



УДК 575.113.2:633.11."321"

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЧТИ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ЧИСЛУ ДИСУЛЬФИДНЫХ СВЯЗЕЙ В ЗАПАСНЫХ БЕЛКАХ

**В.П. Нецветаев<sup>1,2</sup>**  
**Л.С. Пащенко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белгородский научно-исследовательский институт сельского хозяйства РАСХН  
Россия, 308001, г. Белгород,  
ул. Октябрьская, 58

<sup>2</sup>Белгородский государственный университет  
Россия, 308015, г. Белгород,  
ул. Победы, 85

E-mail: netsvetaev@bsu.edu.ru

Представлены результаты двухгодичного анализа почти изогенных линий яровой мягкой пшеницы по  $\Delta$ SDS-седиментации, отражающей число межмолекулярных дисульфидных связей белкового комплекса эндосперма. Носители генов *Lr 2a*, *Lr 2b*, *Q*, *Lr?* (АНК-41В) показали стабильно высокую агрегацию полипептидов. Формы с генетическими факторами *Hs?* (АНК-25А) и *Ig+Ig2* (АНК-33) характеризовались низкими показателями  $\Delta$ SDS-седиментации.

Ключевые слова:  $\Delta$ SDS-седиментации, дисульфидные связи, гены, изогенные линии, мягкая пшеница

### Введение

Считается, что наличие дисульфидных связей между полипептидами белкового комплекса формирует упругость и растяжимость клейковины [1, 2]. В свою очередь, эти особенности определяют вязко-эластичные свойства теста, его способность удерживать углекислый газ, разрыхляться и давать при выпечке упругий, эластичный, пористый мякиш хлеба. В слабой пшеничной клейковине дисульфидных и водородных связей меньше, чем в крепкой. В целом, хлебопекарные свойства муки зависят как от количества, так и от качества клейковины. В ГНУ БелНИИСХ Россельхозакадемии разработан прием количественного определения межмолекулярных дисульфидных связей в белковом комплексе муки [3, 4].

Целью исследования было выявление эффекта влияния локусов или сцепленных с ними генов в течение разных лет, определяющих качественные признаки и свойства мягкой пшеницы, на разработанный показатель количественной оценки числа межмолекулярных дисульфидных связей между полипептидами в муке.

### Материалы и методы

Материалом для анализа служили почти изогенные линии на основе сортов *Thatcher* и *Новосибирская 67* урожая 2008 и 2009 годов. Описание почти изогенных линий на основе сорта *Новосибирская 67*, полученных от оригинатора, дано С.Ф. Ковалем и др. [5]. Почти изогенные линии по факторам устойчивости к бурой ржавчине на основе *Thatcher* получены из ГНУ Краснодарского НИИСХ Россельхозакадемии (от И.Б. Абловой) в 2002 году. Оценка количества дисульфидных связей проводили с помощью методик SDS-седиментации [3, 4]. На основе муки 30% выхода исследуемого материала определяли показатель  $\Delta$ SDS-седиментации, который отражает наличие межмолекулярных дисульфидных связей между белками, формирующими клейковинный комплекс. Кроме этого, был проведен корреляционный анализ между некоторыми количественными признаками яровой мягкой пшеницы.

### Результаты исследований и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты, которые были получены с точки зрения связи генов устойчивости к листовой ржавчине (или локусов, сцепленных с ними) с показателем  $\Delta$ SDS-седиментации, отражающим количество межмолекулярных дисульфидных связей между белками.



Как видно, носители генов *Lr 11* и *Lr 38*, обуславливающих устойчивость растений пшеницы к листовой ржавчине, в оба года имели более низкие показатели  $\Delta$ SDS-седиментации по сравнению со средней по опыту. Следует отметить, что в 2009 году эти отклонения были невелики. Это совпадает с данными анализа сортов конкурсного испытания по этим годам [6]. В жаркое лето, чем отличался 2009 год, запасные белки эндосперма более склонны к агрегации, чем в более прохладные сезоны созревания зерна. В связи с этим различия между образцами нивелируются. В целом по опыту число дисульфидных связей в 2009 году превысило их в 2008 году на 14,7 мл, т.е. на 33,4%. Носитель гена *Lr 22* в среднем за это время также характеризовался достаточно низким показателем  $\Delta$ SDS-седиментации. Следовательно, эти формы обладают потенциально невысокими показателями качества зерна.

Среди изученного материала со стабильно положительной оценкой  $\Delta$ SDS-седиментации надо отметить носителей генов *Lr 2a* и *Lr 2b* (табл. 1). В то же время, достаточно высокие значения показателя, определяющего число межмолекулярных дисульфидных связей за исследованный период, имели образцы, несущие факторы *Lr 3*, *Lr 3bd*, *Lr 9*, *Lr 12*, *Lr 21*, *Lr 32*. В то же время, в 2009 году различия между образцами были менее значительным по сравнению с предшествующим годом. Так, если в 2008 году существенные отклонения от средних по опыту показали 22 образца, то в 2009 году – только 5 линий (табл. 1).

Таблица 1

**Отклонения от средней  $\Delta$ SDS-седиментации по годам исследования**  
( $X_{\text{ср.2008}}=43,8$  мл,  $X_{\text{ср.2009}}=58,46$  мл) у почти изогенных по факторам линий *Lr*  
яровой мягкой пшеницы на основе сорта *Thatcher* (2008, 2009 гг.)

Символ гена	Значения $\Delta$ SDS по годам		Отклонения от средних		Среднее значение $\Delta$ SDS * за 2 года
	2009	2008	2009	2008	
1	2	3	4	5	6
<i>Lr 1</i>	67.0	25.9	+9.1	-17.9	46.5
<i>Lr 3ka</i>	61.0	39.7	+3.1	-4.1	50.4
<i>Lr 14b</i>	62.5	39.5	+4.6	-4.3	51.0
<i>Lr 19</i>	55.8	29.3	+2.1	-14.5	42.6
<i>Lr 22</i>	64.5	7.2	+6.6	-36.6	35.9
<i>Lr 23</i>	65.3	24.8	+7.4	-19.0	45.1
<i>Lr 11</i>	56.5	16.9	-1.4	-26.9	36.7
<i>Lr 38</i>	55.2	23.9	-2.7	-19.9	39.6
<i>Lr 2a</i>	76.2	59.9	+18.3	+16.1	68.1
<i>Lr 2c</i>	67.5	49.7	+9.6	+5.9	58.6
<i>Lr 2b</i>	70.2	59.9	+12.3	+16.1	65.1
<i>Lr 3</i>	63.7	62.3	+5.8	+18.5	63.0
<i>Lr 3bd</i>	66.8	63.0	+8.9	+19.2	64.9
<i>Lr 9</i>	61.0	62.2	+3.1	+18.4	61.6
<i>Lr 10</i>	57.0	53.2	-0.9	+9.4	55.1
<i>Lr 12</i>	66.3	66.3	+8.4	+22.5	66.3
<i>Lr 13</i>	68.8	51.0	+10.9	+7.2	59.5
<i>Lr 15</i>	64.7	51.2	+6.8	+7.4	57.9
<i>Lr 17</i>	41.3	50.2	-16.6	+6.4	45.7
<i>Lr 18</i>	68.3	54.5	+10.4	+10.8	61.4
<i>Lr 21</i>	65.3	61.2	+7.4	+17.4	63.3
<i>Lr 24</i>	66.3	56.0	+8.4	+12.2	61.2
<i>Lr 32</i>	67.8	57.8	+9.9	+14.0	62.8
<i>Lr 34</i>	58.2	59.0	+0.3	+15.2	58.6
<i>Lr 35</i>	56.5	51.3	-1.4	+7.5	53.9
<i>Lr 44</i>	58.8	61.2	+0.9	+17.4	60.0
<i>Lr W</i>	39.7	49.8	-18.2	+6.0	44.8
<i>Lr 37</i>	52.7	56.0	-5.2	+12.2	54.4
<i>Lr 14c</i>	56.5	52.5	-1.4	+8.7	54.5
<i>Lr B</i>	61.0	52.3	+3.1	+8.5	56.7



Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
<b>Среднее по опыту</b>	<b>58.5</b>	<b>43.8</b>	<b>58.5</b>	<b>43.8</b>	<b>51.2</b>
НСР <sub>0.95</sub>	10.5	8.5	10.5	8.5	-

*Примечание:* жирным шрифтом отмечены отклонения, существенно отличающиеся от средних значений ΔSDS по опытам; \* – выделены образцы, отклоняющиеся от средней ΔSDS за годы исследования более, чем на 11.0 мл.

Характерно, что с положительным эффектом по числу межмолекулярных дисульфидных связей в 2009 году существенно отклонялись от средней по опыту линии, носители генов *Lr 2a*, *Lr 26* и *Lr 13*. Отрицательный эффект по данному показателю в этом году был связан с генами *Lr 17* и *Lr W*. В предыдущем году последние две формы, носители факторов *Lr 17* и *Lr W*, не выделялись по изученному биохимическому признаку [7]. Подобные результаты были получены и при исследовании почти изогенных линий яровой мягкой пшеницы на основе сорта *Новосибирская 67*. Так, в 2008 году существенное отклонение от средней по опыту было зарегистрировано у 14 образцов (табл. 2), а в 2009 году – лишь у 10. В то же время, только 4 линии существенно отклонялись от средней данного эксперимента в оба года исследований. Это носители генов *Q* и *Lr?* (АНК-41В) с положительным эффектом на число дисульфидных связей, а также линии с фактором *Hs?*, определяющим опущение влагалища листа (АНК-25А) и присутствие рецессивных генов *lg+lg2* (АНК-33), приводящее к безлигильности пшеничного растения с отрицательным действием на этот количественный признак (табл. 2).

Характерно, что образцы, несущие гены *R3* (АНК-1В); *B1*, *Hg* (АНК-13А); *Pp1*, *Pp2* (АНК-28А), показали неоднозначный эффект на величину дисульфидных связей в исследуемые годы (табл. 2).

Таблица 2

**Анализ почти изогенных линий на основе сорта *Новосибирская 67***

( $X_{cp, 2009} = 52,2$  мл.,  $X_{cp, 2008} = 44,3$  мл) по ΔSDS-седиментации

Символ гена (линия)	Хромосома	Значения ΔSDS по годам		Отклонения от средних	
		2009	2008	2009	2008
1	2	3	4	5	6
<i>R1</i> (АНК-1А)	3Dα	58.0	47.5	+5.8	+3.2
<i>R2</i> (АНК 1D)	3A	57.5	19.5	+5.3	<b>-24.8</b>
<i>W1</i> (АНК-26А)	2BS	52.5	53.0	+0.3	<b>+8.7</b>
<i>Lr9+Pm46</i> (АНК-4)		66.3	44.5	<b>+14.1</b>	+0.2
<i>Q</i> (АНК-15)		60.2	66.2	<b>+8.0</b>	<b>+21.9</b>
<i>H1</i> (АНК-34)	4A	47.7	47.0	-4.5	+2.7
<i>Lr?</i> (АНК-41В)	2B	67.2	56.5	<b>+15.0</b>	<b>+12.2</b>
? (опущ. лист) (АНК-7В)	?	61.0	47.0	<b>+8.8</b>	+2.7
<i>B1, Hd</i> (АНК-14А)	5AL, 4BS	57.8	56.0	+5.6	<b>+11.7</b>
<i>W2</i> (АНК-26В)	2D	52.7	49.0	+0.5	+4.7
? (опущ. лист) (АНК-7А)	?	54.8	40.8	+2.6	-3.5
? (опущ. лист) (АНК-7С)	?	56.0	25.0	+3.8	<b>-19.3</b>
? (опущ. влаг.) (АНК-25А)	?	40.8	23.4	<b>-11.4</b>	<b>-20.9</b>
<i>W</i> (АНК-26 D)	?	53.3	28.2	+1.1	<b>-16.1</b>
<i>R3</i> (АНК-1В)	3B	69.3	35.0	<b>+17.1</b>	<b>-9.3</b>
<i>Eg?</i> (АНК-30А)	?	51.3	11.6	-0.9	<b>-32.7</b>
<i>B1, Hg</i> (АНК-13А)	5AL, 4BS	59.5	2.0	<b>+7.3</b>	<b>-42.3</b>
<i>Hs?</i> (опущ. влаг.) (АНК-25В)	?	55.7	49.4	+3.5	-5.1
<i>Pp1, Pp2</i> (АНК-28А)	?	66	0.2	<b>+13.8</b>	<b>-44.1</b>
? <i>Pm</i> -сверхчувств. (АНК-6)		51.8	39.7	-0.4	-4.6
<i>Eg1</i> (АНК-30А)	7AL	51.3	29.2	-0.9	<b>-15.05</b>



Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6
<i>lg+lg2</i> (АНК-33)	?	43.7	26.8	-8.5	-18.0
? комп.колос (АНК-38)	2D	71.5	41.5	+19.3	-2.8
Среднее по опыту	-	<b>52.2</b>	<b>44.3</b>	<b>52.2</b>	<b>44.3</b>
НСР <sub>0.95</sub>	-	6.9	8.5	6.9	8.5

*Примечание:* жирным шрифтом отмечены отклонения, существенно отличающиеся от средних значений  $\Delta$ SDS по опытам.

В данном случае, если в 2008 году все эти три линии характеризовались отрицательными значениями  $\Delta$ SDS-седиментации по отношению к средней по опыту, то в 2009 году значительно превышали среднюю по данному признаку. Это еще раз свидетельствует о значительном влиянии среды на проявление исследованного количественного биохимического признака. Следовательно, в более жаркий летний период (каким был 2009 год) [7] эти образцы обладают повышенной агрегационной способностью запасных белков эндосперма, по сравнению с другими формами мягкой пшеницы.

Корреляционный анализ показал, что если в 2008 году  $\Delta$ SDS седиментации была отрицательно связана с массой зерновки и, соответственно, с урожайностью [7], то в 2009 году эта статистическая связь не прослеживалась (табл. 3). В то же время, урожайность в оба года исследований положительно коррелировала с крупностью зерна.

Таблица 3

**Коэффициент корреляции между количественными признаками у яровой мягкой пшеницы (n=116, 2009 г.)**

Показатели	$\Delta$ SDS седиментации	Масса 1000 зерен
Урожайность	0.0735±0.093	<b>0.4558±0.083***</b>
Масса 1000 зерен	0.1079±0.093	

Таким образом, выявлено значительное влияние средовой изменчивости на проявление такого количественного признака, отражающего количество межмолекулярных дисульфидных связей между полипептидами запасных белков, как  $\Delta$  SDS седиментация. Установлено, что стабильно повышенной агрегацией белковых молекул эндосперма обладают носители генов: *Lr 2a*, *Lr 2b*, *Q*, *Lr?* (АНК-41В). Стабильно пониженной агрегацией обладают формы с генетическими факторами: *Hs?*, обуславливающим проявление опушенности влагалища листа (АНК-25А) и *lg+lg2* (АНК-33), контролирующие безлигульность листьев растения пшеницы. Носители генов *R3* (АНК-1В); *V1*, *Hg* (АНК-13А); *Pp1*, *Pp2* (АНК-28А) в разные годы значительно и неоднозначно меняют агрегацию полипептидов запасных белков эндосперма с помощью дисульфидных связей.

**Список литературы**

1. Bietz J.A., Huebner F.R. Structure of glutenin: Achievements at the northern regional research center // Ann. Technol. Agr. – 1980. – Vol. 29. – P. 249-277.
2. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М: Наука. – 1985. – 272 с.
3. Нецветаев В.П., Лютенко О.В., Пащенко Л.С., Попкова И.И. Методы седиментации и оценка качества клейковины мягкой пшеницы // Научные ведомости Белгородского гос. ун-та. Серия: Естественные науки. – 2009. – Вып. 9/1, № 11(66). – С. 56-64.
4. Нецветаев В.П., Лютенко О.В., Пащенко Л.С., Попкова И.И. Оценка качества зерна мягкой пшеницы SDS-седиментацией // Сельскохозяйств. биология. – 2010. – № 3. – С. 63-70.
5. Коваль С.Ф., Коваль В.С., Шаманин В.П. Изогенные линии пшеницы. – Омск: Омск-бланкиздат. – 2001. – 148 с.
6. Нецветаев В.П., Лютенко О.В., Пащенко Л.С., Попкова И.И. Новые подходы к оценке качества зерна озимой мягкой пшеницы // Белгородский агромир. – 2010. – №1(54). – С. 27-29.



7. Пащенко Л.С., Нецветаев В.П. Анализ почти изогенных линий яровой мягкой пшеницы по качеству зерна // Научные ведомости Белгородского гос. ун-та. Серия: Естественные науки. – 2009. – № 11 (66). Вып. 9/2. – С. 25-29.

## CHARACTERISTICS OF THE ALMOST ISOGENIC LINES IN SPRING COMMON WHEAT ACCORDING TO THE NUMBER OF DISULFIDE BONDS IN THE STORAGE PROTEINS

**V.P. Netsvetaev<sup>1,2</sup>**  
**L.S. Pashchenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Belgorod Research Institute  
of Agriculture RAAS  
Oktyabr'skaya Str., 58, Belgorod,  
308001, Russia*

*E-mail: netsvetaev@bsu.edu.ru*

<sup>2</sup> *Belgorod State University  
Pobedy St., 85, Belgorod, 308015,  
Russia*

The results of the two-year analysis of the almost isogenic lines in spring common wheat on the  $\Delta$ SDS-sedimentation, which reflects the number of intermolecular disulfide bonds in the protein complex of endosperm are represented. The carriers of genes: *Lr 2a*, *Lr 2b*, *Q*, *Lr?* (ANK-41B) showed the stably high aggregation of polypeptide. Forms with the genetic factors *Hs?* (ANK-25A) and *lg+lg2* (AHK-33) were characterized by the low indices of  $\Delta$ SDS- sedimentation.

Key words:  $\Delta$ SDS-sedimentation, disulfide bonds, genes, isogenic lines, common wheat.