

УДК 575+577.1: 633.1

ІДЕНТИФІКАЦІЯ НОВИХ ГЛІАДИНОВИХ АЛЕЛІВ МУТАНТНОГО, РЕКОМБІНАНТНОГО ТА ІНТРОГРЕСИВНОГО ПОХОДЖЕННЯ У СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ

Н.О. КОЗУБ^{1,2,*}, І.О. СОЗІНОВ¹, Н.О. ДЕМ'ЯНОВА^{1,2}, О.І. СОЗІНОВА^{1,2}, Я.Б. БЛЮМ²

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

² ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», вул. Байди-Вишневецького, 2а, Київ, 04123, Україна

E-mail: natalkozub@gmail.com, sigor1953@gmail.com, demianovanana@gmail.com,

sozinovaoksana1@gmail.com, cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

Автор для кореспонденції: Н.О. Козуб, e-mail: natalkozub@gmail.com

Особливістю основних локусів гліадинів пшениці є множинний алелізм. Складено каталоги блоків гліадинів, кодованих алелями гліадинових локусів пшениці м'якої, які регулярно поповнюються. При аналізі гліадинових спектрів українських сортів пшениці м'якої та зерен F_2 нами ідентифіковано нові алелі локусів *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-A3*, раніше не описані в літературі. Також у статті наведено гліадинові блоки, кодовані алелями локусу *Gli-D1*, які було описано раніше, але вони відсутні в останніх опублікованих каталогах. Електрофорез гліадинів проводили в поліакриламідному гелі в кислому середовищі за розробленою нами методикою. Новим алелям надавали тимчасові позначення. За локусом *Gli-B1* ідентифіковано нові алелі *Gli-B1fg** та *Gli-B1eg** рекомбінантного походження, *Gli-B1ba** мутантного походження та алелі інтрогресивного походження: *Gli-B1xt** (ідентифікований також у зразків *T. dicoccum*), *Gli-B1bl** (*Gli-B1b* з двома зчепленими генами, ймовірно, від *Ae. variabilis*, згідно з родоводом сорту Ластівка одеська), *Gli-B1wb** (*1BL.1RS* з блоком ω -секалінів як у сорту *Amigo*). Також наведено спектри алелів *Gli-D1*, що не представлені в опублікованому каталозі гліадинових алелів: *Gli-D1ct** від *Ae. tauschii* та *Gli-D1x*, що відповідає блоку *GLD 1D10*, раніше ідентифікованому у деяких одеських сортів, зокрема Ольвія і Прокоф'євка, що, очевидно, має мутантне походження. За *Gli-A1* ідентифіковано два нові алелі *Gli-A1ag**, *Gli-A1ah**, що утворились через поєднання з певними алелями мінорного локусу *Gli-A6*. За мінорним локусом *Gli-A3* ідентифіковано алель *Gli-A3e*, що кодує

два ω -гліадини. На «давнє» походження цього алеля, який виявився поширеним серед ярих сортів пшениці м'якої, вказує те, що його ідентифіковано також у *T. dicoccum*.

Ключові слова: проламін, різномантність, *Triticum aestivum*, *Triticum dicoccum*, *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-A3*, *Gli-D1*, *APAGE*, гліадиновий блок, сорт, пшениця м'яка, глютеніві білки.

Вступ. Основними запасними білками зерна пшениці є глютеніві білки (проламіни) – глютеніни і гліадини, які складають біля 80 % від загального білка зерна (Shewry, 2019). Співвідношення гліадинів і глютенінів у різних сортів пшениці м'якої може бути від 0,75 до 2,5 (Dhaka et al., 2015; Wieser et al., 2023a). На відміну від глютенінів, де субодиниці (високомолекулярні і низькомолекулярні субодиниці глютенінів) зв'язані дисульфідними зв'язками, гліадини – мономерні білки. При одновимірному електрофорезі у гелі в кислому середовищі гліадини поділяються на біля 20 компонентів. За рухливістю на електрофореграмі їх відносять до α -, β -, γ - and ω -гліадинів, з яких найменш рухливими є ω -гліадини (Woynchik et al., 1961). ω -Гліадини не містять цистеїну (бідні на сірку проламіни) і відрізняються за своєю структурою від групи багатих на сірку гліадинів, γ - та α -гліадинів (Shewry and Halford, 2002; Shewry, 2019; Wieser et al., 2023b). Крім того, цистеїн-багатими проламінами є δ -гліадини, що є ор-

тологами γ 3-гордеїну ячменю (Anderson et al., 2012; Wan et al., 2013). Усі групи запасних білків містять ділянку з повторами, багатими на глутамін і пролін, проте кількість повторів є значно вищою у ω -гліадинів (Shewry and Halford, 2002; Wieser et al., 2023b).

У пшениці м'якої *Triticum aestivum* L. гліадини кодуються шістьма основними локусами: *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* на дистальних частинах коротких пліч хромосом 1A, 1B, 1D та *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2* на коротких плечах хромосом 6A, 6B і 6D (Payne, 1987). Якщо локуси *Gli-A2*, *Gli-B2* та *Gli-D2* містять кластери α -гліадинових генів, то гліадинові локуси на хромосомах першої гоомеологічної групи є більш складними. *Gli-A1*, *Gli-B1*, та *Gli-D1* включають кластери генів ω -гліадинів, γ -гліадинів, один ген δ -гліадин і є тісно зчепленими з відповідними локусами *Glu-A3*, *Glu-B3*, та *Glu-D3*, що містять кластери генів низькомолекулярних субодиниць глютенінів (Payne, 1987; Anderson et al., 2012).

На коротких плечах хромосом 1A та 1B також ідентифіковано мінорни локуси. *Gli-A3*, *Gli-B5*, *Gli-A5*, та *Gli-A6*, що кодують ω -гліадини, тоді як *Gli-B3/Glu-B2* кодує ω -гліадин або низькомолекулярну субодиницю глютенінів D-типу (Sobko, 1984; Jackson et al., 1985; Pogna et al., 1993; Metakovsky et al., 1996). Низькомолекулярні субодиниці глютенінів D-типу мають один цистеїновий залишок; вони утворились в результаті мутації ω -гліадинових генів, що привела до формування цистеїнового кодону (Gianibelli et al., 2002).

За допомогою протеомного аналізу та секвенування РНК оцінено кількість активних генів гліадинів різних груп у зерні сортів пшениці м'якої: 23 α -, 13 γ - і 7 ω -гліадинів у сорту Butte 86 (Dupont et al., 2011), 25 α -, 11 γ -, 1 δ - і 5 ω -гліадинів у сорту Xiaoyan 81 (Wang et al., 2017), 23 α -, 11 γ -, and 5 ω -gliadins у Keumkang (Cho et al., 2018). У сорту Fielder за допомогою секвенування РНК Liu et al (2023) ідентифікували 3 γ -гліадинові гени на хромосомі 1A, 3 ω - і 4 γ -гліадинові гени на 1B, 2 ω - та 4 γ -гліадинові гени на 1D. Однак, у цього ж сорту за допомогою повногеномного секвенування Yu et al (2024) описали дещо іншу кількість активних генів: 2 ω - і 5 γ -гліадинових генів на

хромосомі 1A, 2 ω - і 7 γ -гліадинових генів на 1B, 5 ω - та 9 копій γ -гліадинових генів на 1D.

Відповідно до кластерної природи локусів *Gli-1*, компоненти ω - і γ -гліадинів на електрофоретичному спектрі спирторозчинних білків зерна, кодовані певним гліадиновим локусом, успадковуються як єдиний блок (Sozinov and Popereleya, 1980), а одновимірний електрофорез у кислому середовищі є найпростішим методом ідентифікації гліадинових алелів. По суті гліадиновий алель не відповідає класичному визначенню алеля як варіанта гена, а є варіантом кластера генів. Секвенування ВАС клонів хромосом 1B і 1D показало розміщення гліадинових генів на ділянці більше 100 т.п.н. (Gao et al., 2007). На хромосомі 1D *Aegilops tauschii* проламінові гени локусу *Gli-D1* та зчепленого *Glu-D3* розміщені острівцями на ділянці розміром біля 3000 т.п.н. (Anderson et al., 2012). Тому аналіз гліадинових спектрів, а саме, ідентифікація блоків гліадинів, відображає інформацію про стан відносно великих ділянок геному.

Особливістю основних локусів запасних білків є множинний алелізм. У результаті дослідження великої кількості сортів пшениці м'якої та гібридних комбінацій було складено каталоги блоків гліадинів (спектрів гліадинів, що кодуються певним алелем), кодованих алелями основних локусів, з використанням крохмального гелю для розділення гліадинів (Sozinov and Popereleya, 1980; Sobko and Popereleya, 1986), а згодом і поліакриламідного (Metakovsky, 1991; Metakovsky et al., 1984, 2018). Через тісне зчеплення відповідних основних і мінорних локусів, спектри гліадинів, кодованих певними алелями локусів *Gli-A1* і *Gli-B1*, традиційно включають також компоненти, кодовані алелями мінорних локусів *Gli-A5*, *Gli-A6* та *Gli-B5* (Metakovsky et al., 2018). В останньому опублікованому каталозі Metakovsky et al. (2018) наведено спектри для більше 180 алелів за шістьма основними гліадиновими локусами, зокрема 29 алелів *Gli-A1*, 26 алелів *Gli-B1*, 16 алелів *Gli-D1*.

Гліадинові алелі слугують маркерами для популяційних досліджень, вивчення історії селекції, рівня хлібопекарської якості; крім того, гліадинові локуси розміщені в ділянках, що

знаходяться під дією добору (Sozinov et al., 1999; Metakovsky et al., 2018, 2019; Semagn et al., 2021; Shewry, 2019, 2022). Тому інформація про гліадинові алелі, визначені на основі аналізу гліадинових спектрів, має важливе значення. У даній роботі нами наведено результати ідентифікації нових алелів гліадинових локусів, а також блоки гліадинів, які не представлено в останньому каталозі гліадинових алелів.

Матеріали і методи. Було досліджено колекції сортів пшениці м'якої, створених у різних селекційних установах України. Зерно сортів пшениці та колекцію зразків *T. dicocum* різного походження було люб'язно надано Національним центром генетичних ресурсів рослин України НААН (Харків) (НЦГРРУ). Перелік сортів, у яких ідентифіковано нові алелі, а також використані в роботі сорти з відомими алелями наведено в додатках (таблиця S1, <https://cytgen.com/articles/5960003s.pdf>).

Для ідентифікації гліадинових алелів у сорту Миронівська сторічна проводили схрещування біотипу цього сорту (без 1BL.1RS) з сортом Безоста 1 та аналізували вибірку 178 окремих зерен F_2 . Для ідентифікації гліадинових алелів сорту Ластівка одеська цей сорт схрещували з майже ізогенною лінією пшениці м'якої за *Gli-B1* B4, що має алель *Gli-B1g*, та аналізували 520 окремих зерен F_2 . Лінію B4 (GLI-B1-4) створено д.б.н. М.М. Копусем на основі сорту Безоста 1.

Електрофорез гліадинів проводили в 10%-вому поліакриламідному гелі в кислому середовищі (APAGE) за розробленою нами методикою (Kozub et al., 2009). Гліадини екстрагували з окремих подрібнених зернівок 70%-вим етанолом (400 мкл на зернівку) впродовж 2 год; відбирали 120 мкл екстракту і висушували при 50 °С. Перед електрофорезом зразки розчиняли у 80 мкл 5,5 М сечовини з барвником піроніном Y (Pyronin Y) впродовж 1 год. Гель містив 10%-вий акриламід, 0,2%-вий метилен-біс-акриламід (співвідношення акриламід : метилен-біс-акриламід – 50 : 1), 3 М сечовину, 0,1 % КОН, 0,054 % аскорбінову кислоту, (усі інгредієнти додавали у вигляді розчинів) та 0,17 М оцтову кислоту (таблиця S2, <https://cytgen.com/articles/5960003s.pdf>). Гель «пришивали» до скла за допомогою його обробки розчином Silane A174 (10 мл 96%-вого ети-

лового спирту, 1 мл льодяної оцтової кислоти і 50 мкл Silane A174). Для полімеризації гелів використовували 0,1 % $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (свіжоприготовлений), 10 % персульфат амонію, N,N,N',N'-тетраметилетилендіамін (TEMED), 44, 50 та 5 мкл, відповідно, на 10 мл гелевого розчину. Товщина гелевої пластини – 0,6 мм. Верхній і нижній електродний буфер – 0,04 та 0,08 М мурашина кислота, відповідно. Електрофорез проводили впродовж 30 хв при 10 мА/см² (площа поперечного розрізу гелевої пластини), а потім при 30 мА/см². Після падіння сили струму електрофорез проводили при 400 В. Електрофорез припиняли після виходу 2,5 міток піроніну Y з геля. Гелі фарбували впродовж ночі фарбою, 1 л якої містив 200 мг Coomassie brilliant blue R-250, 150 мл етанолу, 50 мл льодяної оцтової кислоти, 60 мл 100 % (вага/об'єм) трихлороцтової кислоти. Після фарбування гелі відмивали водопровідною водою впродовж 1 год. Висушені гелі сканували для отримання зображень.

Алелі локусів гліадинів *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* (крім нових) позначали на основі каталогу Metakovsky (1991) з доповненнями (Kozub et al., 2009; Metakovsky et al., 2018). Новим алелям давали тимчасові позначення з зірочкою (*). Алель, що кодує гліадиновий блок GLD 1D10 за позначенням Sobko and Popereya (1986), позначили як *Gli-D1x* (Kozub et al., 2017).

Відповідність співвідношення класів розщеплення очікуваному визначали за допомогою критерія χ^2 .

Результати та їх обговорення. При аналізі гліадинових спектрів сортів пшениці м'якої та гібридного матеріалу нами ідентифіковано нові алелі локусів *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-A3*, раніше не описані в літературі, а також наведено гліадинові блоки локусу *Gli-D1*, кодовані алелями, які було описано раніше, але вони відсутні в останніх опублікованих каталогах.

Gli-B1. У сортів пшениці м'якої озимої Престижна і Гном ідентифіковано алель, тимчасово позначений *Gli-B1fg**. Електрофоретичний спектр блоку гліадинів, кодований цим алелем, нагадує спектр, кодований *Gli-B1f*, крім одного компонента: він містить низькорухливий ω -гліадин та γ -гліадин як у блоку, кодованого алелем *Gli-B1f*, та високорухливий ω -гліадин, характерний для алеля *Gli-B1b* при електрофо-

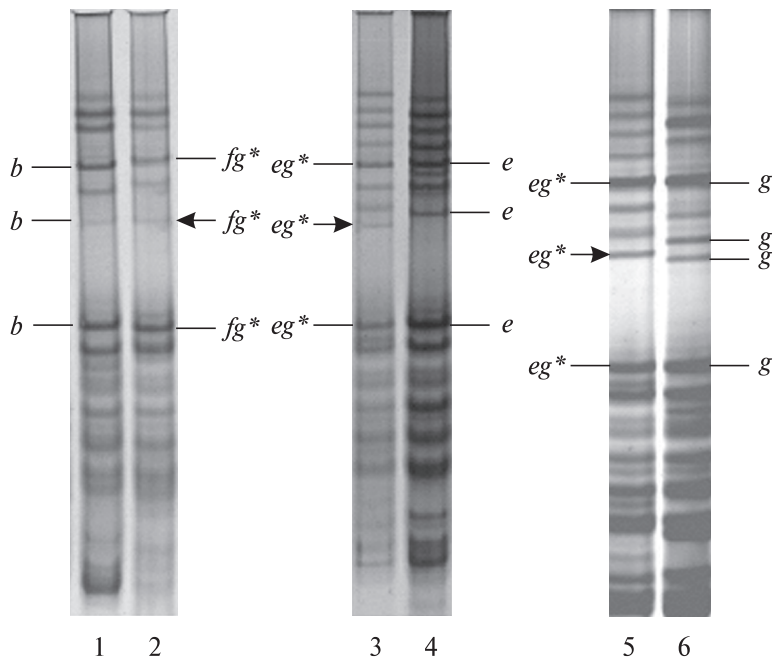


Рис. 1. Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м'якої: 1 – Безоста 1 (*Gli-B1b*); 2 – Престижна (*Gli-B1fg**); 3 – Кайдашиха (*Gli-B1eg**); 4 – Намисто (*Gli-B1e*); 5 – Рання 93 (*Gli-B1fg**); 6 – майже ізогенна лінія В4 сорту Безоста 1 (*Gli-B1g*)

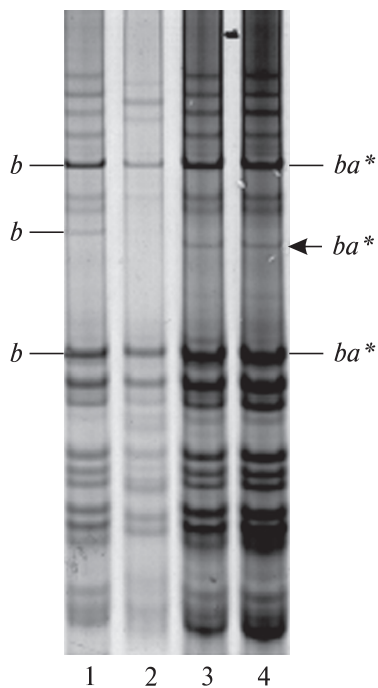


Рис. 2. Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м'якої: 1 – біотип сорту Одеська 267 з алелем *Gli-B1b*, 2 – Безоста 1 з *Gli-B1b*, 3, 4 – біотип сорту Одеська 267 з алелем *Gli-B1ba**. Стрілкою відмічено компонент зі зміненою рухливістю, кодований *Gli-B1ba**

рези у кислому середовищі (рис. 1. доріжка 2). Очевидно, цей алель має рекомбінантне походження – є продуктом рекомбінації алелів *Gli-B1fg** та *Gli-B1b*. У ярих сортів Кайдашиха, Рання 93, Скороспілка 98, Недра (біотип) та деяких інших ярих сортів, ідентифіковано подібний гліадиновий блок (позначений *Gli-B1eg**), але він включає γ -гліадин з меншою рухливістю – як у блоків, кодованих поширеними алелями *Gli-B1b*, *Gli-B1e*, або *Gli-B1g* (рис. 1). Ймовірно причиною його виникнення є рекомбінація між *Gli-B1e* та *Gli-B1b*.

У біотипу сорту пшениці м'якої озимої Одеська 267 ідентифіковано алель, позначений *Gli-B1ba**. Блок компонентів, кодований цим алелем, відрізняється від блоку, кованого алелем *Gli-B1b*, більшою рухливістю нижнього ω -гліадина (рис. 2). Алель *ba** має мутантне походження і походить від звичного алеля *Gli-B1b*. Оскільки у сорту Одеська 267 цей алель зустрічався у одного з двох біотипів за *Gli-B1*, а другий біотип за цим локусом мав *Gli-B1b*, ця мутація могла відбутись саме в цього сорту.

Новий для сортів *T. aestivum* алель локусу *Gli-B1* ідентифіковано у озимого сорту Миро-

нівська 62 і біотипу озимого сорту Миронівська сторічна. Цей алель у нашій роботі (Kozub et al., 2009) було позначено *Gli-B1x*, він відрізняється від алеля, позначеного як 'x' Metakovsky et al (2018), який кодує інший блок гліадинів. У даній роботі ми уточнили склад компонентів блоку, що кодується цим алелем, який далі тимчасово позначено 'xm*', за допомогою аналізу гліадинових спектрів зерен F₂ від схрещення біотипу сорту Миронівська сторічна з сортом Безоста 1 (рис. 3, а, S1, <https://cytgen.com/articles/5960003s.pdf>). Електрофореграми гліадинів у частини зернівок F₂ від схрещування біотипу сорту Миронівська сторічна з алелем *Gli-B1xm** і сорту Безоста 1 наведено на рис. S1. Розщеплення за компонентами, кодovаними алелем *Gli-B1xm** сорту Миронівська сторічна, і компонентами, кодovаними алелем *Gli-B1b* від сорту Безоста 1 – 43 гомозиготи з *Gli-B1b* : 99 гетерозигот : 36 гомозигот з *Gli-B1xm**, відповідало розщепленню 1 : 2 : 1 ($\chi^2 = 2,8$). Алель *Gli-B1xm** як у сорту Миронівська сторічна кодує два ω -гліадини, рухливість верхнього з яких нижча від рухливості ω -гліадинів, кодovаних раніше описаними алелями локусу *Gli-B1* (рис. 3). γ -Гліадин, кодovаний алелем *Gli-B1xm**, має рухливість приблизно на рівні рухливості γ -гліадина алеля *Gli-B1n*.

Подібного алеля, що кодує блок компонентів як у біотипу сорту Миронівська сторічна з *Gli-B1xm**, не наведено в каталозі 1060 сортів пшениці м'якої (Metakovsky et al., 2018). Однак, ми виявили компоненти з аналогічною рухливістю як у цього блоку у гліадинових спектрах 19 ярих зразків *T. dicoccum* з колекції НЦГРУ (рис. 3, б).

Можна припустити, що в родоводі сортів Миронівська 62 і Миронівська сторічна могла бути пшениця полба-двозернянка *T. dicoccum* Прикладом залучення тетраплоїдних пшениць у схрещування з пшеницею м'якою є перенесення расонеспецифічного гена стійкості до збудника стеблової іржі *Sr2* в сорти пшениці м'якої від сорту *T. dicoccum* Yaroslav (Mago et al., 2014)

Новий алель, *Gli-B1bl**, ідентифіковано у озимих сортів пшениці м'якої озимої Ластівка одеська і Каллісто (рис. 4). У цих сортів у зоні електрофоретичного спектру, де звично розмі-

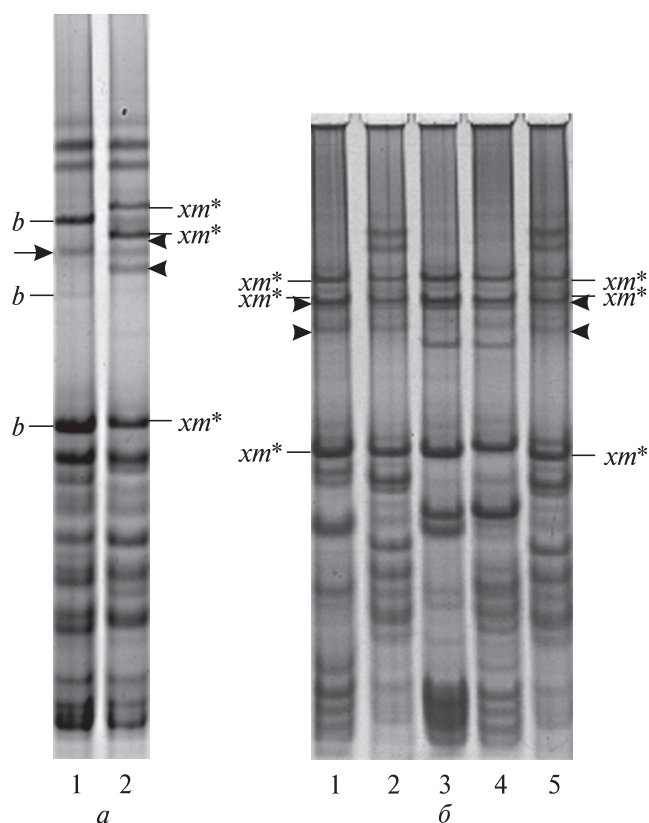


Рис. 3. Електрофореграма гліадинів: а – біотипу сорту Миронівська сторічна з алелем *Gli-B1xm** (2) і сорту Безоста 1 (1) (*Gli-B1b*); б – біотипу сорту пшениці м'якої Миронівська сторічна (2, 5) з алелем *Gli-B1xm** та зразків *T. dicoccum* з подібним алелем: 1 – UA0300192-1 var. *volgensis* (Югославія); 3 – UA0300199 var. *pseudogunbadi* (Іран); 4 – UA0300056 var. *arras* (Індія) з подібними ω -гліадинами як у блоку, кодovаного *Gli-B1xm**, але з іншою рухливістю γ -гліадина. Двома короткими стрілками позначено компоненти, кодovані алелем *Gli-A3e*, однією довгою – компонент, кодovаний алелем *Gli-A3b*

щуються ω -гліадини, кодovані локусами *Gli-B1* та *Gli-A3*, присутні ще два компоненти, позначені стрілками і L_1 , L_2 на рис. 4.

Було проаналізовано розщеплення у зерен F₂ від схрещування сорту Ластівка одеська з майже ізогенною лінією за гліадиновими локусами на основі сорту пшениці м'якої озимої Безоста 1 В4 (рис. S2, <https://cytgen.com/articles/5960003s.pdf>). Ця лінія відрізняється від сорту Безоста 1 присутністю алеля *Gli-B1g* замість *Gli-B1b*. Лінія В4 несе алелі *Gli-D1b*, *Gli-A3b*, тоді як Ластівка одеська за цими локусами має алелі *Gli-D1j*, *Gli-A3a*. Компонент L_2 з

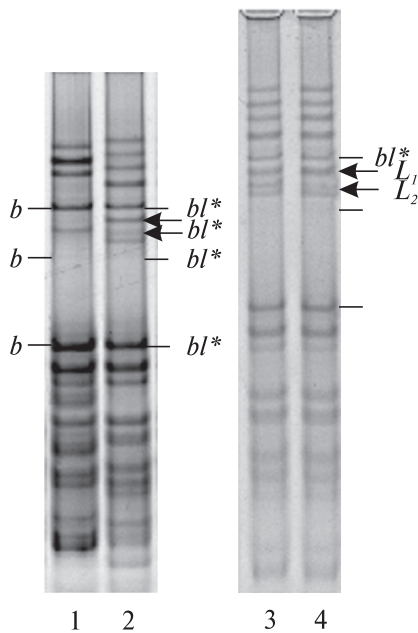


Рис. 4. Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м'якої: 1 – Безоста 1 (*Gli-B1b*); 2, 3, – Ластівка одеська (*Gli-B1b**); 4 – Калісто (*Gli-B1b**). L_1 , L_2 – компоненти, генетичний контроль яких досліджувався

більшою рухливістю (нижній) мав рухливість, подібну до рухливості ω -гліадин, кодованого алелем *Gli-A3b* (як у сорту Безоста 1 і лінії В4), тому враховували розщеплення в першу чергу за присутністю компонента L_1 . У всіх випадках ω -гліадини L від сорту Ластівка одеська зустрічались лише у зернівок з ω -гліадинами, характерними для *Gli-B1b*, в гомозиготному або гетерозиготному стані. Аналіз розщеплення за вищевказаними локусами та за присутністю/відсутністю ω -гліадинів L від сорту Ластівка одеська показав повне зчеплення генів, що їх кодують, з алелем *Gli-B1b* (таблиця). Та-

Кількості зернівок F_2 Ластівка одеська \times В4 з певними генотипами за *Gli-B1* з присутністю омега-гліадину L_1 від сорту Ластівка одеська та без нього (ω)

<i>Gli-B1</i>	L_1	ω	χ^2 (3 : 6 : 3 : 1 : 2 : 1)
<i>b.b</i>	125	–	
<i>b.g</i>	278	–	
<i>g.g</i>	–	117	457,8*

Примітка. * $P < 0,01$.

кий алель як у сортів Ластівка одеська і Калісто було тимчасово позначено *Gli-B1b**.

Сорт Ластівка одеська має у своєму родоводі *Ae. variabilis* (синонім *Ae. peregrina*) (<http://www.wheatpedigree.net/sort/show/96618>). Геномна формула *Ae. variabilis* – S^vS^vUU (Feldman and Levy, 2023). Цілком можливо, що дані компоненти контролюються інтрогресованими генами від *Ae. variabilis*, більш ймовірно хромосоми 1S^v, оскільки генوم В вважається спорідненим геному S (Levy and Feldman, 2022). Не виключено, що в даному випадку мала місце внутрішньолокусна рекомбінація між алелями гомеологічних локусів через стимуляцію гомеологічної рекомбінації генами хромосом геному S (Dvořák, 1972; Li et al., 2017).

У сорту Гомін ідентифіковано пшенично-житню транслокацію 1BL.1RS з блоком ω -секалінів, ідентичним блоку, що кодується алелем *Gli-A1w* (рис. 5). Позначення *Gli-A1w* було надано Kozub et al. (2009) за аналогією з *Gli-B1l* (Metakovsky, 1991), але насправді це блок ω -секалінів, що контролюється локусом *Sec-1* на житньому плечі 1RS. Алель *Gli-A1w* (Kozub et al., 2009) – маркер транслокації 1AL.1RS від жита Insave як у сорту Amigo: одним з українських сортів з такою транслокацією є сорт Смуглянка (рис. 5, доріжка 5). Цей блок у сорту Гомін, також за аналогією з блоком секалінів 1BL.1RS від жита Petkus (алель *Gli-B1l*), тимчасово позначено *Gli-B1wb**. Подібний блок ω -секалінів у складі транслокації 1BL.1RS раніше було виявлено в угорського сорту MV Táltos (Kozub et al., 2018) (рис. 5, доріжка 3).

***Gli-D1*.** Сорт Джамала, який створено з участю синтетичної пшениці, має інтрогресований алель *Gli-D1* (тимчасово позначений *Gli-D1ct**) від *Ae. tauschii* (Morgun et al., 2021) (рис. 6). На рис. 6 також наведено блок гліадинів GLD 1D10 за Sobko and Popereleya (1986), що кодується алелем *Gli-D1* (позначений *Gli-D1x* в публікаціях Kozub et al. (2017, 2020), або *Gli-D1x(10)*), який, однак, не представлений в останньому каталозі гліадинових алелів (Metakovsky et al., 2018).

Згідно з дослідженнями DuPont et al (2004), деякі компоненти електрофоретичного спектру гліадинів можуть бути продуктами посттрансляційного процесингу: ω -гліадини, у яких N-кінцева послідовність починається з KEL є

продуктами посттрансляційного розщеплення апаратів ендопроотеазою гліадинів, що починаються з AREL і кодуються генами локусу *Gli-D1*. Тому, можливо, у носіїв алеля *Gli-D1x* (10) є мутація в одному гліадиновому гені, яка призводить до відсутності розщеплення апаратів ендопроотеазою відповідного гліадина, тому у спектрі відсутній варіант після розщеплення (третій за рухливістю ω -гліадин). Алель *Gli-D1x* (10) є специфічним для сортів одеської селекції (Селекційно-генетичний інститут (СГІ)), де він зустрічається з частотою біля 5 % серед груп сортів різних періодів створення (Kozub et al., 2017, 2020). Одними з найстаріших одеських сортів, які мають цей алель є Ольвія (1984) та Прокоф'євка (1986). Очевидно, мутація, що призвела до появи алеля *Gli-D1x* (10), з'явилася у селекційному матеріалі СГІ.

***Gli-A1*.** Прикладом формування різноманітності алелів *Gli-A1* через поєднання з алелями мінорного локусу *Gli-A6* є серія чотирьох алелів, два з яких ми описуємо тут вперше. Двома відомими алелями з цієї серії є *Gli-A1f* (як у сорту Миронівська 808), що включає алель *Gli-A6b*, який кодує характерний ω -гліадин (рис. 7, а, доріжка 4), та алель, позначений нами *Gli-A1x* в публікації Kozub et al. (2009), що відповідає блоку GLD 1A9 за каталогом Собко та Поперелі (Sobko and Popereleya, 1986). Він кодує γ -гліадин з меншою рухливістю, ніж алель *Gli-A1f* (рис. 7, а). Оскільки позначенням 'x' у Metakovsky et al. (2018) було позначено інший алель (*Gli-A1x* = *Gli-A1a* + *Gli-A6b*), ми доповнили тимчасове позначення як *Gli-A1x(A9)**. Metakovsky et al. (2018) ввели позначення *Gli-A1af* для алеля, що, згідно з їх статтею, кодує гамма-гліадин як у *Gli-A1f*, але в поєднанні з *Gli-A6a* (нуль-алель, у спектрі відсутній характерний ω -гліадин). Електрофорез сортів-стандартів алеля *Gli-A1af* за Metakovsky et al. (2018) – Solo, Insignia, Bazalt, та українських сортів з *Gli-A1x(A9)** та *Gli-A1f* (рис. 7, а) вказує на те, що алель *Gli-A1af* є аналогічним алелю *Gli-A1x(A9)**, який є поширеним алелем серед сортів Лісостепу України (Kozub et al., 2017, 2020). Тому поєднання *Gli-A1af* (*x(A9)**) + *Gli-A6b* не дорівнює *Gli-A1f*, а дає новий алель, який ідентифіковано в українських озимих сортах

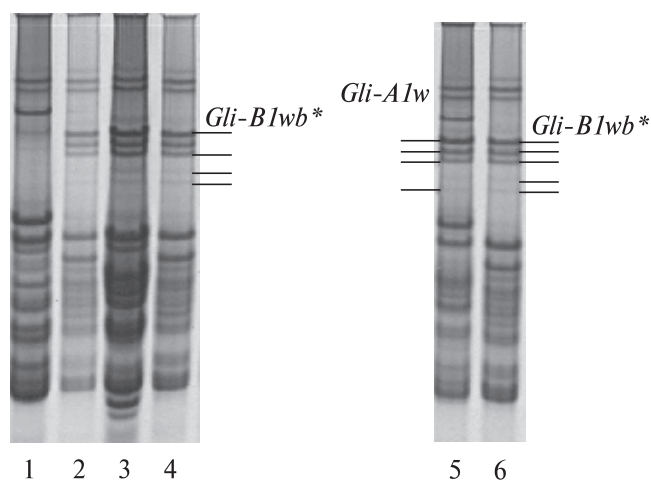


Рис. 5. Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м'якої: 1 – Безоста 1 (*Gli-B1b*); 2, 4, 6 – Гомін (*Gli-B1wb**, 1BL.1RS); 3 – MV Táltos (*Gli-B1wb**, 1BL.1RS); 5 – Смуглянка (*Gli-B1b*, *Gli-A1w*, 1AL.1RS)

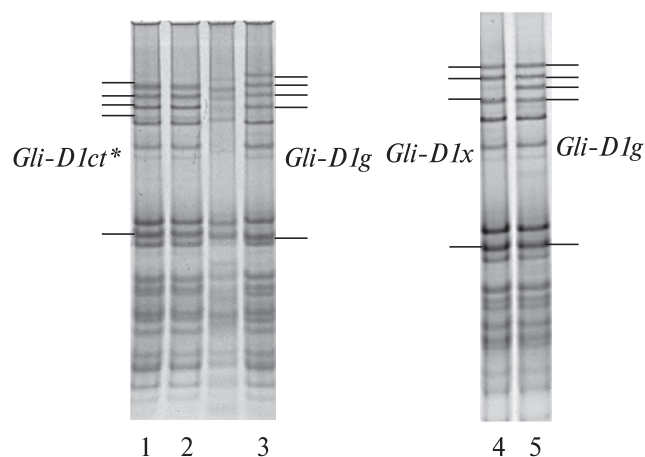


Рис. 6. Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м'якої: 1, 2 – Джамала (*Gli-D1ct**); 3 – Аміна (*Gli-D1g*); 4 – Заграва одеська (біотип з *Gli-D1x*); 5 – Заграва одеська (біотип з *Gli-D1g*)

Сагайдак, Полтавка, Господиня миронівська і тимчасово позначено *Gli-A1ag** (рис. 7, б). Четвертий алель з цієї серії, що кодує γ -гліадин як у *Gli-A1f*, але у поєднанні з *Gli-A6a*, виявлено у сортів Даринка київська і Серпанок київський (тимчасове позначення *Gli-A1ah**) (рис. 7, в), і де логічно є ситуація *Gli-A1ah** + *Gli-A6b* = *Gli-A1f*.

***Gli-A3*.** При аналізі розщеплення у зерен F_2 від схрещення сорту Миронівська сторічна і сорту Безоста 1 нами ідентифіковано ще один новий алель мінорного локусу *Gli-A3*, який ми

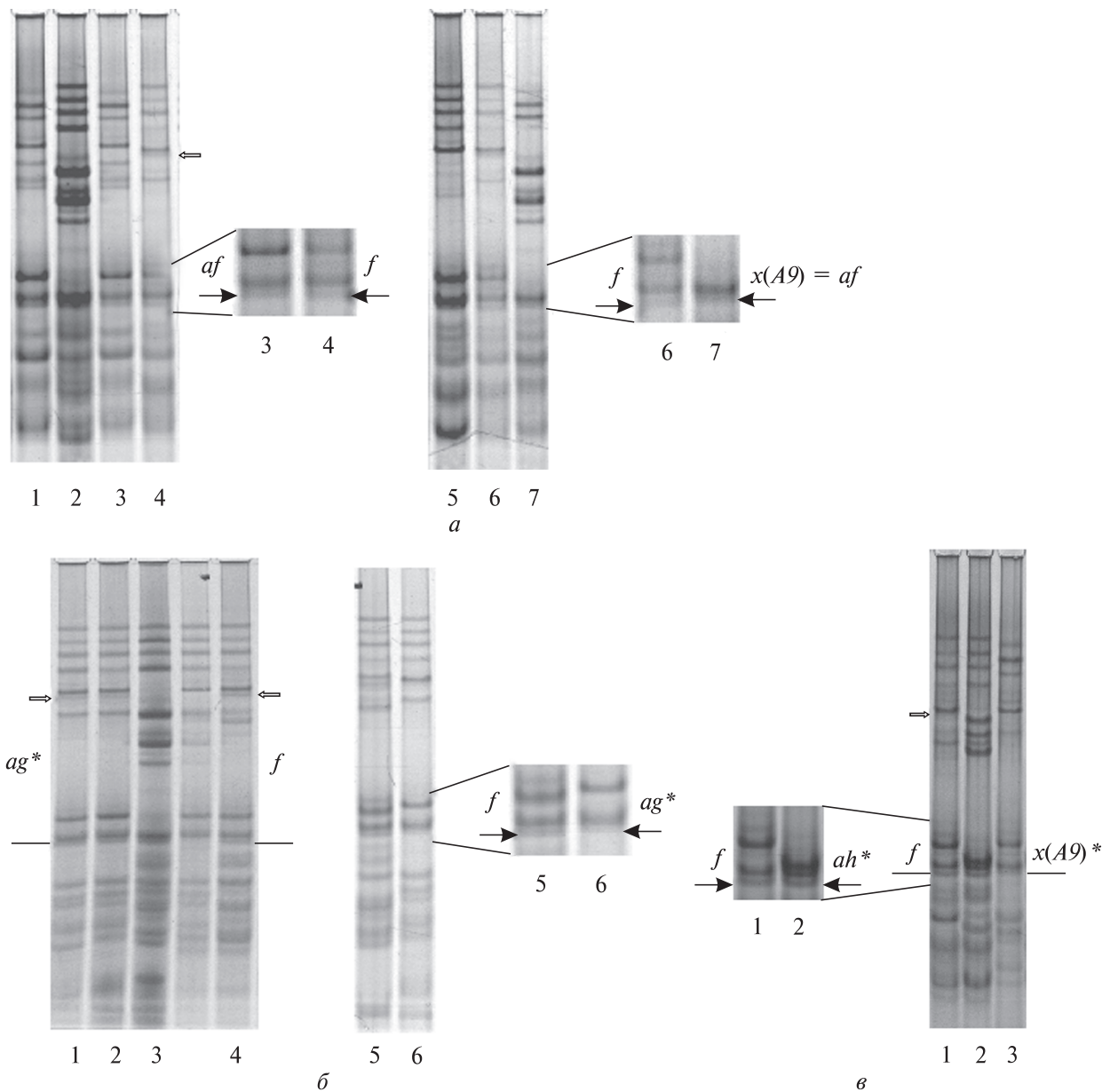


Рис. 7. Електрофореграма гліадинів сортів пшениці м'якої. *a* – 1, 3 – Solo ($Gli-A1af = x(A9)^*$); 2 – лінія Б16 ($Gli-A1x(A9)^*=af$); 4, 6 – Миронівська 808 ($Gli-A1f$); 5 – Поліська 90 ($Gli-A1x(A9)^*=af$); 7 – Гадзинка ($Gli-A1x(A9)^*=af$). *б* – 1 – Полтавка ($Gli-A1ag^*$); 2, 6 – Сагайдак – ($Gli-A1ag^*$); 3 – лінія Б16 ($Gli-A1x(A9)$); 4 – Миронівська 808 ($Gli-A1f$); 5 – Циганка ($Gli-A1f$). *в* – 1 – Миронівська 808; 2 – Даринка київська ($Gli-A1ah^*$); 3 – МІП Ассоль ($Gli-A1x(A9)^*=af$). Короткою світлою стрілкою позначено ω -гліадин, що кодується алелем $Gli-A6b$

запропонували позначити $Gli-A3e$. На відміну від алелів, присутніх у каталозі, він кодує два омега-гліадини, які на електрофоретичному спектрі сорту Миронівська сторічна знаходяться під ω -гліадинами, кодованими алелем $Gli-B1x$ (рис. 3, відмічено двома короткими стрілками). Розщеплення за цими двома ω -глі-

адинами і компонентом, кодованим алелем $Gli-A3b$ від сорту Безоста 1, 45 гомозигот з $Gli-A3b$: 99 гетерозигот : 34 гомозиготи з $Gli-A3e$, відповідало очікуваному для 1 : 2 : 1 ($\chi^2 = 3,6$). Виявилось, що ω -гліадини з рухливістю як у гліадинів, кодованих $Gli-A3e$, часто зустрічаються в гліадинових спектрах ярих сортів пше-

ниці м'якої (наприклад, Кайдашиха, Недра, Рання 93, Краса Полісся, Елегія миронівська, Ясна, Сперанца) (рис. S3, <https://cytgen.com/articles/5960003s.pdf>). Більше того, серед зразків *T. dicoccum* також зустрічались зразки з алелем *Gli-A3e* (рис. 3, б, доріжка 1). Досі відомо було лише чотири алелі локусу *Gli-A3*, три з яких (*a-c*) кодують по одному ω -гліадину, а алель *d* є нуль-алелем (згідно з McIntosh (2024), з посиленням на Metakovsky et al. (1996)). *Gli-A3e* є першим ідентифікованим алелем цього локусу, що кодує два ω -гліадини.

Для ідентифікації наведених вище блоків гліадинів, кодованих локусами хромосом 1 гомеологічної групи, нами використано розроблену нами методику APAGE (Kozub et al., 2009), але, інші методики APAGE, очевидно, дадуть подібні результати, що можна проконтролювати аналізом гліадинів сортів-носіїв певних алелів (стандартів) (Metakovsky et al., 2018).

Основними шляхами збільшення різноманітності алелів локусів запасних білків у генофонді пшениці м'якої є мутації, внутрішньо-локусна рекомбінація (Metakovsky et al., 2018), а також інтрогресія. Особливістю проламінових генів є наявність ділянки з повторами, що може призводити до мутацій зі зміною числа повторюваних одиниць через проковзування в районі повторів (slip-strand mispairing) при реплікації або нерівний кросинговер (Anderson and Greene, 1997; Huo et al., 2019). Велика кількість глютамінових кодонів у проламінових генах призводить до відносно високої ймовірності утворення стоп-кодонів через транзиції C→T у першій основі кодону і, як результат, інактивації гена (Anderson and Greene, 1997; Anderson et al., 2013). Описані нами гліадинові алелі можна розділити на три групи за походженням: *Gli-B1ba**, *Gli-D1x(10)* (виникли в результаті мутації), *Gli-B1fg**, *Gli-B1eg**, *Gli-A1ag**, *Gli-A1ah** (є результатом внутрішньо-локусної рекомбінації або рекомбінації між основним і тісно зчепленим мінорним локусом) та *Gli-B1xm**, *Gli-B1bl**, *Gli-B1wb**, *Gli-D1ct**, які мають інтрогресивне походження. Алель мінорного локусу *Gli-A3e*, що кодує два омега-гліадини, очевидно, є «давнім» алелем, оскільки він зустрічається у *T. dicoccum* і є поширеним серед ярих сортів пшениці м'якої.

У каталозі Metakovsky et al. (2018) наведено спектри гліадинів, кодованих алелями *a-z*, *aa*, *ab*, *ac*, *af* локусу *Gli-A1*, *a-y*, *ab* локусу *Gli-B1*, *a-l*, *o*, *q* локусу *Gli-D1*. Водночас, остання версія каталогу генетичних символів пшениці (Catalogue of Gene Symbols for Wheat) (McIntosh 2024) згадує алелі *a-bd* для локусу *Gli-A1*; серед них алелі *a-w* – алелі *T. aestivum*, *x-ad* – алелі *T. monococcum* ssp. *monococcum* (геномна формула A^mA^m), *ae-bd* – *T. urartu* (AA). За локусами *Gli-B1* і *Gli-D1* у каталозі McIntosh (2024) зазначено відповідно, алелі *a-x* та *a-o* пшениці м'якої. Розбіжності у позначеннях цих двох каталогів вказують на потребу в упорядкуванні позначень гліадинових алелів. Алелі, описані в даній роботі, мають лише тимчасові назви і мають бути включені в упорядковану версію зі зміненими узгодженими позначеннями.

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

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Частина даного дослідження фінансувались за проектами «Генотипування сортів і ліній пшениці за маркерами генів стійкості до збудників хвороб і шкідників та інших важливих генів і пошук невивадкових асоціацій алелів» (№ держреєстрації 0121U000082, 2021–2025 рр. та «Маркерний добір ліній пшениці м'якої для виробництва харчових продуктів стратегічного значення» (№ держреєстрації 0125U001978, 2025–2027 рр.).

IDENTIFICATION OF NEW GLIADIN ALLELES OF MUTANT, RECOMBINANT, AND INTROGRESSIVE ORIGIN IN BREAD WHEAT VARIETIES

N.O. Kozub, I.O. Sozinov, N.O. Demianova, O.I. Sozinova, Ya.B. Blume

Institute of Plant Protection, Natl. Acad. Agrarian Sci., 33 Vasytkivska str., Kyiv, 03022, Ukraine

Institute of Food Biotechnology and Genomics, Natl. Acad.Sci. of Ukraine,

2a Baidy-Vyshnevetskoho str., Kyiv, 04123, Ukraine

E-mail: natalkozub@gmail.com, sigor1953@gmail.com, demianovanana@gmail.com, sozinovaoksana1@gmail.com, cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

A special feature of the major gliadin loci in wheat is multiple allelism. Catalogs of gliadin blocks encoded by

alleles at the gliadin loci in bread wheat were compiled and are regularly updated. When analyzing gliadin patterns of Ukrainian bread wheat varieties and F₂ seeds, we identified new alleles at the *Gli-A1*, *Gli-B1*, and *Gli-A3* loci, which had not been described in the literature. We also present gliadin blocks encoded by alleles at the *Gli-D1* locus that were described previously but are absent in the latest published catalogs. Acid polyacrylamide gel electrophoresis of gliadins was performed by the procedure developed by us. New alleles were given temporary designations. At the *Gli-B1* locus, new alleles of recombinant origin, *Gli-B1fg** and *Gli-B1eg**, and of mutant origin, *Gli-B1ba**, were identified, we also detected alleles of introgressive origin: *Gli-B1xm** (also identified in *T. dicoccum* accessions), *Gli-B1bl** (*Gli-B1b* with two linked genes, probably from *Ae. variabilis*, according to the variety Lastivka Odeska pedigree), and *Gli-B1wb** (1BL.1RS with the block of ω-secalins as in the variety Amigo). The patterns for *Gli-D1* alleles that are not present in the published catalog of gliadin alleles are also given: *Gli-D1ct** from *Ae. tauschii* and *Gli-D1x*, apparently of mutant origin, corresponding to the GLD1D10 block, which was previously identified in some Odessa varieties, in particular Olvia and Prokofievka. At *Gli-A1*, we identified two new alleles, *Gli-A1ag** and *Gli-A1ah**, formed via combination with certain alleles at the minor locus *Gli-A6*. The allele *Gli-A3e*, which encodes two ω-gliadins, was identified at the minor locus *Gli-A3*. This allele, which is widespread among spring bread wheat varieties, seems to be extant as it was also identified in *T. dicoccum*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Anderson, O., and Greene, F., The α-gliadin gene family. II. DNA and protein sequence variation, subfamily structure, and origins of pseudogenes, *Theor. Appl. Genet.*, 1997, vol. 95, pp. 59–65. <https://doi.org/10.1007/s001220050532>
- Anderson, O.D., Dong, L., Huo, N., and Gu, Y.Q., A new class of wheat gliadin genes and proteins, *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 12, pp. e52139. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052139>
- Anderson, O.D., Huo, N., and Gu, Y.Q., The gene space in wheat: the complete γ-gliadin gene family from the wheat cultivar Chinese Spring, *Funct. Integr. Genomics.*, 2013, vol. 13, no. 2, pp. 261–273. <https://doi.org/10.1007/s10142-013-0321-8>
- Cho, K., Beom, H.R., Jang, Y.R., Altenbach, S.B., Vensel, W.H., Simon-Buss, A., Lim, S.H., Kim, M.G., and Lee, J.Y., Proteomic profiling and epitope analysis of the complex α-, γ-, and ω-gliadin families in a commercial bread wheat, *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, pp. 818. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00818>
- Dhaka, V., and Khatkar, B., Effects of gliadin/glutenin and HMW-GS/LMW-GS ratio on dough rheological properties and bread-making potential of wheat varieties, *J. Food. Qual.*, 2015, vol. 38, no. 2, pp. 71–82. <https://doi.org/10.1111/jfq.12122>
- DuPont, F.M., Vensel, W.H., Encarnacao, T., Chan, R. and Kasarda, D.D., Similarities of omega gliadins from *Triticum urartu* to those encoded on chromosome 1A of hexaploid wheat and evidence of their post-translational processing, *Theor. Appl. Genet.*, 2004, vol. 108, pp. 1299–1308. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1565-9>
- DuPont, F.M., Vensel, W.H., Tanaka, C.K., Hurkman, W.J., and Altenbach, S.B., Deciphering the complexities of the wheat flour proteome using quantitative two-dimensional electrophoresis, three proteases and tandem mass spectrometry, *Proteome Sci.*, 2011, vol. 9, pp. 10. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-9-10>
- Dvořák, J., Genetic variability in *Aegilops speltoides* affecting homoeologous pairing in wheat, *Can. J. Genet. Cytol.*, 1972, vol. 14, pp. 371–380. <https://doi.org/10.1139/g72-046>
- Feldman, M., and Levy, A.A., *Aegilops* L. in *Wheat Evolution and Domestication*, Springer: Cham, 2023, pp. 213–364. https://doi.org/10.1007/978-3-031-30175-9_9
- Gao, S., Gu, Y.Q., Wu, J., Coleman-Derr, D., Huo, N., Crossman, C., Jia, J., Zuo, Q., Ren, Z., Anderson, O.D., and Kong, X., Rapid evolution and complex structural organization in genomic regions harboring multiple prolamin genes in the polyploid wheat genome, *Plant. Mol. Biol.*, 2007, vol. 65, no. 1–2, pp. 189–203. <https://doi.org/10.1007/s11103-007-9208-1>
- Gianibelli, M.C., Masci, S., Larroque, O.R., Lafandra, D., and MacRitchie, F., Biochemical characterisation of a novel polymeric protein subunit from bread wheat (*Triticum aestivum* L.), *J. Cereal Sci.*, vol. 35, no. 3, pp. 265–276. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0401>
- Huo, N., Zhu, T., Zhang, S., Mohr, T., Luo, M.C., Lee, J.Y., Distelfeld, A., Altenbach, S., and Gu, Y.Q., Rapid evolution of α-gliadin gene family revealed by analyzing *Gli-2* locus regions of wild emmer wheat, *Funct. Integr. Genomics.*, 2019, vol. 19, no. 6, pp. 993–1005. <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00686-z>
- Jackson, E.A., Holt, L.M., and Payne, P.I., *Glu-B2*, a storage protein locus controlling the D group of LMW glutenin subunits in bread wheat (*Triticum aestivum*), *Genet. Res.*, 1985, vol. 46, no. 1, pp. 11–17. <https://doi.org/10.1017/s0016672300022412>
- Kozub, N.A., Sozinov, I.A., Sobko, T.A., Kolyuchii, V.T., Kuptsov, S.V., and Sozinov, A.A., Variation at sto-

- rage 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>
- Kozub, N.A., Sozinov, I.A., Karelov, A.V., Blume, Y.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. 117–129. <https://doi.org/10.3103/S0095452717020050>
- Kozub, N., Sozinov, I., Karelov, A., Bidnyk, H., Demianova, N., Sozinova, O., Blume, Ya., and Sozinov, A., Studying recombination between the 1RS arms from the rye Petkus and Insave involved in the 1BL.1RS and 1AL.1RS translocations using storage protein loci as genetic markers, *Cytol. Genet.*, 2018, vol. 52, no. 6, pp. 440–447. <https://doi.org/10.3103/S0095452718060063>
- Kozub, N.O., Sozinov, I.O., Chaika, V.M., Sozinova, O.I., Janse, L.A., and Blume, Ya.B., Changes in allele frequencies at storage proteins of winter common wheat under climate change, *Cytol. Genet.*, 2020, vol. 54, no. 4, pp. 305–317. <https://doi.org/10.3103/S0095452720040076>
- Levy, A.A., and Feldman, M., Evolution and origin of bread wheat, *Plant Cell.*, 2022, vol. 34, no. 7, pp. 2549–2567. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac130>
- Li, H., Deal, K.R., Luo, M.C., Ji, W., Distelfeld, A., and Dvorak, J., Introgression of the *Aegilops speltoides* *Su1-Ph1* suppressor into wheat, *Front. Plant Sci.*, 2017, vol. 8, pp. e.2163. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02163>
- Liu, D., Yang, H., Zhang, Z., Chen, Q., Guo, W., Rossi, V., Xin, M., Du, J., Hu, Z., Liu, J., Peng, H., Ni, Z., Sun, Q., and Yao, Y., An elite γ -gliadin allele improves end-use quality in wheat, *New Phytol.*, 2023, vol. 239, no. 1, pp. 87–101. <https://doi.org/10.1111/nph.18722>
- Mago, R., Tabe, L., Vautrin, S., Šimková, H., Kubaláková, M., Upadhyaya, N., Berges, H., Kong, X., Breen, J., Doležel, J., Appels, R., Ellis, J.G., and Spielmeier, W., Major haplotype divergence including multiple germin-like protein genes, at the wheat *Sr2* adult plant stem rust resistance locus, *BMC Plant Biol.*, 2014, vol. 14, pp. 379. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0379-z>
- McIntosh, R.A., Catalogue of Gene Symbols for Wheat, 2024. [Link: GrainGenes <https://wheat.pw.usda.gov/GG3/content/wheat-gene-catalogue-2024-released-covering-all-wgc-curations-until-2024>]
- Metakovsky, E.V., Gliadin allele identification in common wheat. II Catalogue of gliadin alleles in common wheat, *J. Genet. Breed.*, 1991, vol. 45, pp. 325–344
- Metakovsky, E.V., Novoselskaya, A.Y., Kopus, M.M., Sobko, T.A., and Sozinov, A.A., Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, *Theor. Appl. Genet.*, 1984, vol. 67, no. 6, pp. 559–568. <https://doi.org/10.1007/BF00264904>
- Metakovsky, E.V., Chernakov, V.M., Upelniek, V.P., Redaelli, R., Dardevet, M., Branlard, G., and Pogna, N.G., Recombination mapping of minor omega-gliadin-coding loci on chromosome 1A of common wheat: A revision, *J. Genet. Breed.*, 1996, vol. 50, pp. 277–286
- 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, *Crop J.*, 2018, vol. 6, no. 6, pp. 628–641. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.02.003>
- Metakovsky, E., Melnik, V.A., Pascual, L., and Wrigley, C.W., Gliadin genotypes worldwide for spring wheats (*Triticum aestivum* L.) 2. Strong differentiation of polymorphism between countries and regions of origin, *J. Cereal Sci.*, 2019, vol. 87, pp. 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.04.015>
- Morgun, V.V., Rybalka, O.I., and Morgun, B.V., New scientific approaches in genetic amelioration of cereal crops, *Fiziol. Rosl. Genet.*, 2021, vol. 53, pp. 187–215. <https://doi.org/10.15407/frg2021.03.187> (in Ukrainian)
- Payne, P.I., Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1987, vol. 38, pp. 141–153. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.38.060187.001041>
- 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. 113–121. <https://doi.org/10.1007/bf00223754>
- Semagn, K., Iqbal, M., Alachiotis, N., N'Diaye, A., Pozniak, C., and Spaner, D., Genetic diversity and selective sweeps in historical and modern Canadian spring wheat cultivars using the 90K SNP array, *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11, pp. 23773. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02666-5>
- Shewry, P., What is gluten-why is it special?, *Front. Nutr.*, 2019, vol. 6, pp. 101. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00101>
- Shewry, P., Wheat grain proteins: Past, present, and future. *Cereal Chem.*, 2022, vol. 100, no. 1, pp. 9–22. <https://doi.org/10.1002/cche.10585>
- Shewry, P.R., and Halford, N.G., Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization, *J. Exp. Bot.*, 2002, vol. 53, no. 370, pp. 947–958. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.947>
- Sobko, T.A., Identification of a locus controlling syn-

- thesis of alcohol-soluble proteins of winter wheat endosperm, *Visnyk Silskohospodarskoi Nauki*, 1984, vol. 7, pp. 78–80 (in Ukrainian)
- Sobko, T.A., and Poperelya, F.A., The frequency of alleles of gliadin-coding loci in different cultivars of winter common wheat, *Visnyk Silskohospodarskoi Nauki*, 1986, vol. 5, pp. 84–87 (in Ukrainian)
- Sozinov, A.A., and Poperelya, F.A., Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding, *Annales de Technologie Agricole*, 1980, vol. 29, pp. 229–245.
- Sozinov, A.A., Sozinov, I.A., Kozub, N.A., and Sobko, T.A., Stable gene associations in breeding and evolution of grasses, In: *Evolutionary Theory and Processes: Modern Perspectives. Papers in Honor of Eviatar Nevo*, Wasser, S., Ed., Kluwer Academic Publishers, 1999, pp. 97–113. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4830-6_7
- Wan, Y., Shewry, P.R., and Hawkesford, M.J., A novel family of γ -gliadin genes are highly regulated by nitrogen supply in developing wheat grain, *J. Exp. Bot.*, 2013, vol. 64, no. 1, pp. 161–168. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers318>
- Wang, D., Li, D., Wang, J., Zhao, Y., Wang, Z., Yue, G., Liu, X., Qin, H., Zhang, K., Dong, L., and Wang, D., Genome-wide analysis of complex wheat gliadins, the dominant carriers of celiac disease epitopes, *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, pp. 44609. <https://doi.org/10.1038/srep44609>
- Wieser, H., Koehler, P., and Scherf, K.A., Chemistry of wheat gluten proteins: Quantitative composition, *Cereal Chem.*, 2023a, vol. 100, no. 1, pp. 36–55. <https://doi.org/10.1002/cche.10553>
- Wieser, H., Koehler, P., and Scherf, K.A. Chemistry of wheat gluten proteins: Qualitative composition, *Cereal Chem.*, 2023b, vol. 100, no. 1, pp. 23–35 <https://doi.org/10.1002/cche.10572>
- Woychik, J.H., Boundy, J.A., and Dimler, R.J., Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1961, vol. 94, pp. 477–482. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90075-3](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90075-3)
- Yu, Z., Yunusbaev, U., Fritz, A., Tilley, M., Akhunova, A., Trick, H., and Akhunov, E., CRISPR-based editing of the ω - and γ -gliadin gene clusters reduces wheat immunoreactivity without affecting grain protein quality, *Plant Biotechnol. J.*, 2024, vol. 22, no. 4, pp. 892–903. <https://doi.org/10.1111/pbi.14231>

Надійшла в редакцію 20.07.2025
Після доопрацювання 05.08.2025
Прийнята до друку 18.11.2025