Вавиловский журнал генетики и селекции
Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2026;30(7):1131-1137

doi 10.18699/vjgb-26-114

# Аллельный состав локусов *Glu-1* и *Glu-3* в коллекции российских сортов яровой твердой пшеницы: анализ с помощью маркеров ПЦР

И.Н. Леонова [1] ✉, А.А. Киселёва [1], П.Н. Мальчиков [1, 2], А.И. Стасюк [1], А.О. Эмирсалиев [1]

[1] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
[2] Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова, п. г. т. Безенчук, Самарская область, Россия

✉ leonova@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** Качество конечной продукции из зерна твердой пшеницы в значительной степени зависит от запасных белков – глиадинов и глютенинов. Алелльный состав локусов высокомолекулярных (ВМГ) и низкомолекулярных (НМГ) глютенинов и их связь с качеством клейковины широко изучаются для выявления комбинаций целевых локусов, эффективных для получения генотипов с высоким качеством зерна. Один из широко применяемых методов анализа субъединичного состава запасных белков – электрофорез в полиакриламидном геле. В последние годы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) разработан ряд молекулярных маркеров для выявления генов, кодирующих различные субъединицы локусов глютенинов. В настоящей работе проведена оценка эффективности ПЦР-маркеров для диагностики локусов ВМГ и НМГ и для оценки аллельного разнообразия глютенинов у образцов твердой пшеницы российской селекции. Проверка коллекции из 142 сортов и селекционных линий яровой твердой пшеницы с помощью двух STS-маркеров (Glu_A1_a/b, Glu_A1_UMN19) и KASP-маркера Glu-Ax1/2*_SNP показала их высокую эффективность для нахождения аллельных вариантов локуса *Glu-A1*. Установлена высокая частота встречаемости аллеля *Glu-A1c* (56 %), при этом аллель *Glu-A1b* (Ax2*) обнаружен только у одного образца. Использование маркера KASP (Glu-Ax1/2*_SNP) позволяет установить гетерозиготное состояние локуса *Glu-A1*. При проверке маркеров, специфичных для локуса *Glu-B1*, обнаружен нетипичный спектр амплификации для маркера, выявляющего субъединицу Bx6, у тетраплоидного вида *Triticum turanicum* и 38 генотипов твердой пшеницы. Новый тип субъединицы обозначен как Bx6td. Проверка STS-праймеров для анализа аллельного состава НМГ показала, что только два маркера из 16 являются эффективными и позволяют находить аллели *Glu-B3a* и *Glu-B3d*. Тестирование образцов по локусу *Glu-B3* установило, что в геноме 116 сортов твердой пшеницы присутствует аллель *Glu-B3d*. Полученные результаты могут служить практическим руководством по использованию изученных молекулярных маркеров для анализа аллельного состава локусов глютенинов в сортовом материале твердой пшеницы. Отрицательные результаты диагностики в виде отсутствия амплификации праймеров или нетипичных спектров ПЦР следует учитывать при анализе данных генотипирования, так как они могут отражать наличие чужеродных транслокаций или других перестроек в геноме.

**Ключевые слова:** *Triticum durum*; твердая пшеница; глютенины; локусы ВМГ; локусы НМГ; KASP-маркеры

**Для цитирования:** Леонова И.Н., Киселёва А.А., Мальчиков П.Н., Стасюк А.И., Эмирсалиев А.О. Аллельный состав локусов *Glu-1* и *Glu-3* в коллекции российских сортов яровой твердой пшеницы: анализ с помощью маркеров ПЦР. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(7):1131-1137. doi 10.18699/vjgb-26-114

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-16-00041-П (https://rscf.ru/project/23-16-00041-П/).

# Allelic composition of the *Glu-1* and *Glu-3* loci in a collection of Russian spring durum wheat varieties: survey using PCR-based markers

I.N. Leonova [1] ✉, A.A. Kiseleva [1], P.N. Mal'chikov [1, 2], A.I. Stasyuk [1], A.O. Emirsaliyev [1]

[1] Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
[2] Samara Federal Research Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Samara Scientific Research Agriculture Institute named after N.M. Tulaikov, Bezenchuk, Samara region, Russia

✉ leonova@bionet.nsc.ru

**Abstract.** The quality of the final product derived from durum wheat grain depends largely on the storage proteins gliadins and glutenins. The allelic composition of high-molecular-weight (HMW) and low-molecular-weight (LMW) glutenin loci and their relationship with gluten quality are being extensively studied to identify combinations of target loci effective for the development of genotypes with high grain quality. One widely used method for analyzing the subunit composition of

© Леонова И.Н., Киселёва А.А., Мальчиков П.Н., Стасюк А.И., Эмирсалиев А.О., 2026
Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

storage proteins is polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). In recent years, a number of molecular markers based on polymerase chain reaction (PCR) have been developed to identify the genes encoding various subunits of glutenin loci. In this study, the diagnostic value of PCR markers for HMW and LMW loci and the allelic diversity of glutenins in Russian durum wheat varieties were investigated. Testing a collection of 142 varieties and breeding lines using two STS markers (Glu_A1_a/b and Glu_A1_UMN19) and the KASP marker Glu-Ax1/2*_SNP showed their high efficiency in identifying allelic variants of the *Glu-A1* locus. A high frequency of the *Glu-A1c* allele (56 %) was established, while the *Glu-A1b* allele (Ax2*) was detected in only one accession. The use of the KASP marker (Glu-Ax1/2*_SNP) allows the heterozygous state for the *Glu-A1* locus to be identified. When markers specific to the *Glu-B1* locus were tested, an atypical amplification pattern of the marker detecting the Bx6 subunit was shown in the tetraploid wheat *Triticum turanicum* and 38 durum wheat genotypes. The new subunit type was designated Bx6td. Validation of STS primers for the analysis of the LMW allelic composition revealed that only two of the 16 markers were effective in determining the *Glu-B3a* and *Glu-B3d* alleles. Analysis of genotypes using markers specific to the *Glu-B3* loci showed that the *Glu-B3d* allele is present in the genomes of 116 durum wheat genotypes. The results obtained can be used as a technical guide for the application of molecular markers in glutenin composition analysis in durum wheat varieties. A lack of amplification or atypical PCR spectra should be taken into account when analyzing genotyping data, as they may reflect the presence of alien translocations or other genome rearrangements.

**Key words:** *Triticum durum*; durum wheat; glutenins; HMW; LMW; KASP markers

**For citation:** Leonova I.N., Kiseleva A.A., Mal'chikov P.N., Stasyuk A.I., Emirsaliyev A.O. Allelic composition of the *Glu-1* and *Glu-3* loci in a collection of Russian spring durum wheat varieties: survey using PCR-based markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov J Genet Breed*. 2026;30(7):1131-1137. doi 10.18699/vjgb-26-114

## Введение

Твердая пшеница (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.), несмотря на небольшую долю от общего объема сбора зерновых, – важная продовольственная культура и основной источник сырья для производства макаронных изделий высокого качества. Более 50 % мировых посевных площадей твердой пшеницы приходится на средиземноморские страны, такие как Турция, Италия, Марокко, Сирия, Тунис, Франция, Испания и Греция (Martínez-Moreno et al., 2022). Крупные производители зерна твердой пшеницы – Канада, Мексика и США; площади посевов в этих странах достигают 2 млн га ежегодно (Blanco, 2024; Peters Haugrud et al., 2025). В Российской Федерации яровая твердая пшеница возделывается в Саратовской, Самарской, Ростовской, Волгоградской, Оренбургской, Челябинской и Омской областях и в Алтайском крае, при этом суммарные площади посевов составляют 0.5–0.8 млн га (Гончаров, Курашов, 2018; Мальчиков, Мясникова, 2023).

Качество макаронных изделий зависит от ряда факторов, основными из которых являются параметры муки и технологические условия изготовления продукции. К наиболее важным характеристикам относятся содержание белка, клейковины (глютена) и состав белков эндосперма, которые определяют качество, или силу глютена (Igrejas, Branlard, 2020). Физико-химические и функциональные свойства глютена зависят от состава и соотношения мономерных глиадинов, отвечающих за растяжимость теста, и от высокополимерных глютенинов, обеспечивающих его упругость и эластичность, при этом влияние глютенинов на силу клейковины значительно выше (Anjum et al., 2007; Mefleh et al., 2019).

Глютенины представляют собой гетерогенные высокомолекулярные комплексы, образованные из нескольких белковых субъединиц. С учетом подвижности субъединиц при проведении электрофореза в полиакриламидном геле (SDS-PAGE) глютенины разделяются на высокомолекулярные (ВМГ) и низкомолекулярные (НМГ). Высокомолекулярные субъединицы кодируются локусами, расположенными в длинном плече хромосом 1A (*Glu-A1*) и 1B (*Glu-B1*). В состав каждого ВМГ-локуса входят два гена, кодирующих субъединицы x- и y-типов, при этом у культивируемых сортов твердой пшеницы субъединица y-типа локуса *Glu-A1* не экспрессируется (Waines, Payne, 1987; Shewry et al., 1995; Roncallo et al., 2021). Локусы, кодирующие субъединицы низкомолекулярных глютенинов (*Glu-A3* и *Glu-B3*), расположены в коротком плече хромосом 1A и 1B соответственно (Singh, Shepherd, 1988; Saini et al., 2023). На долю низкомолекулярных глютенинов приходится до 70 % от общей фракции глютенинов, они более разнообразны по субъединичному составу, чем ВМГ, включают большое количество полипептидов; связь их с качеством клейковины изучена менее подробно (Shewry, Lafiandra, 2022).

Аллельное разнообразие ВМГ- и НМГ-локусов и их связь с качеством глютена широко изучаются в коллекциях сортов мягкой и твердой пшеницы различного происхождения для выявления комбинаций целевых локусов, эффективных для получения генотипов с высоким качеством клейковины. В настоящее время каталог генных символов пшеницы включает: 83 аллеля *Glu-A1*, 162 аллеля *Glu-B1*, 51 аллель *Glu-A3*, 30 аллелей *Glu-B3*, обнаруженных у разных генотипов культивируемой пшеницы и ее сородичей (https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassList.jsp). Однако, несмотря на наличие большого числа аллелей, основная часть из них уникальна, и только небольшое число вариантов имеет широкое распространение.

Для анализа аллельного и субъединичного состава ВМГ-и НМГ-локусов применяется ряд методов, из которых традиционным является электрофорез в полиакриламидном геле с добавлением додецилсульфата натрия (SDS-PAGE). На основе данного метода была предложена нумерация субъединичного состава ВМГ-и НМГ-локусов (Payne et al., 1982; Jackson et al., 1996). Преимущество этого метода – простота применения, однако разрешающая способность недостаточна для выявления различий,

особенно в случае НМГ-субъединиц, для которых отмечено значительное совпадение по размеру и структуре с γ-глиадинами.

Другие методы, такие, например, как жидкостная хроматография высокого разрешения (ВЭЖХ) с различными модификациями, позволяют более надежно определить субъединичный состав глютенинов (Jang et al., 2017). Но метод ВЭЖХ не получил широкого распространения главным образом из-за высокой стоимости оборудования и реагентов. Эффективность детекции различных вариантов глютенина показана при использовании метода МАЛДИ-ТОФ (масс-спектрометрия с лазерной десорбцией/ионизацией, MALDI-TOF); он обеспечивает высокое разрешение и воспроизводимость результатов, а также возможность автоматизации для анализа большого числа образцов в короткий срок (Rai, Han, 2023). Однако стоимость анализов также достаточно высока, чтобы применять данный метод в рутинных целях.

ДНК-маркеры, основанные на методе ПЦР, имеют ряд преимуществ по сравнению с методами анализа белков, поскольку они более просты и экономичны в использовании и позволяют проводить генотипирование на разных стадиях развития растений. К настоящему времени на основе секвенирования последовательностей генов ВМГ и НМГ мягкой пшеницы разработаны STS, SNP и KASP-маркеры для выявления субъединичного состава локусов (Lafiandra et al., 1997; Butow et al., 2003; Lei et al., 2006; Rasheed et al., 2016; Dreisigacker et al., 2020). Но, несмотря на большое количество разработанных маркеров, их применение ограничивает отсутствие амплификации целевых фрагментов либо сложность интерпретации результатов ПЦР.

В настоящей работе нами проведена проверка эффективности ПЦР-маркеров, специфичных для *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-A3*, *Glu-B3* локусов мягкой пшеницы, для скрининга коллекции яровых сортов твердой пшеницы российской селекции.

## Материалы и методы

В работе использована коллекция из 142 образцов яровой твердой пшеницы, включающая 43 российских сорта и 69 селекционных линий из различных селекционных центров. Для сравнительного анализа генетического разнообразия российских образцов было добавлено 29 образцов зарубежного происхождения и тетраплоидный вид пшеницы *Triticum turanicum* (Приложение, табл. S1)[1].

Геномную ДНК выделяли из 5–7-дневных проростков согласно протоколу (Plaschke et al., 1995). Для генотипирования было использовано 24 маркера, разработанных для локусов *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-A3* и *Glu-B3* (табл. S2, S3). ПЦР для STS-маркеров проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей 1 ед. Taq полимеразы (Биолабмикс, Россия), 1× реакционный буфер (pH 8.5, 2 мМ $Mg^{2+}$) 200 мкМ dNTPs, 0.25 мкМ каждого праймера, 20 нг геномной ДНК и стерильную воду. Условия ПЦР были подобраны в соответствии с разработанными протоколами для локусов *Glu-1* и *Glu-3* (Lafiandra et al., 1997; Butow et al., 2003; Lei et al., 2006; Liu et al., 2008; Wang et al., 2009, 2010). Продукты амплификации разделяли в 2 % агарозном геле в трис-ацетатном буфере (1× TAE). В качестве маркера длин фрагмента использовали ДНК-маркер Step 100 long (Биолабмикс).

Сорт Chinese Spring с известным субъединичным составом ВМГ и НМГ был использован в качестве контроля. Последовательности маркера KASP Glu-Ax1/x2*_SNP взяты из работы A. Rasheed с коллегами (2016). ПЦР проводили с применением KASP master mix и праймеров производства LGC Genomics (https://www.lgcgroup.com/) в соответствии со стандартным протоколом производителя. Реакционная смесь (10 мкл) содержала 5 мкл KASP master mix, 0.14 мкл смеси праймеров, включающей аллель-специфичные и общий праймеры, а также 100 нг геномной ДНК. Амплификацию осуществляли на приборе QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Вильнюс, Литва) с помощью стандартной программы: начальная денатурация при 94 °C в течение 15 мин; затем 10 циклов touchdown-ПЦР: 94 °C – 20 с и 61–55 °C – 60 с со снижением температуры на 0.6 °C за цикл; далее 26 циклов: 94 °C – 20 с и 55 °C – 60 с. Кластеризацию образцов для определения аллелей проводили с помощью программы Design & Analysis Software Release 2.8.0 (Thermo Fisher Scientific). Нуклеотид A специфичен для субъединиц Ax1/Ax2*, нуклеотид G – для субъединицы Ax0.

## Результаты

Для анализа аллелей локуса *Glu-A1* в коллекции образцов твердой пшеницы было задействовано три маркера – два STS-маркера (Glu_A1a/b и Glu_A1_UMN19) и KASP-маркер KASP_Glu-Ax1/2*_SNP (см. табл. S2). Использование трех маркеров позволило идентифицировать все три субъединицы локуса *Glu-A1* (Ax0, Ax1, Ax2*), а применение KASP-маркера – выявить генотипы в гетерозиготном состоянии (см. табл. S1).

Анализ субъединичного состава *Glu-A1* локуса показал, что из трех субъединиц наибольшая частота встречаемости (56 %) отмечена для субъединицы Ax0 (аллель *Glu-A1c*), обнаруженной у 80 из 142 образцов (рис. 1, *a*, см. табл. S1). Сорок пять генотипов (31 %) содержат субъединицу Ax1 (аллель *Glu-A1a*), 16 генотипов были гетерозиготами по субъединицам Ax0/Ax1, сорт Памяти Янченко – гетерозиготой по субъединицам Ax1/Ax2*. Аллель *Glu-A1b* (Ax2*) обнаружен только у одного образца (сорт Аннушка). Следует отметить, что все иностранные сорта, входящие в состав коллекции, содержат аллель *Glu-A1c*, за исключением линии ISD21, которая является гетерозиготой (Ax0/Ax1). Преобладание аллеля *Glu-A1a* характерно для образцов из селекционных центров Алтайского края, Саратовской и Омской областей, тогда как сорта и линии Самарского НИИСХ и НЦ зерна им. П.П. Лукьяненко содержат аллель *Glu-A1c*.

Анализ субъединичного состава локуса *Glu-B1* проведен с использованием пяти STS-маркеров, которые, по литературным данным, позволяют дифференцировать 12 субъединиц *Glu-B1* локуса (By0, Bx6, Bx7, Bx7*, By8, By8*, By9, By15, By16, By18, By20, By26) (см. табл. S2). По результатам ПЦР диагностики установлено шесть раз-

[1] Табл. S1–S3 и рис. S1, S2 Приложения см. по адресу: https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx51.zip

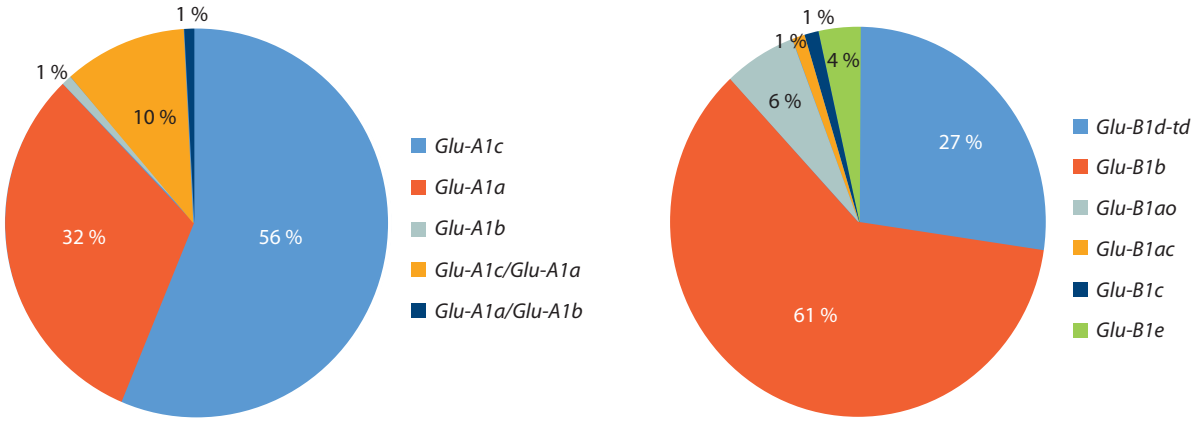



**Рис. 1.** Частота встречаемости локусов *Glu-A1* и *Glu-B1* в коллекции образцов яровой твердой пшеницы.

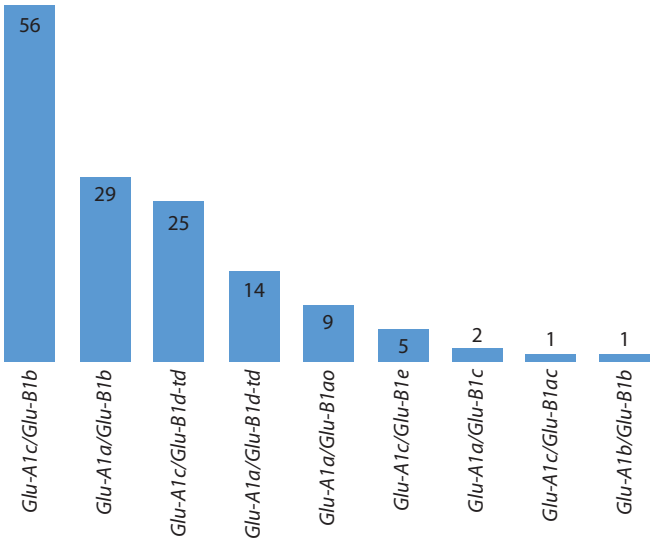



**Рис. 2.** Диаграмма, иллюстрирующая представленность различных комбинаций локусов *Glu-A1* и *Glu-B1* у образцов яровой твердой пшеницы.

Цифры на диаграмме – число образцов.

ных комбинаций субъединиц x- и y-типа для локуса *Glu-B1* (см. рис. 1, *б*, табл. S1). Наиболее часто встречался локус *Glu-B1b* (Bx7 + By8), который присутствует у 86 образцов. У 27 % образцов отмечен нетипичный спектр амплификации маркера BxFp†, разработанного для диагностики субъединицы Bx6 (рис. S1).

Такой паттерн ПЦР был характерен для *T. turanicum* и с высокой частотой встречался среди иностранных сортообразцов и образцов из Самарского НИИСХ. Поскольку маркер BxFp† был разработан для субъединицы Bx6 мягкой пшеницы, которая может отличаться от субъединицы x-типа, специфичной для *T. durum*, мы обозначили эту субъединицу как Bxtd, а локус, выявляемый в геноме образцов, – *Glu-B1d-td* (Bx6td + By8). Кроме этого, у 15 образцов были идентифицированы редкие аллельные варианты: *Glu-B1ao* (Bx7 + By16), *Glu-B1c* (Bx7 + By9), *Glu-B1ac* (Bx6td + By16) и *Glu-B1e* (Bx7 + By20) (см. рис. 1, *б*).

Мы оценили сочетание аллелей локусов *Glu-A1* и *Glu-B1* и установили, что преобладает комбинация *Glu-A1c/Glu-B1b* (39 %), далее следуют комбинации *Glu-A1a/Glu-B1b* (20 %), *Glu-A1c/Glu-B1d-td* (18 %) и *Glu-A1a/Glu-B1d-td* (10 %) (рис. 2). Сравнение аллельного разнообразия локусов в образцах иностранной селекции и в российских образцах, созданных в разных селекционных центрах, показало, что иностранные генотипы содержат в основном комбинации локусов *Glu-A1c/Glu-B1b* и *Glu-A1a/Glu-B1d-td* (см. табл. S1). В сортах и линиях Самарского НИИСХ отмечено преобладание комбинации *Glu-A1c/Glu-B1b*, *Glu-A1c/Glu-B1d-td* и *Glu-A1a/Glu-B1b*. В образцах селекции АНЦ агробиотехнологий выявляется преимущественно комбинация *Glu-A1a/Glu-B1b*, тогда как генотипы, созданные в ФАНЦ Юго-Востока, содержат в основном комбинацию аллелей *Glu-A1a/Glu-B1d-td*.

Для идентификации субъединиц локусов *Glu-A3* и *Glu-B3* задействовано 16 маркеров, специфичных для мягкой пшеницы (см. табл. S3), которые были опробованы на выборке из 10 образцов твердой пшеницы. Результаты показали, что ни один из использованных маркеров для *Glu-A3* локуса не амплифицировал фрагменты нужного размера. Для локуса *Glu-B3* амплификация специфических продуктов наблюдалась у двух пар праймеров, SB1F/SB1R и SB4F/SB4R, разработанных для *Glu-B3a* и *Glu-B3d* аллелей. Праймер SB1F/SB1R, специфичный для *Glu-B3a*, амплифицировал фрагмент ~ 1095 п. н. только у сорта Chinese Spring (см. рис. S2, *а*). У образцов твердой пшеницы при применении пары праймеров SB4F/SB4R синтезировался фрагмент длиной ~ 662 п. н., характерный для аллеля *Glu-B3d* (см. рис. S2, *б*). Для остальных праймеров амплификация либо отсутствовала, либо длина ПЦР-продуктов не соответствовала заявленным в литературе. С помощью праймеров SB4F/SB4R были проанализированы все образцы коллекции; наличие *Glu-B3d* обнаружено у 116 из 142 образцов, из них носителями данного аллеля были *T. turanicum*, 30 отечественных сортов, 25 иностранных образцов и 60 российских селекционных линий различного происхождения (см. табл. S1). Для 26 образцов аллельное состояние локуса *Glu-B3* с помощью протестированных праймеров установить не удалось.

## Обсуждение

К настоящему времени разработано много ПЦР-маркеров для скрининга аллельного состава ВМГ-и НМГ глютенинов (Wang et al., 2009; Pu et al., 2014; Liang et al., 2015; Ibba et al., 2018; Lee et al., 2024). С развитием новых технологий начато создание SNP- и KASP-маркеров для обнаружения однонуклеотидных полиморфизмов и повышения эффективности выявления генов/локусов (Rasheed et al., 2016; Dreisigacker et al., 2020). Однако разработанные маркеры не получили широкого распространения: 1) для получения полной информации по аллельному составу часто необходимо провести несколько реакций ПЦР; 2) из-за различий в первичных последовательностях генов глютенинов у других видов амплификация отсутствует или размеры ПЦР-фрагментов отличаются от ожидаемых. В нашей работе диагностическая эффективность показана для маркеров, специфичных для *Glu-A1* локуса, что подтверждается совместным использованием маркеров STS и KASP.

Следует также отметить предпочтительность использования кодоминантного KASP-маркера Glu-Ax1/2*_SNP, с помощью которого можно выявлять генотипы в гетерозиготном состоянии. Эффективность применения ПЦР-маркеров для *Glu-A1* локуса и совпадение с опубликованными данными отмечаются в работах других исследователей, анализировавших сорта и рекомбинантные линии мягкой и твердой пшениц (Salmanowicz, Dylewicz, 2007; Janni et al., 2017; Фомина и др., 2019; Kroupina et al., 2023; Мухордова и др., 2024). Несколько образцов, входящих в состав нашей коллекции, изучено ранее методом SDS-PAGE; показано полное совпадение результатов для локуса *Glu-A1* (Коробкова и др., 2023).

Для диагностики локуса *Glu-B1* нами было использовано пять ПЦР-маркеров, сочетание которых позволило, во-первых, диагностировать известные ранее субъединицы и, во-вторых, установить новые паттерны амплификации, которые не выявляются методикой SDS-PAGE. Так, в работе M. Utebayev с коллегами (2026) методом SDS-PAGE показано, что в геноме *T. turanicum* содержится субъединица Bx6, тогда как в нашей работе с помощью маркеров ПЦР установлен нетипичный спектр амплификации, позволяющий предположить различия между Bx6 и субъединицей x-типа у *T. turanicum*, обозначенной Bx6td. Аналогичный спектр амплификации маркера для Bx6 субъединицы мягкой пшеницы продемонстрирован нами ранее при анализе интрогрессивных линий с генетическим материалом *T. durum* (Leonova et al., 2023). При использовании маркера ZSBy9_aF1/aR3, разработанного для выявления субъединицы By9, установлено, что с помощью данного маркера можно дополнительно находить субъединицу By20, о чем ранее сообщалось в работе (Janni et al., 2017).

При проверке маркеров ПЦР, разработанных для локуса *Glu-A3*, нами получены отрицательные результаты по всем использованным праймерам, что, вероятно, связано со структурными различиями между вариантами НМГ мягкой и твердой пшениц. По данным G. Igrejas с коллегами (2009), проводивших проверку *Glu-A3* маркеров, также не удалось различить аллели *Glu-A3a*, *Glu-A3b* и *Glu-A3c* в образцах твердой пшеницы из-за отсутствия амплификации целевых фрагментов. Отсутствие амплификации 9 из 16 апробированных маркеров для *Glu-A3* и *Glu-B3* локусов показано при скрининге китайских сортов и линий пшеницы (Sun et al., 2024). При проверке маркеров для *Glu-B3* локуса в нашей работе положительные результаты получены только для двух маркеров, которые позволили обнаружить аллели *Glu-B3a* и *Glu-B3d.*

Амплификация праймеров для *Glu-B3a* показана в геноме сорта Chinese Spring, тогда как праймеры для *Glu-B3d* амплифицировали целевые фрагменты у 116 образцов твердой пшеницы. Отрицательный результат для остальных маркеров может объясняться отсутствием соответствующих НМГ-аллелей в геноме остальных образцов твердой пшеницы либо с наличием чужеродных транслокаций и других перестроек в геноме, что следует учитывать при рассмотрении данных генотипирования.

Результаты генотипирования ПЦР-маркерами образцов яровой твердой пшеницы в нашей работе продемонстрировали, что аллельные варианты локусов *Glu-A1* и *Glu-B1* значительно различаются по частоте встречаемости. Для локуса *Glu-A1* высокая представленность отмечена для *Glu-A1c* и *Glu-A1a*, тогда как *Glu-A1b* обнаружен только у одного сорта. Высокая частота встречаемости аллеля *Glu-A1c* отмечается у сортов мягкой и твердой пшениц, культивируемых в разных странах, тогда как встречаемость аллелей *Glu-A1a* и *Glu-A1b* зависит от происхождения сортового материала (Ribeiro et al., 2011; Nazco et al., 2014; Nucia et al., 2019). Для изученных российских сортов твердой пшеницы известно, что в озимых сортах и сортах-двуручках аллели *Glu-A1a* и *Glu-A1b* практически не встречаются (Коробкова и др., 2023; Kroupina et al., 2023).

Согласно литературным данным, в локусе *Glu-B1* наиболее часто выявляются аллели *Glu-B1b* и *Glu-B1d* (Moragues et al., 2006; Henkrar et al., 2017; Janni et al., 2017; Roncallo et al., 2021). В российских сортах яровой твердой пшеницы, изученных в нашей работе, также превалируют аллели *Glu-B1b* и *Glu-B1d-td* (см. рис. 1, *б*). В то же время в образцах озимой твердой пшеницы, созданных в НЦ зерна им. П.П. Лукьяненко, с высокой частотой встречается редкий аллель *Glu-B1al* (Kroupin et al., 2023).

Вариабельность локусов НМГ (*Glu-A3* и *Glu-B3*) – предмет регулярных исследований, поскольку ряд данных свидетельствует о связи отдельных аллелей НМГ с качеством клейковины (Sissons, 2008; Mefleh et al., 2019). Аллельный состав НМГ российских сортов яровой твердой пшеницы практически не изучался. Анализ ограниченной выборки из 13 российских сортов (Utebayev et al., 2026) показывает наличие аллеля *Glu-A3a*, тогда как в локусе *Glu-B3* аллель *d* встречается только у одного сорта. Частота встречаемости различных аллелей *Glu-A3* и *Glu-B3* в иностранных коллекциях значительно различается и зависит от происхождения генотипов, как показано для сортов из стран средиземноморского бассейна (Branlard et al., 2020), Алжира (Cherdouh et al., 2005), Марокко (Henkrar et al., 2017), Казахстана (Utebayev et al., 2026). В изученных китайских сортах с высокой частотой встречался локус *Glu-B3d* (>60 %), что совпадает с нашими результатами, тогда как в локусе *Glu-A3* в 43.0 % выявлялся аллель *GluA3e* (Hu et al., 2018; Sun et al., 2024).

## Заключение

Таким образом, апробация ПЦР-маркеров, разработанных для анализа локусов ВМГ-и НМГ глютенинов, показала их эффективность при выявлении аллелей *Glu-A1* и *Glu-B1* у твердой пшеницы. Использование ПЦР-маркеров для локуса *Glu-B1* позволило обнаружить уникальные аллельные варианты, которые не выявляются с помощью SDS-PAGE из-за сходной подвижности в геле. Результаты генотипирования ПЦР-маркерами могут иметь значение при проведении диагностики образцов на ранних стадиях развития пшеницы в программах маркер-ориентированной селекции.

## Список литературы / References

Гончаров С.В., Курашов М.Ю. Перспективы развития российского рынка твердой пшеницы. *Вестник Воронежского государственного аграрного университета*. 2018;2(57):66-75. doi 10.17238/issn2071-2243.2018.2.66
[Goncharov S.V., Kurashov M.Yu. Prospects for the development of the Russian durum wheat market. *Vestnik Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta = Vestnik of Voronezh State Agrarian University.* 2018;2(57):66-75. doi 10.17238/issn2071-2243.2018.2.66 (in Russian)]

Коробкова В.А., Крупина А.Ю., Архипов А.В., Яновский А.С., Воропаева А.Д., Беспалова Л.А., Мудрова А.А., Назарова Л.А., Магомедов М.М., Крупин П.Ю., Самарина М.А., Ульянов Д.С., Карлов Г.И., Дивашук М.Г. Разнообразие аллельного состояния генов *Glu-1* в коллекции образцов твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.). *Сельскохозяйственная биология.* 2023;58(5):840-851. doi 10.15389/agrobiology.2023.5.840rus
[Korobkova V.A., Kroupina A.Yu., Arkhipov A.V., Yanovsky A.S., Voropaeva A.D., Bespalova L.A., Mudrova A.A., Nazarova L.A., Magomedov M.M., Kroupin P.Yu., Samarina M.A., Ulyanov D.S., Karlov G.I., Divashuk M.G. Study of the allelic diversity of the *Glu-1* genes in the durum wheat (*Triticum durum* Desf.) collection. *Sel'skokhozyajstvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2023; 58(5):840-851. doi 10.15389/agrobiology.2023.5.840eng (in Russian)]

Мальчиков П.Н., Мясникова М.Г. Развитие селекции яровой твердой пшеницы в России (странах бывшего СССР), результаты и перспективы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023; 27(6):591-608. doi 10.18699/VJGB-23-71
[Malchikov P.N., Myasnikova M.G. Development, results and prospects of the spring durum wheat breeding in Russia (post-Soviet states). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov J Genet Breed.* 2023;27(6):591-608. doi 10.18699/VJGB-23-71 (in Russian)]

Мухордова М.Е., Пахотина И.В., Урман М.В. Выявление сортов-доноров путем сочетания аналитических методов для дальнейшей селекции на хлебопекарные качества. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.* 2024;1(65): 74-80. doi 10.18286/1816-4501-2024-1-74-80
[Mukhordova M.E., Pakhotina I.V., Urman M.V. Identification of donor varieties by combining analytical methods for further selection for baking qualities. *Vestnik Ulyanovsk State Agricultural Academy.* 2024; 1(65):74-80. doi 10.18286/1816-4501-2024-1-74-80 (in Russian)]

Фомина Е.А., Малышев С.В., Шилова А.А., Левданский О.Д., Урбанович О.Ю. Изучение аллельного разнообразия генов HMW глютенинов сортов и линий пшеницы, используемых в селекционном процессе в Республике Беларусь, с помощью ПЦР маркеров. *Цитология и генетика*. 2019;53:20-33.
[Famina A.A., Malyshev S.V., Shylava A.A., Liaudanski A.D., Urbanovich O.Y. Investigation of allelic diversity of HMW glutenins genes of wheat varieties and lines used in the breeding process in the Republic of Belarus by PCR markers. *Cytol Genet*. 2019;53:20-33 (in Russian)]

Anjum F.M., Khan M.R., Din A., Saeed M., Pasha I., Arshad M.U. Wheat gluten: high molecular weight glutenin subunits? Structure, genetics, and relation to dough elasticity. *J Food Sci.* 2007;72(3):R56-R63. doi 10.1111/j.1750-3841.2007.00292.x

Blanco A. Structure and trends of worldwide research on durum wheat by bibliographic mapping. *Int J Plant Biol.* 2024;15(1):132-160. doi 10.3390/ijpb15010012

Branlard G., Giraldo P., He Z., Igrejas G., Ikeda T.M., Janni M., Labuschagne M.T., Wang D., Wentzel B., Zhang K. Contribution of genetic resources to grain storage protein composition and wheat quality. In: Igrejas G., Ikeda T.M., Guzmán C. (Eds) Wheat Quality for Improving Processing and Human Health. Cham, Switzerland: Springer, 2020;39-72. doi 10.1007/978-3-030-34163-3_4

Butow B.J., Ma W., Gale K.R., Cornish G.B., Rampling L., Larroque O., Morell M.K., Békés F. Molecular discrimination of Bx7 alleles demonstrates that a highly expressed high-molecular-weight glutenin allele has a major impact on wheat flour dough strength. *Theor Appl Genet*. 2003;107(8):1524-1532. doi 10.1007/s00122-003-1396-8

Cherdouh A., Khelifi D., Carrillo J.M., Nieto-Taladriz M.T. The high and low molecular weight glutenin subunit polymorphism of Algerian durum wheat landraces and old cultivars. *Plant Breed.* 2005; 124(4):338-342. doi 10.1111/j.1439-0523.2005.01118.x

Dreisigacker S., Xiao Y., Sehgal D., Guzman C., He Z., Xia X., Peña R.J. SNP markers for low molecular glutenin subunits (LMW-GSs) at the *Glu-A3* and *Glu-B3* loci in bread wheat. *PLoS One*. 2020; 15(5):e0233056. doi 10.1371/journal.pone.0233056

Henkrar F., El-Haddoury J., Iraqi D., Bendaou N., Udupa S.M. Allelic variation at high-molecular weight and low-molecular weight glutenin subunit genes in Moroccan bread wheat and durum wheat cultivars. *3 Biotech*. 2017;7(5):287. doi 10.1007/s13205-017-0908-1

Hu X., Peng Y., Ren X., Peng J., Nevo E., Ma W., Sun D. Allelic variation of low molecular weight glutenin subunits composition and the revealed genetic diversity in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum* (Desf)). *Breed Sci.* 2018;68(5):524-535. doi 10.1270/jsbbs.18085

Ibba M.I., Kiszonas A.M., Morris C.F. Development of haplotype-specific molecular markers for the low-molecular-weight glutenin subunits. *Mol Breed.* 2018;38(5):68. doi 10.1007/s11032-018-0827-9

Igrejas G., Branlard G. The importance of wheat. In: Igrejas G., Ikeda T.M., Guzmán C. (Eds) Wheat Quality for Improving Processing and Human Health. Cham, Switzerland: Springer, 2020;1-7. doi 10.1007/978-3-030-34163-3_1

Igrejas G., Juhász A., Gianibelli M.C., Gale K.R., Rahman S. Low-molecular-weight glutenins in durum wheat: analysis of *Glu-A3* alleles using PCR markers. *Plant Breed.* 2009. doi 10.1111/j.1439-0523.2009.01724.x

Jackson E.A., Morel M.H., Sontag-Strohm T., Branlard G., Metakovsky E.V., Redaelli R. Proposal for combining the classification systems of alleles of *Gli-1* and *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Genet Breed.* 1996;50(4):321-336

Jang Y.-R., Beom H.-R., Altenbach S., Lee M.-K., Lim S.-H., Lee J.-Y. Improved method for reliable HMW-GS identification by RP-HPLC and SDS-PAGE in common wheat cultivars. *Molecules*. 2017;22(7): 1055. doi 10.3390/molecules22071055

Janni M., Cadonici S., Pignone D., Marmiroli N. Survey and new insights in the application of PCR-based molecular markers for identification of HMW-GS at the *Glu-B1* locus in durum and bread wheat. *Plant Breed.* 2017;136(4):467-473. doi 10.1111/pbr.12506

Kroupin P.Y., Bespalova L.A., Kroupina A.Y., Yanovsky A.S., Korobkova V.A., Ulyanov D.S., Karlov G.I., Divashuk M.G. Association of high-molecular-weight glutenin subunits with grain and pasta quality in spring durum wheat (*Triticum turgidum* spp. *durum* L.). *Agronomy*. 2023;13(6):1510. doi 10.3390/agronomy13061510

Kroupina A.Y., Yanovsky A.S., Korobkova V.A., Bespalova L.A., Arkhipov A.V., Bukreeva G.I., Voropaeva A.D., Kroupin P.Y., Litvinov D.Y., Mudrova A.A., Ulyanov D.S., Karlov G.I., Divashuk M.G. Allelic variation of *Glu-A1* and *Glu-B1* genes in winter

durum wheat and its effect on quality parameters. *Foods*. 2023;12:1436. doi 10.3390/foods12071436

Lafiandra D., Tucci G.F., Pavoni A., Turchetta T., Margiotta B. PCR analysis of x- and y-type genes present at the complex *Glu-A1* locus in durum and bread wheat. *Theor Appl Genet.* 1997;94(2):235-240. doi 10.1007/s001220050405

Lee M.H., Kim K.M., Kang C.S., Yoon M., Jang K.C., Choi C. Development of PCR-based markers for identification of wheat HMW glutenin *Glu-1Bx* and *Glu-1By* alleles. *BMC Plant Biol.* 2024;24(1):395. doi 10.1186/s12870-024-05100-w

Lei Z.S., Gale K.R., He Z.H., Gianibelli C., Larroque O., Xia X.C., Butow B.J., Ma W. Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the *Glu-B1* locus in hexaploid wheat. *J Cereal Sci.* 2006;43(1):94-101. doi 10.1016/j.jcs.2005.08.003

Leonova I.N., Kiseleva A.A., Berezhnaya A.A., Orlovskaya O.A., Salina E.A. Novel genetic loci from *Triticum timopheevii* associated with gluten content revealed by GWAS in wheat breeding lines. *Int J Mol Sci.* 2023;24(17):3304. doi 10.3390/ijms241713304

Liang X., Zhen S., Han C., Wang C., Li X., Ma W., Yan Y. Molecular characterization and marker development for hexaploid wheat-specific HMW glutenin subunit 1By18 gene. *Mol Breed.* 2015;35(12):221. doi 10.1007/s11032-015-0406-2

Liu S., Chao S., Anderson J.A. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. *Theor Appl Genet.* 2008;118(1):177-183. doi 10.1007/s00122-008-0886-0

Martínez-Moreno F., Ammar K., Solís I. Global changes in cultivated area and breeding activities of durum wheat from 1800 to date: a historical review. *Agronomy*. 2022;12:1135. doi 10.3390/agronomy12051135

Mefleh M., Conte P., Fadda C., Giunta F., Piga A., Hassoun G., Motzo R. From ancient to old and modern durum wheat varieties: interaction among cultivar traits, management, and technological quality. *J Sci Food Agric.* 2019; 99(5):2059-2067. doi 10.1002/jsfa.9388

Moragues M., Zarco-Hernández J., Moralejo M.A., Royo C. Genetic diversity of glutenin protein subunits composition in durum wheat landraces [*Triticum turgidum* ssp. *turgidum* convar. *durum* (Desf.) MacKey] from the Mediterranean basin. *Genet Resour Crop Evol*. 2006;53:993-1002. doi 10.1007/s10722-004-7367-3

Nazco R., Peña R.J., Ammar K., Villegas D., Crossa J., Royo C. Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Mediterranean landraces as sources of variability for allelic combinations at *Glu-1/Glu-3* loci affecting gluten strength and pasta cooking quality. *Genet Resour Crop Evol.* 2014;61(6):1219-1236. doi 10.1007/s10722-014-0104-7

Nucia A., Okoń S., Tomczyńska-Mleko M. Characterization of HMW glutenin subunits in European spring common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genet Resour Crop Evol.* 2019;66(3):579-588. doi 10.1007/s10722-018-00733-x

Payne P.I., Holt L.M., Worland A.J., Law C.N. Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin: Part 3. Telocentric mapping of the subunit genes on the long arms of the homoeologous group 1 chromosomes. *Theor Appl Genet*.1982;63:129-138. doi 10.1007/BF00303695

Peters Haugrud A.R., Achilli A.L., Martínez-Peña R., Klymiuk V. Future of durum wheat research and breeding: insights from early career researchers. *Plant Genome*. 2025;18(1):e20453. doi 10.1002/tpg2.20453

Plaschke J., Ganal M.W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor Appl Genet.* 1995;91(6-7):1001-1007. doi 10.1007/BF00223912

Pu Z.E., Yu M., He Q.Y., Chen G.Y., Wang J.R., Liu Y.X., Jiang Q.T., Li W., Dai S.F., Wei Y.M., Zheng Y.L. Quantitative trait loci associated with micronutrient concentrations in two recombinant inbred wheat lines. *J Integr Agric.* 2014;13(11):2322-2329. doi 10.1016/S2095-3119(13)60640-1

Rai A., Han S.S. Recent developments on the contribution of glutenin and puroindoline proteins to improve wheat grain quality. *Cereal Chem.* 2023;100(1):56-71. doi 10.1002/cche.10607

Rasheed A., Wen W., Gao F., Zhai S., Jin H., Liu J., Guo Q., Zhang Y., Dreisigacker S., Xia X., He Z. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat. *Theor Appl Genet.* 2016;129(10):1843-1860. doi 10.1007/s00122-016-2743-x

Ribeiro M., Carvalho C., Carnide V., Guedes-Pinto H., Igrejas G. Towards allelic diversity in the storage proteins of old and currently growing tetraploid and hexaploid wheats in Portugal. *Genet Resour Crop Evol.* 2011;58(7):1051-1073. doi 10.1007/s10722-010-9642-9

Roncallo P.F., Guzmán C., Larsen A.O., Achilli A.L., Dreisigacker S., Molfese E., Astiz V., Echenique V. Allelic variation at glutenin loci (*Glu-1*, *Glu-2* and *Glu-3*) in a worldwide durum wheat collection and its effect on quality attributes. *Foods*. 2021;10(11):2845. doi 10.3390/foods10112845

Saini P., Kaur H., Tyagi V., Saini P., Ahmed N., Dhaliwal H.S., Sheikh I. Nutritional value and end-use quality of durum wheat. *Cereal Res Commun.* 2023;51:283-294. doi 10.1007/s42976-022-00305-x

Salmanowicz B.P., Dylewicz M. Identification and characterization of high-molecular-weight glutenin genes in Polish triticale cultivars by PCR-based DNA markers. *J Appl Genet.* 2007;48(4):347-357. doi 10.1007/BF03195231

Shewry P.R., Tatham A.S., Barro F., Barcelo P., Lazzeri P. Biotechnology of breadmaking: unraveling and manipulating the multiprotein gluten complex. *Nat Biotechnol.* 1995;13(11):1185-1190. doi 10.1038/nbt1195-1185

Shewry P.R., Lafiandra D. Wheat glutenin polymers 1. structure, assembly and properties. *J Cereal Sci.* 2022;106:103486. doi 10.1016/j.jcs.2022.103486

Singh N.K., Shepherd K.W. Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. *Theor Appl Genet.* 1988;75(4):628-641. doi 10.1007/BF00289132

Sissons M. Role of durum wheat composition on the quality of pasta and bread. *Food*. 2008;2(2):75-90.

Sun N., Mu Y., Wang D., Li J., Yuan T., Liu W., Yu N., Xu X., Li L., Jin Y., Ma P. Allelic variations of HMW-GS and LMW-GS and quality analysis in Yannong series wheat cultivars/derivative lines. *Front Genet*. 2024;15:1465540. doi 10.3389/fgene.2024.1465540

Utebayev M., Dashkevich S., Kradetskaya O., Chilimova I., Zhylkybaev R., Zhigula T., Shelayeva T., Khassanova G., Bulatova K., Tsygankov V., Amangeldin M., Shavrukov Y. Genetic diversity of prolamin loci related to grain quality in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in Kazakhstan. *Life*. 2026;16(1):157. doi 10.3390/life16010157

Waines J.G., Payne P.I. Electrophoretic analysis of the high-molecular-weight glutenin subunits of *Triticum monococcum*, *T. urartu*, and the A genome of bread wheat (*T. aestivum*). *Theor Appl Genet.* 1987;74(1):71-76. doi 10.1007/BF00290086

Wang L.H., Zhao X.L., He Z.H., Ma W., Appels R., Peña R.J., Xia X.C. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit *Glu-B3* genes and development of STS markers in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet.* 2009;118(3):525-539. doi 10.1007/s00122-008-0918-9

Wang L., Li G., Peña R.J., Xia X., He Z. Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Cereal Sci.* 2010;51(3):305-312. doi 10.1016/j.jcs.2010.01.005

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 08.06.2026. После доработки 20.07.2026. Принята к публикации 20.07.2026.