

***КЛАСИФІКАЦІЯ СВІТОВОГО ГЕНОФОНДУ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ
ЗА АЛЕЛЬНИМИ ВАРІАНТАМИ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ
ГЛЮТЕНІНІВ***

І.А. Панченко, З.В. Усова, В.К. Рябчун, О.Ю. Леонов
Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН

Охарактеризовано 1060 сортів світового генофонду озимої м'якої пшениці за частотою розповсюдження аельних варіантів НМW.

Озима м'яка пшениця, високомолекулярні глютеніни, розповсюдження

На даний час Україна входить до шістки провідних виробників зерна пшениці у світі. Змінюється наш внутрішній ринок зерна та хлібопродуктів, розширюється асортимент виробів з пшеничного зерна і борошна, зростає експорт. Все це потребує створення нових сортів пшениці, стійких до хвороб і шкідників та несприятливих умов вирощування, з широким діапазоном показників якості зерна, здатних забезпечити вимоги виробництва високоякісної продукції і задовольнити потреби експорту. В зв'язку з цим, селекція на якість виступає на одне з перших місць у селекційному процесі.

Успіх селекції залежить від наявності методів, які дозволяють з'ясовувати генетичні відмінності сортів і форм на різних етапах селекційного процесу. Серед різних підходів до вивчення якості зерна значний розвиток одержав метод, який пов'язаний з використанням генів-маркерів запасних і ферментативних білків. Електрофоретичний поділ цих білкових систем показав, що вони поліморфні, генетично стабільні і можуть маркувати генетичну систему [1-3].

В селекції на якість джерелом і донором потрібних властивостей часто стають закордонні зразки озимої пшениці, які відрізняються від вітчизняних сортів за спектром глютенінів. Тому ідентифікація і вивчення селекційної цінності субодиноць високомолекулярних глютенінів має важливе значення як у плані використання одержаних результатів у селекційних програмах, так і для оцінки та паспортизації колекційних зразків, що надходять до НЦГРРУ.

Надзвичайно важливим в селекції пшениці є розширення генетичної основи вихідного матеріалу за рахунок залучення світового генофонду культури з ідентифікованими генетичними маркерами цінних ознак. На вирішення цих питань і були спрямовані наші дослідження.

Метою досліджень було визначення географії розповсюдження алелів високомолекулярних глютенінів для підвищення ефективності добору цінних генотипів в селекції озимої м'якої пшениці та надійності ідентифікації і паспортизації генофонду.

Для ідентифікації і паспортизації генофонду було використано сортозразки озимої м'якої пшениці вітчизняної і закордонної селекції із колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України. Загальна кількість використаних зразків складала 1060 номерів.

Електрофоретичний поділ глютенінових білків в ПААГ проводили за методикою P.K.W. Ng, M.G. Sconlon, W. Bushuk [4]. Для ідентифікації субодиниць глютеніну і кодуючих їх локусів використовували номенклатуру, запропоновану P.J. Payne et al. [5]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакету програм Statistica-06 (ліцензія № BXXR502C631824NEN3).

Результати досліджень. У селекційній практиці широко застосовується еколого-географічний метод добору пар для схрещування. М.І. Вавилов вважав, що для корінного поліпшення пшениці велике значення має планове використання її світового різноманіття [6]. Еколого-географічний принцип добору пар для схрещування ґрунтується на припущенні, що створені в географічно-віддалених районах сорти пшениці мають значні генотипові відмінності [7]. Але як відзначав А.Ф. Мережко, географічна віддаленість батьківських форм є лише передумовою істотних відмінностей за спадковими особливостями: з одного боку, сорти, які створені в різних регіонах, можуть мати однакові гени, які контролюють необхідну селекційну ознаку, з іншого, навіть дуже близькі за походженням сорти можуть успадковувати від батьківських форм різні гени, що забезпечує трансгресивне розщеплення при їх схрещуванні [8]. Це стало передумовою вивчення нами глютенінових спектрів сортів озимої м'якої пшениці різних країн походження.

За літературними даними, розповсюдження алельних варіантів високомолекулярних глютенінів була неоднаковою для сортів різних країн. Так для сортів пшениць, що вирощуються у Іспанії, відмічена висока частота присутності субодиниць 13+16 локусу Glu-1B [9]. У сортів Югославії найбільшого розповсюдження набув алельний варіант 2+12, що контролюється локусом хромосоми 1D [10]. У роботі іранських вчених зазначено, що сорти пшениць, які вирощуються на території Ірану, характеризувались значним відсотком присутності

наступних алейних варіантів: 2+12, 7+8, Null та 2* [11]. Також було виділено окремі субодиночі НМW глютенінів, які характерні для сортів з таких країн, як Індія, Норвегія, Китай та ряд ін. [12-14].

Маючи унікальну можливість використовувати у дослідженнях колекцію сортів озимих м'яких пшениць, яка знаходиться у НЦГРРУ, ми вивчили диференціацію сортозразків за складом високомолекулярних глютенінових білків відносно країн світу (табл. 1) [15-16].

За результатами проведених досліджень ми встановили, що за локусом хромосоми А1, найбільшого розповсюдження набув алейний варіант 1А1. Так його присутність коливалась в залежності від країни: від 5,9% у Великобританії до 72,7% у австрійських сортів. У сортів США, Болгарії, Румунії, Австралії, Фінляндії, Індії переважає алейний варіант 1А2* (46,2% - 62,5%). Великий відсоток зразків з Null-алелем характерний для сортів Великобританії (76,5%), Німеччини (69,2%), Чехії (61,5%), Югославії (44,4%), Франції (55,2%), Китаю (45,2%). Також було встановлено, що сорти озимої пшениці, які вирощуються у Польщі (42,9%), характеризувались поліморфним станом алейних варіантів, що контролюються локусом хромосоми А1.

Таким чином, можна зробити висновок, що алейний варіант 1ANull виступає маркером адаптованості для вологих кліматичних умов країн Західної Європи для пізньостиглих сортів.

За локусами хромосоми В1 у вивчених сортозразків переважав варіант 7+9. Він присутній у сортів озимої пшениці всіх країн, які досліджувались, і сягав від 7,2% (Польща) до 90,9% (Австрія). У сортів з Франції, Індії, Китаю відмічений значний відсоток присутності алейного варіанту 1В 7+8. Сорти Великобританії, Чехії, Німеччини характеризуються присутністю у кожного 2 - 3 сорту алейного варіанту 6+8 хромосоми В1. Високомолекулярні субодиночі глютеніну, синтез яких контролюються хромосомою 1В, за своїм складом найбільш поліморфні. Частина визначених алейних варіантів цієї хромосоми є новими для Лісостепу України і за результатами наших досліджень перспективними з точки зору включення їх в селекційні програми за якісними ознаками. До групи рідкісних відносяться варіанти 1В17+18, 1В13+16, 1В 14+15, 1В20. Алейний варіант 1В17+18 за нашими дослідженнями найбільшого поширення набув у сортів озимих м'яких пшениць Великобританії, Італії, Австралії. Для австралійських пшениць також значного поширення набули алейні варіанти 1В20, 1В13+16. За станом хромосоми В1 значним поліморфізмом характеризувались сорти озимої пшениці Польщі, незначний відсоток поліморфних сортів було відзначено в Україні, Росії, Болгарії, Угорщині, Словаччині, Німеччині, Франції, США, Мексиці (SIMMYT).

Таблиця 1

Розповсюдження субодиноць високомолекулярних глютенінів у сортів озимих м'яких пшениць,
1994-2004 рр.

Країна походження	Кількість сортів	Частота присутності субодиноць, %											
		Glu-1A				Glu-1B					Glu-1D		
		1	2*	Null	полімор- фізм	7+9	7+8	6+8	ін.	полімор- фізм	5+10	2+12	полімор- фізм
Україна	318	43,2	30,0	12,8	14,0	65,8	21,8	2,1	1,2	9,1	91,4	7,4	1,2
Росія	146	44,0	35,8	8,1	12,1	78,0	6,50	0,0	1,6	13,8	91,1	4,8	4,1
Болгарія	14	30,8	46,2	23,0	0,0	84,6	7,7	0,0	0,0	7,7	92,3	0,0	7,7
Угорщина	29	17,4	30,4	39,1	13,1	78,3	4,30	0,0	0,0	17,4	60,9	17,4	21,7
Польща	14	0,0	21,4	35,9	42,9	7,2	7,2	7,1	7,1	71,4	35,7	28,6	35,7
Румунія	40	5,4	51,4	27,0	16,2	45,9	29,7	0,0	0,0	24,3	81,1	8,1	10,8
Чехія	12	11,5	25,0	61,5	2,0	29,2	13,9	29,2	0,0	27,2	57,7	43,3	0,0
Словаччина	12	54,5	2,0	40,9	2,6	77,3	8,7	5,2	0,0	8,8	86,4	13,6	0,0
Югославія	11	11,1	18,2	44,4	18,3	88,9	0,0	0,0	0,0	11,1	77,8	11,1	11,1
Німеччина	20	15,4	0,0	69,2	15,4	53,8	0,0	23,1	15,8	7,7	47,0	53,0	0,0
Франція	52	0,0	33,3	55,2	11,1	44,4	44,4	0,0	0,0	11,2	77,8	22,2	0,0
Австрія	44	72,7	18,2	9,1	0,0	90,9	0,0	0,0	0,0	9,1	90,9	9,1	0,0
Великобританія	12	5,9	17,6	76,5	0,0	17,6	11,2	52,6	5,3	13,0	41,2	41,2	17,6
Фінляндія	17	29,4	58,8	0,0	11,8	70,6	0,0	0,0	23,5	5,9	35,3	58,8	5,9

Продовження табл. 1

Країна походження	Кількість соргів	Частота присутності субодиниць, %											
		Glu-1A				Glu-1B					Glu-1D		
		1	2*	Null	полі- морфіз	7+9	7+8	6+8	ін.	полімор- фіз	5+10	2+12	полімор- фізм
Італія	26	61,5	19,3	19,2	0,0	26,9	19,2	0,0	53,8	0,0	30,8	69,2	0,0
США	124	18,7	52,8	17,9	10,6	56,9	24,4	0,8	3,3	14,6	74,0	13,0	13,0
Канада	19	56,5	18,2	18,2	18,1	81,1	18,2	0,0	0,0	0,0	72,7	27,3	0,0
Мексика (SIMMYT)	16	50,0	50,0	0,0	0,0	50,0	28,6	0,0	14,3	7,1	71,4	28,6	0,0
Китай	6	36,5	18,3	45,2	0,0	39,1	41,1	4,6	15,3	0,0	16,8	83,2	0,0
Індія	23	25,0	62,5	12,5	0,0	20,8	33,3	0,0	45,9	0,0	66,7	33,3	0,0
Австралія	106	36,2	51,7	12,1	0,0	17,2	21,6	0,9	60,3	0,0	38,8	61,2	0,0

За локусом хромосоми D1 у сортів України (91,4%), Росії (91,1%), США (74%), Канади (72,2%), Мексики (SIMMYT) (71,4%), Австрії (90,9%), Словаччини (86,4%), Румунії (81,1%), Югославії (77,8%), Франції (77,8%), Болгарії (92,3%) переважає варіант 5+10. Висока частота присутності блоку 2+12 відзначена у сортів Австралії (61,2%), Фінляндії (58,8%), Італії (69,2%) та Китаю (83,2%). Серед сортів, які в останні десятиріччя вирощувалися у Великобританії, хромосома Glu - D1 була представлена обома аельними варіантами 2+12 та 5+10 з однаковим відсотком – 41,2%. Серед червонозерних сортів, які в останній час вирощувались у Німеччині, також практично однакового розповсюдження набули аельні варіанти локусів хромосоми 1D2+12 (53%) та 1D5+10 (47%). Такого ж розповсюдження набули аельні варіанти 1D5+10 (57,7%) та 1D2+12 (43,3%) серед сортів Чеської республіки. За хромосомою D1, так як і за хромосомами A1 і B1, велика частка поліморфних сортів була встановлена для Польщі. Тобто можна зробити висновок, що сорти озимої м'якої пшениці, які вирощуються на території Польщі, по сутності є сортами-популяціями за станом трьох глютенінкодуєчих локусів.

Для встановлення географічних зон розповсюдження окремих аельних варіантів висомолекулярних глютенінів хромосом A1, B1, D1 ми використали кластерний аналіз розрахунку генетичних дистанцій. Це дало можливість з'ясувати регіони походження окремих високомолекулярних субодиниць глютенінів і визначити ймовірні країни-донори нового вихідного матеріалу для використання в селекційних програмах на якість зерна.

На дендрограмі (рис. 1) показано результати кластерного аналізу за аелями Glu - 1 відносно сортів різних країн світу. До кластеру 1 увійшли країни, сорти яких характеризуються обмеженою кількістю аельних варіантів субодиниць Glu - 1. Це такі країни, як Росія, Болгарія, Югославія, Австрія. Практично для кожної з 3-х хромосом, які контролюють високомолекулярні глютеніни, ідентифіковано по одній субодиниці, що привело до звуження генетичної відстані і виявило тенденцію до одноманітності генетичної плазми в сортах цих країн.

До другого кластеру увійшли сорти більшості країн Європи, а також США і Канади. Вони характеризуються відносно високою частотою присутності субодиниць хромосом A1, B1, D1 ($H = 0,4$). Наприклад, сортозразки із США характеризувались таким співвідношенням: за хромосомою A1 субодиниця 1 виявлена у 18,7 % зразків, 2* - 52,8 %, субодиниця 1B7+9 - у 56,9 % зразків, субодиниця 1B7+8 - 24,4 % і субодиниця 1D5+10 - у 74,0 % зразків.

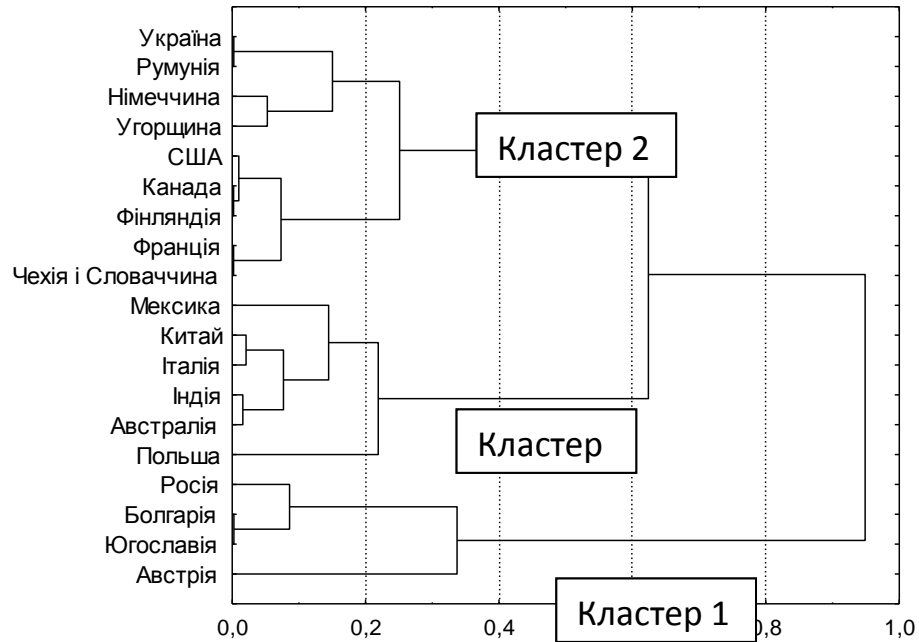


Рисунок 1. Дендрограма розрахунку генетичних дистанцій за алелями Glu - 1 відносно сортів озимої м'якої пшениці світового генофонду

До 3-го кластеру ввійшли сорти азіатських країн, Австралії, Мексики (SIMMYT), а також країн півдня Європи. Цей кластер характеризується високим показником генетичної відстані ($H = 0,6$). Сорти озимої пшениці цього кластеру мають у спектрі високомолекулярних глютенінів практично всі ідентифіковані варіанти. Вони є цікавими з точки зору включення в селекційний процес з метою розширення генетичного різноманіття вихідного матеріалу в селекційних програмах на якість зерна.

За результатами кластерного аналізу ми можемо зробити висновок, що алелі високомолекулярних глютенінових білків характеризуються залежністю від географічної зони походження сортів озимої пшениці. Це можна простежити на прикладі розповсюдження сортів озимої пшениці навіть у межах нашої країни.

Так відмічені суттєві різниці у співвідношенні субодиниць 1 і 2* хромосоми 1A між пшеницями Північного Сходу України – 54 % і 25 % і Півдня – 45,5 і 52 %, так же як між російськими пшеницями Північного Кавказу – 46,6 і 51,8 %, Уралу і Сибіру – 68 і 32 % відповідно. Є різниця у співвідношенні субодиниць 1 і 2* у межах одного регіону. Так співвідношення вищезазначених субодиниць хромосоми 1A для сортів зерноградської селекції (Ростовська обл., Росія) склала 83,3 і 16,7 %, а для пшениць Краснодарського краю - 30,9 і 66,2 %. Спостерігається чітка закономірність зниження долі сортів з субодиницею 1 з півночі на південь і збільшення долі сортів з цією субодиницею з заходу на схід. Найбільш зимостійкі твердозерні сорти озимих пшениць України з червоним зерном – Феррогінеум 1239, Миронівська 808, Одеська 16 та Росії – Безенчукська 198, Курганська 9, а також канадські Sundance, Lennox, Norstar, Valor мають субодиницю 1 хромосоми A1. Наведені дані, за нашою думкою, свідчать про наявність зв'язку субодиниці 1A1 з високим рівнем адаптивності до різних природно – кліматичних зон. [17-19].

При узагальненні даних електрофоретичних спектрів сортів, які вносились до Реєстру сортів рослин України за 10 років, спостерігається закономірність присутності алельних варіантів Glu - A1 за зонами вирощування (рис. 2).

Із всього вищезазначеного можна зробити висновок, що найбільш адаптованим для кліматичних зон України є алельний варіант 1A1, субодиниця 1A2* в основному характерна для степової і лісостепової зон, Null-алель для Полісся. Можна припустити, що ця закономірність пов'язана з адаптивними властивостями алельних варіантів високомолекулярних глютенінів.

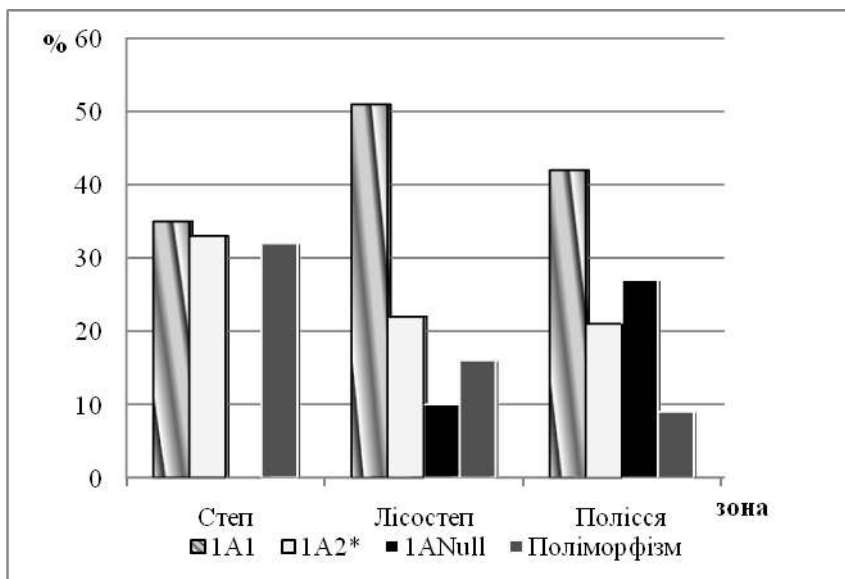


Рисунок 2. Графік розподілу алельних варіантів Glu-1 відносно зон вирощування сортів озимої м'якої пшениці (1994 - 2004 рр.)

Так у сортів, що рекомендуються для степової зони вирощування, спостерігається однакова присутність алельних варіантів 1A1 і 1A2*. При цьому повністю відсутні сорти з субодиноцею 1ANull. У сортів, які рекомендуються для вирощування у Лісостепу, переважає алельний варіант 1A1, з невеликим відсотком сортів з Null-алелем. Для зони Полісся також основною субодиноцею є 1A1, але при цьому збільшується відсоток сортів з 1ANull і зменшується доля сортів з локусом 1A2*.

Висновки. 1. Аналіз одержаних спектрів високомолекулярних глютенінів вивчених сортів озимої м'якої пшениці світового генофонду показав стабільність їх прояву у всі роки досліджень.

2. Встановлена диференціація складу високомолекулярних глютенінових білків стосовно країн світу. За цією ознакою сорти діляться на 3 кластери. До кластеру 1 увійшли країни, сорти яких характеризуються обмеженою кількістю субодиноць Glu-1. Практично для кожної з 3-х хромосом, які контролюють синтез високомолекулярних глютенінів, ідентифіковано по одній субодиноці, що свідчить про вузьку генетичну основу сортів озимої пшениці. До другого кластеру увійшли сорти більшості країн Європи, а також США і Канади. Вони характеризуються відносно високою частотою присутності субодиноць хро-

мосом A1, B1, D1. Третій кластер характеризується високим показником генетичної відстані ($H = 0,6$). Сорти озимої пшениці цього кластеру мають у спектрі високомолекулярних глютенінів практично всі ідентифіковані субдиниці. Вони є цікавими з точки зору включення в селекційний процес з метою розширення генетичного різноманіття вихідного матеріалу.

3. Серед сортів, які вирощуються в Україні спостерігалася зональна диференціація алейних варіантів високомолекулярних глютенінів, які контролюються хромосоною A1. Найбільшого поширення набув у різних кліматичних зонах вирощування алейний варіант 1A1, він склав за зонами від 33 до 51 %. Серед світового генофонду пшениць частота присутності цього алейного варіанту склала 34,6%. Це вказує на те, що цей алейний варіант може слугувати генетичним маркером високої адаптивності сортів озимої м'якої пшениці у різних кліматичних зонах вирощування.

Список використаних джерел

1. Попереля Ф. О. Генетика якості зерна перших генотипів надсильної пшениці України / Ф. О. Попереля, О. М.Благодарова // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 6. – С. 11–19.
2. Аbugалиева А. И. Биологические и морфологические маркеры в идентификации линий, биотипов и в создании исходного материала / А. И. Аbugалиева // Моделирование структуры сорта на основе генетических маркеров : сб. науч. тр. – Алма - Ата, 1991. – С. 83–93.
3. Козуб Н. А. Локусы запасных белков мягкой пшеницы как маркеры локусов количественных признаков / Н. А. Козуб, И. А. Созинов // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. – К. : Аграрна наука, 2003. – С. 387–391.
4. Ng P.K.W. A Catalog of biochemical fingerprints of registered canadian wheat cultivars by electrophoresis and high - performance liquid chromatography / P.K.W. Ng, M. G. Sconlon, W.Bushuk // Food Science Department, University of Manitoba Winnipeg. – Canada, 1988. – P. 3–175.
5. Payne P. J. Catalogue of alleles for the complex gene loci Glu - A1, Glu - B1 and Glu -D1 which code for high - molecular - weight subunits of glutenin in hexaploid wheat / P. J. Payne, C. J. Lawrence // Cereals Research Communications. – 1983. –Vol. 11, № 1. – P. 29–35.
6. Вавилов Н. И. Научные основы селекции растений / Н. И. Вавилов. – М. – Л. : Сельхозиздат, 1935. – 244 с.
7. Пшеницы мира / В. Ф. Дорофеев, Р. А. Удачин, Л. В. Семенова [и др.] ; под ред. акад. В. Ф. Дорофеева ; сост. Р.А. Удачин. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л. : ВО Агропромиздат, 1987. – 560 с.

8. *Мережко А. Ф.* Проблема доноров в селекции / А. Ф. Мережко. – СПб : ВИР, 1994. – 128 с.
9. *Radriguez – Quijano M.* Variation in high molecular weight glutenin subunits in Spanish landraces of *Triticum aestivum* ssp. *Vulgare* and ssp. *spelta* / M. Radriguez – Quijano, J. F. Vazques, J. M. Carillo // *J. Genet and Breed.* – 1990. – Vol. 44, № 2. – P. 121–125.
10. *Knezevic D.* Allelic variation at Glu -1 loci in some Yugoslav wheat cultivars / D. Knezevic, G. Surlan – Monirovic, D. Ciric // *Euphytica.* – 1993. – Vol. 69, № 1/2. – P. 89–94.
11. *Bushehri A. A.* The high molecular weight glutenin subunits composition of bread wheat commonly grown in Iran / A. A. Bushehri, B. Y. Samadi // *Tenth Intern. wheat genet. sump.* – Italy, 2003. – Vol. 3. – P. 1389 – 1390.
12. *Bragwat S. G.* Variation in high molecular weight glutenin subunits of Indian wheat varieties and their Glu - 1 quality scores / S. G. Bragwat, C. R. Bhatia // *7th Intern. wheat genet. sump.* Cambridge, 1988. – Cambridge, 1988. – № 2. – P. 933 – 936.
13. *Uhlen A. K.* The composition of high molecular weight glutenin subunits in Norwegian wheats and their relation to breed – making quality / A. K. Uhlen // *Norwegian jornal of Agriculturaal sciences.* – 1990. – Vol. 4, № 1. – P. 1–17.
14. *The high molecular weight protein subunit compositions of Chinese bread wheat varieties and their elatonsip with breed making quality / G. Wang, J. W. Snape, H. Hu, W. J. Rogers // Euphytica.* – 1993. – Vol. 68, № 3. – P. 205–212.
15. *География* распространения аллелей глютенинкодирующих локусов пшениц и их технологическая ценность / [Пархоменко Р. Г., Панченко И. А., Ельников Н. И., Шевченко З. В.] // *Методологические основы формирования, ведения и использования коллекций генетических ресурсов растений : тез. докл. междунар. симпоз. (Харьков, 2-4 окт. 1996 г.).* – X., 1996. – С. 63.
16. *High – molecular – weight gluten subunit composition of cultivars and breeding lines of hard red winter wheat from different geographic regions / [Panchenko I. A., Parchomenko R. G., Rabinovich S. V., Usova Z. V.] // Annual wheat newsletter. Kansas State University.* – Manhattan, 1996. – Vol. 42. – P. 212–216.
17. *Высокомолекулярные* глютенины Glu – 1 как показатели зимостойкости пшениц различных регионов Украины и России / [Рабинович С. В., Панченко И. А., Пархоменко Р. Г., Усова З. В.] // *Молекулярно - генетические маркеры растений : тез. докл. междунар. конф. (Ялта, 11-15*

- нояб. 1996 г.). – К. : Аграрна наука, 1996. – С. 32.
18. Усова З. В. НМW глютеніни в селекції озимої пшениці на адаптивність / З. В. Усова // Агроєкологія як основа стабільності сільського господарства : матер. всеукр. конф. молод. вч. (Харків, 11-13 жовт. 2000 р.). – Х., 2000. – С. 45 – 46.
- 19.. Високомолекулярні глютеніни - генетичні маркери зимостійкості та якості зерна озимої м'якої пшениці / [Усова З. В., Панченко І. А., Діденко С. Ю., Копитіна Л. П.] // Генетичні ресурси для адаптивного рослинництва: мобілізація, інвентаризація, збереження, використання : тези доп. міжнар. наук. – практ. конф. (Оброшено, 29 черв. – 1 лип. 2005 р.). – Оброшено, 2005. – С. 256–257.

Дана характеристика 1060 сортам мирового генофонда озимой мягкой пшеницы по частоте встречаемости аллельных вариантов высокомолекулярных глютеинов.

There is defined a nature of inheritance of HMG allelic variants at intraspecies hybridization of winter bread wheat. There is given a characteristic for 1060 varieties from the world genepool of winter bread wheat as to the frequency of occurrence of HMG allelic variants.