

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ НУКЛЕОТИДНЫХ И АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ХОРДОИНДОЛИНОВЫХ ГЕНОВ В КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ КАЗАХСТАНА

Л.А. Волкова, С.И. Аbugалиева, Е.К. Туруспеков

*Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, Алматы, 050040, Казахстан
yerlant@yahoo.com*

АБСТРАКТ

Твердозерность является важным признаком качества зерновых культур. Образцы с более твердой зерновкой наиболее благоприятны для создания кормовых форм, тогда как образцы с более мягкой зерновкой могут быть успешно использованы для селекции пивоваренных сортов ячменя. У ячменя *Hordeum vulgare* L. этот признак связан с присутствием и разнообразием триптофан-богатых полипептидов, называемых хордоиндолинами (HIN). Кодированные их хордоиндолиновые (*Hin*) гены, являющиеся гомологами пуриноиндолиновых генов (*Pin*) пшеницы, расположены на коротком плече хромосомы 7 (5H) ячменя. Семейство хордоиндолиновых генов состоит из *Hina*, *Hinb1*, *Hinb2* и *Gsp*, первые из которых являются наиболее важными генами и связаны со степенью твердозерности ячменя.

В данной работе впервые изучена варибельность нуклеотидных последовательностей генов твердозерности *Hin* в коллекции двурядного ярового ячменя Казахстана, состоящей из 96 сортов и линий из 6 селекционных учреждений страны. Для генов *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2* определены аллельные варианты, которые предполагают наличие 2, 3 и 5 изоформ, соответственно. Для каждого из трех генов определены группы сортов и линий отечественной коллекции, отличающихся как по нуклеотидным, так и по аминокислотным последовательностям. Также определены группы образцов, отличающихся по гаплотипам на основе анализа сразу трех генов. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности трех хордоиндолиновых генов использованы для сравнительного генетического анализа отечественных и ранее изученных в других работах зарубежных форм ячменя. Средний уровень генетического разнообразия казахстанских образцов по генам *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2* (0.3929, 0.3776, 0.3525) уступал средним значениям в эксперименте с образцами мировой коллекции ячменя. Анализ филогенетических деревьев позволил выявить различия по характеру кластеризации всех трех белков (HINA, HINB-1 и HINB-2). Результаты исследований могут быть использованы в селекции ячменя пивоваренного и/или кормового направления.

Ключевые слова: яровой ячмень, *Hordeum vulgare*, твердозерность, генетическое разнообразие, гены *Hin*, хордоиндолины.

VARIABILITY OF NUCLEOTIDE AND AMINO ACID SEQUENCES OF HORDOINDOLINE GENES IN COLLECTION OF SPRING BARLEY FROM KAZAKHSTAN

L. Volkova, S. Abugalieva, Y. Turuspekov

*Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, 050040, Kazakhstan
yerlant@yahoo.com*

ABSTRACT

Grain hardness is an important trait of quality in cereal crops. Samples with harder grains are more favorable for animal feeding forms, while samples with softer grains are more useful for breeding of malting barley. In barley *Hordeum vulgare* L. this trait is associated with availability and variability of tryptophan rich polypeptides, which called hordoindolines (HIN). Hordoindoline coding genes (*Hin*) are homologs of puroindoline genes (*Pin*) of wheat and genetically mapped in short arm of chromosome 7 (5H) of barley genome. The family of hordoindoline genes consists from *Hina*, *Hinb1*, *Hinb2*, and *Gsp*, where first three genes are most functionally important and directly related to the level of barley grain hardness.

In this work we report on variability of nucleotide sequences of *Hin* genes in collection of two-rowed spring barley of Kazakhstan, which consisted from 96 cultivars and perspective lines that were collected from six different breeding organizations across the country. Identified allelic variants of *Hina*, *Hinb-1*, and *Hinb-2* suggest availability of 2, 3, and 5 isoforms for each peptide, respectively. Studied cultivars and perspective lines have been characterized for each of those three genes both for nucleotide and amino acid sequences. Also, the groups of samples with different haplotypes that separated based on analysis of all three genes were identified. Comparative genetic and phylogenetic analyses of local and previously described foreign barley samples were conducted based on nucleotide and amino acid sequences of three *Hin* genes. The average genetic diversity of barley samples from Kazakhstan for all three genes *Hina*, *Hinb-1* and *Hinb-2* (0.3929, 0.3776, 0.3525) was lower than those in world barley collection. The differences on clasterization of all three proteins (HINA, HINB-1 and HINB-2) were determined based on analysis of phylogenetic trees. The results of this work can be used in breeding projects related both to development of feeding and malting barley.

Keywords: Barley, grain hardness, hordoindoline genes, genetic diversity, phylogeny.

ВВЕДЕНИЕ

Твердозерность является важным признаком структуры ткани эндосперма зерновых культур, влияющим на конечный тип использования зерна. Твердозерность – структурно-механические свойства зерна, характеризующие степень его сопротивления разрушающим усилиям в процессе дробления и определяющие его целевое назначение. Например, мягкое зерно (от англ. *soft*) предопределяет кондитерское направление использования у пшеницы или пивоваренное – для ячменя, в то время как твердое зерно (от англ. *hard*) используется для хлебопекарного и кормового направлений, соответственно [1]. Структура ткани эндосперма и цвет ячменного зерна считаются основными признаками, определяющими качество шлифования и последующее конечное использование ячменя. Твердость зерна ячменя негативно влияет на экстрагирование горячей водой эндосперма солода, в результате чего значительно снижаются пивоваренные качества ячменя.

Признак твердозерности хорошо изучен для пшеницы. У мягкозерной (иногда неверно называемой «мягкой»), термин «мягкая пшеница» означает видовую принадлежность – *Triticum aestivum* L., «твердая пшеница» – *Triticum durum* L.) пшеницы наличие фриабиллина на поверхности гранул крахмала приводит к слабому соединению между гранулами крахмала и белковым матриксом, в результате чего зерно имеет мягкую структуру ткани эндосперма

[1]. У твердозерной пшеницы вследствие малого количества фриабиллина соединение между гранулами крахмала и белковым матриксом плотное, что приводит к повышенной твердости зерна. Детальные изучения этого признака у мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) позволили выявить генетические и фенотипические изменения, которые связаны с пуриноидолиновыми генами [1]. Пуриноидолиновые гены кодируют белки эндосперма пшеницы, представляющие собой основные цистеин-богатые белки с уникальным триптофан-богатым доменом [2]. Семейство этих генов мягкой пшеницы (*Pina*, *Pinb*, *Gsp*) составляет один локус (Ha), локализованный на коротком плече хромосомы 5D [3, 4] и определено, что оно влияет на уровень твердозерности [5, 6, 7, 8]. У ячменя аналогом этого семейства генов пшеницы являются хордоиндолиновые гены (*Hina*, *Hinb-1*, и *Hinb-2*), локализованные в коротком плече хромосомы 7 (5H) посредством Саузерн-гибридизации с кДНК пуриноидолина пшеницы [9, 10, 7]. Хордоиндолины (HIN), кодируемые генами *Hina* и *Hinb* (ортологами *Pina* и *Pinb*), также принадлежат к группе цистеин-богатых основных белков и содержат триптофан-богатый гидрофобный домен [11]. Darlington et al. (2000) показали существование фриабиллина в гранулах крахмала, изолированных в результате сухого просеивания ячменя как твердых, так и мягких зерен. Использование пар праймеров, созданных для идентификации пуриноидолиновых генов, позволило идентифицировать хордоиндолиновые гены (*Hina*, *Hinb*). Darlington et al (2001) было обнаружено присутствие обоих хордоиндолинов HINA и HINB в зрелом эндосперме ячменя, среди которых изоформа HINB является главной [12]. При этом, отсутствовала связь между присутствием хордоиндолина и структурой зерна [12]. Авторами посредством Саузерн-блоттинга и ПЦР-анализа было показано, что *Hinb* у культурного ячменя *Hordeum vulgare* L. имеет две копии генов (*Hinb-1* и *Hinb-2*) [12]. Прямое доказательство влияния *Hin* генов на проявление признака твердозерности было показано в работе Takahashi с соавторами (2010) [13], которые подтвердили, что мутант с нулевым аллелем гена *Hinb-2* имел значительно более твердую текстуру зерна, чем дикий тип. Также известна значительная корреляция признака твердозерности с пивоваренными свойствами [14, 15] и показателем усвояемости сухого вещества (DMD – *dry matter digestibility*) – важным кормовым признаком ячменя для крупного рогатого скота [16].

Изменения в экспрессии признака твердозерности могут быть связаны с аллельными изменениями в последовательности гена. Как известно, любая

единичная замена основания в последовательности гена между двумя индивидуумами описана как полиморфизм единичного нуклеотида (или SNP, single nucleotide polymorphism). Такие SNP замены были идентифицированы для каждого из *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2* генов [12, 7].

Большое число существующих аллельных вариантов *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2* было зарегистрировано среди культурного и дикого ячменя (*H. vulgare* subsp. *spontaneum*) [17, 16, 18]. Также, в исследовании Terasawa Y. и соавторов (2012) [19], было изучено распределение генов *Hin* только среди диких видов рода *Hordeum*. Это позволило авторам провести филогенетический анализ и предположить, что гены *Hinb-1* и *Hinb-2* ячменя возникли в результате дупликации на ранней стадии разделения рода *Hordeum*.

Galassi E. с соавторами (2012) [20] в результате проведенного исследования предположили, что экспрессия Pina-D1a-подобного аллеля у ячменя необходима в целях увеличения мягкозерности этих видов зерновых. С другой стороны, инактивация или удаление гена *Hina* может привести к сверхтвердой текстуре зерна генотипов ячменя. В проведенном исследовании по секвенированию фрагментов, полученных с помощью ПЦР-амплификации геномной ДНК 14 генотипов ячменя с использованием праймеров, специфичных для *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2*, авторами было выявлено существование четырех аллелей *Hina*, пяти аллелей *Hinb-1* и пяти аллелей *Hinb-2*. Однако, разнообразие аллельных вариантов *Hin* генов у культурного ячменя по сравнению с дикими видами, не столь велико, что, возможно, связано с сужением генетического пула в региональных коллекциях. Так, например, Fox с соавторами (2007) [21] изучали полиморфизм генов *Hin* коллекции сортов и линий ячменя из Австралии, параллельно с показателями качества зерна (твердозерность, характеристики солода и кормовые качества). При этом у гена *Hina* присутствовали 2 аллеля – *Hina-1* и *Hina-2*, и аналогично по 2 аллеля у каждого из генов *Hinb*. В коллекции из 40 генотипов ячменя было найдено 2 гаплотипа для каждого из генов *Hina*, *Hinb1*, *Hinb2*. Однако, несмотря на широкий диапазон значений твердозерности, солода и кормовых качеств, четкой взаимосвязи между выявленными гаплотипами и показателями качества установлено не было. Авторами был обнаружен низкий уровень полиморфизма генов твердозерности современных австралийских коммерческих сортов и гибридных линий, при этом выявленный полиморфизм не влиял на качество ячменя. Аналогично Darlington et al. (2001) не обнаружили

различий между аминокислотными последовательностями трех мягкозерных и трех твердозерных сортов ячменя. Напротив, при анализе генетического разнообразия хордоиндолинового локуса (*Ha*) у образцов ячменя из мировой коллекции, Turuspekov с соавторами (2008) [16] выявили взаимосвязь генов *Ha*-локуса с такими признаками качества зерна ячменя как твердозерность, усвояемость сухого вещества (DMD) и содержание крахмала. В особенности, была выявлена значительная взаимосвязь между наиболее распространенным гаплотипом (*Hina-1/Hinb1-1/Hinb2-1*) и DMD.

Beecher et al. (2002) исследовали влияние аллельной изменчивости хордоиндолиновых генов на твердозерность у популяции Steptoe/Morex и локализовали наиболее значимый QTL твердозерности на дистальном конце короткого плеча хромосомы 5Н, который объяснял 22% проявления признака твердозерности, определенного с помощью метода SKCS (*Perten Single Kernel Characterisation System*).

Fox et al. (2007) при изучении большого набора селекционных линий ячменя, выращенных в различных условиях, показали значительное влияние как генотипа, так и среды на твердозерность, и наблюдали наследуемость данного признака у соответствующих линий более 85%.

Таким образом, изучение генетического разнообразия хордоиндолиновых генов было использовано как для изучения филогенеза ячменя, так и для определения возможности использования вариабельности этих генов для улучшения качественных характеристик зерна ячменя.

Главной задачей настоящей работы явилось изучение генетического разнообразия хордоиндолиновых генов в коллекции сортов и перспективных линий ячменя из Казахстана, с целью дальнейшего использования полученных результатов для усиления генетико-селекционных исследований, направленных на создание новых сортов с улучшенными кормовыми и пивоваренными свойствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили 96 генотипов, включающих 46 сортов и 50 перспективных линий ярового двурядного ячменя (*Hordeum vulgare* L.), созданные в 6 селекционных учреждениях Казахстана (таблица 1).

ВСТАВИТЬ ТАБЛ. 1

Выделение тотальной ДНК из 7-дневных проростков проводили по стандартной методике Dellaporta [22]. ПЦР-амплификацию фрагментов ДНК с праймерами для *Hina*, *Hinb1* и *Hinb2* проводили в соответствии с работой Turuspekov с соавторами (2008) [16]. Реакцию для определения нуклеотидной последовательности проводили с использованием набора *Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)* и согласно температурному режиму, описанному производителем. Очистку продуктов ПЦР осуществляли методом преципитации (этанол/ЭДТА). Определение нуклеотидной последовательности генов у изученных образцов проводили с использованием анализатора *Genetic Analyser 3130 (Applied Biosystems, USA)*. Генетические расстояния между сортами по анализируемым генам были подсчитаны с использованием *Neighbor-Joining* метода [23]. Трансформацию нуклеотидных последовательностей в аминокислотные последовательности осуществляли с помощью программы MEGA, версия 5 [24]. В качестве контроля использованы аминокислотные последовательности пуриноидинов PINA и PINB образцов пшеницы базы данных NCBI (GenBank accessions X69913, X69912, соответственно). Филогенетическое древо было построено с использованием метода *Neighbor-Joining* и программы MEGA. Уровень генетического разнообразия по Нею подсчитан с помощью программы PopGen32 [25].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Суммарные результаты анализа нуклеотидной и аминокислотной последовательностей семейства хордоиндолиновых генов и белков для 96 сортов и линий ярового ячменя Казахстана приведены в таблицах 2, 3 и 4.

Генотипная характеристика всех 96 сортов ячменя по аллельному и изоформному состоянию трех генов (*Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2*) семейства хордоиндолинов представлена в таблице 2. Как видно из таблицы 2, 56 генотипов ячменя были представлены сходными аллельными вариантами хордоиндолиновых генов *Hina*, *Hinb1* и *Hinb2*.

ВСТАВИТЬ ТАБЛ. 2

Длина последовательностей всех трех генов была примерно одинаковой и составила 444-447 нуклеотидов (таблица 3).

ВСТАВИТЬ ТАБЛ. 3

Для всех трех генов всего было выявлено 13 аллелей, для которых при трансформации нуклеотидных последовательностей в аминокислотные было идентифицировано 10 изоформ (таблица 4).

ВСТАВИТЬ ТАБЛ. 4

Несмотря на меньшее количество идентифицированных аллелей по сравнению с *Hinb-2*, наибольший уровень разнообразия нуклеотидной последовательности (π) для коллекции ярового ячменя из Казахстана был зафиксирован для гена *Hina*, ген *Hinb-2* оказался наиболее консервативным. Вместе с этим, даже при наличии 6 аллелей, ген *Hinb-2* характеризовался наименьшим уровнем генетического разнообразия по Нею (таблица 3), что свидетельствует о редкой встречаемости альтернативных минорных аллелей в коллекции ячменя Казахстана. Средний уровень генетического разнообразия по Нею по всем трем генам составил $0,3743 \pm 0,02$.

Характеристика гена Hina и филогенетический анализ коллекции ярового ячменя

Определение нуклеотидной последовательности *Hina* для 96 сортов и линий двурядного ярового ячменя Казахстана позволило выявить 11 полиморфных нуклеотидных сайтов, что позволило определить наличие 4 аллелей. Аллели были названы с *Hina-1* по *Hina-4* в соответствии с числом представленных образцов ячменя по убыванию. Так аллель *Hina-1* был представлен у большей части (72) образцов (таблица 2). Четыре идентифицированных аллеля гена *Hina* предположительно кодируют 2 полипептида (таблица 4). Сравнение предсказанных полипептидов, кодируемых четырьмя *Hina* аллелями, с полипептидом PINA из D генома гексаплоидной мягкой пшеницы показано на рисунке 1. В общем, были обнаружены 21 аминокислотная замена и 1 инсерция относительно полипептида PINA. В данной работе две найденные изоформы PINA отличались друг от друга всего по 5 аминокислотным заменам (рис. 1).

ВСТАВИТЬ РИС. 1

На рисунке 2 представлены результаты сравнительного филогенетического анализа образцов ярового ячменя из Казахстана и контрольных образцов мировой коллекции по изоформам PINA. Как видно из дендрограммы, проведенный анализ позволил дифференцировать все изученные образцы ячменя на три кластера. Кластер 1 представлен только казахстанскими образцами ячменя, во

второй кластер сгруппировались только образцы мировой коллекции, тогда как кластер 3 является смешанным и состоит как из казахстанских образцов, так и из образцов мировой коллекции.

ВСТАВИТЬ РИС. 2

Характеристика гена *Hinb-1* и филогенетический анализ коллекции ярового ячменя

Ген твердозерности пшеницы *Pinb* имеет 2 паралогичные копии у ячменя, названные *Hinb-1* и *Hinb-2*, расположенные на физической карте в тандеме, вслед за *Hina* [1]. Для анализа *Hinb-1* и *Hinb-2* в отдельности были использованы 2 разные пары праймеров [16]. Секвенирование *Hinb-1* кодирующего региона позволило идентифицировать 3 аллеля гена и 3 изоформы полипептида HINB-1 (рис. 3, таблица 4). Бóльшая часть образцов (72) имела аллель *Hinb-1-1*. Второй наиболее распространенный аллель – *Hinb-1-2* был обнаружен у 13 образцов. Сравнение всех аминокислотных последовательностей позволило обнаружить, что три изоформы полипептида HINB-1 содержат 19 аминокислотных замен и 1 делецию, по сравнению с PINB пшеницы (рис. 3).

ВСТАВИТЬ РИС. 3

Сравнительный филогенетический анализ образцов ярового ячменя из Казахстана и контрольных образцов мировой коллекции по изоформам HINB-1 представлен на рисунке 4. Полученная дендрограмма показывает, что все изученные образцы ячменя делятся на три кластера. Первый и второй кластеры были представлены как образцами мировой коллекции, так и образцами казахстанской селекции, тогда как кластер 3 характеризовался только отечественными образцами ячменя.

ВСТАВИТЬ РИС. 4

Характеристика гена *Hinb-2* и филогенетический анализ коллекции ярового ячменя

В результате анализа нуклеотидных последовательностей *Hinb2* нами было идентифицировано 6 аллелей (с *Hinb-2-1* по *Hinb-2-6*), что, в свою очередь, позволило выявить 5 различных изоформ HINB-2. Наиболее часто встречающимся аллелем был *Hinb-2-1*, обнаруженный у 73 образцов (таблица 2).

Вторым по распространенности оказался аллель *Hinb-2-2*, выявленный у 7 образцов, другие аллели гена *Hinb2* встречались реже. Сравнение аминокислотной последовательности HINB-2 с PINB показало наличие 22 замен и 1 делеции (рис. 5). Разница между HINB-1 и HINB-2 составила 3 аминокислотные замены.

ВСТАВИТЬ РИС. 5

Сравнительный филогенетический анализ образцов из Казахстана и контрольных образцов мировой коллекции по изоформам HINB-2 представлен на рисунке 6. Как видно из дендрограммы, все вовлеченные в анализ образцы ячменя разделились на три кластера. Кластер 1 был наиболее представительным и содержал в себе как казахстанские, так и зарубежные образцы ячменя (рис. 6).

ВСТАВИТЬ РИС. 6

Кластеры 2 и 3 оказались малочисленными и были представлены, в основном, казахстанскими образцами с минимальным присутствием зарубежных сортов.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе осуществлено определение нуклеотидных последовательностей трех хордоиндолиновых генов *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2* в коллекции 96 сортов и перспективных линий ярового ячменя казахстанской селекции. Для генов *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2* определены аллельные варианты, которые предполагают наличие 2, 3 и 5 изоформ, соответственно (таблица 3.) Для каждого из трех генов определены группы сортов и линий отечественной коллекции, отличающихся как по нуклеотидным, так и по аминокислотным последовательностям. Также определены группы образцов, которые отличаются по гаплотипам на основе анализа сразу трех генов (таблица 1).

Кроме того, нуклеотидные и аминокислотные последовательности трех хордоиндолиновых генов были использованы для осуществления сравнительного генетического и филогенетического анализа отечественных и ранее изученных в других работах зарубежных форм ячменя [16]. Средний уровень генетического разнообразия казахстанских образцов по генам *Hina*, *Hinb-1* и *Hinb-2* (0,3929, 0,3776, 0,3525) уступал средним значениям в эксперименте с образцами мировой коллекции ячменя (0,427, 0,514, 0,473, соответственно) [16]. Количество

идентифицированных аллелей в данной работе также уступало количеству аллелей в ранее опубликованных исследованиях (5, 6, и 18, соответственно) [16], что предполагает возможности использования зарубежных форм ячменя для расширения диапазона вариабельности отечественных сортов ячменя по данному семейству генов.

Анализ филогенетических деревьев позволил выявить различия по характеру кластеризации всех трех белков (HINA, HINB-1 и HINB-2). Если в случае HINA казахстанские образцы были представлены только в кластерах I и III, то для HINB-1 и HINB-2 отечественные образцы были представлены во всех идентифицированных кластерах (рис. 4, 6). Вместе с этим, в казахстанской коллекции образцы ячменя, имеющие обе изоформы HINA, были широко представлены как в кластере I, так и в кластере III, тогда как для других хороиндолинов были выявлены отчетливые главные и минорные кластеры (рис. 2, таблица 1).

ВЫВОДЫ

Таким образом, в данной работе изучен уровень генетического разнообразия и установлено аллельное состояние хороиндолиновых генов в коллекции сортов и перспективных линий ячменя из Казахстана. Полученные результаты могут быть эффективно использованы для усиления генетико-селекционных исследований, направленных на создание новых сортов с улучшенными кормовыми и пивоваренными свойствами.

Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта 0049/ГФ «Ассоциативное картирование генов качества зерна ячменя» по программе МОН РК «Грантовое финансирование научных исследований» на 2012-2014 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Morris C.F. *Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness* // *Plant Molecular Biology*. – 2002. – Vol. 48. – P. 633-647.
2. Blochet J.E., Chevalier C., Forest E., Pebay P.E., Gautier M.F., Joudrier J., Pe'zolet M., Marion D. *Complete amino acid sequence of puroindoline, a new basic*

and cystine-rich protein with a unique tryptophan-rich domain, isolated from wheat endosperm by Triton X-114 phase partitioning // FEBS Letters. – 1993. – Vol. 329. – P. 336-340.

3. *Mattern P.J., Morris R., Schmidt J.W., Johnson V.A. Location of genes for kernel properties in wheat variety 'Cheyenne' using chromosome substitution lines // In: Sears E.R., Sears L.M.S. (eds) Proceedings of the 4th International Wheat Genetic Symposium. – Missouri: Columbus, 1973. – P. 703-707.*

4. *Law C.N., Young C.F., Brown J.W.S., Snape J.W., Worland A.J. The study of grain protein control in wheat using whole chromosome substitution lines // In: Seed protein improvement by nuclear techniques. – Vienna: IAEA, 1978. – P. 483-502.*

5. *Giroux M.J., Morris C.F. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b // Proceedings of the National Academy of Sciences. – USA, 1998. – Vol. 95. – P. 6262-6266.*

6. *Krishnamurthy K., Giroux M. Expression of wheat puroindoline genes in transgenic rice confers grain softness // Nature Biotechnology. – 2001. – Vol. 19. – P. 162-166.*

7. *Beecher B., Bowman J., Martin J.M., Bettge A.D., Morris C.F., Blake T.K. and Giroux M.J. Hordoindolines are associated with a major endosperm-texture QTL in barley (*Hordeum vulgare*) // Genome. – 2002. – Vol. 45. – P. 584-591.*

8. *Ikeda T.M., Ohnishi N., Nagamine T., Oda S., Hisatomi T., Yano H. Identification of new puroindoline genotypes and their relationship to flour texture among wheat cultivars // Journal of Cereal Science. – 2005. – Vol. 41. – P. 1-6.*

9. *Rouve's S., Boef C., Zwickert-Menteur S., Gautier M.F., Bernard M., Joudrier P., Jestin L. Locating supplementary RFLP markers on barley chromosome 7 and synteny with homeologous wheat group 5 // Plant Breeding. – 1996. – Vol. 115. – P. 511-513.*

10. *Thomas W.T.B., Powell W., Swanston J.S., Ellis R.P., Chalmers K.J., Barua U.M., Jack P., Lea V., Forster B.P., Waugh R., Smith D.B. Quantitative trait loci for germination and malting quality characters in a spring barley cross // Crop Science. – 1996. – Vol. 36. – P. 265-273.*

11. *Gautier M.F., Cosson P., Guirao A., Alary R., Joudrier P. Puroindoline genes are highly conserved in diploid ancestor wheats and related species but absent in tetraploid *Triticum* species // Plant Science. – 2000. – Vol. 153. – P. 81-91.*

12. Darlington H.F., Rouster J., Hoffman L., Halford N.G., Shewery P.R., Simpson D.J. Identification and molecular characterisation of hordoindolines from barley grain // *Plant Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 47. – P. 785-794.

13. Takahashi A., Ikeda T.M., Takayama T., Yanagisawa T. A barley hordoindoline mutation resulted in an increase in grain hardness // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2010. – Vol. 120. – P. 519–526.

14. Allison M.J., Cowe I.A., Mchale R. A rapid test for the prediction of malting quality of barley // *Journal of the Institute of Brewing*. – 1976. – Vol. 82. – P. 166-167.

15. Nagamine T., Sekiwa T., Yamaguchi E., Oozeki M., Kato T. Relationship between quality parameters and SKCS hardness index in malting barley // *Journal of the Institute of Brewing*. – 2009. – Vol. 109. – P. 129-134.

16. Turuspekov Y., Beecher B., Darlington Y., Bowman J., Blake T.K., Giroux M.J. Hardness Locus Sequence Variation and Endosperm Texture in Spring Barley // *Crop Science*. – 2008. – Vol. 48. – P. 1007-1019.

17. Caldwell K.S., Russell J., Langridge P., Powell W. Extreme population-dependent linkage disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare* // *Genetics*. – 2006. – Vol. 172. – P. 557-567.

18. Li W.T., Huang X., Wang J.R., Chen G.Y., Nevo E., Zheng Y.L., Wei Y.M. Genetic analysis and ecological association of Hina genes based on single nucleotide polymorphisms (SNPs) in wild barley, *Hordeum spontaneum* // *Heredity*. – 2010. – Vol. 147. – P. 18-26.

19. Terasawa Y., Rahman S.M., Takata K., Ikeda T.M. Distribution of Hordoindoline genes in the genus *Hordeum* // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2012. – Vol. 124. – P. 143-151.

20. Galassi E., Gazzelloni G., Taddei F., Muccilli V., Gazza L., Pogna N. Kernel texture and hordoindoline patterns in barley (*Hordeum vulgare*) // *Molecular Breeding*. – 2012. – Vol. 30, №4. – P. 1551-1562.

21. Fox G.P., Nguyen L., Bowman J., Poulsen D., Inkerman A. and Henry R.J. Relationship Between Hardness Genes and Quality in Barley (*Hordeum vulgare*) // *Journal of the Institute of Brewing*. – 2007. – Vol. 113, №1. – P. 87-95.

22. Dellaporta S.L., Wood J., and Hicks J.B. A plant DNA mini preparation: Version II // *Plant Molecular Biology Reporter*. – 1983. – Vol.1. – P. 19-21.

23. Saitou N., Nei M. *The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees* // *Molecular Biology and Evolution*. – 1987. – Vol. 4, №4. – P. 406-25.

24. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. *MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods* // *Molecular Biology and Evolution*. – 2011. – Vol. 28. – P. 2731-2739.

25. Yeh F., Yang R., Boyle T., Ye Z. *Microsoft Windows-Based Freeware for Population Genetic Analysis Version 1.32 ed.* // *Molecular Biology and Biotechnology Centre*. – University of Alberta, Edmonton, 2000.

REFERENCES

1. Morris C.F. *Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness*. *Plant Molecular Biology*, 2002, vol. 48, pp. 633-647. doi: 11999840.

2. Blochet J.E., Chevalier C., Forest E., Pebay P.E., Gautier M.F., Joudrier J., Pe'zolet M., Marion D. *Complete amino acid sequence of puroindoline, a new basic and cystine-rich protein with a unique tryptophan-rich domain, isolated from wheat endosperm by Triton X-114 phase partitioning*. *FEBS Letters*, 1993, vol. 329, pp. 336-340.

3. Mattern P.J., Morris R., Schmidt J.W., Johnson V.A. *Location of genes for kernel properties in wheat variety 'Cheyenne' using chromosome substitution lines* // In: Sears E.R., Sears L.M.S. (eds) *Proceedings of the 4th International Wheat Genetic Symposium*. Missouri: Columbus, 1973, pp. 703-707.

4. Law C.N., Young C.F., Brown J.W.S., Snape J.W., Worland A.J. *The study of grain protein control in wheat using whole chromosome substitution lines* // In: *Seed protein improvement by nuclear techniques*. Vienna: IAEA, 1978, pp. 483-502.

5. Giroux M.J., Morris C.F. *Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b* // *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1998, vol. 95, pp. 6262-6266.

<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.95.11.6262>.

6. Krishnamurthy K., Giroux M. *Expression of wheat puroindoline genes in transgenic rice confers grain softness* // *Nature Biotechnology*, 2001, vol. 19, pp. 162-166 // <http://dx.doi.org/10.1038/84435>.

7. Beecher B., Bowman J., Martin J.M., Bettge A.D., Morris C.F., Blake T.K. and Giroux M.J. *Hordoindolines are associated with a major endosperm-texture QTL in barley (Hordeum vulgare). Genome, 2002, vol. 45, pp. 584-591 // <http://dx.doi.org/10.1139/G02-008>.*

8. Ikeda T.M., Ohnishi N., Nagamine T., Oda S., Hisatomi T., Yano H. *Identification of new puroindoline genotypes and their relationship to flour texture among wheat cultivars. Journal of Cereal Science, 2005, vol. 41, pp. 1-6 // <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2004.10.002>.*

9. Rouve's S., Boef C., Zwickert-Menteur S., Gautier M.F., Bernard M., Joudrier P., Jestin L. *Locating supplementary RFLP markers on barley chromosome 7 and synteny with homeologous wheat group 5. Plant Breeding, 1996, vol. 115, pp. 511-513.*

10. Thomas W.T.B., Powell W., Swanston J.S., Ellis R.P., Chalmers K.J., Barua U.M., Jack P., Lea V., Forster B.P., Waugh R., Smith D.B. *Quantitative trait loci for germination and malting quality characters in a spring barley cross. Crop Science, 1996, vol. 36, pp. 265-273 // <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600020009x>.*

11. Gautier M.F., Cosson P., Guirao A., Alary R., Joudrier P. *Puroindoline genes are highly conserved in diploid ancestor wheats and related species but absent in tetraploid Triticum species. Plant Science, 2000, vol. 153, pp. 81-91 // [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00258-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00258-7).*

12. Darlington H.F., Rouster J., Hoffman L., Halford N.G., Shewery P.R. and Simpson D.J. *Identification and molecular characterisation of hordoindolines from barley grain. Plant Molecular Biology, 2001, vol. 47, pp. 785-794 // <http://dx.doi.org/10.1023/A:1013691530675>.*

13. Takahashi A., Ikeda T.M., Takayama T., Yanagisawa T. *A barley hordoindoline mutation resulted in an increase in grain hardness. Theoretical and Applied Genetics, 2010, vol. 120, pp. 519–526 // <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-009-1172-5>.*

14. Allison M.J., Cowe I.A., Mchale R. *A rapid test for the prediction of malting quality of barley. Journal of the Institute of Brewing, 1976, vol. 82, pp. 166-167 // <http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.1976.tb03743.x>.*

15. Nagamine T., Sekiwa T., Yamaguchi E., Oozeki M., Kato T. *Relationship between quality parameters and SKCS hardness index in malting barley. Journal of the Institute of Brewing, 2009, vol. 109, pp. 129-134 // <http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2009.tb00383.x>.*

16. Turuspekov Y., Beecher B., Darlington Y., Bowman J., Blake T.K., Giroux M.J. *Hardness Locus Sequence Variation and Endosperm Texture in Spring Barley*. *Crop Science*, 2008, vol. 48, pp. 1007-1019 // <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2007.08.0424>.

17. Caldwell K.S., Russell J., Langridge P., Powell W. *Extreme population-dependent linkage disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare**. *Genetics*, 2006, vol. 172, pp. 557-567 // <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.104.038489>.

18. Li W.T., Huang X., Wang J.R., Chen G.Y., Nevo E., Zheng Y.L., Wei Y.M. *Genetic analysis and ecological association of Hina genes based on single nucleotide polymorphisms (SNPs) in wild barley, *Hordeum spontaneum**. *Heredity*, 2010, vol. 147, pp. 18-26 // <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.2009.2151>.

19. Terasawa Y., Rahman S.M., Takata K., Ikeda T.M. *Distribution of Hordoinoline genes in the genus *Hordeum**. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, vol. 124, pp. 143-151 // <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-011-1693-6>.

20. Galassi E., Gazzelloni G., Taddei F., Muccilli V., Gazza L., Pogna N. *Kernel texture and hordoinoline patterns in barley (*Hordeum vulgare*)*. *Molecular Breeding*, 2012, vol. 30, no. 4, pp. 1551-1562 // <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-012-9738-3>.

21. Fox G.P., Nguyen L., Bowman J., Poulsen D., Inkerman A. and Henry R.J. *Relationship Between Hardness Genes and Quality in Barley (*Hordeum vulgare*)*. *Journal of the Institute of Brewing*, 2007, vol. 113, no. 1, pp. 87-95.

22. Dellaporta S.L., Wood J., and Hicks J.B. *A plant DNA mini preparation: Version II*. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1983, vol.1, pp. 19-21.

23. Saitou N., Nei M. *The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees*. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, vol. 4, no. 4, pp. 406-25.

24. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. *MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods*. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, vol. 28, pp. 2731-2739.

25. Yeh F., Yang R., Boyle T., Ye Z. *Microsoft Windows-Based Freeware for Population Genetic Analysis Version 1.32 ed*. *Molecular Biology and Biotechnology Centre*. University of Alberta, Edmonton, 2000.

Таблица 1. Сорты и линии ярового ячменя *Hordeum vulgare* L., созданные в 6 селекционных учреждениях Казахстана

Table 1. The list of cultivars and perspective lines of barley *Hordeum vulgare* L. developed in 6 breeding organizations of Kazakhstan

| Учреждение-оригинатор Originator organization | Сорта и линии ярового ячменя Cultivars and perspective lines of spring barley |
|--|--|
| Карагандинский НИИ растениеводства и селекции КАИ МСХ РК | Сорта – Нуринский 1, Карагандинский 5, Медикум 11, Карагандинский 2, Медикум 142, Карагандинский 7, Медикум 104, Медикум 176, Медикум 127, Медикум 156, Медикум 163, Медикум101, Медикум 373, Медикум 376, Медикум 349, Медикум 365, Медикум 318 |
| Карабалыкская СХОС КАИ МСХ РК | Сорта – Убаган, Гранал, Карабалыкский 110, Дружный, Медикум 85, Жаик-2, Тулпар, Нутанс 39, Ранний, Пастбищный, Гранал 447; линии – 19-89-01, 27-121-01, 33-144-01 |
| Красноводопадская СХОС КАИ МСХ РК | Сорта – Атамекен, Байшешек, Богара, Бірлік, Красноводопад-100; линии – L-5/T-26, L-9/T-26, Л-11/T-26, Л-14/T-26, Л-217/T-26, Л-24/T-26, Л-28АГ, Л-38/T-26, Л-46/T-26 |
| КазНИИЗиР КАИ МСХ | Сорта – Асем, Сауле, Сыр Аруы, Сусын, Кымбат, Жан, Инкар, Елік; |

| | |
|---|--|
| РК | линии – 2/84-6, 3/24-01, 6/98-20, 26/98-8, 49/86-1, 74/87-11, 75/80-46с, 76/86-241с, 99/99-7 |
| Кызылординский НИИ рисоводства КАИ МСХ РК | Сорт – Улар; линии – 12/00-7, 103/99-11, 83/80-2, 41/99-7, 25/00-21, 59/87-30, 46/00-14, 74/99-4, 1/99-3, 1/99-1, 53/86-20, 103/99-13, 122/99-6, 104/99-5, 2/99-4, 65/99-14 |
| Актюбинская СХОС КАИ МСХ РК | Сорта – Илек-9, Яссы; линии – ASHOS-163, ASHOS-164, ASHOS-167, ASHOS-168, ASHOS-169, ASHOS-175, ASHOS-181, ASHOS-182, ASHOS-183, ASHOS-184, ASHOS-185, ASHOS-187, ASHOS-194 |

Таблица 2. Характеристика сортов и линий ячменя Казахстана по аллельным и изоформным вариантам хордоиндолиновых генов

Table 2. Characterization of barley cultivars and perspective lines from Kazakhstan by allelic and isoforms variants of hordoindoline genes

| <i>Hina</i> | HINA | <i>Hinb-1</i> | HINB-1 | <i>Hinb-2</i> | HINB-2 | Наименование сорта или линии Name of accessions |
|-------------|------|---------------|--------|---------------|--------|--|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | Медикум 11, Карагандинский 2, Медикум 104, Медикум 176, Медикум 163, Медикум 101, Медикум 373, Медикум 376, Убаган, Карабалькский 110, Бірлік, Медикум 85, 19-89-01, 27-121-01, 33-144-01, Нуганс 39, Богара, L-5/T-26, Пастбищный, Байшешек, L-9/T-26, Л-11/T-26, Л-24/T-26, Л-28АГ, Л-46/T-26, 2/84-6, 26/98-8, Кымбат, 49/86-1, 74/87-11, Жан, Инкар, Елік, 12/00-7, 103/99-11, 41/99-7, 25/00-21, 1/99-1, 53/86-20, 103/99-13, 122/99-6, 104/99-5, 2/99-4, 65/99-14, ASHOS-167, ASHOS-168, ASHOS-169, ASHOS-175, ASHOS-182, ASHOS-183, ASHOS-184, ASHOS-185, |

| | | | | | | |
|-----|------------|-----|------------|-----|------------|--|
| | | | | | | Илек-9, Илек-34, ASHOS-194, Л-217/Т-26 |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 6 | 1 | ASHOS-187 |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | 5 | Тулпар, Ранний |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1/2 | 1/2 | Медикум 349 |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1/3 | 1/3 | ASHOS-181 |
| 1 | 1 | 1/2 | 1/2 | 1 | 1 | 59/87-30, 1/99-3 |
| 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | Сусын, 83/80-2 |
| 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | Медикум 142, Медикум 318, Гранал, Карагандинский 7 |
| 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | Медикум 156 |
| 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | Жаик-2 |
| 1 | 1 | 3 | 3 | 1 | 1 | Асем |
| 1 | 1 | 1/3 | 3 | 1/2 | 1/2 | Дружный |
| 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | Сауле, 3/24-01, 76/86-241с |
| 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | Медикум 365 |
| 1/4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | Нуринский 1 |
| 4 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | Медикум 127 |
| 4 | 2 | 1 | 1 | 1/2 | 1/2 | 74/99-4 |
| 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 1 | Л-38/Т-26, Сыр Аруы, 6/98-20 |
| 2 | 2 | 3 | 3 | 5 | 4 | Красноводопад-100, 75/80-46с |
| 2 | 2 | 3 | 3 | 1/5 | 4 | Гранал 447 |
| 2 | 2 | 2 | 2 | 1/2 | 1/2 | Атамекен |
| 2 | 2 | 1 | 1 | 1/5 | 1/4 | 99/99-7 |
| 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | Улар |
| 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | Л-14/Т-26, ASHOS-164, Яссы |
| 3 | 2 | 1/3 | 3 | 1 | 1 | Арна |
| 1/3 | 1/2 | 2 | 2 | 2 | 2 | ASHOS-163 |
| 1/4 | 1/2 | 1 | 1 | 1 | 1 | Карагандинский 5, 46/00-14 |

Таблица 3. Генетическое разнообразие 96 сортов и линий ярового ячменя Казахстана по нуклеотидным последовательностям трех хордоиндолиновых генов

Table 3. Genetic diversity of 96 spring barley accessions from Kazakhstan based on nucleotide sequences of three hordoindoline genes

| Ген Gene | Длина продуктов ПЦР (нт) PCR product length (nt) | Количество аллелей Number of alleles | π (индекс вариабельности ДНК) π (DNA variation index) | Индекс Нея Nei's index |
|---------------|--|---|---|---------------------------|
| <i>Hina</i> | 447 | 4 | 0.0074 | 0,3929 |
| <i>Hinb-1</i> | 444 | 3 | 0.0017 | 0,3776 |
| <i>Hinb-2</i> | 444 | 6 | 0.0039 | 0,3525 |

Таблица 4. Уровень вариабельности аминокислотных последовательностей трех хордоиндолиновых генов для 96 сортов и перспективных линий ярового ячменя Казахстана

Table 4. The level of variability of amino acid sequences of three hordoindoline genes in the collection of 96 spring barley accessions from Kazakhstan

| Белок Protein | Длина полипептида Polypeptide length | Количество изоформ Number of isoforms | π (индекс варибельности ДНК) π (DNA variation index) |
|------------------|---|--|--|
| HINA | 149 | 2 | 0,0128 |
| HINB-1 | 148 | 3 | 0,0047 |
| HINB-2 | 148 | 5 | 0,0074 |

DOI: 10.11134/btp.2.2014.7

```
PINA      1  MKALFLIGLLALVASTAFAQYSEVVGSYD-VAGGGGAQQCPVETKLNSCR
HINA-1          *****A*****G*****EGG*****L*****D***
HINA-2          *****A*****G*****EGG*****L*****D***

PINA      51  NYLLDRCSTMKDFPVTWRWWKWKGGCQELLGECSSRLGQMPPOCRNII
HINA-1          *****T*****T*****E***HD***Q*S*****
HINA-2          *****T*****R*****L***HD***Q*****

PINA      101 QGSIQGDLDGGIFGFQDRASKVIEAKNLPPRCNQPPCNIPGTIGYYW
HINA-1          *****R***F*****TV***A*****A*****S*****
HINA-2          *****R***V*****TV***A*****A*****S*****
```

В качестве контроля представлена последовательность PINA образца GenBank X69913 пшеницы (NCBI)

Рис. 1. Аминокислотные последовательности HINA, обнаруженные у коллекции ярового ячменя Казахстана

The wheat GenBank accessions X69913 was used as a control for PINA sequence

Fig. 1. Amino acid sequences of HINA, which detected in collection offspring barley from Kazakhstan.


```
PINB      1  MKTLFLLALLALVASTTFAQYSEVGGWYNEVGGGGGSQQCPQERPCLSSC
HINB-1-1  *****I*****-***G**D*****N**G**
HINB-1-2  *****I*****-***G**D*****N**G**
HINB-1-3  *****I*****-***G**D*****N**G**

PINB     51  KDYVMERCFTMKDFPVTWPTKWWKGGCEHEVREKCKQLSQIAPQCRCD
HINB-1-1  *****L*****Q*****Q*****A
HINB-1-2  *****L*****Q*****Q*****A
HINB-1-3  *****L*****Q*****Q*****A

PINB    101  IRRVIQGRLGGLGIWRGEVFKQLQRAQSLPSKCNMGADCKFSPGYW
HINB-1-1  **G***K***IF**GG*D***I***I*****
HINB-1-2  **G***K***IF**GG*D***I***I*****E*****
HINB-1-3  **G***K***IF**GG*D***I***I*****
```

В качестве контроля представлена последовательность PINB для образца GenBank X69912 пшеницы

Рис. 3. Сравнение аминокислотных последовательностей HINB-1 в коллекции ярового ячменя Казахстана

The wheat GenBank accessions X69912 was used as a control for PINB sequence

Fig. 3. The comparison of amino acid HINB-1 sequences in collection of spring barley from Kazakhstan

DOI: 10.11134/btp.2.2014.7

| | | |
|----------|-----|--|
| PINB | 1 | MKTLFLLALLALVASTTFAQYSEVGGWYNEVGGGGGSQQCPQERPKLSSC |
| HINB-2-1 | | *****S****_***G**D*****N**G** |
| HINB-2-2 | | ***L*****S****_***G**D*****N**G** |
| HINB-2-3 | | *****S****_***G**D*****N**G** |
| HINB-2-4 | | *****S****_***G**D*****N**G** |
| HINB-2-5 | | *****S****_***G**D*****N**G** |
| | | |
| PINB | 51 | KDYVMERCF'TMKDFPVTWPTKWWKGGCEHEVREKCKQLSQIAPQCRCD |
| HINB-2-1 | | *****Q*****H****A |
| HINB-2-2 | | ***M*****Q*****H****A |
| HINB-2-3 | | *****Q*****H****A |
| HINB-2-4 | | *****Q*****H****A |
| HINB-2-5 | | *****L*****Q*****H****A |
| | | |
| PINB | 101 | IRRVIQGRLLGGFLGIWRGEVFKQLQRAQSLPSKCNMGADCKFPSGYW |
| HINB-2-1 | | **G***K***IF**GG*A****I****I*****V**R***** |
| HINB-2-2 | | **G***K***IF**GG*A****I****I***** |
| HINB-2-3 | | **G***K***IF**GG*A****I****I***** |
| HINB-2-4 | | **G***K***IF**GG*D****I****I***** |
| HINB-2-5 | | **G***K***IF**GG*A****I****I*****V**R***** |

В качестве контроля представлена последовательность PINB для образца GenBank X69912 пшеницы

Рис. 5. Сравнение аминокислотных последовательностей HINB-2 в коллекции ярового ячменя Казахстана

The wheat GenBank accessions X69912 was used as a control for PINB sequence

Fig. 5. The comparison of amino acid sequences of HINB-2 in the collection of spring barley from Kazakhstan

ТҮЙІН

Дәннің қаттылығы дәнді дақылдар сапасының маңызды белгісі болып табылады. Қатты дәнді үлгілер мал азықтық түрлерін шығару үшін неғұрлым қолайлы, ал жұмсақ дәнді үлгілер арпаның сыра қайнататын сорттарын сұрыптау үшін ойдағыдай қолданыла алады. Арпада (*Hordeum vulgare* L.) аталған белгі хордоиндолиндер (HIN) деп аталатын триптофанға бай полипептидтердің болуымен және әр түрлілігімен байланысты. Бидайдың пуриноиндоллиндік (Pin) гендерінің гомологтары болып табылатын, оларды кодтайтын хордоиндолиндік (Hin) гендер арпа хромосомасының 7 (5H) қысқа иығында орналасқан. Хордоиндолиндік гендердің тұқымдастығы *Hina*, *Hinb1*, *Hinb2* және *Gsp*-ден тұрады, бұлардың алғашқылары неғұрлым маңызды гендер болып табылады және арпаның қатты дәнділік дәрежесімен байланысты.

Аталған зерттеу жұмысында еліміздің 6 селекциялық мекемесінен жинақталған, 96 сорт пен сорттармақтардан тұратын, Қазақстанның екі қатарлы жаздық арпасының коллекциясындағы дән қаттылығы Hin гендерінің нуклеотидтік жүйеліліктерінің түрленгіштігі алғаш рет зерттелді. *Hina*, *Hinb-1* және *Hinb-2* гендері үшін тиісінше 2, 3 және 5 изоформалардың бар екендігін жобалайтын аллельдік нұсқалар анықталды. Үш геннің әрқайсысы үшін нуклеотидтік, сол сияқты амин қышқылдық жүйеліліктері бойынша ерекшеленетін, отандық коллекцияның сорттары мен сорттармақтарының топтары анықталды. Сондай-ақ бірден үш генді талдау негізіндегі гаплотиптер бойынша ерекшеленетін үлгілердің топтары да анықталды. Үш хордоиндолиндік геннің нуклеотидтік және амин қышқылдық жүйеліліктері арпаның отандық және басқа жұмыстарда бұрын зерттелген шетелдік түрлерін салыстырмалы генетикалық талдау үшін пайдаланылды. Қазақстандық үлгілердің *Hina*, *Hinb-1* және *Hinb-2* гендері бойынша генетикалық әр түрлілігінің (0,3929, 0,3776, 0,3525) орташа деңгейі арпаның әлемдік коллекциясының үлгілерімен эксперименттегі орташа мәндерден қалып қойды. Филогенетикалық талдау барлық үш нәруызды (HINA, HINB-1 және HINB-2) кластерлеу сипаты бойынша айырмашылықтарды анықтауға мүмкіндік берді. Зерттеулердің нәтижелері арпаның сыра қайнататын және/немесе жемазықтық бағыттағы селекциясында пайдаланылуы мүмкін.

Кілтті сөздер: жаздық арпа, *Hordeum vulgare*, қатты дәнділік, генетикалық әр түрлілік, *Hin* гендері, хордоиндолиндер.