 0,700 | 0,398 | 0,212 | -0,43 *** | 0,452 | 0,438 | 0,550 | |
| <i>c</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,048 | 0,054 | 0,100 | |
| <i>d</i> | 0,000 | 0,025 | 0,000 | | 0,024 | 0,036 | 0,000 | |
| <i>e</i> | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | 0,000 | 0,018 | 0,000 | |
| <i>nnn</i> | 0,000 | 0,000 | 0,048 | | 0,000 | 0,179 | 0,050 | |

Примітка. *P < 0,05; ** P < 0,01; ***P < 0,001.

Періоди створення сортів статистично істотно відрізнялись за середньорічною температурою повітря (табл. S4, S5). Виявлено істотні значення коефіцієнта рангової кореляції Спірмена між присутністю певних алелів запасних білків у сортів та середнім значенням середньорічної температури повітря для сортів МІП і СГІ (табл. 5). Для сортів МІП показано статистично достовірну позитивну кореляцію підвищення температури і присутності алелів *Gli-A1x*, *Gli-D1b* та негативну кореляцію з *Gli-A1f*. Для сортів СГІ найбільш істотною була позитивна кореляція середньорічної температури повітря та присутності алеля *Gli-A1g*, також статистично достовірними були позитивні кореляції з присутністю алелів *Gli-A3a*, *Glu-B1a1*, *Gli-D1g*, *Gli-A1w*. Для сортів СГІ істотними були негативні кореляції з присутністю алелів *Gli-A3b*, *Gli-D1b*, *Glu-B1c*, *Gli-A1c*, *Gli-A1o*. Істотні кореляції між частотами алелів *Gli-A1g*, *Gli-A3a*, *Gli-A3b*, *Glu-B1a1* і середньорічною температурою періоду були одержані і при поділі сортів СГІ на 5 періодів створення (табл. S9).

Обговорення. Локуси запасних білків (гліадинів та високомолекулярних субодиниць глютенінів), завдяки їх високому поліморфізму, були першими генетичними маркерами, що використовувались для дослідження різноманітності світових колекцій пшениці м'якої та її родичів [наприклад, 3, 13, 22, 31–37]. Відомо, що групи сортів, створені в певних країнах або навіть селекційних установах, характеризуються специфічним набором переважаючих алелів локусів запасних білків [3, 6, 13]. Набір алелів маркерних локусів та їх частоти серед групи сортів певного періоду селекції пшениці традиційно визначається різноманітністю вихід-

ного матеріалу для схрещень та адаптивним значенням ділянок, які вони маркерують, при відборі кращого селекційного матеріалу для створення сорту за основною ознакою добору в селекції – урожайністю. В загальному, зміни частот алелів у групах сортів пов'язують зі змінами в технології вирощування та умов навколишнього середовища. У випадку алелів запасних білків, ще одним селективним фактором є рівень якості зерна пшениці, що в першу чергу стосується високомолекулярних субодиниць глютенінів [5, 18].

У даній роботі проаналізовано зміни частот локусів запасних білків та популяційної структури за цими локусами у сортів двох українських селекційних центрів з різними ґрунтово-кліматичними умовами – зони Правобережного Лісостепу з більш м'яким кліматом (МІП) та зони Степу (СГІ), з більш ніж сторічною історією селекції. Для дослідження сорти розподілено на три групи: перша охоплює найдовший період – від часу створення перших озимих сортів, наявних у нашій колекції, до 1996 р. зі зсувом у сторону більш пізніх сортів, другий період охоплює 15 років (з 1996 р. до 2010 р.) і третій – менш, ніж 10 років (сорта, зареєстровані після 2011 р.). Ці групи сортів мають набори алелів, що перекриваються. Серед переважаючих спільних алелів сортів МІП і СГІ – всі алелі, характерні для сорту Безоста 1 (*Gli-A1b*, *Gli-B1b*, *Gli-D1b*, *Glu-A1b*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d*, *Gli-A3b*) – сорту-лідера в селекції українських сортів пшениці [13]. Ці алелі зустрічаються з частотою більше 10 % у сортів МІП і СГІ у всі три періоди селекції (табл. 5). Єдиний виняток – група сортів СГІ, створених після 2010 р., де частота алеля *Gli-D1b*

знизилась до 0,087. Водночас групи сортів відрізняються за частотами більшості спільних алелів (кількісні відмінності) та мають алелі, унікальні лише для певного селекційного центру (якісні відмінності). Таким чином, групи сортів МІП і СГІ, створені в різних агроєкологічних зонах з різними ґрунтово-кліматичними умовами, 1) мають алелі, характерні лише для певної групи та 2) істотно відрізняються за частотою зустрічання спільних алелів, що підтверджує закономірності, виявлені у попередніх дослідженнях при аналізі груп сортів різного походження [3, 13, 16, 38, 39]. Більшість переважаючих алелів у групах сортів МІП і СГІ зберігається в різні періоди селекції. Однак, зустрічались алелі, частота яких зростала, і вони з рідкісних стали переважаючими: *Gli-A1g*, *Glu-B1a1* в групах сортів СГІ, *Gli-A1x* в МІП. Деякі алелі з часом втратили свій переважаючий статус і їхня частота стала нижчою 10 % після 2010 р.: *Gli-A1o*, *Gli-D1b*, в СГІ, *Gli-A1f* в МІП.

Відмінності за аельним складом досліджених локусів групи сортів, створених після 2010 р. від групи сортів попереднього періоду селекції є більшою мірою кількісними, ніж якісними. Серед нових алелів у сортів СГІ після 2010 р. можна відмітити появу сортів з пшенично-житньою 1AL.1RS транслокацією (алель *Gli-A1w*), та новий алель локусу *Gli-B1* у сортів Ластівка і Журавка, який, очевидно, є результатом інтрогресії у відповідності з родоводом цього сорту: (<http://wheatpedigree.net/sort/show/96618>) (табл. 5). У сортів МІП в останній період селекції вперше з'явився алель *Gli-D1x* (блок GLD 1D10), який раніше виявляли лише серед Одеських сортів [16, 22]. У той же час, у сортів СГІ і МІП виявлено монотонні зміни частот деяких алелів локусів запасних білків на протязі трьох періодів селекції. Більші зміни як за популяційною структурою, так і за кількістю достовірних змін частот окремих алелів з часом виявлено для сортів зони Степу ніж для сортів Лісостепу, де популяційна структура залишалась подібною у всі три періоди (рис. 4, табл. 2). Для сортів СГІ такі монотонні зміни частот стосувались 10 алелів за 4 локусами (табл. 5), для сортів МІП істотними були часові зміни частот 3 алелів за 2 локусами.

Такі часові зміни частот алелів були виявлені раніше при дослідженні груп сортів з ви-

користанням інших маркерів. При дослідженні французьких сортів пшениці м'якої Roussel et al. [40] виявили зміни з часом частот алелів локусу *Xgwm642* (у лендрас, груп сортів, створених у 1960–1969 (1989 р.) і у 1990–2000 рр.): спостерігалось зниження частоти алеля 189 з часом і підвищення частоти алеля 203. Зміни з часом частот алелів деяких мікросателітних локусів і DArT маркерів спостерігались і при дослідженні вибірок європейських сортів пшениці м'якої (переважно озимих сортів Німеччини, Швеції, Данії), створених у різні періоди: до 1940, 1940–1960 рр., 1960–1980 рр., 1980–2000 рр. і 2000–2009 рр. [41]. Так, частота алеля 148 локусу *GWM344* поступово зростала з часом, а частота алеля 152 за цим локусом зменшувалась. Подібні монотонні зміни спостерігались і за локусом *WMS261*, де частота алеля 164 зростала, а алеля – 174 поступово зменшувалась, а також за частотами алеля 1 DArT маркерів *wPt-743218* і *wPt-7946*. Причинами змін автори вказують зчеплення цих маркерних локусів з генами стійкості до хвороб та іншими агрономічно важливими генами (наприклад, зчепленням *WMS261* з геном карликовості *Rht8*) [41].

Аналіз сортів СГІ з використанням програми STRUCTURE на основі генотипів за локусами запасних білків при $K = 2$ та $K = 5$ чітко показав зміну популяційної структури з часом: групи сортів 1 і 3 періоду відрізнялись за домінуючим кластером (рис. 5, табл. 3, S7). Часові зміни прослідковувались і за популяційною структурою гексаплоїдних і тетраплоїдних пшениць при аналізі сортів різних періодів створення та їх попередників у більшому масштабі. Зміни в популяційній структурі сортів твердої пшениці переважно італійської селекції на основі Баєсовської кластеризації при $K = 2$ були виявлені для груп, створених у різні періоди (до 1973, в 1974–1989 рр., після 1990 р.): якщо у групі сортів, створених до 1973 р., частка участі в одному з кластерів при аналізі 26 SSR локусів становила 80 %, то в наступний період вона зменшилась до 60 %, а для групи сортів, створених після 1990 р., складала лише 30 %, і кореляція між роком створення і часткою участі в першому кластері була істотною (біля 0,40) [42]. Подібну зміну популяційної структури з часом зафіксовано в цій роботі і при викорис-

танні DAГТ маркерів. Дослідження світового генофонду м'якої пшениці з використанням чіпів на основі одонуклеотидних поліморфізмів дозволило прослідкувати еволюцію в часі генетичної різноманітності на основі аналізу частки основних гаплотипів серед ландрас, традиційних сортів (сортів, зареєстрованих до 1960 р.) і сучасних сортів, зареєстрованих після 1960 р. у різних регіонах [43]. Зокрема, при аналізі зразків пшениці східної Європи (серед яких проаналізовано майже 100 українських зразків) було показано домінування гаплотипної групи III серед ландрас і традиційних сортів цього регіону (більше 60 %) та її заміну на гаплотипну групу I у сучасних сортів (60 %), тоді як група I була відсутня у ландрас, та її частка становила лише 5 % у традиційних сортів. Подібний зсув спостерігався і серед груп сортів інших регіонів Європи, зокрема у північноєвропейських сортів серед сучасних сортів домінантною стала група X, яка складала незначну частку серед ландрас і традиційних сортів. Такі зміни автори пояснюють особливостями селекційних програм та, відповідно, залученням вихідного матеріалу для селекції.

Оптимальними для дослідження генетичної структури сортів є множинні маркери, що охоплюють весь геном, такі як DAГТ, SSR, SNP. Однак, у багатьох дослідженнях з класифікації сортів на основі таких маркерів виявлено, що можуть бути окремі маркери, на основі поліморфізму яких можна одержати подібний розподіл сортів на групи. Так, дослідження сортів і ліній Північного Китаю з використанням 1674 поліморфних DAГТ маркерів дозволило розподілити генотипи аналізом головних координат на дві групи, які чітко відповідали поділу на дві групи за присутністю і відсутністю транслокації 1BL.1RS [44]. Присутність транслокації 1BL.1RS також виявилась головним фактором розподілу ліній WAMI (wheat association mapping initiative) з CIMMYT на основі 347 SNP [45]. У нашому дослідженні сорти МІП також розділяються аналізом головних координат на дві групи – з 1BL.1RS і без неї (рис. S3). Аналогічно, з використанням 30485 інформативних DAГТ і SNP маркерів, сорти Південного Заходу Китаю розподілялись аналізом головних координат на дві групи, що

відповідали присутності транслокації 6VS/6AL, що несе гени стійкості до хвороб *Yr26* and *Pm21* *Dasyphyrum villosum*, та її відсутності [46]. При дослідженні колекції Європейських сортів (переважно сорти Німеччини, Данії, Англії, Швеції, Угорщини) за DAГТ маркерами з використанням Баєсовської кластеризації сорти поділились на дві групи, одна з яких включала більшість угорських сортів, а друга – сорти Західної і Північної Європи [47]. Ці групи виділялись також методом головних компонент на основі 695 поліморфних DAГТ. Виявилось, що аналогічний розподіл досягається і при аналізі лише одного молекулярного маркера *Xgwm261* гена *Rht8* [47]. Дослідження диких і культурних тетраплоїдних пшениць показало чітку пов'язаність частот алелів *a* і *b* гена *TdHMA3-B1*, що визначає вміст кадмію в зерні (кодує транспортер металів), з доместикаційним статусом і географічним походженням: якщо частота функціонального алеля *a*, що визначає низький вміст кадмію в зерні, була 100 % у групі зразків дикої еммеровської пшениці *T. dicoccoides*, 86,9 % у групі доместикованої еммеровської пшениці *T. dicoccum*, у ландрас твердої пшениці – від 68 до 84 %, в залежності від походження, то в групі сучасних сортів твердої пшениці його частота становила лише 32 % [48].

Хоча відтинки часу, за яким відбувалось групування сортів пшениці м'якої озимої у нашому дослідженні зменшуються від 1 до 3 групи, відмінності за середньорічною температурою в періоди створення цих сортів (на стадії відбору кращих генотипів – за 5 років до реєстрації сорту) зростають: від 0,6 та 0,7 °C між 1 і 2 періодом до 0,9 та 1,0 °C між 2 і 3 періодом для зон Лісостепу і Степу, відповідно (табл. S4, S5). У той же час, кількість сумарних опадів у ці періоди практично не змінилась (табл. S2, S3). Аналіз змін клімату в загальному по Україні показав підвищення середньорічної температури в Україні через глобальне потепління (0,6 ± 0,2 °C/100 років) та незначне підвищення сумарної річної кількості опадів (5–7 % за 100 років) [49]. Середнє значення температури для сортів першого періоду, відповідає середньому значенню за період 1961–1990 рр., який використовується для представ-

лення змін температури як аномалії (відхилення) від середнього значення за 1961–1990 рр. (<https://crudata.uea.ac.uk/cru/data/temperature>) [50]. Згідно з таким підходом, аномалія температури становить 0,7 °C у другий період селекції і аж 1,7 °C у третій період у зоні відбору генотипів СГІ та 0,6 і 1,5 °C, відповідно, у МІП.

З високою ймовірністю можна припустити, що алелі, частота яких у групах сортів СГІ і МІП істотно підвищується в останні 20 років, зчеплені з адаптивно важливими ділянками, зокрема, пов'язаними з реакцією на підвищену температуру. На короткому плечі хромосом 1A і 1B на ділянках, що перекриваються з розміщенням гліадинових локусів, прокартовано QTL ознак, пов'язаних з посухостійкістю: вміст хлорофілу, водний індекс, зниження температури листового покриву та ін. [51]. Xu et al. [52] локалізували в дистальній частині коротких пліч хромосом 1 гомеологічної групи QTL урожайності (урожай зерна, число колосків в колосі ті ін.). У роботі El-Feki et al. [53] біля *Glu-B3*, тісно зчепленого з *Gli-B1*, прокартовано QTL таких ознак як довжина листка, дні до виколювання, тривалість періоду наливу зерна, маса 200 зерен. У цій же роботі локус *Glu-B1* виявився маркером QTL ширини листка, а локуси *Glu-A1* і *Glu-D1* – QTL довжини колоса. Слід додати, що QTL локуси, що відповідають за концентрацію водорозчинних вуглеводів у стеблі (ознаки, пов'язані з ефективністю використання води), прокартовані на хромосомах 1 гомеологічної групи, причому на 1D поруч з локусом *Glu-D1* [54]. Судячи з положення на карті молекулярних маркерів, поблизу гліадинових локусів хромосом 1A, 1B, 1D знаходяться QTL низки ознак розвитку кореневої системи [55], які є визначальними для адаптації пшениці до посухи.

Одним з алелів, частота якого істотно зросла серед сортів Степу останнього десятиліття є алель *Gli-A1g* (табл 5). Серед перших українських сортів з цим алелем – сорт Одеська червоноколоса, створений з участю мексиканського ярого сорту Lerma Rojo 64. За повідомленням Поперелі і Благодарової [30], вони ідентифікували цей алель у майже половини колекційного матеріалу з Мексики. Цей алель є переважаючим серед сучасних сортів Австралії [6],

в основі яких лежить мексиканська гермплазма [56]. Якщо до 1996 р частота алеля *Gli-A1g* серед сортів СГІ була незначною, то потім частка його зросла до 18 % у сортів 1996–2010 рр. та аж до майже 40 % серед сортів, зареєстрованих після 2010 р. (табл. 5). Вірогідно, з підвищенням температури зросла роль генетичного матеріалу від мексиканських пшениць, і алель *Gli-A1g* може бути зчепленим з локусами, пов'язаними з реакцією на підвищену температуру. Можна прогнозувати зростання внеску вихідного матеріалу з регіонів з вищою температурою в селекції озимих сортів Степу. Щодо сортів Лісостепу, середньорічна температура наближається до температур першого періоду зони Степу, тому можна припустити, що набір та частоти алелів локусів запасних білків будуть змінюватись ближче до структури сортів Степу першого періоду з відхиленнями залежно від вимог до якості. Адаптивні зміни в частотах і складі алелів SSR локусів та часі цвітіння та SNP/indel поліморфізмів генів цієї ознаки у зв'язку з глобальним потеплінням продемонстровано і для диких видів – еммеровської пшениці *T. dicoccoides* і дикого ячменю *Hordeum spontaneum* при аналізі зразків з 10 популяцій Ізраїлю, зібраних у 1980 і 2008 рр. [57, 58].

Висновки. У групах озимих сортів пшениці МІП і СГІ, створених після 2010 р., в основному, зберігаються характерні набори переважаючих алелів локусів запасних білків, описані раніше. Водночас спостерігається чітка пов'язаність змін частот певних алелів досліджених локусів у групах сортів зі змінами температурного режиму в зоні, де відбувається відбір генотипів в процесі селекції (майбутніх сортів). Найбільш яскраві зміни частот алелів маркерних локусів виявлено при вивченні сортів, що створюються в Степовій зоні України. З великою ймовірністю це пов'язано з тим, що саме у цій зоні температури досягли більшого абсолютного значення, і в процесі селекції формуються та відбираються нові коадаптивні асоціації генів.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей і тварин в якості об'єктів досліджень.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючих установ в державному, комерційному чи некомерційному секторах.

CHANGES IN ALLELE FREQUENCIES AT STORAGE PROTEIN LOCI OF WINTER COMMON WHEAT UNDER CLIMATE CHANGE

N.O. Kozub, I.O. Sozinov, V.M. Chaika, O.I. Sozinova, L.A. Janse, Ya.B. Blume

Institute of Plant Protection, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 33, Ukraine
 Institute of Food Biotechnology and Genomics, National Academy of Sciences of Ukraine, 04123, Kyiv, Osypovskogo str., 2a, Ukraine
 National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 03041, Kyiv, Heroyiv Oborony st., 15, Ukraine
 E-mail: natakozub@gmail.com

Allele frequencies at the storage protein loci *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, and *Gli-A3*, as well as the population structure, were studied in groups of winter common wheat cultivars developed in different periods of time in two soil and climate zones: the Forest-Steppe of Ukraine (at the Myronivka Remeslo Institute of Wheat (MIW)) and the Steppe of Ukraine (at the Plant Breeding and Genetics Institute (PBGI)), a total of 275 cultivars. The cultivars were grouped based on registration time: before 1996 (period 1), in 1996–2010 (period 2), and after 2010 (period 3). Differences in mean annual temperature in the periods of development of these cultivars amounted 0,6–0,7 °C between periods 1 and 2, and as high as 0,9 and 1,0 °C between periods 2 and 3 for the Forest-Steppe and Steppe zones, respectively. In the groups of winter wheat varieties of both MIW and PBGI developed after 2010, specific sets of predominant alleles were basically retained. At the same time, there were clear correlations between changes in frequencies of certain alleles and annual temperature changes in the locations where selection of genotypes (future cultivars) during breeding took place. The most prominent changes in allele frequencies were revealed for the cultivars developed in the Steppe of Ukraine: for the PBGI cultivars such temporal changes were detected for 10 alleles at 4 loci. Most probably this is due to the fact that in the Steppe zone the annual temperature has reached the high absolute value, and new coadaptive gene associations are being formed and selected during breeding. The increased contribution of wheat germplasm derived from regions with the higher

temperatures to winter common wheat breeding in the Steppe zone might be expected.

ИЗМЕНЕНИЯ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ

Н.А. Козуб, И.А. Созинов, В.Н. Чайка, О.И. Созинова, Л.А. Янсе, Я.Б. Блюм

Исследованы частоты аллелей и популяционная структура по локусам запасных белков *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1*, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, *Gli-A3* в группах сортов озимой мягкой пшеницы, созданных в разные периоды селекции в разных почвенно-климатических зонах: в Лесостепи Украины – Мироновский институт пшеницы им. В.М. Ремесла (МИП) и Степи Украины – Селекционно-генетический институт (СГИ), всего 275 сортов. Сорты разделяли на три группы по времени регистрации: до 1996 г., с 1996 по 2010 гг. включительно и после 2010 г. Отличия по среднегодовой температуре в периоды создания этих сортов составляли 0,6 и 0,7 °C между 1 и 2 периодом и 0,9 и 1,0 °C между 2 и 3 периодом для зон Лесостепи и Степи, соответственно. В группах озимых сортов пшеницы МИП и СГИ, созданных после 2010 г., в основном, сохраняются характерные наборы преобладающих аллелей локусов запасных белков. В то же время наблюдается четкая сопряженность изменений частот определенных аллелей с изменениями температуры в зоне, где происходит отбор генотипов (будущих сортов) в процессе селекции. Наиболее яркие изменения частот аллелей выявлены при изучении сортов, созданных в зоне Степи Украины. Для сортов СГИ такие монотонные изменения частот касались 10 аллелей по 4 локусам. С большой вероятностью это сопряжено с тем, что именно в этой зоне температура достигла большего абсолютного значения, и в процессе селекции формируются и отбираются новые коадаптивные ассоциации генов. Можно прогнозировать увеличение вклада исходного материала с регионов с более высокой температурой в селекции озимых сортов Степи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Grigg, D., The pattern of world protein consumption, *Geoforum*, 1995, vol. 26, no. 1, pp. 1–17. [https://doi.org/10.1016/0016-7185\(94\)00020-8](https://doi.org/10.1016/0016-7185(94)00020-8)
2. Shewry, P.R., Hey, S.J., The contribution of wheat to human diet and health, *Food and Energy Security*, 2015, vol. 4, no 3, pp. 178–202. doi: 10.1002/fes3.64
3. Sozinov, A.A., *Protein Polymorphism and Its Importance for Genetics and Breeding*, Moscow: Nauka, 1985.

4. Vereijken, J.M., Klostermann, V.L.C., Beckers, F.H.R., Spekking, W.T.J., and Graveland, A., Intercultivar variation in the proportions of wheat protein fractions and relation to mixing behaviour, *J. Cereal. Sci.*, 2000, vol. 32, no. 2, pp. 159–67. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2000.0333>.
5. Payne, P.I., Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality, *Annu. Rev. Plant Physiol*, 1987, vol. 38, pp. 141–53.
6. Metakovsky, E., Melnik, V., Rodriguez-Quijano, M., Upelniek, V., and Carrillo, J.M., A catalog of gliadin alleles: Polymorphism of 20th-century common wheat germplasm, *The Crop J.*, 2018, vol. 6, no. 6, pp. 628–41. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.02.003>.
7. McIntosh, R.A., *Catalogue of Gene Symbols*, Gene Catalogue, 2013. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jspMacGene>.
8. Metakovsky, E.V., Chernakov, V.M., Upelniek, V.P., Redaelli, R., Dardevet, M., Branlard, G., and Pogna, N.E., Recombination mapping of ω -gliadin-coding loci on chromosome 1A of common wheat: A revision, *J. Genet. Breed.*, 1996, vol. 50, pp. 277–86.
9. Pogna, N.E., Metakovsky, E.V., Redaelli, R., Raineri, F., and Dachkevitch, T., Recombination mapping of *Gli-5*, a new gliadin-coding locus on chromosome 1A and 1B in common wheat, *Theor. Appl. Genet.*, 1993, vol. 87, pp. 113–21. <https://doi.org/10.1007/BF00223754>.
10. Jackson, E., Holt, L., and Payne, P., *Glu-B2*, a storage protein locus controlling the D group of LMW glutenin subunits in bread wheat (*Triticum aestivum*), *Genetical Research*, 1985, vol. 46, no. 1, pp. 11–7. doi:10.1017/S0016672300022412.
11. Sobko, T.A., Identification of a locus controlling synthesis of alcohol-soluble proteins of winter wheat endosperm, *Visnyk Silskohospodarskoi Nauki*, 1984, no. 7, pp. 78–80 (in Ukrainian).
12. Metakovsky, E.V., Branlard, G., Chernakov, V.M., Upelniek, V.P., Redaelli, R., and Pogna, N.E., Recombination mapping of some chromosome 1A-, 1B-, 1D- and 6B-controlled gliadins and low-molecular-weight glutenin subunits in common wheat, *Theor. Appl. Genet.*, 1997, vol. 94, no. 6–7, pp. 788–95. <https://doi.org/10.1007/s001220050479>.
13. Sozinov, A., Sozinov, I., Kozub, N., and Sobko, T., Stable gene associations in breeding and evolution of grasses, *Evolutionary Theory and Processes: Modern Perspectives. Papers in Honor of Eviatar Nevo*. Wasser, S.P. (ed), Kluwer Academic Publishers, 1999, pp. 97–113. doi: https://doi.org/10.1007/978-94-011-4830-6_7.
14. Kozub, N.A., Sozinov, I.A., Sobko, T.A., Kolyuchii, V.T., Kuptsov, S.V., and Sozinov, A.A., Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine, *Cytol. Genet.*, 2009, vol. 43, no. 1, pp. 55–62. <https://doi.org/10.3103/S0095452709010101>.
15. Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 1970, vol. 227, no. 5259, pp. 680–5.
16. Kozub, N.A., Sozinov, I.A., Karelov, A.V., Blume, Ya.B., and Sozinov, A.A., Diversity of Ukrainian winter common wheat varieties with respect to storage protein loci and molecular markers for disease resistance genes, *Cytol. Genet.*, 2017, vol. 51, no. 2, pp. 117–29. doi: 10.3103/S0095452717020050.
17. Payne, P.I., Lawrence, G., Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat, *Cer. Res. Commun.*, 1983, vol. 11, pp. 29–34.
18. Wrigley, C.W., Asenstorfer, R., Batey, I.L., Cornish, G.B., Day, L., Mares, D., and Mrva, K., The biochemical and molecular basis of wheat quality. Chapter 21. In: Carver, B. F. (Ed.), *Wheat: Science and Trade*, Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2009, pp. 495–520.
19. Baracska, I., Balázs, G., Liu, L., Ma, W., Oszvald, M., Newberry, M., Tömösközi, S., Láng, L., Bedő, Z., and Bekes, F., A retrospective analysis of HMW and LMW glutenin alleles of cultivars bred in Martonvásár, Hungary, *Cer. Res. Commun.*, 2011, vol. 39, pp. 225–36. doi: 10.1556/CRC.39.2011.2.6.
20. Marchylo, B.A., Lukow, O.M., and Kruger, J.E., Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats, *J. Cereal. Sci.*, 1992, vol. 15, pp. 29–37. doi: 10.1016/s0733-5210(09)80054-4.
21. Metakovsky, E.V., Gliadin allele identification in common wheat. II Catalogue of gliadin alleles in common wheat, *J. Genet. Breed.*, 1991, vol. 45, pp. 325–44.
22. Sobko, T.A., Poperelya, F.A. The frequency of alleles of gliadin-coding loci in different cultivars of winter common wheat, *Visnyk Silskohospodarskoi Nauki*, 1986, no. 5, pp. 84–7. (in Ukrainian).
23. Pritchard, J.R., Stephens, M., and Donnelly, P., Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 2000, vol. 155, no. 2, pp. 945–59.
24. Evanno, G., Regnaut, S., and Goudet, J., Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study, *Mol. Ecol.*, 2005, vol. 14, no. 8, pp. 2611–20. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.
25. Earl, D.A., vonHoldt, B.M., STRUCTURE HARVEST: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method, *Conser. Genet. Res.*, 2012, vol. 4, no. 2, pp. 359–61. doi: 10.1007/s12686-011-9548-7.

26. Peakall, R., Smouse, P.E., GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, *Mol. Ecol. Not.*, 2006, vol. 6, pp. 288–95. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>.
27. Peakall, R., Smouse, P.E., GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update, *Bioinform.*, 2012, vol. 28, pp. 2537–9. doi: [10.1093/bioinformatics/bts460](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460).
28. Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms, *Mol. Biol. Evol.*, 2018, vol. 35, pp. 1547–9.
29. Clark-Carter, D., *Doing Quantitative Psychological Research: From Design to Report*, Psychology Press, 1997.
30. Poperelya, F.O., Blagodarova, O.M. Genetics of grain quality of first Ukrainian genotypes of superstrong wheat, *Cytol. Genet.*, 1998, vol. 32, no. 6, pp. 11–9.
31. Nevo, E., Payne, P.I., Wheat storage proteins: diversity of HMW glutenin subunits in wild emmer from Israel. I. Geographical patterns and ecological predictability, *Theor. Appl. Genet.*, 1987, vol. 74, pp. 827–36.
32. Metakovsky, E.V., Pogna, N.E., Biancardi, A.M., and Redaelli, R., Gliadin composition of common wheat cultivars grown in Italy, *J. Genet. Breed.*, 1994, vol. 48, pp. 55–66.
33. Chernakov, V.M., Metakovsky, E.V. Diversity of gliadin-coding locus allelic variants and evaluation of genetic similarity of common wheat varieties from different breeding centers, *Genetika*, 1994, vol. 30, pp. 509–17.
34. Metakovsky, E.V., Branlard, G., Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin alleles, *Theor. Appl. Genet.*, 1998, vol. 96, pp. 209–18.
35. Sobko, T.A., Sozinov, A.A., Analysis of genotype structure of common wheat cultivars licensed for growing in Ukraine using genetic markers, *Cytol. Genet.*, 1999, vol. 33, pp. 30–41.
36. Metakovsky, E.V., Gomes, M., Vasquez, J.F., Carrillo, J.M. High genetic diversity of Spanish common wheats as judged from gliadin alleles, *Plant Breeding*, 2000, vol. 119, pp. 37–42.
37. Wrigley, C.W., Békés, F., Cavagh, C.R., and Bushuk, W., *The Gluten Composition of Wheat Varieties and Genotypes*, 2006. <http://www.aacnet.org/initiatives/definitions/Pages/gliadin.aspx>.
38. Blagodarova, O.M., Lytvynenko, M.A., and Golub, Ye.A., Gene geography of alleles at gliadin- and glutenin-coding loci of Ukrainian winter common wheat varieties and their association with agronomical traits, *Collect. Sci. Paper. Instit. Breed. Genet.*, 2004, vol. 46, no. 6, pp. 124–38 (in Ukrainian).
39. Novosel'skaya-Dragovich, A.Y., Krupnov, V.A., Saifulin, R.A., and Pukhalskiy, V.A., Dynamics of genetic variation at gliadin-coding loci in Saratov cultivars of common wheat *Triticum aestivum* L. over eight decades of scientific breeding, *Genetika*, 2003, vol. 39, pp. 1347–52.
40. Roussel, V., Koenig, J., Beckert, M., and Balfourier, F., Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programmes, *Theor. Appl. Genet.*, 2004, vol. 108, pp. 920–30. doi: [10.1007/s00122-003-1502-y](https://doi.org/10.1007/s00122-003-1502-y).
41. Orabi, J., Jahoor, A., and Backes, G., Changes in allelic frequency over time in European bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties revealed using DArT and SSR markers, *Euphytica*, 2014, vol. 197, pp. 447–62. doi: [10.1007/s10681-014-1080-x](https://doi.org/10.1007/s10681-014-1080-x).
42. Laidò, G., Mangini, G., Taranto, F., Gadaleta, A., Blanco A., Cattivelli, L., Marone, D., Mastrangelo, A.M., Papa, R., and De Vita, P. Genetic diversity and population structure of tetraploid wheats (*Triticum turgidum* L.) estimated by SSR, DArT and pedigree data, *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 6, e67280. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067280>.
43. Balfourier, F., Bouchet, S., Robert, S., De Oliveira, R., Rimbart, H., Kitt, J., and Choulet, F., International Wheat Genome Sequencing Consortium, BreedWheat Consortium, Paux E., Worldwide phylogeography and history of wheat genetic diversity, *Sci. Advan.*, 2019, vol. 5, no. 5, eaav0536. doi: [10.1126/sciadv.aav0536](https://doi.org/10.1126/sciadv.aav0536).
44. Zhang, L., Liu, D., Guo, X., Yang, W., Sun, J., Wang, D., Sourdille, P., and Zhang, A., Investigation of genetic diversity and population structure of common wheat cultivars in northern China using DArT markers, *BMC Genet.*, 2011, vol. 12, pp. 42. doi: [10.1186/1471-2156-12-42](https://doi.org/10.1186/1471-2156-12-42) <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/12/42>.
45. Lopes, M.S, Dreisigacker, S., Peca, R.J., Sukumaran, S., and Reynolds, M.P., Genetic characterization of the wheat association mapping initiative (WAMI) panel for dissection of complex traits in spring wheat, *Theor. Appl. Genet.*, 2015, vol. 128, pp. 453–64. doi: [10.1007/s00122-014-2444-2](https://doi.org/10.1007/s00122-014-2444-2).
46. Chen, T., Tantasawat, P.A., Wang, W., Gao, X., and Zhang, L., Population structure of Chinese south west wheat germplasms resistant to stripe rust and powdery mildew using the DArT-seq technique, *Ciência Rural, Santa Maria*, 2018, vol. 48, no. 4, e20160066. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160066>.
47. Nielsen, N.H., Backes, G., Stougaard, J., Andersen, S.U., and Jahoor, A., Genetic diversity and population structure analysis of European hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties, *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 4, e94000. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094000>.

48. Maccaferri, M., Harris, N.S., Twardziok, S.O. et al. Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets, *Nat. Genet.*, 2019, vol. 51, pp. 885–95. doi:10.1038/s41588-019-0381-3.
49. Boychenko, S., Voloshchuk, V., Movchan, Ya., Serdjuchenko, N., Tkachenko, V., Tyshchenko, O., and Savchenko, S., Features of climate change on Ukraine: scenarios, consequences for nature and agroecosystems, *Proc. Nat. Aviat. Univer.*, 2016, vol. 69, no. 4, pp. 96–113. doi: 10.18372/2306-1472.69.11061
50. Jones, P.D., Lister, D.H., Osborn, T.J., Harpham, C., Salmon, M., and Morice, C.P., Hemispheric and large-scale land surface air temperature variations: an extensive revision and an update to 2010, *J. Geoph. Res.*, 2012, vol. 117, D05127, doi: 10.1029/2011JD017139.
51. Diab, A., Kantety, R.V., Ozturk N.Z., Benschler, D., Nachit, M.V., and Sorrells, M.E., Drought-inducible genes and differentially expressed sequence tags associated with components of drought tolerance in durum wheat, *Sci. Res. Essay*, 2008, vol. 3, pp. 9–26.
52. Xu, Y., Li, S., Li, L. Ma, F., Fu, X., Shi, Z., Xu, H., Ma, P., and An, D., QTL mapping for yield and photosynthetic related traits under different water regimes in wheat, *Mol. Breed.*, 2017, vol. 37, e34. doi: 10.1007/s11032-016-0583-7.
53. El-Feki, W., Byrne, P.F., Reid, S.D., and Haley, S.D., Mapping quantitative trait loci for agronomic traits in winter wheat under different soil moisture levels, *Agronomy*, 2018, vol. 8, e133. doi:10.3390/agronomy8080133.
54. Ovenden, B., Milgate, A., Wade, L.J., Rebetzke, G.J., and Holland, J.B., Genome-wide associations for water-soluble carbohydrate concentration and relative maturity in wheat using SNP and DArT marker arrays, *G3: Genes|Genomes|Genetics*, 2017, vol. 7, pp. 2821–30. doi: 10.1534/g3.117.039842.
55. Soriano, J.M., Alvaro, F., Discovering consensus genomic regions in wheat for root-related traits by QTL meta-analysis, *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9, e10537. doi:10.1038/s41598-019-47038-2.
56. Joukhadar, R., Daetwyler, H.D., Bansal, U.K., Gendall, A.R., and Hayden, M.J., Genetic diversity, population structure and ancestral origin of Australian wheat. *Front. Plant Sci.*, 2017, vol. 8, e2115. doi: 10.3389/fpls.2017.02115.
57. Nevo, E., Fu, Y., Pavlicek, T., Khalifa, S., Tavasi, M., and Avigdor, A., Evolution of wild cereals during 28 years of global warming in Israel, *PNAS*. 2012, vol. 109, no. 9, pp. 3412–5; <https://doi.org/10.1073/pnas.1121411109>.
58. Qian, C., Yan, X., Shi, Y. Yin, H., Chang, Y., Chen, J., Ingvarsson, P.K., Nevo, E., and Ma, X., Adaptive signals of flowering time pathways in wild barley from Israel over 28 generations. *Heredity*, 2020, vol. 124, pp. 62–76 doi:10.1038/s41437-019-0264-5.

Надійшла в редакцію 13.01.20
Після доопрацювання 05.02.20
Прийнята до друку 18.07.20