

УДК 633.11:577.21

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ ЗА АЛЕЛЬНИМ СТАНОМ ГЕНІВ *VRN* ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В СЕЛЕКЦІЇ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ НА ВМІСТ КАРОТИНОЇДІВ

Леонов О.Ю. , Шарипіна Я.Ю. , Усова З.В. ,

Суворова К.Ю. , Сахно Т.В. 

Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН

 E-mail: oleleo@i.ua



Леонов О.Ю., Шарипіна Я.Ю., Усова З.В., Суворова К.Ю., Сахно Т.В. Ідентифікація ліній пшениці ярої за алельним станом генів *VRN* для використання в селекції пшениці озимої на вміст каротиноїдів. Збірник наукових праць «Агробіологія», 2020. № 1. С. 88–95.

Leonov O.Iu., Sharypina Ya. Yu., Usova Z. V., Suvorova K.Iu., Sakhno T.V. Identifikatsiia liniy pshenytsi yaroi za alelnym stanom henyv *VRN* dlia vykorystannia v selektsii pshenytsi ozymoi na vmist karotyinodiv. Zbirnyk naukovykh prac' "Agrobiologija", 2020. no. 1, pp. 88-95.

Рукопис отримано: 31.03.2020 р.
Прийнято: 08.04.2020 р.
Затверджено до друку: 25.05.2020 р.

doi: 10.33245/2310-9270-2020-157-1-88-95

Мета дослідження – ідентифікація за алельним станом генів *Vrn A1*, *VrnB1*, *VrnB3* та *VrnD1* у 18 зразків пшениці ярої та 3 ліній, отриманих з озимо-ярих комбінацій схрещувань з підвищеним вмістом у зерні каротиноїдів для залучення у селекційну програму пшениці озимої.

У проаналізованих 143 зразках м'якої пшениці вміст каротиноїдних пігментів у зерні коливався від 0,20 до 8,3 мг/100 г. Виділено зразки пшениці ярої з підвищеним вмістом каротиноїдів (більше 4,5 мг/100 г борошна): Волгоуральская, Кинельская 61, Лютесценс 540, Лютесценс 598, Лютесценс 575, Лютесценс 516, Кинельская 2010, Омская 41. За даними досліджень наявність алеля *Vrn-A1* встановлено у 4 зразків пшениці ярої: Сибирячка 4, Frontana, Ізольда, Династія. Для сорту Саратовская золотистая визначено гетерозиготний стан гена *Vrn-A1*. Наявність алеля *Vrn-B1* ідентифіковано у зразків Фора, Ленинградка, Ізольда, Саратовская золотистая, Омский циркон, Омская 41, Лютесценс 540. Для зразків Лютесценс 516, L224-5 визначено гетерозиготний стан локусу *Vrn-B1*. Аналіз гена *Vrn-B3* довів наявність алеля *Vrn-B3* в усіх досліджуваних зразках, лише у сорту Династія встановлено присутність домінантного алеля. Рецесивний стан гена *Vrn-D1* ідентифіковано у зразків Фора, Сибирячка 4, Новосибирская 22, Frontana, Ленинградка, Кинельская 2010, Кинельская 61, Волгоуральская, Омская 41, Лютесценс 516, Лютесценс 540, Лютесценс 575, Лютесценс 598, L224-5. У сорту Омский циркон ген *Vrn-D1* знаходиться у гетерозиготному стані.

Найперспективнішим для селекції озимих пшениць у напрямі підвищення вмісту каротиноїдів у борошні є використання ярих носіїв цієї ознаки – зразків Омская 41 та Лютесценс 540, з одним домінантним геном *Vrn-A1*, а також Лютесценс 516, з домінантним алелем гена *Vrn-A1* та поліморфним за геном *VrnB1*.

Ключові слова: пшениця м'яка, сорт, лінія, яровизація, каротиноїди, гени *Vrn A1*, *VrnB1*, *VrnB3*, *VrnD1*.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Однією з глобальних проблем людства є незбалансованість харчування, нестача вітамінів та мінеральних речовин (мікронутрієнтів). Проблема прихованого голоду актуальна для населення як розвинених країн, так і країн, що розвиваються. Якісним і збалансованим харчуванням не забезпечене й населення України. Зернові продукти в більшості країн світу є основною часткою харчового ра-

ціону, вони становлять 60–80 % добової калорійності споживаної їжі, однак не вирішують проблему прихованого голоду [1]. Основними дефіцитними мікронутрієнтами є залізо, цинк, йод, селен, вітаміни груп А, В, Е. Загальноприйняті заходи боротьби з нестачею життєво важливих елементів (виробництво харчових добавок, біопрепаратів, штучне збагачення продуктів харчування мікроелементами) проблему не вирішують. Очевидно, що кардиналь-

но змінити ситуацію може лише підвищення природного вмісту необхідних мікроелементів у найважливіших продовольчих культурах, що входять у щоденний раціон людини. Крім того, їх засвоєваність організмом людини ефективніша порівняно зі штучним збагаченням продуктів харчування [2,3].

Окремою проблемою на фоні загального стану прихованого голоду стає дефіцит каротиноїдів – провітамінів А. Каротиноїди – велика група пігментів жовтого, оранжевого і червоного кольорів, які виконують низку важливих функцій [4], зокрема мають високу антиоксидантну активність та перетворюються в організмі людини на вітамін А.

Пшениця озима щорічно займає в Україні площу понад 6 млн га, валовий збір зерна упродовж останніх п'яти років не був меншим за 23,9 млн т [5], середньорічне споживання хліба становить 28 кг на людину. Серед хлібобулочних виробів 44 % припадає на хліб пшеничний, 2 % – житній, 32 % – хліб із пшеничного і житнього борошна, на вироби булочні припадає 24 % від усього виробництва хліба. Із пшениці також виробляють кондитерські і макаронні вироби та крупи [6]. Отже, пшениця озима є найбільш споживаною культурою, тому підвищення харчової та поживної цінності зерна пшениці озимої є актуальним напрямом досліджень науковців. Одним із способів підвищення вмісту каротиноїдів у зерні та борошні пшениці озимої є залучення до гібридизації сортів культури ярого типу розвитку, які мають вищий вміст каротиноїдів. Для ефективного залучення ярих форм виникає необхідність контролювання під час селекції адаптивних ознак, зокрема потреби яровизації та фотоперіодичної чутливості. Гібридологічний аналіз вимагає багато часу і використання камер штучного клімату. Ідентифікація алельного стану генів *Vrn* за допомогою молекулярних маркерів є менше витратною та надійнішою.

У пшениці потреба у яровизації контролюється щонайменше 5 генами *Vrn* [7, 8, 9], серед яких три основних – *Vrn-A1*, *Vrn-B1* і *Vrn-D1*, які, відповідно, локалізовані в хромосомах 5A, 5B і 5D. У рослин озимий тип розвитку проявляється у разі, якщо ці три основні гени знаходяться у рецесивному стані. Присутність лише одного домінантного алеля гена *Vrn-A1* забезпечує повну нечутливість рослини до яровизації, домінантні алелі генів *Vrn-B1* і *Vrn-D1* лише частково знижують потребу в ній. [10, 11]. Клонування генів *Vrn* у пшениці м'якої дало змогу розробити генспецифічні маркери, ефективні для діагностики реакції рослини до яровизації в лабораторних умовах [12, 13, 14].

Ефективність маркування алелів генів *Vrn* для ранньої діагностики реакції рослин до яровизації та фотоперіод доведено в багатьох закордонних публікаціях [15, 16, 17].

В Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН ведуть пошук джерел високого вмісту каротиноїдів у борошні пшениці м'якої. Наразі більшість із них характеризуються ярим типом розвитку рослин. Із залученням отриманих даних сформовано робочу колекцію пшениці м'якої ярої за вмістом каротиноїдів у зерні та борошні (НЦГРРУ, Свідоцтво про реєстрацію ознакової колекції генофонду рослин в Україні № 264 від 16.07.2018 р), також зареєстровано в НЦГРРУ окремі зразки пшениці м'якої з високим вмістом каротиноїдів (Свідоцтва про реєстрацію зразка генофонду рослин в Україні №№ 517, 518, 519, 873, 874, 875, 876, 1376, 1450, 1508, 1521).

Для більш успішного та ефективного ведення селекції пшениці озимої з високим вмістом каротиноїдів у борошні вихідний матеріал цінних ярих форм проаналізовано на наявність домінантних алелів *Vrn* генів, відповідальних за потребу у яровизації.

Мета дослідження. Ідентифікація за алельним станом генів генів *Vrn A1*, *VrnB1*, *VrnB3* та *VrnD1* у 18 зразків пшениці ярої та 3 ліній, отриманих з озимо-ярих комбінацій схрещувань, з підвищеним вмістом у зерні каротиноїдів для залучення у селекційну програму пшениці озимої.

Матеріал і методи дослідження. З метою пошуку джерел високого вмісту каротиноїдів у борошні проаналізовано 143 зразки пшениці м'якої.

Аналіз вмісту каротиноїдних пігментів проведено за модифікованим методом Муррі [18].

Визначення алельного стану генів *Vrn A1*, *Vrn B1*, *Vrn B3* та *Vrn D1* проведено у 18 кращих за вмістом каротиноїдів зразків пшениці ярої та 3 ліній, отриманих з озимо-ярих комбінацій схрещувань. Ідентифікацію генів проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Виділення ДНК з біологічного матеріалу здійснено з використанням набору реагентів DiatomDNAPrep100 (Неоген). Ампліфікацію ДНК проведено в пробірках з ліофілізованим набором реактивів для ПЛР (GenePak PCR core) в ампліфікаторі Терцик (Росія). Кінцевий об'єм реакційної суміші становив 20 мкл.

Для визначення алельного стану генів *Vrn* спрямовану ПЛР проведено з відповідними праймерами. Алельний стан гена *Vrn-A1* визначали з використанням праймерів VRN1AF та VRN1-INT1R, *Vrn-A1-intr_F* та *Vrn-A1-intr_R1*; гена *Vrn-B3* – VRN4-B-NOINSF2 та VRN4-

B-NOINS-R [12, 13]. Диференціацію *Vrn-B1* алелів здійснювали використанням праймерів Intr1/B/F та Intr1/B/R4, гена *Vrn-D1* – Intr1/D/F та Intr1/D/R4 [14] (табл. 1).

Як стандарт використано сорти пшениці ярої з ідентифікованими алелями генів *Vrn* [19, 20]. Умови ампліфікації наведено в таблиці 2.

0,20 до 8,3 мг/100 г, найвищий вміст мали лінії L 243-18 – 8,3 мг/100 г, L 224-13 – 7,39, L 224-5 – 7,1, L 225-1 – 5,3 мг/100 г. У колекційному розсаднику високий вміст каротиноїдів (більше 4,5 мг/100 г борошна) мали сорти пшениці ярої: Волгоуральская, Кинельская 61, Кинельская 2010, Омская 41, Лютесценс 540, Лютесценс

Таблиця 1 – Праймери для ідентифікації алелів генів *Vrn*

Алель	Довжина фрагмента	Назва	Послідовність
vrn-A1	734 (713)	VRN1AF	GAAAGGAAAAATTCTGCTCG
		VRN1-INT1R	GCA GGA AAT CGA AAT CGA AG
vrn-A1	541	Vrn-A1-intr_F	CCG TCG AAA GGA TCG CTA CTG
		Vrn-A1-intr_R1	CTT GTC CCC GTG AGC TAC TTA C
vrn-B1	1149	Intr1/B/F	CAA GTG GAA CGG TTA GGA CA
		Intr1/B/R4	CAA ATG AAA AGG AAT GAG AGC A
vrn-B3	691	VRN4-B-NOINSF2	GCT GTG TGA TCT TGC TCT CC
		VRN4-B-NOINS-R	CTA TCC CTA CCG GCC ATT AG
vrn-D1	997	Intr1/D/F	GTT GTC TGC CTC ATC AAA TCC
		Intr1/D/R4	AAA TGA AAA GGA ACG AGA GCG

Таблиця 2 – Умови проведення ПЛР з алель специфічними праймерами та використані у дослідженні стандарти

Алель	Стандарт	Умови ампліфікації
vrn-A1	Фора (<i>vrn A1</i>)	Денатурація: 94 °C (2 хв), 30 циклів: 94 °C (10 с), 60° (10 с), 72 °C (60 с), фінальна елонгація: 72 °C (7 хв).
	Сибірячка 4, Новосибірська 22, Ленінградка (<i>VrnA1</i>)	
vrn-B1	Фора, Сибірячка 4, Новосибірськ 22 (<i>vrnB1</i>)	Денатурація 94 °C (5 хв), 35 циклів: 94 °C (1 хв), 60 °C (1 хв), 72°C (2 хв), фінальна елонгація: 72 °C (5 хв).
	Ленінградка (<i>VrnB1</i>)	
vrn-B3	Ізольда (<i>vrnB3</i>)	Денатурація 94 °C (2 хв), 30 циклів: 94 °C (10 с), 61° (10 с), 72 °C (2 хв), фінальна елонгація: 72 °C (3 хв).
	Династія (<i>Vrn B3</i>)	
vrn-D1	Ленінградка (<i>vrn D1</i>)	Денатурація 94 °C (5 хв), 35 циклів: 94 °C (1 хв), 60 °C (1 хв), 72 °C (2 хв), фінальна елонгація: 72 °C (5 хв).
	Frontana (<i>Vrn D1</i>)	

Продукти ампліфікації візуалізували методом електрофорезу в 2,0 % агарозному гелі в боратному буфері з низькою йонною силою, для моніторингу ДНК в ультрафіолеті використовували бромистий етидій (на 300 мл 2,0 % агарозного гелю – 20 мкл). Електрофорез проводили у горизонтальному приладі Hoefel SuperSub100. Як маркери молекулярної маси використовували GenPak® DNA Markers M Combi. Отримані гелі документували з використанням фотосистеми Nikon D50. Для визначення кількості і розмірів продуктів ампліфікації застосовували демоверсію програми TotalLab 120 [21].

Результати дослідження та обговорення. У проаналізованих 143 зразках м'якої пшениці вміст каротиноїдних пігментів коливався від

516, Лютесценс 575, Лютесценс 598 та сорти пшениці озимої VonaDea і VonaVita [22, 23].

Для визначення алельного стану гена *Vrn-A1* спрямовану ПЛР проведено парами праймерів VRN1AF та VRN1-INT1R, Vrn-A1-intr_F та Vrn-A1-intr_R1. Використання праймерів Vrn-A1-intr_F та Vrn-A1-intr_R1, запропонованих Muterko A. [13], не дало змоги інформативно диференціювати зразки. За даними досліджень праймерами VRN1AF та VRN1-INT1R наявність алеля *Vrn-A1* встановлено у 4 зразків пшениці ярої: Сибірячка 4, Frontana, Ізольда, Династія. Для сорту Саратовская золотистая визначено гетерозиготний стан гена *Vrn-A1* (табл. 3). Електрофореграму продуктів ПЛР перших 12 зразків з таблиці наведено на рисунку 1.

Таблиця 3 – Дані аналізу зразків пшениці м'якої за алельним станом *Vrn* – генів

Назва зразка	<i>Vrn</i> – гени			
	<i>Vrn A1</i> алель	<i>Vrn B1</i> алель	<i>Vrn B3</i> алель	<i>Vrn D1</i> алель
Фора	<i>Vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Сибирячка 4	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Новосибирская 22	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Frontana	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Ленинградка	<i>Vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Спектр	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>Vrn D1</i>
Ізольда	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>Vrn D1</i>
Династія	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>Vrn B3</i>	<i>Vrn D1</i>
Саратовская золотистая	<i>Vrn-A1, vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>Vrn D1</i>
Омский циркон	<i>Vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>Vrn D1, vrn D1</i>
Кинельская 2010	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Кинельская 61	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Волгоуральская	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Омская 41	<i>Vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Лютеценс 516	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1, vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Лютеценс 540	<i>Vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Лютеценс 575	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
Лютеценс 598	<i>Vrn-A1</i>	<i>Vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
L 224-5	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn B1, vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
L 225-1	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>
L 243-18	<i>vrn-A1</i>	<i>vrn B1</i>	<i>vrn B3</i>	<i>vrn D1</i>

Використанням праймерів до нуклеотидної послідовності гена *Vrn-B1* отримано продукти ампліфікації 1149 п. н. за аналізу зразків Фора, Ленинградка, Ізольда, Саратовская золотистая, Омский циркон, Омская 41, Лютеценс 540, що відповідає рецесивному алелю. Для зразків

Лютеценс 516, L224-5 визначено гетерозиготний стан локусу *Vrn-B1*. Аналіз гена *Vrn-B3* довів наявність продукту ампліфікації розміром 691 п. н., що відповідає алелю *vrn-B3* в усіх досліджуваних зразках, лише у сорту Династія встановлено присутність домінантного алеля.

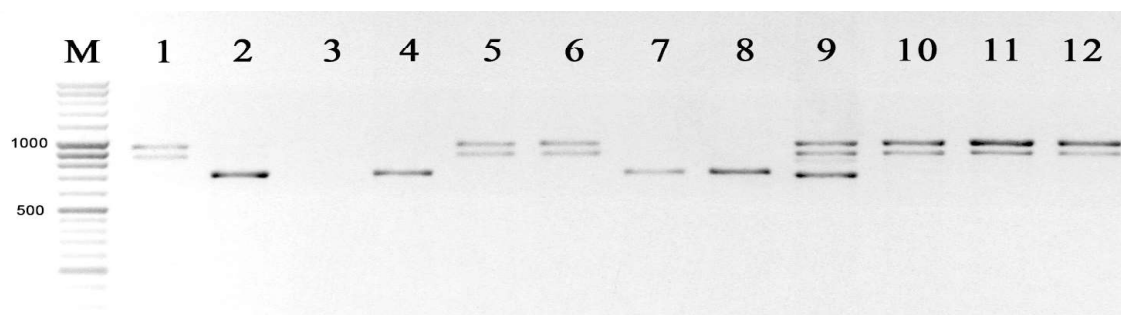


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ПЛР з ген-специфічними праймерами *Vrn-A1*: М – маркер молекулярної маси; 1 – Фора, 2 – Сибирячка 4, 3 – Новосибирская 22, 4 – Frontana, 5 – Ленинградка, 6 – Спектр, 7 – Ізольда, 8 – Династія, 9 – Саратовская золотистая, 10 – Омский циркон, 11 – Кинельская 2010, 12 – Кинельская 61.

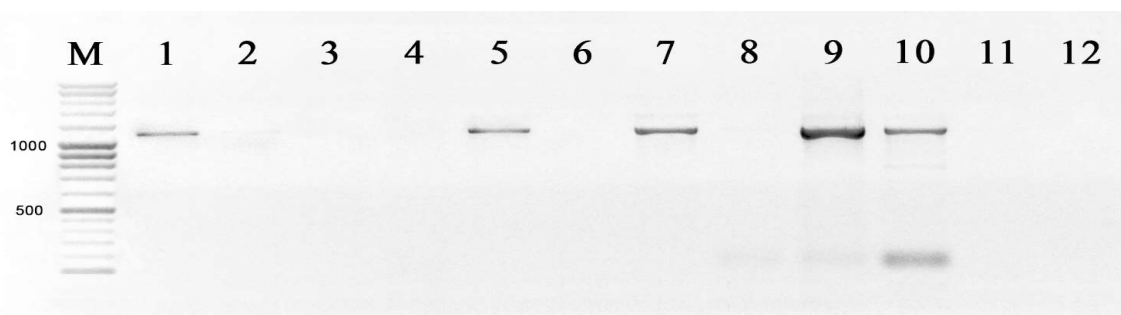


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ПЛР з ген-специфічними праймерами *Vrn-B1* (див. опис до рис. 1).

Щодо гена *Vrn-D1*, продукт ампліфікації 997 п. н., який свідчить про його рецесивний стан, ідентифіковано у зразків Фора, Сибирячка 4, Новосибирская 22, Frontana, Ленинградка, Кинельская 2010, Кинельская 61, Волгоуральская, Омская 41, Лютесценс 516, Лютесценс 540, Лютесценс 575, Лютесценс 598, L224-5. У сорту Омський циркон ген *Vrn-D1* знаходиться у гетерозиготному стані.

Лютесценс 540, з одним доміантним геном *Vrn-A1*, а також Лютесценс 516, з доміантним алелем гена *Vrn-A1* та гетерозиготним за геном *VrnB1*. Ці зразки включено до гібридизації, з метою створення вихідного матеріалу з підвищеним вмістом каротиноїдів для селекційних програм, спрямованих на покращення харчової цінності зерна пшениці озимої.

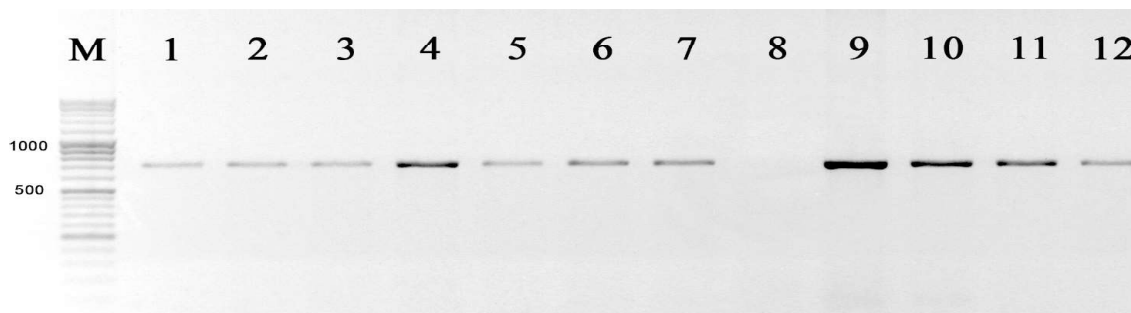


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ПЛР з ген-специфічними праймерами *Vrn-B3* (див. опис до рис. 1).

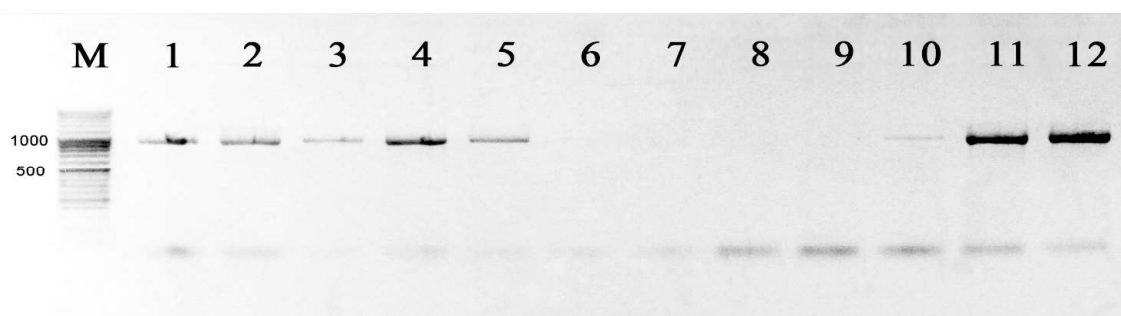


Рис. 4. Електрофореграма продуктів ПЛР з ген-специфічними праймерами *Vrn-D1* (див. опис до рис. 1).

Для ліній L225-1 та L243-18 встановлено рецесивний стан усіх досліджуваних генів (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-B3*, *Vrn-D1*).

Отже, найперспективнішим для отримання озимих пшениць з підвищеним вмістом каротиноїдів у борошні є використання ярих носіїв цієї ознаки – зразків Омская 41 та Лютесценс 540, з одним доміантним геном *Vrn-A1*, а також Лютесценс 516, з доміантним геном *Vrn-A1* та гетерозиготним за *VrnB1*. Лінія L224-5, отримана за участю сорту пшениці ярої Волгоуральская, гетерозиготна за геном *Vrn B1* та потребує подальшого індивідуального добору.

Висновки. За даними алельного стану генів *Vrn* проведено генетичну паспортизацію зразків пшениці, що дасть змогу в подальшому вести цілеспрямоване залучення перспективних джерел у селекцію пшениці м'якої озимої.

Найперспективнішим для селекції озимих пшениць у напрямі підвищення вмісту каротиноїдів у борошні є використання ярих носіїв цієї ознаки – зразків Омская 41 та

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кошкалда І.В. Актуальні питання продовольчого забезпечення. Вісник Сумського національного аграрного університету. Економіка і менеджмент. 2017. Вип. 4. С. 207–212. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_ekon_2017_4_42.
2. МакКанс Р.А. Химический состав и энергетическая ценность пищевых продуктов: справ. МакКанс и Уиддоусона / пер. с англ. яз. 6-го изд.; под общ. ред. А.К. Батурина. Санкт-Петербург: Профессия, 2006. 415 с.
3. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов / пер. с англ. М. Н. Запрометова. М.: Мир, 1986. 422 с.
4. Carotenoids handbook / edited by G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander; compiled by A.Z. Mercadante, E.S. Egeland. Basel: Birkhuser Verlag, 2004. 664 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7836-4>.
5. Сільське господарство України: статистичний збірник. Київ: Державна служба статистики України, 2019. 235 с.
6. Жайворонок Л.В. Структурні особливості виробництва та ринку хлібобулочних виробів України. Економіка та держава. 2017. № 1. С. 82–87. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ecde_2017_1_20
7. Goncharov N.P. Genetics of growth habit (spring vs winter) in common wheat: confirmation of the existence of

dominant gene Vrn4. *Theor. Appl. Genet.* 2003. Vol. 107. P. 768–772. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1317-x>.

8. Yan L., Fu D., Li C. The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103. P. 19581–19586. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0607142103>.

9. Vrn-D4 is a vernalization gene located on the centromeric region of chromosome 5D in hexaploid wheat / Yoshida T. et al. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010. Vol. 120(3). P. 543–552. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1174-3>.

10. Pugsley A.T. A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. *Aust. J. Agr. Res.* 1971. Vol. 22. P. 21–23. DOI: <https://doi.org/10.1071/AR9710021>.

11. Pugsley A.T. Additional genes inhibiting winter habit in wheat. *Euphytica.* 1972. Vol. 21. P. 547–552. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00039355>.

12. Yan L.D., Helguera M., Kato K. Allelic variation at the VRN1 promoter region in polyploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 109. P. 1677–1686. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1796-4>.

13. Muterko A., Kalendar R., Salina E. Allelic variation at the VERNALIZATION-A1, VRN-B1, VRN-B3, and PHOTOPERIOD-A1 genes in cultivars of *Triticum durum* Desf. *Planta.* 2016. V. 244. P. 1253–1263. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2584-5>.

14. Fu D., Szucs P., Yan L. Large deletions within the first intron in VRN-1 are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Mol. Genet. Genomics.* 2005. Vol. 273. P. 54–65. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00438-004-1095-4>.

15. Distribution of the photoperiod insensitive Ppd-D1a allele in Chinese wheat cultivars / Yang F.P. et al. *Euphytica.* 2009. Vol. 165 (3). P. 445–483. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9745-y>.

16. Allelic variation at the vernalization genes Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1, and Vrn-B3 in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit / Zhang X. K. et al. *Crop Sci.* 2008. Vol. 48. P. 458–470. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.06.0355>.

17. Cockram J., Norris C., O'Sullivan D. M. PCR-based markers diagnostic for spring and winter seasonal growth habit in barley. *Crop. Sci.* 2009. Vol. 49. P. 403–410. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.07.0398>.

18. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений. М. Колос. 1972. 512 с.

19. Изучение аллельного состава генов VRN-1 и PPD-1 у раннеспелых и среднеранних сортов яровой мягкой пшеницы Сибири / Лихенко И.Е. и др. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2014. Т. 18, № 4/1. С. 691–703. URL: <https://vavilov.elpub.ru/jour/article/view/296/298>

20. Комбинация аллелей генов Ppd и Vrn определяет сроки колошения у сортов мягкой пшеницы / Потокина Е.К. и др. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2012, Т. 16, № 1. С. 77–86. URL: <https://vavilov.elpub.ru/jour/article/view/26/24>

21. TotalLab (nonlinear dynamics) A comprehensive densitometry package with an excellent price/performance ratio. URL: <http://www.totalab.com>

22. Джерела високого вмісту каротиноїдів у зерні пшениці м'якої ярої. Генетичне та сортове різноманіття рослин для покращення якості життя людей / Аліпов В.О. та ін. Тези доповідей міжнар. наук.-практ. конф, присвя-

ченої 25-річчю Національного генбанку рослин України (4–7 липня 2016 р., м. Київ). К.: ТОВ Нілан-ЛТД, 2016. С. 47–49.

23. Вміст каротиноїдів у борошні зразків пшениці м'якої / Леонов О. та ін. *Вісник Львівського Національного аграрного університету: агрономія.* Львів. 2018. № 22 (1). С. 21–27.

REFERENCES

1. Koshkalda, I.V. (2017). Aktualni pytannia prodovolchoho zabezpechennia [Actual issues of food provision]. *Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Ekonomika i menedzhment* [Bulletin of Sumy National Agrarian University. Economics and Management], Issue 4, pp. 207–212. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_ekon_2017_4_42.

2. McCance, R.A., Widdowson, E.M. (2006). *Khimicheskii sostav i energeticheskaya tsennost' pishchevykh produktov* [The Composition of foods]. Sankt-Peterburg, Professiya, 415 p.

3. Britton, G. (1986). *Biokhimiya prirodnykh pigmentov* [The Biochemistry of Natural Pigments]. Moscow, World, 422 p.

4. Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. (2004). *Carotenoids handbook*. Basel: Birkhuser Verlag. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7836-4>

5. *Sil'ske hospodarstvo Ukrainy: statystychnyi zbirnyk* [Agriculture of Ukraine: statistical yearbook]. Kyiv, State Statistics Service of Ukraine, 2019, 235 p.

6. Ghayvoronok, L. (2017). Strukturni osoblyvosti vyrobnytstva ta rynku khlibobulochnykh vyrobiv Ukrainy [Structural features of the production and market of bakery Ukraine]. *Ekonomika ta derzhava* [Economy and state], no. 1, pp. 82–87. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ecde_2017_1_20

7. Goncharov, N.P. (2003). Genetics of growth habit (spring vs winter) in common wheat: confirmation of the existence of dominant gene Vrn4. *Theor. Appl. Genet.* Vol. 107, pp. 768–772. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1317-x>.

8. Yan, L., Fu, D., Li, C. (2006). The wheat and barley vernalization gene VRN3 is an orthologue of FT. *Proc. Natl Acad. Sci.* Vol. 103, pp. 19581–19586. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0607142103>.

9. Yoshida, T., Nishida, H., Zhu, J., Nitcher, R., Distelfeld, A., Akashi, Y., Kato, K., Dubcovsky, J. (2010). Vrn-D4 is a vernalization gene located on the centromeric region of chromosome 5D in hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* Vol. 120, no. 3, pp. 543–552. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1174-3>.

10. Pugsley, A.T. (1971). A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. *Aust. J. Agr. Res.* Vol. 22, pp. 21–23. Available at: <https://doi.org/10.1071/AR9710021>.

11. Pugsley, A.T. (1972). Additional genes inhibiting winter habit in wheat. *Euphytica.* Vol. 21, pp. 547–552. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF00039355>.

12. Yan, L.D., Helguera, M., Kato, K. (2004). Allelic variation at the VRN1 promoter region in polyploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* Vol. 109, pp. 1677–1686. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1796-4>.

13. Muterko, A., Kalendar, R., Salina, E. (2016). Allelic variation at the VERNALIZATION-A1, VRN-B1, VRN-B3, and PHOTOPERIOD-A1 genes in cultivars of *Triticum*

durum Desf. Planta. Vol. 244, pp. 1253–1263. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2584-5>.

14. Fu, D., Szucs, P., Yan, L. (2005). Large deletions within the first intron in VRN-1 are associated with spring growth habit in barley and wheat. Mol. Genet. Genomics. Vol. 273, pp. 54–65. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00438-004-1095-4>.

15. Yang, F.P., Zhang, X.K., Xia, X.C., Laurie, D.A., Yang, W.X., He, Z.H. (2009). Distribution of the photoperiod insensitive Ppd-D1a allele in Chinese wheat cultivars. Euphytica. Vol. 16, no. 3, pp. 445–483. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9745-y>.

16. Zhang, X.K., Xiao, Y.G., Zhang, Y., Xia, X.C., Dubcovsky, J., He, Z.H. (2008). Allelic variation at the vernalization genes Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1, and Vrn-B3 in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit. Crop Sci. Vol. 48, pp. 458–470. Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.06.0355>.

17. Cockram, J., Norris, C., O'Sullivan, D.M. (2009). PCR-based markers diagnostic for spring and winter seasonal growth habit in barley. Crop. Sci. Vol. 49, pp. 403–410. Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.07.0398>.

18. Ermakov, A.I. (1972). Metody biokhimičeskogo issledovaniya rasteniy [Methods of biochemical research of plants]. Moscow, Kolos, 512 p.

19. Likhenko, I.E., Stasyuk, A.I., Shcherban', A.B., Zyryanova, A.F., Likhenko, N.I., Salina, E.A. (2014). Izuchenie allelnogo sostava genov VRN-1 i PPD-1 u raznespelyh i srednerannih sortov jarovoj mjagkoj pshenicy Sibiri [Study of Allelic Composition of Vrn-1 and Ppd-1 Genes in Early-Ripening and Middle-Early Varieties of Spring Soft Wheat in Siberia]. Vavilovskij žurnal genetiki i selekcii [Vavilov Journal of Genetics and Breeding], Vol. 18, no. 4/1, pp. 691–703. Available at: <https://vavilov.elpub.ru/jour/article/view/296/298>

20. Potokina, E.K., Koshkin, V.A., Alekseeva, E.A., Matvienko, I.I., Bespalova, L.A., Filobok, V.A. (2012). Kombinacija allelej genov Ppd i Vrn opredeljaet sroki koloshenija u sortov mjagkoj pshenicy [Combinations of alleles of the Ppd and Vrn genes determine the heading time in common wheat varieties]. Vavilovskij žurnal genetiki i selekcii [Vavilov Journal of Genetics and Breeding], Vol. 16, no. 1, pp. 77–86. Available at: <https://vavilov.elpub.ru/jour/article/view/26/24>

21. TotalLab (nonlinear dynamics) A comprehensive densitometry package with an excellent price/performance ratio. Available at: <http://www.totallab.com>

22. Alipov, V.O., Leonov, O.Yu., Padalka, O.I., Sakhno, T.V., Posylaieva, O.O. (2016). Dzherela vysokoho vmistu karotynoidiv u zerni pshenytsi miakoi yaroi. Genetyčne ta sortove riznomanittja roslyn dlja pokrashennja jakosti zhyttja ljudej [Sources of high carotenoid content in grain of bread spring wheat]. Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, Genetic and varietal diversity of plants to improve human quality of life]. Tezy dopovidej mizhnar. nauk.-prakt. konf. prysvjachenoi' 25-richchju Nacional'nogo genbanku roslyn Ukraïny (4–7 lypnja 2016 r., m. Kyïv) [Abstracts of Papers of the International Scientific and Practical Conference devoted to the 25th anniversary of the National Plant General Bank of Ukraine, Kyiv, July 2016 4–7]. Kyiv, pp. 47–49.

23. Leonov, O., Alipov, V., Usova, Z., Suvorova, K., Sheliakina, T., Yarosh, A., Padalka, O., (2018).

Vmist karotynoidiv u boroshni zrazkiv pshenytsi miakoi [Carotenoids content in flour of bread wheat samples]. Visnyk Lvivskoho Natsionalnoho ahrarnoho universytetu: ahronomiia [Bulletin of the National Agrarian University of Lviv: agronomy], no. 22 (1), pp. 21–27.

Идентификация линий пшеницы яровой по аллельному состоянию генов Vrn для использования в селекции озимой пшеницы на содержание каротиноидов
Леонов О.Ю., Шарыпина Я.Ю., Усова З.В., Суворова К.Ю., Сахно Т.В.

Цель исследования – идентификация по аллельному состоянию генов Vrn A1, Vrn B1, Vrn B3 и Vrn D1 18 образцов пшеницы яровой и 3 линий, полученных в озимо-яровых комбинациях скрещиваний, с повышенным содержанием в зерне каротиноидов для привлечения в селекционную программу пшеницы озимой.

В проанализированных 143 образцах мягкой пшеницы содержание каротиноидных пигментов в зерне изменялось от 0,2 до 8,3 мг/100 г. Выделены образцы пшеницы яровой с повышенным содержанием каротиноидов (более 4,5 мг/100 г муки): Волгоуральская, Кинельская 61, Лютеценс 540, Лютеценс 598, Лютеценс 575, Лютеценс 516, Кинельская 2010, Омская 41. По данным исследований наличие аллеля Vrn-A1 установлено у 4 образцов пшеницы яровой: Сибирячка 4, Frontana, Изольда, Династия. Для сорта Саратовская золотистая установлено гетерозиготное состояние гена Vrn-A1. Наличие аллеля Vrn-B1 идентифицировано у образцов Фора, Ленинградка, Изольда, Саратовская золотистая, Омский циркон, Омская 41, Лютеценс 540. Для образцов Лютеценс 516, L224-5 установлено гетерозиготное состояние локуса Vrn-B1. Анализ гена Vrn-B3 доказал наличие аллеля Vrn-B3 во всех исследуемых образцах, только у сорта Династия установлено присутствие доминантного аллеля. Рецессивное состояние гена Vrn-D1 идентифицировано у образцов Фора, Сибирячка 4, Новосибирская 22 Frontana, Ленинградка, Кинельская 2010, Кинельская 61, Волгоуральская, Омская 41, Лютеценс 516, Лютеценс 540, Лютеценс 575, Лютеценс 598, L224-5. У сорта Омский циркон ген Vrn-D1 находится в гетерозиготном состоянии.

Наиболее перспективным для селекции озимых пшениц в направлении повышения содержания каротиноидов в муке является использование яровых носителей этого признака – образцов Омская 41 и Лютеценс 540, с одним доминантным геном Vrn-A1, а также Лютеценс 516, с доминантным геном Vrn-A1 и полиморфным по гену Vrn-B1.

Ключевые слова: пшеница мягкая, сорт, линия, яровизация, каротиноиды, гены *Vrn A1*, *Vrn B1*, *Vrn B3*, *Vrn D1*.

Identification of spring wheat lines by the allelic state of Vrn genes for use in winter wheat breeding for carotenoid content

Leonov O., Sharypina Ya., Usova Z., Suvorova K., Sakhno T.

The aim of the research is allelic identification of the genes *Vrn A1*, *Vrn B1*, *Vrn B3*, and *Vrn D1* in 18 spring wheat samples and 3 lines obtained from winter-spring cross combinations with high carotenoid grain content for winter wheat breeding program.

The content of carotenoid pigments in the grain ranged from 0.20 to 8.3 mg/100 g in the analyzed 143 samples of soft wheat. Samples of spring wheat were identified for high content of carotenoids (more than 4.5 mg/100 g of flour): Volgouralskaya, Kinelskaya 61, Lutescens 540, Lutescens 598, Lutescens 575, Lutescens 516, Kinelskaya 2010, Omskaya 41. According to the studies, the presence of the *Vrn-A1* allele established in 4 spring wheat samples (Sibiryachka 4, Frontana, Izolda, Dynastiya). The heterozygous state of the *Vrn-A1* gene was determined for the Saratovskaya Zolotistaya variety. The presence of the allele *Vrn-B1* was identified in the samples Fora, Leningradka, Izolda, Saratovskaya Zolotistaya, Omskiy Tsirkon, Omskaya 41, Lutescens 540. For the samples Lutescens 516, L224-5 the heterozygous state of the locus *Vrn-B1* was determined. Analysis of the *Vrn-B3* gene

confirmed the presence of the *Vrn-B3* allele in all tested samples. Only variety Dynastiya carried a dominant allele. The *Vrn-D1* gene was identified in a recessive state in samples Fora, Sibiryachka 4, Novosibirskaya 22, Frontana, Leningradka, Kinelskaya 2010, Kinelskaya 61, Volgouralskaya, Omskaya 41, Lutescens 516, Lutescens 540, Lutescens 598, L224-5. In the variety Omskiy Tsirkon gene *Vrn-D1* was in a heterozygous state.

The use of spring carriers of the trait – Samples Omskaya 41 and Lutescens 540, with one dominant gene *Vrn-A1*, and Lutescens 516, with the dominant allele of the gene *Vrn-A1* and polymorphic in the *Vrn B1* gene – were the most promising for the winter wheat breeding in the direction of increasing the carotenoids content in flour.

Key words: bread wheat, variety, line, vernalization, carotenoids, genes *Vrn A1*, *Vrn B1*, *Vrn B3*, *Vrn D1*.



Copyright: © Leonov O., Sharypina Ya., Usova Z., Suvorova K., Sakhno T.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

ЛЕОНОВ О.Ю., <https://orcid.org/0000-0001-9191-8658>
ШАРИПИНА Я. Ю., <https://orcid.org/0000-0001-5078-1608>
УСОВА З. В., <https://orcid.org/0000-0002-0306-5809>
СУВОРОВА К.Ю., <https://orcid.org/0000-0001-6658-1272>
САХНО Т.В., <https://orcid.org/0000-0002-1740-4330>

