

# Алельний склад генів пуроїндолінів та кондитерські властивості борошна зразків пшениці м'якої озимої

О. Ю. Леонов, Я. Ю. Шарипіна, З. В. Усова, К. Ю. Суворова, Т. В. Сахно

Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН, пр-т Московський, 142, Харків, 61060, Україна,  
e-mail: yuriiev1908@gmail.com

**Мета.** Ідентифікувати за алельним станом гени *Pina-D1* і *Pinb-D1* сортів та ліній пшениці м'якої озимої селекції Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН для цільового використання в селекції на високі кондитерські показники борошна. **Методи.** Алельний стан генів *Pina-D1* і *Pinb-D1* ідентифікували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням алель-специфічних пар праймерів. Кондитерські властивості борошна оцінювали, визначивши показники якості: водопоглинальну здатність борошна (ВПЗ), пробне випікання печива та оцінювання його якості. **Результати.** За результатами ПЛР-аналізу 9 зразків мали алельний склад генів пуроїндолінів (*Pina-D1a* і *Pinb-D1a*), характерний для м'якозерних сортів. Кращим за кондитерськими властивостями було борошно ліній 'L137-26-0-2', 'L137-26-0-3', воно мало показник ВПЗ менший 55%, діаметр печива 85 мм, висоту – 10 мм, оцінку поверхні – 7–9 балів, що відповідало вимогам до м'якозерних пшениць. 76% зразків належали до твердозерних сортів та мали відповідні алелі генів *Pina-D1* або *Pinb-D1*. У дослідженні вибірці ген *Pina-D1* був представлений 2 алелями: *Pina-D1a* та *Pina-D1b*. 27 зразків мали алель *Pina-D1a*, що також дозволило використовувати їх в селекційних програмах на якість зерна при схрещуванні зі зразками типу soft, 4 – алель *Pina-D1b*. За геном *Pinb-D1* всі твердозерні зразки мали алель *Pinb-D1b*, а лінія 'Еритроспермум S 424-1/14' була гетерогенною *Pinb-D1a/Pinb-D1b*. Борошно цих зразків мало характерні для твердозерної пшениці показники якості: ВПЗ 68% і більше, діаметр печива 60–72 мм, висота – 13–15 мм, оцінка поверхні – 1–4 бали. **Висновки.** Виконані дослідження дозволили ефективно диференціювати селекційний матеріал і передати на кваліфікаційну експертизу сорт пшениці м'якої озимої кондитерського напряму використання 'L137-26-0-3' ('Мазурок'), який має алельний склад генів пуроїндолінів (*Pina-D1a* і *Pinb-D1a*), характерний для м'якозерних сортів, та високі кондитерські властивості борошна.

**Ключові слова:** пшениця м'яка озима; сорт; лінія; гени *Pina-D1* і *Pinb-D1*; водопоглинальна здатність; печivo.

## Вступ

Провідною зерновою культурою в Україні є пшениця озима (*Triticum aestivum* L.), за посівними площами (5,9–6,5 млн га) вона переважає інші колосові й становить основу формування хлібного балансу країни [1]. В умовах ринкової економіки, зростання конкуренції на ринку та у зв'язку зі вступом України до Світової організації торгівлі набуває особливої актуальності підвищення конкурентоспроможності сільськогосподарської продукції.

Особливу увагу слід приділяти покращенню конкурентоспроможності зернової продукції, у тому числі підвищенню її технічного та якісного рівня [2, 3]. Водночас вимоги споживачів до харчових і хлібопе-

карських властивостей зростають та розширяються, зокрема актуальним є створення сортів кондитерського напряму використання, необхідних для виготовлення бісквітів і печива [4].

Товарні класифікації зерна в деяких країнах Євросоюзу засновані на особливостях структури ендосперму, в Україні цей показник не враховують [5–8]. У світі успішно ведуть селекцію сортів пшениці спеціального призначення. Створено сорти пшениці типу soft, серед них 'Ami', 'MV Irma', 'Webster', 'Wisdom', 'FS 401' та ін., однак через низький рівень адаптивності до місцевих умов вирощування їх не впроваджують на території України [9]. На 2020 рік до Реєстру сортів рослин України внесено лише два сорти м'якозерної пшениці – 'Білява' (Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзвавства та сортовивчення, UA) та 'Аркеокс' (Limagrain Europe, FR), які мають необхідні для кондитерських пшениць показники [10].

Твердозерність пшениці м'якої є однією з найважливіших характеристик якості зерна і має безпосереднє відношення до розмелу зерна, замішування тіста та виготовлення хлібобулочних виробів. Залежно від проявлення цієї ознаки зерно пшениці може бути

Oleh Leonov

<https://orcid.org/0000-0001-9191-8658>

Yaroslava Sharypina

<https://orcid.org/0000-0001-5078-1608>

Zoya Usova

<https://orcid.org/0000-0002-0306-5809>

Kateryna Suvorova

<https://orcid.org/0000-0001-6658-1272>

Tamara Sakhno

<https://orcid.org/0000-0002-1740-4330>

віднесене до хлібопекарського або кондитерського типу [11]. При порівнянні з зернівками, які мають м'який ендосперм, у сортів з твердим ендоспермом розмел зерна – тривалий та енергоємний процес. У його результаті утворюється борошно з великими частинками, що містять велику кількість ушкоджених крохмальних зерен, завдяки чому воно має високу водопоглинальну здатність (ВПЗ, %). Через доступність великої кількості вуглеводів, як субстрату для дріжджів, таке борошно краще для випічки дріжджового хліба [12]. Якісні кондитерські вироби виготовляють зі спеціальних сортів борошна, яке отримують при помелі зерна специфічних м'якозерних (soft) сортів пшениці. Борошно пшениць кондитерського напряму використання суттєво відрізняється за технологічними властивостями від борошна пшениці хлібопекарської. Це борошно має характерну консистенцію, воно пухкіше за хлібопекарське і має нижчу питому вагу, значно нижчу ВПЗ порівняно з хлібопекарським. Такі технологічні характеристики борошна забезпечують вищу термопластичність тіста кондитерського замісу в перші хвилини випікання, завдяки чому печivo виходить пухкішим і якіснішим як за органолептичними, смаковими, так і біологічними характеристиками поживності продукту [4]. Дослідженнями характеру успадкування структури ендосперму встановлено, що відмінності сортів за цією ознакою визначають кілька зчеплених генів, розміщених на короткому плечі хромосоми 5D у локусі На (Hardness) [13, 14]. Гени кодують три поліпептиди, які утворюють білок фріаблін: пуроіндолін а (ген *Pina-D1*), пуроіндолін b (ген *Pinb-D1*) та Grain Softness Protein (ген *Gsp-1*). Зміни в амінокислотному складі цих поліпептидів тісно пов'язані із змінами в текстурі зерна. М'якозерні сорти пшениці містять одночасно «дикі» алелі гена *Pina-D1* (алель *Pina-D1a*) та гена *Pinb* (алель *Pinb-D1a*), тоді як твердозерні сорти пшениці містять або делецію гена *Pina-D1*, або одну з «мутантних» форм гена *Pinb-D1* (алелі *Pinb-D1b-g* або *Pinb-D1l*) [15–17].

Зважаючи на перспективність розширення селекційних напрямів з метою підвищення конкурентоспроможності сортів пшениці м'якої озимої в Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН виконують відповідні дослідження, а саме: пошук і залучення до селекції нового вихідного матеріалу для створення пшениць типу soft. Починаючи з 2001 року схрещують сорти та лінії з високим адаптивним потенціалом із м'якозерними

сортами та лініями селекції зарубіжних країн. У Національному центрі генетичних ресурсів рослин України зареєстровано м'якозерні лінії [18–20], ознакова колекція за кондитерськими властивостями [21], створено цілий ряд константних селекційних ліній кондитерського напряму використання, які наразі попередньо випробовуються, а сорт м'якозерної пшениці ‘Мазурок’ передано на кваліфікаційну експертизу до Українського інституту експертизи сортів рослин.

Ефективне використання іноземного матеріалу при гібридизації з адаптованими до умов України високоврожайними місцевими сортами можливе за ідентифікації останніх за алельним станом генів пуроіндолінів. На сьогодні найактивніше досліджують алельний склад цих генів у сортів, створених в Селекційно-генетичному інституті – Національному центрі насіннєзвавства та сортовивчення НААН, Миронівському інституті пшениці ім. В. М. Ремесла НААН, Полтавській державній аграрній академії [23, 24].

*Мета досліджень* – ідентифікувати за алельним станом гени *Pina-D1* і *Pinb-D1* зразків пшениці м'якої озимої селекції Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН для подальшого використання в селекції на високі кондитерські показники борошна.

### Матеріали та методика досліджень

У дослідженні використано зерно 25 сортів пшениці м'якої озимої, 12 селекційних ліній кондитерського напряму використання, що попередньо випробовуються, 3 лінії *Triticum spelta* L. Як стандарти технологічних показників борошна використовували м'якозерний сорт ‘Білява’ та твердозерний сорт ‘Приваблива’.

Попередній добір м'якозерних форм проводили, визначивши показники: ВПЗ борошна, пробної випічки та оцінювання якості печива [22].

Для ідентифікації алельного стану генів *Pina-D1* і *Pinb-D1* зразків пшениці м'якої озимої використано метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з залученням маркерів цільових генів.

Виділення ДНК здійснено з 5 зернин десяти індивідуальних рослин кожного зразка з використанням набору реагентів DiatomDNAPrep100 (Неоген). Ампліфікацію ДНК проведено в пробірках з ліофілізованим набором реактивів для ПЛР (GenePak PCR core) в ампліфікаторі Терцик (Росія).

Реакційну суміш для ПЛР-аналізу, що містила 20 нг виділеної ДНК, по 1 мкМ пря-

мого та зворотнього праймерів, доводили до кінцевого об'єму (20 мкл) розчинником із набору для ПЛР.

Ідентифікацію алельного стану генів *Pina-D1* та *Pinb-D1* здійснено праймерами, запропоно-

ваними Gautier et al. [25] та Klčová et al. [26]. Диференціацію *Pinb-D1* алелів (*pinb-D1a* та *pinb-D1b*) проведено алель-специфічними парами праймерів [27] та рестрикційним аналізом, запропонованим Klčová et al. [26] (табл. 1).

**Таблиця 1**  
**Праймери для ідентифікації алелів генів *Pina-D1* та *Pinb-D1***

Ген	Довжина фрагмента	Назва праймера	Послідовність
<i>Pina-D1</i>	330	<i>Pina-D1-F</i>	CCC TGT AGA GAC AAA GCT AA
		<i>Pina-D1-R</i>	TCA CCA GTA ATA GCC AAT AGT G
<i>Pinb-D1</i>	447	<i>Pinb-D1-F</i>	ATG AAG ACC TTA TTC CTC CTA
		<i>Pinb-D1-R</i>	TCA CCA GTA ATA GCC ACT AGG GAA
	250	<i>Pinb-glyR</i>	CTC ATG CTC ACA GCC GCC
		<i>Pinb-serR</i>	CTC ATG CTC ACA GCC GCT

Для ідентифікації використано сорти пшениці озимої з відомими алелями генів *Pina-D1* та *Pinb-D1*: 'Rheia' – *Pin a D1b*, 'Василина' – *Pin a D1a*, *Pin b D1 b*, *serine*, 'Мирлебен' – *Pin a D1a*, *Pin b D1a*, *glycine* [23, 25].

Ампліфікацію для всіх пар праймерів проведено за наступних умов: денатурація 95 °С (5 хв), потім 35 циклів: 94 °С (30 сек), 60 °С (30 сек), 72 °С (1 хв 15 сек), фінальна елонгація 72 °С (7 хв).

Продукти ампліфікації візуалізували методом електрофорезу в 2,0% агарозному гелі в боратному буфері, для моніторингу ДНК в ультрафіолеті використовували бромистий етидій за стандартною процедурою [28]. Електрофорез проводили у горизонтальному приладі Hoefer SuperSub100. Як маркер мо-

лекулярної маси використовували M 50 GENPAK®. Отримані гелі документували з використанням фотокамери Nikon D50.

Для визначення розміру продуктів ампліфікації застосовували демоверсію програми TotalLab 120 (<http://www.totallab.com>).

### Результати досліджень

Сорти та нові селекційні лінії пшениці озимої попередньо диференціювали за кондитерськими властивостями, визначивши технологічні показники кондитерської якості: ВПЗ борошна, пробної випічки та оцінювання якості печива [22] (табл. 2). Результати досліджень свідчать, що якість кондитерських виробів істотно змінювалась залежно від зразка.

**Таблиця 2**  
**Кондитерські властивості зразків пшениці м'якої озимої (2016–2019 рр.)**

Назва зразка	Оцінювання печива				ВПЗ, %
	діаметр (D), мм	товщина (T), мм	D/T	оцінювання поверхні печива, бал	
'Приваблива' – St	79,17	12,27	6,48	4	62,7
'Метелиця харківська'	80,48	11,13	7,27	6	62,2
'Еритроспермум 533-16'	82,17	10,82	7,64	7	65,3
'Лютесценс 652-16'	73,67	12,13	6,09	7	68,4
'L 139-03 КН'	81,57	11,00	7,50	7	62,7
'Еритроспермум S 424-1/14'	80,00	11,14	7,28	6	59,1
'Еритроспермум 1002-16'	77,67	11,57	6,73	7	66,1
'Еритроспермум 1003-16'	80,33	11,07	7,26	7	61,0
'L137-26-0-2'	85,10	10,07	8,61	8	52,7
'L137-26-0-3'	86,00	9,95	8,68	9	53,1
'L202-20'	80,04	11,32	7,20	6	56,8
'S 492-3/14'	77,00	11,27	6,83	9	62,3
'VS 2019-1/15'	76,67	12,03	6,37	7	65,8
'VS 497-2/14'	77,33	11,50	6,73	7	68,4
'T. spelta 1139-16'	77,33	12,77	6,06	4	71,8
'T. spelta 1140-16'	74,67	12,30	6,07	3	68,8
'T. spelta 1145-16'	76,67	11,97	6,41	1	69,0
'Дорідна'	77,33	11,73	6,59	4	69,9
'Привітна'	78,67	12,07	6,52	4	72,4
'Принада'	83,33	12,03	6,93	3	68,5
'Вигадка'	76,67	12,43	6,17	4	66,3
'Фермерка'	74,67	12,83	5,82	4	68,3

Назва зразка	Оцінювання печива				ВПЗ, %
	діаметр (D), мм	товщина (T), мм	D/T	оцінювання поверхні печива, бал	
'Проня'	77,67	12,23	6,35	4	65,9
'Досконала'	77,33	12,37	6,25	4	66,6
'Розкішна'	77,33	11,93	6,48	3	71,0
'Альянс'	76,00	11,63	6,53	4	64,3
'Здобна'	76,67	11,53	6,65	3	71,9
'Гармоніка'	77,33	12,20	6,34	4	72,7
'Краса ланів'	79,67	12,20	6,53	4	73,3
'Патріотка'	77,00	12,43	6,19	4	74,1
'Запашна'	77,45	11,58	6,70	4	67,6
'Білява' – St	86,70	10,10	8,60	6	54,6

Відомо, що чим більший діаметр печива та менша товщина, тим вища його якість [22]. Найбільше відношення діаметра печива до

його товщини отримано для борошна пшениці ліній 'L137-26-0-3' – 8,68, 'L137-26-0-2' – 8,61, на рівні стандарту – м'якозерного сорту

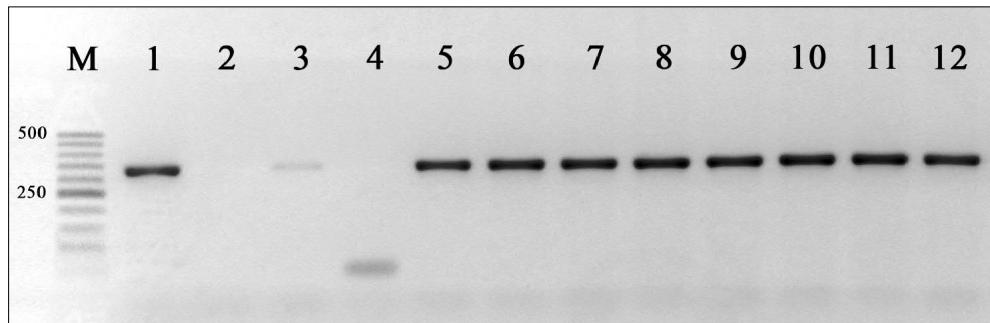
Таблиця 3  
Алельний стан генів *Pin a* та *Pin b* зразків пшениці м'якої озимої

№ п/п	Назва зразка	<i>Pina-D1</i> алель	<i>Pinb-</i> <i>D1</i> алель	Амінокислота
1	'Приваблива'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
2	'Метелица'	<i>Pina-D1b</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
3	'Еритроспермум 533-16'	<i>Pina-D1b</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
4	'Лютесценс 652-16'	<i>Pina-D1b</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
5	'L 139-03 КН'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
6	'Еритроспермум S 424-1/14'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
			<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
7	'Еритроспермум 1002-16'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
8	'Еритроспермум 1003-16'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
9	'L137-26-0-2'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
10	'L137-26-0-3'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
11	'L202-20'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
12	'S 492-3/14'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
13	'VS 2019-1/15'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
14	'VS 497-2/14'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine
15	'T. spelta 1139-16'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
16	'T. spelta 1140-16'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
17	'T. spelta 1145-16'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
18	'Дорідна'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
19	'Привітна'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
20	'Принада'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
21	'Вигадка'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
22	'Фермерка'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
23	'Проня'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
24	'Досконала'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
25	'Розкішна'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
26	'Коровайна'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
27	'Альянс'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
28	'Василина' – St	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
29	'Астет'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
30	'Здобна'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
31	'Гармоніка'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
32	'Краса ланів'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
33	'Патріотка'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
34	'Гайок'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
35	'Статна'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
36	'Запашна'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
37	'Диво'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
38	'Bona Dea'	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1b</i>	<b>serine</b>
39	'Rheia' – St	<i>Pina-D1b</i>	–	–
40	'Мирлебен' – St	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>	glycine

‘Білява’ та істотно вищим порівняно зі стандартом твердозерним сортом ‘Приваблива’ – 6,48. Для цих зразків характерними були низькі показники ВПЗ 53,1% та 52,7%, відповідно. Твердозерні сорти пшениці озимої ‘Фермерка’, ‘Досконала’, ‘Розкішна’, ‘Альянс’, ‘Здобна’, ‘Гармоніка’, ‘Краса ланів’, ‘Патріотка’ і ряд ліній мали низький показник співвідношення діаметра печива до його товщини (5,82–6,82) та, відповідно, високі показники ВПЗ 65,9–74,1%. Лінії *T. spelta* за кондитерськими показниками борошна віднесено до

твердозерних зразків. Визначено алельний стан генів *Pina-D1* та *Pinb-D1* 40 сортів і ліній пшениці озимої (табл. 3).

У результаті дослідження з використанням алель-специфічних праймерів наявність фрагмента 330 п.н., який відповідає *Pina-D1a* алелю гена пуроіндоліну *a* [26], встановлено у 36 зразків пшениці. Відсутність продукту ампіліфікації на електрофореграмі відповідає *Pina-D1b* алелю, який ідентифіковано у зразків ‘Метелиця харківська’, ‘Еритроспермум 533-16’, ‘Лютесценс 652-16’ (рис. 1).

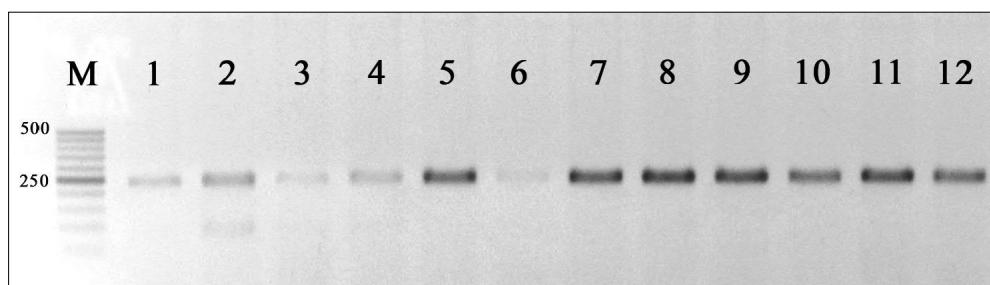


**Рис. 1. Електрофореграма продуктів ПЛР із специфічними праймерами до гена *Pna-D1*:**

M – маркер молекулярної маси M 50 GENPAK®; 1 – сорт ‘Приваблива’, 2 – сорт ‘Метелиця харківська’, 3 – ‘Еритроспермум 533-16’, 4 – ‘Лютесценс 652-16’, 5 – ‘L 139-03 КН’, 6 – ‘Еритроспермум S 424-1/14’, 7 – ‘Еритроспермум 1002-16’, 8 – ‘Еритроспермум 1003-16’, 9 – ‘L137-26-0-2’, 10 – ‘L137-26-0-3’, 11 – ‘L202-20’, 12 – ‘S 492-3/14’

У результаті аналізу алельного стану гена пуроіндоліну *b* у ліній ‘L139-03 КН’, ‘L137-26-0-2’, ‘L137-26-0-3’ та інших (рис. 2) вста-

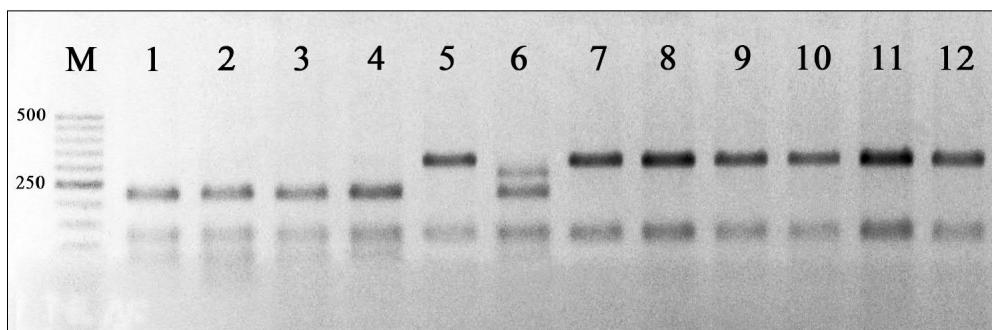
новлено наявність гліцину в положенні 46 поліпептиду, про що свідчать продукти ампіліфікації 250 п.н.



**Рис. 2. Електрофореграма продуктів ПЛР із праймерами до *Pinb-D1* алелів (див. опис до рис. 1)**

Відомо, що, зважаючи на відмінність алель-специфічних пар праймерів лише за одним нуклеотидом, існує ймовірність помилок у визначенні *Pinb-D1* алелів з використанням праймерів до нуклеотидної послідовності гліцину [27]. Так, при проведенні ПЛР з праймерами, що визначають серин в положенні 46 білка *pin-b*, продукт ампіліфікації розміром 250 п.н. отримано в усіх досліджуваних сортів. Тому для отримання достовірної інформації щодо алельного стану *Pinb-D1* в дослідженні, виконано аналіз з використанням ендонуклеази рестрикції

*MbiI* (*BsrBI*). Проведено ампіліфікацію з використанням праймерів до гена *Pinb-D1*, сконструйованих Giroux et al. [25], отримано продукт ампіліфікації 447 п.н., який надалі розщеплено ендонуклеазою. Фермент упізнає нуклеотидну послідовність CCGCTTC, яка визначає зміну гліцину на серин. Після інкубації з рестриктазою продукти ампіліфікації 447 п.н. у разі відсутності мутації на електрофореграмі спостерігали амплікони 320 п.н. У генотипів, де у результаті мутації гліцин замінено на серин, амплікони склали 200 п.н. (рис. 3).



**Рис. 3. Електрофореграма продуктів ПЛР з праймерами до нуклеотидної послідовності серину у визначені *Pinb-D1* алелів (див. опис до рис. 1)**

У результаті аналізу встановлено наявність серину в положенні 46 білка пуроіндоліна b у 30 із 40 зразків.

За результатами ПЛР-аналізу алельного складу пуроіндолінових генів із загальної кількості 37 зразків 9 (24%) – мали алельний склад генів пуроіндолінів, характерний для м'якозерних сортів, *Pina-D1a* і *Pinb-D1a* ('L139-03КН', 'L137-26-0-2', 'L137-26-0-3', 'L202-20', 'Еритроспермум 1002-16', 'Еритроспермум 1003-16', 'S 492-3/14', 'VS 2019-1/15', 'VS 497-2/14'). Для створення цих ліній було використано м'якозерні сорти пшениці озимої 'MV Homer' (HUN), 'Warwick', 'Webster' (CAN), 'Eva' (SVK), 'FS 401' (USA), 'Оксана', 'Білява' (UKR). Кращими за кондитерськими показниками серед м'якозерних зразків були лінії 'L137-26-0-2', 'L137-26-0-3', які мали показник ВПЗ менше 55%, діаметр печива – 85 мм, висоту – 10 мм, оцінку поверхні печива – 8–9 балів. Інші 7 ліній за кондитерськими властивостями борошна характеризувались як задовільні.

76% зразків мали алелі генів *Pina-D1* і *Pinb-D1*, характерні для твердозерних сортів. У дослідженні вибірці твердозерних зразків ген *Pina-D1* представлено двома алелями: *Pina-D1a* та *Pina-D1b*. 27 зразків пшениці озимої мали алель *Pina-D1a*, що дозволяє використовувати їх у селекції на м'якозерність при скрещуванні зі зразками типу soft, 3 зразки – алель *Pina-D1b* ('Метелиця харківська', 'Еритроспермум 533-16', 'Лютесценс 652-16'). За геном *Pinb-D1* усі твердозерні зразки мали алель *PinbD1b*, а лінія 'Еритроспермум S 424-1/14' була гетерогеною. Ці зразки мали характерні для твердозерної пшениці показники якості: ВПЗ – 68% і вище, діаметр – 60–72 мм, висота печива – 13–15 мм, оцінка поверхні – 1–4 бали.

Лінії *T. spelta*, заличені до аналізу, як за алелями генів пуроіндолінів, так і за технологічними кондитерськими властивостями борошна увійшли до групи твердозерних зразків.

## Висновки

Встановлено алельний стан генів *Pina-D1* та *Pinb-D1* для 37 сортів і ліній пшениці м'якої озимої селекції Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН.

Лінії 'L139-03КН', 'L137-26-0-2', 'L137-26-0-3', 'L202-20', 'Еритроспермум 1002-16', 'Еритроспермум 1003-16', 'S 492-3/14', 'VS 2019-1/15', 'VS 497-2/14' мали алельний стан генів пуроіндолінів, характерний для м'якозерних сортів (*Pina-D1a*; *Pinb-D1a*), добри та задовільні кондитерські показники якості борошна.

76% досліджених сортів мали алельний склад пуроіндолінів *Pina-D1a*/ *Pina-D1b*; *Pinb-D1b*, тобто характеризувалися як твердозерні зразки *Triticum aestivum* L.

Виконані дослідження дозволили ефективно диференціювати створений лінійний матеріал і передати на кваліфікаційну експертизу сорт пшениці м'якої озимої кондитерського напряму використання 'L137-26-0-3' ('Мазурок') з генетично підтвердженою м'якозерною структурою ендосперму та високими кондитерськими властивостями борошна; передати на реєстрацію до НЦГРРУ лінії пшениці озимої з високими кондитерськими властивостями.

'Мазурок' ('L 137-26-0-3') – м'якозерний сорт пшениці озимої кондитерського напряму використання. Сорт високоврожайний (7,93 т/га), високостійкий до ураження збудниками септоріозу листя (7 балів), борошнистої роси (7 балів), морозостійкість становить 7 балів. За технологічними показниками відносять до типу м'якозерної червонозерної пшениці озимої, має підвищені кондитерські властивості: низький уміст білка в зерні – 11%, склоподібність – 25%, силу борошна – 73 о. а., ВПЗ борошна – 53%, високі лінійні розміри печива, відношення D/T, високу оцінку поверхні печива – 9 балів.

## Використана література

1. Даниленко В. І., Коваленко М. В., Салашна В. О. Сучасний стан виробництва продукції рослинництва в Україні. *Держава та регіони. Сер.: Економіка та підприємництво.* 2019. № 4. С. 93–98. doi: 10.32840/1814-1161/2019-4-16
2. Патика Н. І., Пріб К. А. Світовий ринок рослинницьких продуктів та позиції України на ньому. *Проблеми системного підходу в економіці.* 2019. № 1. С. 107–104. doi: 10.32782/2520-2200/2019-1-16
3. Ляховська О. В. Тенденції експорту зерна і продуктів його переробки в Україні. *Держава та регіони. Сер.: Економіка та підприємництво.* 2019. № 5. С. 44–48. doi: 10.32840/1814-1161/2019-5-8
4. Рибалка О. І., Моргун В. В., Моргун Б. В., Поліщук С. С. Генетичні основи нового напряму селекції оригінальних за якістю зерна класів пшениці (*Triticum aestivum* L.) і тритікале (*4Triticosecale* Wittmack). *Физиологія растений і генетика.* 2019. Т. 5, № 3. С. 207–240. doi: 10.15407/frg2019.03.207
5. Ransom J. Hard white wheat: producing North Dakota's next market opportunities. Fargo, ND: North Dakota State University, 2015. 8 p. URL: <https://www.ag.ndsu.edu/publications/crops/hard-white-wheat-producing-north-dakotas-next-market-opportunity/a1310.pdf>
6. Nandy S., Chen Q., Sun S. C. et al. Nutritional analyses and their inheritance properties in colored wheat seed lines from different origins using near-infrared spectroscopy. *Amer. J. Plant Sci. Biotechnol.* 2008. Vol. 2, Iss. 2. P. 74–79.
7. Глупак З. І. Стандартизація та сертифікація зерна в Україні та країнах Європейського союзу. *Наукові горизонти.* 2019. Т. 80, № 7. С. 63–69. doi: 10.33249/2663-2144-2019-80-7-63-69
8. Пшениця. Технічні умови : ДСТУ 3768:2019. [Чинний від 2019-06-10]. Київ : ДП «Укр НДЦ», 2019. 19 с.
9. Ярош А. В., Рябчун В. К., Леонов О. Ю. та ін. Вихідний матеріал для створення м'якозерних форм пшениці м'якої озимої. *Генетичні ресурси рослин.* 2015. № 16. С. 31–42.
10. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2020 рік. URL: <https://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslin>
11. Pasha I., Anjum F. M., Morris C. F. Grain hardness: a major determinant of wheat quality. *Food Sci. Tech. Int.* 2010. Vol. 16, Iss. 6. P. 511–522. doi: 10.1177/1082013210379691
12. Mohammadi M., Mehrazar E., Izadi-Darbandi A., Najafian G. Genotype Diversity of Puroindoline Genes (*Pina-D1* and *Pinb-D1*) in Bread Wheat Cultivars Developed in Iran and CIMMYT. *J. Crop Improv.* 2013. Vol. 27, Iss. 4. P. 361–375. doi: 10.1080/15427528.2013.775988
13. Bhave M., Morris C. F. Molecular genetics of puroindolines and related genes: allelic diversity in wheat and other grasses. *Plant Mol. Biol.* 2008. Vol. 66, Iss. 3. P. 205–219. doi: 10.1007/s11103-007-9263-7
14. Morris C. F. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Mol. Biol.* 2002. Vol. 48, Iss. 5–6. P. 633–647. doi: 10.1023/a:1014837431178
15. Giroux M. J., Morris C. F. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998. Vol. 95, Iss. 11. P. 6262–6266. doi: 10.1073/pnas.95.11.6262
16. Martin J. M., Meyer F. D., Smidansky E. D. et al. Complementation of the pina (null) allele with the wild type pina sequence restores a soft phenotype in transgenic wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2006. Vol. 113, Iss. 8. P. 1563–1570. doi: 10.1007/s00122-006-0404-1
17. Mark W., Wan Y., Paola T. et al. Identification and genetic mapping of variant forms of puroindoline b expressed in developing wheat grain. *J. Cereal Sci.* 2008. Vol. 48, Iss. 3. P. 722–728. doi: 10.1016/j.jcelsci.2008.05.006
18. Реєстрація зразків генофонду рослин в Україні. *Генетичні ресурси рослин.* 2016. № 19. С. 138.
19. Реєстрація зразків генофонду рослин в Україні. *Генетичні ресурси рослин.* 2017. № 20. С. 113–116.
20. Реєстрація зразків генофонду рослин в Україні. *Генетичні ресурси рослин.* 2019. № 24. С. 152.
21. Реєстрація колекції зразків генофонду рослин в Україні. *Генетичні ресурси рослин.* 2017. № 20. С. 133.
22. Оценка качества зерна. Справочник / сост.: И. И. Василенко, В. И. Комаров. Москва : Агропромиздат, 1987. С. 68–70.
23. Chebotar S. V., Kurakina K. O., Khokhlov O. M. et al. Phenotypic effects of alleles of the common wheat puroindoline genes. *Cytol. Genet.* 2012. Vol. 46, Iss. 4. P. 202–209. doi: 10.3103/S0095452712040056
24. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Топораш М. К. та ін. Характеристика сортів пшениці селекції Полтавської державної аграрної академії за допомогою маркерів до генів, що визначають важливі господарсько-агрономічні ознаки. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* 2017. Т. 15, № 2. С. 187–195. doi: 10.7124/visnyk.utgis.15.2.878
25. Gautier M. F., Aleman M. E., Guirao A. *T. aestivum* puroindolines, two basic cystine-rich seeds protein: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. *Plant Mol. Biol.* 1994. Vol. 25, Iss. 1. P. 43–57. doi: 10.1007/BF00024197
26. Klčová L., Mikulíková D., Masar Š., Žofajová A. Evaluation of Slovak winter wheat quality in terms of puroindoline genes. *Agriculture (Polnohospodárstvo).* 2015. Vol. 61, Iss. 3. P. 88–96. doi: 10.1515/agri-2015-0014
27. Giroux M. J., Morris C. F. A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin. *Theor. Appl. Genet.* 1997. Vol. 95. P. 857–864. doi: 10.1007/s001220050636
28. Маниatis Т., Фрич Э., Сэмбрюк Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Москва : Мир, 1984. 480 с.

## References

1. Danilenko, V., Kovalenko, M., & Salashna, V. (2019). The current state of crop production in Ukraine. *Derzhava ta rehiony. Ser.: Ekonomika ta pidpriemnytstvo* [State and regions. Ser.: Economics and Business], 4, 93–98. doi: 10.32840/1814-1161/2019-4-16 [in Ukrainian]
2. Patyka, N., & Prib, K. (2019). Crop products world market and Ukraine's positions on it. *Problemy systemnogo pidkhodu v ekonomitsi* [Problems of Systemic Approach in the Economy], 1, 107–104. doi: 10.32782/2520-2200/2019-1-16 [in Ukrainian]
3. Liahovska, O. V. (2019). Trends export of grain and its products in Ukraine. *Derzhava ta rehiony. Ser.: Ekonomika ta pidpriemnytstvo* [State and regions. Ser.: Economics and Business], 5, 44–48. doi: 10.32840/1814-1161/2019-5-8 [in Ukrainian]
4. Rybalka, O. I., Morgun, V. V., Morgun, B. V., & Polishchuk, S. S. (2019). Genetic background for breeding of new quality classes of wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale (*4Triticosecale* Wittmack). *Fiziol. Rast. Genet.* [Plant Physiology and Genetics], 51(3), 207–240. doi: 10.15407/frg2019.03.207 [in Ukrainian]
5. Ransom, J. (2015). Hard white wheat: producing North Dakota's next market opportunities., Fargo, ND: North Dakota State University. Retrieved from <https://www.ag.ndsu.edu/publications/crops/hard-white-wheat-producing-north-dakotas-next-market-opportunity/a1310.pdf>
6. Nandy, S., Chen, Q., Sun, Sh., Ahmad, F., Graf, R., & Kreliuk, G. (2008). Nutrition analayses and their inheritance properties in colored wheat seed lines from different origins using near-infrared spectroscopy. *Amer. J. Plant Sci. Biotechnol.*, 2(2), 74–79.
7. Hlupak, Z. I. (2019). Standardization and certification of grain in Ukraine and the European Union countries. *Naukovi horyzonty* [Scientific Horizons], 7, 63–69. doi: 10.33249/2663-2144-2019-80-7-63-69 [in Ukrainian]
8. Pshenytsia. Tekhnichni umovy: DSTU 3768:2019 [Wheat. Specifications: State Standart 3768:2019]. (2019). Kyiv: DP "Ukr NDNTs". [in Ukrainian]
9. Yarosh, A. V., Ryabchun, V. K., Leonov, O. Yu., Didenko, S. Yu., & Koptynina, L. P. (2015). Source material for the creation of soft grain types of winter bread wheat with valuable economic

- traits. *Henetychni resursy roslyn* [Plant Genetic Resources], 16, 31–42 [in Ukrainian]
10. *Derzhavnyi reestr sortiv, prydatnykh dla poshirennia v Ukrayini na 2020 r.* [State register of plant varieties suitable for dissemination in Ukraine in 2020]. (2020). Retrieved from <http://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslin> [in Ukrainian]
  11. Pasha, I., Anjum, F. M., & Morris, C. F. (2010). Grain hardness: a major determinant of wheat quality. *Food Sci Tech Int.*, 16(6), 511–522. doi: 10.1177/1082013210379691
  12. Mohammadi, M., Mehrazar, E., Izadi-Darbandi, A., & Najafian, G. (2013). Genotype Diversity of Puroindoline Genes (*Pina-D1* and *Pinb-D1*) in Bread Wheat Cultivars Developed in Iran and CIMMYT. *J. Crop Improv.*, 27(4), 361–375. doi: 10.1080/15427528.2013.775988
  13. Bhave, M., & Morris, C. F. (2008). Molecular genetics of puroindolines and related genes: allelic diversity in wheat and other grasses. *Plant Mol. Biol.*, 66(3), 205–219. doi: 10.1007/s1103-007-9263-7
  14. Morris, C. F. (2002). Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Mol. Biol.*, 48(5–6), 633–647. doi: 10.1023/a:1014837431178
  15. Giroux, M. J., & Morris, C. F. (1998). Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95(11), 6262–6266. doi: 10.1073/pnas.95.11.6262
  16. Martin, J. M., Meyer, F. D., Smidansky, E. D., Wanjugi, H., Blechl, A. E., & Giroux, M. J. (2006). Complementation of the *pina* (null) allele with the wild type *pina* sequence restores a soft phenotype in transgenic wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 113(8), 1563–1570. doi: 10.1007/s00122-006-0404-1
  17. Mark, W., Wan, Y., Paola, T., Michelle, L., John, S., Rowanac, M., & Peter, S. (2008). Identification and genetic mapping of variant forms of puroindoline b expressed in developing wheat grain. *J. Cereal Sci.*, 48(3), 722–728. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.05.006
  18. Registration of plant gene pool accessions in Ukraine. (2016). *Henetychni resursy roslyn* [Plant Genetic Resources], 19, 138. [in Ukrainian]
  19. Registration of plant gene pool accessions in Ukraine. (2017). *Henetychni resursy roslyn* [Plant Genetic Resources], 20, 113–116. [in Ukrainian]
  20. Registration of plant gene pool accessions in Ukraine. (2019). *Henetychni resursy roslyn* [Plant Genetic Resources], 24, 152. [in Ukrainian]
  21. Registration of plant gene pool collections in Ukraine. (2017). *Henetychni resursy roslyn* [Plant Genetic Resources], 20, 133. [in Ukrainian]
  22. Vasilenko, I. I., & Komarov, V. I. (Eds.). (1987). *Otsenka kachestva zerna* [Assessment of grain quality]. Moscow: Agropromizdat. [in Russian]
  23. Chebotar, S. V., Kurakina, K. O., Khokhlov, O. M., Chebotar, G. O., & Sivopal, Yu. M. (2012). Phenotypic effects of alleles of the common wheat puroindoline genes. *Cytol Genet.*, 46(4), 202–209. doi: 10.3103/S0095452712040056
  24. Chebotar, G. O., Chebotar, S. V., Toporash, M. K., Bakuma, A. O., & Tyshchenko, V. M. (2017). Characteristics of wheat varieties of Poltava State Agrarian Academy breeding with gene markers that determine important agronomical traits. *Visn. ukr. tov. genet. sel.* [The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders], 15(2), 187–195. doi: 10.7124/visnyk.utgis.15.2.878 [in Ukrainian]
  25. Gautier, M. F., Aleman, M. E., & Guirao, A. (1994). *T. aestivum* puroindolines, two basic cystine-rich seeds protein: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. *Plant Mol. Biol.*, 25(1), 43–57. doi: 10.1007/BF00024197
  26. Klčova, L., Mikulíkova, D., Masar, S., & Zofajova, A. (2015). Evaluation of Slovak winter wheat quality in terms of puroindoline genes. *Agriculture* [Agriculture]. 61(3), 88–96. doi: 10.1515/agri-2015-0014 [in Slovaki]
  27. Giroux, M. J., & Morris, C. F. (1997). A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin. *Theor. Appl. Genet.*, 95, 857–864. doi: 10.1007/s001220050636
  28. Maniatis, T., Fritsch, E. F., & Sambrook, J. (1984). *Metody geneticheskoy inzhenerii. Molekulyarnoe klonirovanie.* [Methods of genetic engineering. Molecular cloning]. Moscow: Mir. [in Russian]

УДК 633.11.1:577.21:664.681.15

**Леонов О. Ю., Шарыпина Я. Ю., Усова З. В., Суворова Е. Ю., Сахно Т. В.** Аллельный состав генов пуроиндолинов и кондитерские свойства муки образцов пшеницы мягкой озимой // Plant Varieties Studying and Protection. 2020. Т. 16, № 2. С. 217–225. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.2.2020.209258>

Институт растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН Украины, пр-т Московский, 142, г. Харьков, 61060, Украина,  
e-mail: yuriev1908@gmail.com

**Цель.** Идентифицировать аллельное состояние генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* сортов и линий пшеницы мягкой озимой селекции Института растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН для целевого использования в селекции на высокие кондитерские показатели муки. **Методы.** Аллельное состояние генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* идентифицировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием аллель-специфических пар праймеров. Кондитерские свойства муки оценивали, определив показатели качества: водопоглотительную способность муки (ВПС), пробную выпечку печенья и оценку его качества. **Результаты.** По результатам ПЦР-анализа 9 образцов имели аллельное состояние генов пуроиндолинов, характерное для мягкоизёрных сортов – *Pina-D1a* и *Pinb-D1a*. Лучшей по кондитерским свойствам была мука линий пшеницы 'L137-26-0-2', 'L137-26-0-3', она имела показатель ВПС меньше 55%, диаметр печенья 85 мм, высоту – 10 мм, оценка поверхности печенья составляла 7–9 баллов, что соответствовало требованиям к мягкоизёрным пшеницам. 76% изученных образцов относились к твёрдоизёрным сортам и имели соответственно-

щие аллели генов *Pina-D1* или *Pinb-D1*. В опытной выборке образцов ген *Pina* был представлен 2 аллелями: *Pina D1a* и *Pina D1b*. 27 образцов имели аллель *Pina D1a*, это также позволило использовать их в селекции на качество зерна при скрещивании с сортами типа *soft*, 4 – аллель *Pina D1b*. По гену *Pinb* все твёрдоизёрные образцы имели аллель *Pinb D1b*, а линия 'Эритроспермум S 424-1/14' была гетерогенной *Pinb D1a/ Pinb D1b*. Эти образцы имели соответствующие твёрдоизёрным пшеницам показатели качества муки: ВПС 68% и выше, диаметр печенья 60–72 мм, высота – 13–15 мм, оценка поверхности – 1–4 балла. **Выводы.** Проведенные исследования позволили эффективно дифференцировать селекционный материал и передать на квалификационную экспертизу сорт пшеницы мягкой озимой кондитерского направления использования 'L137-26-0-3' ('Мазурок'), который имеет аллельный состав генов пуроиндолинов (*Pina-D1a* и *Pinb-D1a*), характерный для мягкоизёрных сортов, и высокие кондитерские свойства муки.

**Ключевые слова:** пшеница мягкая озимая; сорт; линия; гены *Pina* и *Pinb*; водопоглотительная способность; печенье.

UDC 633.11.1:577.21:664.681.15

**Leonov, O. Yu., Sharypina, Ya. Yu., Usova, Z. V., Suvorova, K. Yu., & Sakhno, T. V.** (2020). Allelic composition of puroindolin genes and confectionery properties of flour of soft winter wheat samples *Plant Varieties Studying and Protection*, 16(2), 217–225. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.2.2020.209258>

Plant Production Institute nd. a. V. Ya. Yuryev, NAAS of Ukraine, 142 Moskovskyi ave., Kharkiv, 61060, Ukraine,  
e-mail: yuriev1908@gmail.com

**Purpose.** Identification of soft winter wheat varieties and lines from the Plant Production Institute nd. a. V. Ya. Yuryev, NAAS by allelic state of *Pina-D1* and *Pinb-D1* genes for targeted use in the breeding for high confectionery properties of flour. **Methods.** Identification of the *Pina-D1* and *Pinb-D1* genes allelic state was performed by polymerase chain reaction (PCR) using allele-specific primer pairs. Confectionery properties of flour were evaluated by determining the quality indicators: the water absorption capacity (WAC) of the flour, trial baking of cookies and evaluation of its quality.

**Results.** According to the results of PCR analysis, 9 samples had an allelic composition of puroindoline genes (*Pina-D1a* and *Pinb-D1a*) characteristic for soft-grained varieties. Flour of the lines 'L137-26-0-2', 'L137-26-0-3' had the best confectionery properties, it had a WAC value less than 55%, cookies diameter 85 mm, cookies height 10 mm, estimation of a surface of cookies 7–9 points, what meets the requirements for soft-grained wheat. 76% of the samples belonged to hard-grained varieties and had the corresponding alleles of

the *Pina-D1* or *Pinb-D1* genes. In the studied sample, *Pina-D1* gene is represented by 2 alleles: *Pina-D1a* and *Pina-D1b*. 27 samples had *Pina-D1a* allele, which also allows them to be used in breeding programs for grain quality when crossed with soft samples, 4 ones had *Pina-D1b* allele. As to *Pinb-D1* gene, all hard grain samples had *Pinb-D1b* allele, and the 'Erythrospermum S 424-1 / 14' line was heterogeneous for *Pinb-D1a* / *Pinb-D1b*. The flour of these samples had typical for hard wheat quality indicators: WAC 68% and more, cookie diameter of 60–72 mm, cookie height of 13–15 mm, the surface evaluation of 1–4 points. **Conclusions.** The studies allowed to differentiate the breeding material and transfer a soft winter wheat cultivar of a confectionery use 'L137-26-0-3' ('Mazurok') which has an allelic structure of puroindolins genes (*Pina-D1a* and *Pinb-D1a*) characteristic for soft-grained varieties and high confectionery flour properties for qualification examination.

**Keywords:** common winter wheat; variety; line; *Pina* and *Pinb* genes; water absorption capacity; cookies.