

УДК 631.527:631.1:633

ПОЛІМОРФІЗМ Wx ГЕНІВ У КОЛЕКЦІЙНИХ ЗРАЗКІВ ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО

Левченко О.С. 

ННЦ «Інститут землеробства НААН»

 E-mail: feniks1213@gmail.com



Левченко О.С. Поліморфізм wx генів у колекційних зразків тритикале озимого. Збірник наукових праць «Агробіологія», 2020. № 1. С. 80–87.

Levchenko O.S. Polimorfizm Wx heniv u kolektsiinykh zrazkiv trytykale ozymoho. Zbirnyk naukovykh prac' "Agrobiologija", 2020. no. 1, pp. 80-87.

Рукопис отримано: 23.03.2020 р.
Прийнято: 06.04.2020 р.
Затверджено до друку: 25.05.2020 р.

doi: 10.33245/2310-9270-2020-157-1-80-87

Метою дослідження була ідентифікація колекції тритикале озимого за аельним станом генів ваксі та виділення джерел із наявністю ваксі-алелів за цими генами. Дослідження здійснювали впродовж 2017–2019 років у ННЦ «Інститут землеробства НААН». Предмет дослідження – 43 колекційні зразки тритикале озимого, з яких 29 – номери власної селекції, 14 – сорти селекції ННЦ «Інститут землеробства НААН» (9) та наукових установ Польщі (1) і Російської Федерації (4). Як контроль використовували ваксі-сорт пшениці м'якої озимої Софійка і сорт пшениці із звичайним типом крохмалю Оксана селекції Селекційно-генетичного інституту НААН. Для оцінювання колекційного матеріалу застосовували польові, лабораторні (інфрачервона спектрометрія, світлова мікроскопія, метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), вимірально-вагові та математико-статистичні методи досліджень.

За даними молекулярно-генетичного аналізу поліморфізму генів Wx у колекційних зразків тритикале озимого встановлено, що всі досліджувані зразки мали алелі дикого типу за геном Wx-B1 та характеризувались відсутністю гена Wx-D1. За геном Wx-A1 виявлено зразки як з алелями дикого типу, так і з наявністю у геномі ваксі-алелю. Виділено 8 колекційних зразків із ваксі-алелем за геном Wx-A1: селекційні номери 141, 153, 201, 223, 229 та сорти Любомир, Петрол і Поліський 7.

Виділені зразки значно різнилися між собою за показниками таких ознак як зернова продуктивність, маса 1000 зерен, вміст крохмалю. Встановлено тенденцію зниження розмірів гранул та підвищення вирівняності гранулометричної структури крохмалю у зразків із наявністю ваксі-алелю гена Wx-A1. Зразки із ваксі-алелями гена Wx-A1 є цінним вихідним матеріалом для створення нових сортів тритикале озимого із підвищеним вмістом у крохмалі амілопектину, придатних для переробки на біоетанол.

Ключові слова: тритикале озиме, біоетанол, крохмаль, полімеразна ланцюгова реакція, амілопектин, амілоза, аельний стан ваксі-генів, ваксі-алель, дикий тип.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Високий вміст крохмалю в зерні – одна з головних вимог для сортів зернових культур спирто-дистилятного напрямку використання. Однак ефективність переробки зерна на біоетанол залежить не лише від кількості, а й від якості крохмалю. Крохмаль має дві складові речовини – амілозу та амілопектин, які різняться будовою молекул і властивостями. Амілоза та амілопектин мають різні структури та властивості. Амілоза має вигляд довгого нерозгалуженого ланцюга, а амілопектин – це

дуже розгалужена молекула, хоча фактично обидва складники крохмалю мають однаковий молекулярний склад. Амілоза та амілопектин становлять до 99 % сухої ваги гранул крохмалю. У середньому крохмаль складається на 20–30 % із амілози і на 70–80 % з амілопектину. Окремі сорти різних злакових культур характеризуються амілопектиновим або ваксі типом крохмалю, в якому частка амілози не перевищує 1,0 %. Амілопектиновий або ваксі-крохмаль за своїми фізико-хімічними властивостями різниться від звичайного типу крохмалю, що обумовлює

його переваги за використання в різних галузях промисловості, особливо для переробки на біоетанол. Вихід спирту під час виробництва з одиниці сировини із ваксі-крохмалем є більшим, навіть за порівняно меншого загального відсоткового вмісту крохмалю в зерні [1–10].

Ідентифікація матеріалу за алельним станом генів ваксі можлива із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), яка є одним із широко розповсюджених методів молекулярної біології, тому що дає змогу швидко і з відносно невеликими матеріальними витратами проводити аналізи [11–13]. Враховуючи потреби виробництва у зерні із ваксі-крохмалем, науковці різних країн проводять дослідження з оцінювання вихідного матеріалу, виділення джерел за цією ознакою та створення сортів зернових культур із підвищеним вмістом амілопектинового крохмалю [12–19].

За поєднання у генотипі пшениці трьох неактивних ваксі-алелів генів ваксі відбувається повне блокування синтезу амілози. Сорти з кількома ваксі-алелями зі зниженим синтезом амілози є частково ваксі. Ваксі-алелі генів *Wx-A1*, *Wx-B1* і *Wx-D1* не рівнозначно впливають на синтез амілози у зернівках, найістотніше його знижує ваксі-алель гена *Wx-B1* [20–22]. Наразі у світі ще не створено сортів тритикале із повністю ваксі-крохмалем. Отже, важливо проводити ідентифікацію генетичного різноманіття тритикале з метою виділення джерел із ваксі-генами, а також залучати у схеми схрещувань сорти і лінії ваксі-пшениці та відбирати у новому вихідному матеріалі генотипи ваксі-тритикале із зменшеною часткою амілози у крохмалі.

Мета дослідження – провести ідентифікацію колекції тритикале озимого за алельним станом генів ваксі та виділити джерела із наявністю ваксі-алелів за генами *Wx* для залучення у схеми гібридизації для створення сортів спирто-дистилятного напрямку використання.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження здійснювали впродовж 2017–2019 років у ННЦ «Інститут землеробства НААН». Польові дослідження проводили на полях селекційної сівозміни, що розташовані у Києво-Святошинському районі Київської області. Площа польової ділянки у колекційному розсаднику становила 5,5 м², за чотириразової повторності, розміщення ділянок – систематичне зі зміщенням.

Роки проведення дослідження різнилися за вологозабезпеченням і температурним режимом. Температура повітря за весняно-літній період 2017 року загалом була близькою до норми, однак кількість опадів була недостатньою. У 2018 році за період квітень-липень температура

перевищувала норму, а забезпеченість вологою загалом характеризувалась як достатня. За весь весняно-літній період 2019 року температура повітря перевищувала середню багаторічну норму, особливо у червні, а за кількістю опадів рік характеризувався як дуже посушливий.

Предметом дослідження були 43 колекційні зразки тритикале озимого, з яких 29 – це номери власної селекції, 14 – сорти селекції ННЦ «Інститут землеробства НААН» (Мольфар, Аристократ, Волемир, Любомир, Маєток Полісся, Петрол, Солодюк, Котигорошко, Фанат, Поліський 7) та закордонної селекції (Яша, Алмаз, Докучаєвське – Російська Федерація, Mundo – Польща). Як контроль використовували ваксі-сорт пшениці м'якої озимої Софійка і сорт пшениці із звичайним типом крохмалю Оксана селекції Селекційно-генетичного інституту НААН.

Для оцінювання колекційного матеріалу застосовували польові, лабораторні, вимірювально-вагові та математико-статистичні методи досліджень. Аналіз зерна за вмістом крохмалю проводили методом інфрачервоної спектроскопії на приладі Infratec 1241. Дослідження гранулометричної структури крохмалю – методом світлової мікроскопії та за допомогою комп'ютерної програми ImageJ. Визначення алельного стану генів ваксі у колекційних зразків здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із використанням молекулярно-генетичних маркерів. Електрофорез проводили в 1,2 % агарозному гелі у натрій-боратному буфері з 0,5 мкг/мл бромистого етидію. Під час проведення ПЛР аналізу використовували наступні праймери [11]:

– для гена *Wx-A1* – праймери *Wx-A1F* (5'-ccccaaagcaagcaggaac-3') та *Wx-A1R* (5'-cggtgcgggtgggtccatagatc-3'), гідроліз продуктів ампліфікації проводили ендонуклеазою рестрикції Hind III впродовж 90 хв за 37 °C для покращення візуалізації;

– для гена *Wx-B1* – праймери *BDFL* (5'-ctggcctgctacctcaagagcaact-3'), *BRC1* (5'-gggtgcgggtgggtccatagatc-3'), *BFC* (5'-cgtagtaaggtgcaaaaagtgccacg-3') та *BRC2* (5'-acagcctattgta ccaagaccatgtgtg-3');

– для гена *Wx-D1* – праймери *Wx-D1F* (5'-gccgacgtgaagaaggtggtg-3') та *Wx-D1R* (5'-ccccttgggtcattgtgtgtg-3').

Статистичну обробку отриманих даних досліджень здійснювали з використанням комп'ютерної програми Statistica 6.

Результати дослідження. Для виявлення поліморфізму алелів генів *Wx*, що відповідають за синтез амілози, було проаналізовано 43 колекційні зразки тритикале озимого. На

рисунку 1 наведено результати ампліфікації за геном *Wx-A1* у 14 селекційних номерів (зразки 1t–14t) і двох контролів. На доріжках 7, 9 і 10 (зразки 229, 223 і 201, відповідно) виявлено амплікон 652 пн, що відповідає ваксі-алелю *Wx-A1*. На доріжках 1–6, 8 і 11–14 присутні амплікони 495 і 176 пн, що свідчить про наявність у зразків, розташованих на цих доріжках, алелю дикого типу за геном *Wx-A1*. У сорту контролю Софійка (доріжка 15) виявлено амплікон 652 пн, а у сорту-контролю Оксана (доріжка 16) – амплікони 495 і 176 пн.

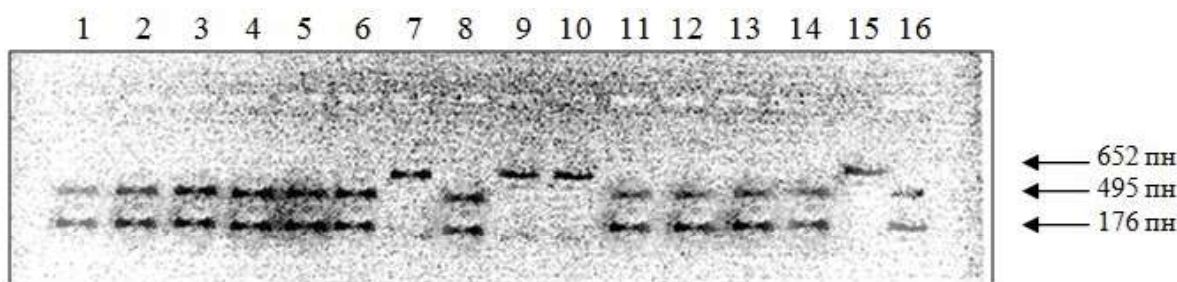


Рис. 1. Електрофорез рестрикції *Hind* III ПЛР продуктів *Wx-A1* тритикале озимого (зразки 1t–14t).

Результати ампліфікації за геном *Wx-A1* у наступних 14 зразків (15t–28t), що представлені досліджуваними сортами, та двох сортів-контролів – Софійка і Оксана (доріжки 15 і 16) показано на рисунку 2. На доріжках 3, 5 і 12 (сорт Любомир, Петрол і Поліський 7) присутній амплікон 652 пн (ваксі-алель *Wx-A1*). У всіх інших сортів (доріжки 1, 2, 4, 6–11, 13, 14) виявлено амплікони 495 і 176 пн (алель дикого типу за геном *Wx-A1*).

На рисунку 3 наведено результати ампліфікації за геном *Wx-A1* у 15 селекційних номерів (зразки 29t–43t) та контролю ваксі-сорт Софійка (доріжка 16). На доріжках 10 і 13 (зразки 141 і 153) виявлено амплікон 652 пн, що відпо-

гена *Wx-A1* у геномі А, що інгібують синтез амілози, тому ці зразки можуть характеризуватись підвищеним вмістом амілопектину і мати кращу ферментабельність крохмалю.

Результати ідентифікації 14 колекційних зразків (1t–14t) та двох сортів-контролів за алельним станом гена *Wx-B1* представлено на рисунку 4. Амплікон 668 пн, який відповідає ваксі-алелю цього гена, присутній лише на доріжці 15 у сорту-контролю Софійка. У всіх досліджуваних колекційних зразків та у сорту-контролю Оксана виявлено амплікон 778

пн, який вказує на наявність алелю дикого типу локусу *Wx-B1*. За даними аналізу всіх інших 29 колекційних зразків також встановлено наявність лише алелю дикого типу.

Дані дослідження 14 колекційних зразків тритикале за алельним станом гена *Wx-D1* наведено на рисунку 5. Амплікон 342 пн, що відповідає ваксі-алелю, встановлено лише на доріжці 16 (контроль Софійка), а амплікон 930 пн (дикий тин) – на доріжці 15 (контроль Оксана). На доріжках 1–14, де розташовано досліджувані зразки тритикале, амплікони були відсутні. Аналогічні дані було отримано під час аналізу всіх інших колекційних зразків тритикале озимого.

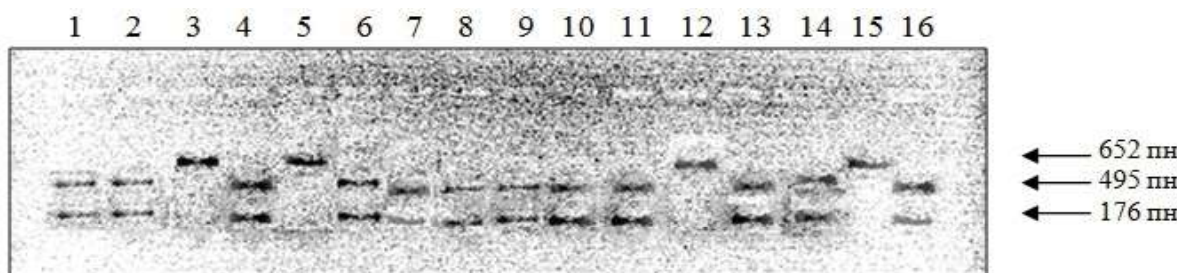


Рис. 2. Електрофорез рестрикції *Hind* III ПЛР продуктів *Wx-A1* тритикале озимого (зразки 15t–28t).

відає ваксі-алелю *Wx-A1*. У всіх інших сортів (доріжки 1–9, 11, 12, 13, 14, 15) виявлено амплікони 495 і 176 пн, що свідчить про наявність у цих зразків алелю дикого типу.

Отже, серед досліджуваних зразків тритикале озимого виділено форми з ваксі-алелями

За даними молекулярно-генетичного аналізу поліморфізму генів *Wx* у колекційних зразків тритикале озимого встановлено, що всі досліджувані зразки мали алель дикого типу за геном *Wx-B1* та характеризувались відсутністю гена *Wx-D1*. За геном *Wx-A1* виявлено зразки як з

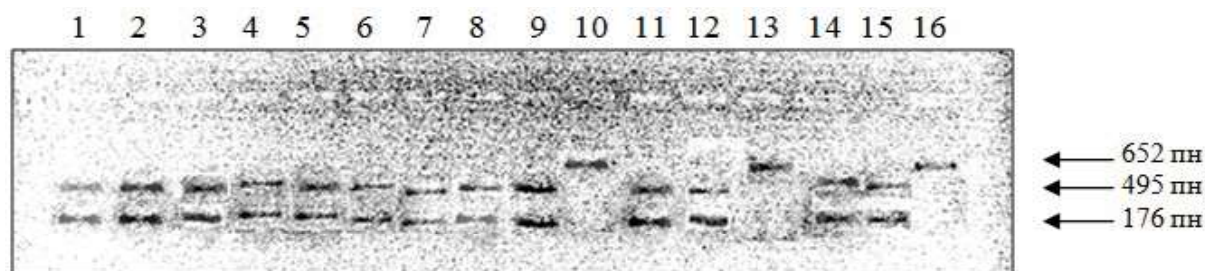


Рис. 3. Електрофорез рестрикції *Hind* III ПЛР продуктів *Wx-A1* тритикале озимого (зразки 29t-43t).

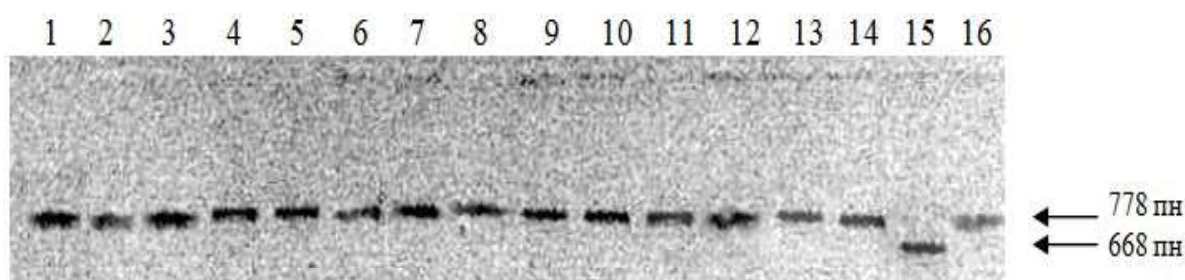


Рис. 4. Електрофорез ПЛР продуктів *Wx-B1* тритикале озимого (зразки 1t-14t).

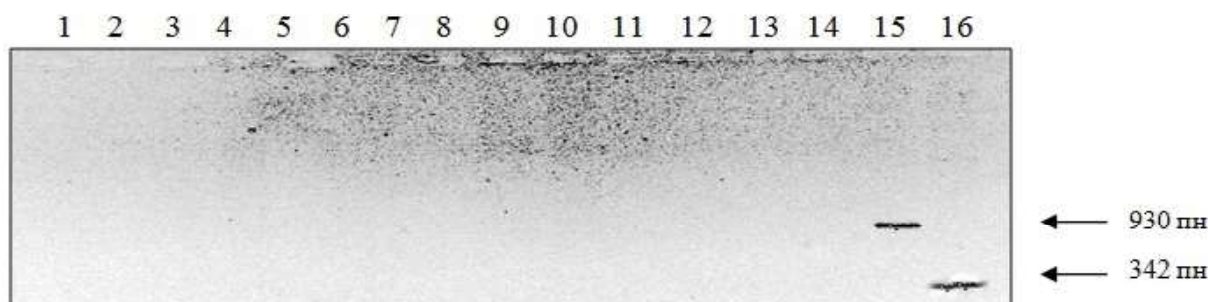


Рис. 5. Електрофорез ПЛР продуктів *Wx-D 1* тритикале озимого (зразки 1t-14t).

алелями дикого типу, так і з наявністю у геномі ваксі-алелю. З 43 колекційних зразків було виділено лише 8 зразків із ваксі-алелем за генотипом *Wx-A1*: селекційні номери 141, 153, 201, 223, 229 та сорти Любомир, Петрол і Поліський 7. У таблиці 1 наведено дані аналізу зразків, у яких було визначено наявність ваксі-алелю за генотипом *Wx-A1*, та колекційних зразків, що представлені сортами власної та іноземної селекції.

Дані оцінювання колекційних зразків із ваксі-алелем гена *Wx-A1* та двох сортів із звичайним типом крохмалю (Маєток Полісся і Аристократ) за основними ознаками придатності для переробки на біоетанол наведено в таблиці 2. Встановлено, що виділені зразки значно різнилися між собою за показниками зернової продуктивності, маси 1000 зерен і вмісту крохмалю. Так, маса зерна з рослини у сорту Поліський 7 була низькою по колекції (2,6 г), однак в інших зразків, особливо у номера 141 і сорту Петрол, вона досягала 3,2 г. Маса 1000

зерен варіювала від 40,9 (номер 223) до 51,9 г (номер 153). Показники вмісту крохмалю в зерні зразків із ваксі-алелем гена *Wx-A1* змінювались від 66,4 (номер 153) до 70,3 % (сорт Любомир).

Аналіз за розміром крохмальних гранул довів, що у більшості зразків із наявністю ваксі-алелю гена *Wx-A1* встановлено відносно дрібний їх розмір. У номера 141 середній розмір зерен крохмалю становив 15,9 мкм, а у номерів 153, 201, 223, 229 і сорту Поліський 7 – від 16,1 до 16,5 мкм. Водночас у сортів із звичайним типом крохмалю Маєток Полісся і Аристократ визначено крупніший розмір крохмальних гранул (18,0–18,1 мкм). Отже, прослідковується тенденція зниження розмірів гранул крохмалю у частково амілопектинових форм тритикале. Гранулометрична структура крохмалю більшості зразків характеризувалась вирівняністю за розмірами гранул порівняно із колекційними зразками, які мають алелі дикого типу за трьома генами *Wx*.

Таблиця 1 – Дані молекулярно-генетичного аналізу поліморфізму генів *Wx* у колекційних зразків тритикале, 2017 р.

№ з/п	Назва колекційного зразка	Гени		
		<i>Wx-A1</i>	<i>Wx-B1</i>	<i>Wx-D1</i>
1	Софійка – контроль 1	ваксі-алель	ваксі-алель	ваксі-алель
2	Оксана – контроль 2	дикий тип	дикий тип	дикий тип
3	141	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
4	153	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
5	201	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
6	223	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
7	229	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
8	Любомир	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
9	Петрол	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
10	Поліський 7	ваксі-алель	дикий тип	відсутній
11	Алмаз	дикий тип	дикий тип	відсутній
12	Докучаєвське	дикий тип	дикий тип	відсутній
13	Любомир	дикий тип	дикий тип	відсутній
14	Mundo	дикий тип	дикий тип	відсутній
15	Яша	дикий тип	дикий тип	відсутній
16	Волемир	дикий тип	дикий тип	відсутній
17	Котигорошко	дикий тип	дикий тип	відсутній
18	Солодюк	дикий тип	дикий тип	відсутній
19	Маєток Полісся	дикий тип	дикий тип	відсутній
20	Аристократ	дикий тип	дикий тип	відсутній

Примітка: контроль 1 – сорт ваксі-пшениці; контроль 2 – сорт пшениці із звичайним типом крохмалю.

Таблиця 2 – Характеристика колекційних зразків тритикале озимого із ваксі-алелями гена *Wx-A1* за рядом господарсько цінних ознак, 2017–2019 рр.

Назва зразка	Маса зерна з рослини, г	Маса 1000 зерен, г	Вміст крохмалю, %	Середній розмір гранул крохмалю	
				мкм	V, %
Маєток Полісся	3,3	52,0	66,8	18,1	27,3
Аристократ	3,4	40,6	68,7	18,0	26,9
141	3,2	50,3	66,9	15,9	22,4
153	2,9	51,9	66,4	16,6	23,2
201	2,9	45,6	68,7	16,1	22,1
223	2,9	40,9	66,9	16,5	23,2
229	2,9	42,2	67,8	16,4	24,5
Любомир	3,1	41,1	70,3	17,5	25,1
Петрол	3,2	46,9	69,0	17,0	23,7
Поліський 7	2,6	46,5	67,2	16,3	22,8
Середнє по колекції	3,0	45,7	67,8	16,9	–
Lim по колекції	2,5–3,5	37,1–52,8	65,5–70,3	15,4–20,0	
S	0,3	4,0	0,7	0,9	
V, %	8,7	8,8	6,4	5,4	

Примітка: сорти Маєток Полісся і Аристократ – дикий тип гена *Wx-A1*.

Обговорення. Зерно амілопектинових сортів користується високим попитом у різних галузях промисловості завдяки підвищеній засвоєності крохмалю і високому рівню виходу біоетанолу [23]. Переваги восковидних сортів за переробки на біоетанол полягають у легшому руйнуванні гранул крохмалю, а також у тому, що амілопектиновий крохмаль потребує меншої температури для активації і проходження ферментативних процесів [24].

Амілопектиновий крохмаль для потреб виробництва отримують із зерна восковидної кукурудзи, ваксі сортів пшениці, жита, проса, ячменю, сорго [25]. Сортів тритикале із повністю ваксі-крохмалем наразі у світі ще не існує. Однак тритикале, завдяки високій урожайності і невибагливості до умов вирощування, є перспективною культурою. Створення ваксі сортів тритикале і широке впровадження їх у сільськогосподарське виробництво дасть змогу підвищи-

ти ефективність переробки і збільшити обсяги виробництва біоетанолу в Україні. Для цього необхідно проводити дослідження з ідентифікації генетичного різноманіття тритикале за ваксі-генами та створення нового селекційного матеріалу із зменшеною часткою амілози у крохмалі.

Висновки. Встановлено, що всі досліджувані зразки мали алель дикого типу за геном *Wx-B1* та характеризувались відсутністю гена *Wx-D1*. За геном *Wx-A1* виявлено зразки як з алелями дикого типу, так і з наявністю у геномі ваксі-алелю. Виділено 8 зразків із ваксі-алелем за геном *Wx-A1*: 141, 153, 201, 223, 229, Любомир, Петрол і Поліський 7.

Встановлено тенденцію зниження розмірів гранул та підвищення вирівняності гранулометричної структури крохмалю у зразків із наявністю ваксі-алелю гена *Wx-A1*.

Виділені колекційні зразки із ваксі-алелями гена *Wx-A1* (селекційні номери 141, 153, 201, 223, 229 та сорти Любомир, Петрол і Поліський 7) є цінним вихідним матеріалом для створення нових сортів тритикале озимого із підвищеним вмістом у крохмалі амілопектина, придатних для переробки на біоетанол.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Song Y., Jane J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. *Carbohydrate Polymers*. 2000. № 41. P. 365–377. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00098-3)
2. Grant L.A., Vignaux N., Doehlert D.C. Starch characteristics of waxy and nonwaxy tetraploid (*Triticum turgidum* L. var. durum) wheats. *Cereal Chemistry Journal*. 2001. Vol. 78, No 5. 590 p. DOI: <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.5.590>
3. Kim W., Johnson J.W., Graybosch R.A., Gaines C.S. Physicochemical Properties and End-use Quality of Wheat Starch as a Function of Waxy Protein Alleles. *Journal of Cereal Science*. 2003. No 37. P. 195–204. URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/663f/07be109e5c08bb8691e3994c87c1c56495e6.pdf>
4. Saito M., Vrinten P., Ishikawa G.A novel codominant marker for selection of the null *Wx-B1* allele in wheat breeding programs. *Mol. Breed.* 2009. No 23. P. 209–217. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9226-y>
5. Генетичні та селекційні критерії створення сортів зернових культур спирто-дистилятного напрямку технологічного використання зерна / Рыбалка О.І. та ін. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2013. Т. 45, № 1. С. 3–19. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/66448>
6. Gago F., Horváthová V., Ondáš V. Assessment of waxy and non-waxy corn and wheat cultivars as starch substrates for ethanol fermentation. *Chemical Papers*. 2014. Vol. 68, Issue 3. P. 300–307. DOI: <https://doi.org/10.2478/s11696-013-0454-1>
7. Самборская Е.В. Наследование восковидного (*Wx*) типа крахмала в зерне проса и создание доноров этого признака. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2014. № 4 (12). С. 17–20. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/nasledovanie-voskovidnogo-wx-tipa-krahmala-v-zerne-prosa-i-sozdanie-donorov-etogo-priznaka>
8. Comparison of endosperm starch granule development and physicochemical properties of starches from waxy and non-waxy wheat / Xurun Y. et al. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.980949>
9. Yaeel I., Francisco J. Physicochemical characterization of starch from hexaploid triticale (*x* *Triticosecale* Wittmack) genotypes. *Journal CYTA Journal of Food*. 2015. Vol. 13, Issue 3. P. 420–426. URL: <https://www.researchgate.net/publication/273164147>
10. [Physicochemical characterization of starch from hexaploid triticale *X* *Triticosecale* Wittmack genotypes](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006)
10. Ěvžen Š., Dvořáček V. New processing and applications of waxy starch (a review) *Journal of Food Engineering*. 2017. August. Vol. 206. P. 77–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006>
11. Xiu-Qiang H., Brûlé-Babel A. Development of genome-specific primers for homoeologous genes in allopolyploid species: the waxy and starch synthase II genes in allohexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) as examples *BMC. Res. Notes*. 2010. No 3 140 p. DOI: <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-140>
12. Liuling Y., Mrinal B. Characterization of waxy proteins and waxy genes of *T. timopheevii* and *T. zhukovskii* and implications for evolution. *Genome*. 2001. Vol. 44, No 4. P. 582–588. DOI: <https://doi.org/10.1139/g01-036>
13. Fujita N., Hasegawa H., Taira T. The isolation and characterization of a *Wx* mutant of diploid wheat (*Triticum monococcum* L.). *Plant Sci*. 2001. № 160. P. 595–602. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00408-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00408-8)
14. Nakamura T., Vrinten P., Saito M., Konda M. Rapid classification of partial waxy wheats using PCR based markers. *Genome*. 2002. No 45. P. 1150–1156. DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/g02-090>
15. Петрова И.В., Чеботарь С.В., Рыбалка А.И. Идентификация *Wx*-генотипов среди сортов озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 2007. Т. 41, № 6. С. 11–17. URL: <http://cytgen.com/ru/2007/11-17N6V41.htm>
16. Климушина М.В., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Молекулярно-генетическая характеристика коллекции мягкой пшеницы по генам, отвечающим за хлебопекарные и технологические качества муки. *Известия ТСХА*. 2009. Вып. 3. с. 81–88. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/molekulyarno-geneticheskaya-harakteristika-kolleksii-myagkoj-pshenitsy-po-genam-otvechayuschim-za-hlebopekarnye-i-tehnologicheskie>
17. Абдулина И.Р., Вафин Р.Р., Зайнуллин Л.И., Алимова Ф.К. Выявление аллельного варианта *Wx-A1g* *Waxy*-гена у генотипов яровой пшеницы отечественной селекции. *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки*. 2012. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vyyavlenie-allelnogo-varianta-Wx-a1g-waxy-gena-u-genotipov-yarovoy-pshenitsy-otechestvennoy-selektcii>
18. Yuangen L., Ganlin Z., Yan L. Identification of two novel waxy alleles and development of their molecular markers in sorghum. *Genome*. 2013. № 56 (5). P. 283–288. DOI: <https://doi.org/10.1139/gen-2013-0047>
19. Жирнова И.А., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Сейтхожаев А.И. Оценка аллельного состояния *Wx* генов коллекции проса (*Panicum miliaceum* L.) на основе молекулярно-генетических маркеров. *Вестник Карагандинского университета. Серия биология. медицина. География*. 2019. № 1 (93). С. 66–74. URL: https://rep.ksu.kz/bitstream/handle/data/5822/Zhirnova_I_A_66-74.pdf?sequence=1
20. Yamamori M., Quynh T. Differential effects of *Wx-A1*, *-B1* and *-D1* protein deficiencies on apparent amylose content and starch pasting properties in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000. No 100. P. 32–38.
21. Rodriguez M., Taladriz M.T., Carrillo J.M. Waxy proteins and amylose content in diploid *Triticaceae* species with genomes A, S and D. *Plant Breed.* 2004. No 123. P. 294–296. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.00883.x>
22. Моргун Б.В., Степаненко О.В., Степаненко А.Л., Рыбалка О.И. Молекулярно-генетична ідентифікація по-

ліморфізму генів Wx у гібридах м'якої пшениці за допомогою мултиплексних полімеразних ланцюгових. Физиология растений и генетика. 2015, Т. 47, №1 С. 25–35. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/FBKR_2015_47_1_5

23. Juan B., Carlos G. Wheat waxy proteins: polymorphism, molecular characterization and effects on starch properties. Theoretical and Applied Genetics. 2016. January. Vol. 129, Issue 1. P. 1–16. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2595-9>

24. Al-Dhaheer Sahar. Properties of starch from Australian waxy wheat. 2015. URL: <https://ses.library.usyd.edu.au/handle/2123/12896>

25. Yaeel I., Oliviert M., Carmen L. Del T., Francisco J. The structural characteristics of starches and their functional properties. CyTA – Journal of Food. 2018. Vol. 16. P. 1003–1017. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1518343>

26. Evžen Š., Dvořáček V. New processing and applications of waxy starch (a review). Journal of Food Engineering. 2017. Vol. 206. P. 77–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006>

REFERENCES

1. Song, Y., Jane, J. (2000). Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. Carbohydrate Polymers. no. 41, pp. 365–377. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00098-3)

2. Grant, L.A., Vignaux, N., Doehlert, D.C. (2001). Starch characteristics of waxy and nonwaxy tetraploid (*Triticum turgidum* L. var. durum) wheats. Cereal Chemistry Journal. Vol. 78, no. 5, 590 p. Available at: <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.5.590>

3. Kim, W., Johnson, J.W., Graybosch, R.A., Gaines, C.S. (2003). Physicochemical Properties and End-use Quality of Wheat Starch as a Function of Waxy Protein Alleles. Journal of Cereal Science. no. 37, pp. 195–204. Available at: <https://pdfs.semanticscholar.org/663f/07be109e5c08bb8691e3994c87c1c56495e6.pdf>

4. Saito, M., Vrinten, P., Ishikawa, G. (2009). A novel codominant marker for selection of the null Wx-B1 allele in wheat breeding programs. Mol. Breed. no. 23, pp. 209–217. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9226-y>

5. Rybalka, O.I. Chervonis, M.V., Morhun, B.V. (2013). Henetychni ta selektsiini kryterii stvorennia sortiv zernovykh kultur spyrto-dystyliatnoho napriamu tekhnolohichnoho vykorystannia zerna [Genetic and breeding criterias for the creation of varieties of cereals alcohol-distillate direction of technological use of grain]. Fiziologiya i biokhimiya kul'turnih rastenij [Physiology and biochemistry cultural plants], Vol. 45, no. 1, pp. 3–19. Available at: <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/66448>

6. Gago, F., Horváthová, V., Ondáš, V. (2014). Assessment of waxy and non-waxy corn and wheat cultivars as starch substrates for ethanol fermentation. Chemical Papers. Vol. 68, Issue 3, pp. 300–307. Available at: <https://doi.org/10.2478/s11696-013-0454-1>

7. Samborskaya, E.V. (2014). Nasledovanie voskovidnogo (wx) tipa krakhmala v zerne prosa i sozhdanie donorov e'togo priznaka [Inheritance of the waxy (wx) type of starch in millet grain and the creation of donors of this trait]. Zernobobovy'e i krupyany'e kul'tury [Legumes and cereals], no. 4 (12), pp. 17–20. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/nasledovanie-voskovidnogo-wx-tipa-krakhmala-v-zerne-prosa-i-sozhdanie-donorov-etogo-priznaka>

8. Xurun, Y., Heng, Y., Jing, Z., Shanshan S., Liang Z. (2015). Comparison of endosperm starch granule development and physicochemical properties of starches from waxy and non-waxy wheat. Available at: <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.980949>

9. Yaeel, I., Francisco, J. (2015). Physicochemical characterization of starch from hexaploid triticale (x *Triticosecale* Wittmack) genotypes. Journal CYTA Journal of Food. Vol. 13, Issue 3, pp. 420–426. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/273164147>

Physicochemical characterization of starch from hexaploid triticale X *Triticosecale* Wittmack genotypes

10. Evžen, Š., Dvořáček, V. (2017). New processing and applications of waxy starch (a review) Journal of Food Engineering. August. Vol. 206, pp. 77–87. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006>

11. Xiu-Qiang, H., Brülé-Babel, A. (2010). Development of genome-specific primers for homoeologous genes in allohexaploid species: the waxy and starch synthase II genes in allohexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) as examples BMC. Res Notes. no. 3, 140 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-140>

12. Liuling, Y., Mrinal, B. (2001). Characterization of waxy proteins and waxy genes of *T. timopheevii* and *T. zhukovskii* and implications for evolution. Genome. Vol. 44, no. 4, pp. 582–588. Available at: <https://doi.org/10.1139/g01-036>

13. Fujita, N., Hasegawa, H., Taira, T. (2001). The isolation and characterization of a Wx mutant of diploid wheat (*Triticum monococcum* L.). Plant Sci. no. 160, pp. 595–602. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00408-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00408-8)

14. Nakamura, T., Vrinten, P., Saito, M., Konda, M. (2002). Rapid classification of partial waxy wheats using PCR based markers. Genome. no. 45, pp. 1150–1156. Available at: <http://dx.doi.org/10.1139/g02-090>

15. Petrova, I.V., Chebotar', S.V., Ry'balka, A.I. (2007). Identifikatsiya Wx-genotipov sredi sortov ozimoi myagkoj psheniczy' [Identification of Wx genotypes among varieties of winter common wheat]. Cytologiya i genetika [Cytology and genetics], Vol. 41, no. 6, pp. 11–17. Available at: <http://cytgen.com/ru/2007/11-17N6V41.htm>

16. Klimushina, M.V., Divashuk, M.G., Karlov, G.I. (2009). Molekulyarno-geneticheskaya kharakteristika kollekcii myagkoj psheniczy' po genam, otvechayushhim za khlebopekarny'e i tekhnologicheskie kachestva muki [Molecular genetic characteristics of the collection of soft wheat by the genes responsible for the baking and technological qualities of flour]. Izvestiya TSKhA [News TAIA], no. 3, pp. 81–88. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/molekulyarno-geneticheskaya-kharakteristika-kollekcii-myagkoj-psheniczy-po-genam-otvechayushchim-za-hlebopekarnye-i-tehnologicheskie>

17. Abdulina, I.R., Vafin, R.R., Zajnullin, L.I., Alimova F.K. (2012). Vy'yavlenie allelnogo varianta Wx-A1g Waxy-gena u genotipov yarovoi psheniczy' otchestvennoj selekcii [Identification of the allelic variant of the Wx-A1g Waxy gene in genotypes of spring wheat of domestic breeding]. Uchen. zap. Kazan. un-ta. [Ser. Natural science], no. 4. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/vyyavlenie-allelnogo-varianta-Wx-a1g-waxy-gena-u-genotipov-yarovoi-pshenitsy-otchestvennoj-selekcii>

18. Yuangen, L., Ganlin, Z., Yan, L. (2013). Identification of two novel waxy alleles and development of their molecular markers in sorghum. Genome. no. 56 (5), pp. 283–288. Available at: <https://doi.org/10.1139/gen-2013-0047>

19. Zhirmova, I.A., Ry'sbekova, A.B., Dyusibaeva, E'.N., Sejt Khozhaev, A.I. (2019). Otsenka allelnogo sostoyaniya Wx genov kollekcii prosa (*Panicum miliaceum* L.) na osnove molekulyarno-geneticheskikh markerov [Assessment of the allelic state of the Wx genes of the millet collection (*Panicum miliaceum* L.) based on molecular genetic markers]. Vestnik Karagandinskogo universiteta [Bulletin of the Karaganda University], no. 1 (93), pp. 66–74. Available at: https://rep.ksu.kz/bitstream/handle/data/5822/Zhirnova_I_A_66-74.pdf?sequence=1

20. Yamamori, M., Quynh, T. (2000). Differential effects of Wx-A1, -B1 and -D1 protein deficiencies on apparent amylose content and starch pasting properties in common wheat. Theoretical and Applied Genetics. no. 100, pp. 32–38.

21. Rodriguez, M., Taladriz, M.T., Carrillo, J.M. (2004). Waxy proteins and amylose content in diploid *Triticeae* species with genomes A, S and D. Plant Breed. no. 123, pp. 294–296. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.00883.x>

22. Morhun, B.V., Stepanenko, O.V., Stepanenko, A.L., Rybalka, O.I. (2015). Molekulyarno-geneticheskaya identifikatsiya polimorfizmu heniv Wx u hibrydakh miakoi pshenitsy za dopomohoiu multypleksnykh polimeraznykh lantsiuhovykh [Molecular-genetic identification of Wx gene polymorphism in soft wheat hybrids by multiplex polymerase chain]. Fyziologiya rasteyi y henetyka [Plant physiology and genetics], Vol. 47, no. 1, pp. 25–35. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/FBKR_2015_47_1_5

23. Juan, B., Carlos, G. (2016). Wheat waxy proteins: polymorphism, molecular characterization and effects on

starch properties. *Theoretical and Applied Genetics*. January. Vol. 129, Issue 1, pp. 1–16. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2595-9>

24. Al-Dhaher, Sahar. (2015). Properties of starch from Australian waxy wheat. Available at: <https://ses.library.usyd.edu.au/handle/2123/12896>

25. Yaeel, I., Olivert, M., Carmen L. Del, T., Francisco, J. (2018). The structural characteristics of starches and their functional properties. *CyTA – Journal of Food*. Vol. 16, pp. 1003–1017. Available at: <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1518343>

26. Evžen, S., Dvořáček, V. (2017). New processing and applications of waxy starch (a review). *Journal of Food Engineering*. Vol. 206, pp. 77–87. Available at: [10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006)

Полиморфизм *Wx* генов у коллекционных образцов тритикале озимой

Левченко О.С.

Целью исследования была идентификация коллекций тритикале озимой по аллельному состоянию генов вакси и выделение источников с наличием вакси-аллелей по этим генам. Исследования проводили в течение 2017–2019 годов в ННЦ «Институт земледелия НААН». Предмет исследования – 43 коллекционных образца тритикале озимой, из которых 29 – номера собственной селекции, 14 – сорта селекции ННЦ «Институт земледелия НААН» (9) и научных учреждений Польши (1) и Российской Федерации (4). За контроль использовали вакси-сорт пшеницы мягкой озимой Софийка и сорт пшеницы с обычным типом крахмала Оксана селекции Селекционно-генетического института НААН. Для оценки коллекционного материала применяли полевые, лабораторные (инфракрасная спектрометрия, световая микроскопия, метод полимеразной цепной реакции – ПЦР), измерительно-весовые и математико-статистические методы исследований.

По данным молекулярно-генетического анализа полиморфизма генов *Wx* в коллекционных образцах тритикале озимой установлено, что все исследуемые образцы имели аллели дикого типа по гену *Wx-B1* и характеризовались отсутствием гена *Wx-D1*. По гену *Wx-A1* обнаружены образцы как с аллелями дикого типа, так и с наличием в геноме вакси-аллеля. Выделено 8 коллекционных образцов с вакси-аллелем по гену *Wx-A1*: селекционные номера 141, 153, 201, 223, 229 и сорта Любомир, Петрол и Полесский 7.

Выделенные образцы значительно отличались между собой по показателям таких признаков как зерновая производительность, масса 1000 зерен, содержание крахмала.

Установлена тенденция снижения размеров гранул и повышения ровности гранулометрической структуры крахмала в образцах с наличием вакси-аллеля гена *Wx-A1*. Образцы с вакси-аллелями гена *Wx-A1* являются ценным исходным материалом для создания новых сортов тритикале озимой с повышенным содержанием в крахмале амилопектина, пригодные для переработки на биоэтанол.

Ключевые слова: тритикале озимая, биоэтанол, крахмал, полимеразная цепная реакция, амилопектин, амилоза, аллельное состояние вакси-генов, вакси-аллель, дикий тип.

Wx gene polymorphism in winter triticales collection samples

Levchenko O.

The purpose of the study was to identify the collection of winter triticales in the allelic state of the waxy-genes and to identify sources with the presence of waxy-alleles for these genes. The surveys were conducted over 2017–2019 at the NSC Institute of Agriculture. The subject of the research are 43 collection samples of winter triticales, 29 of which are numbers of own breeding, 14 – breeding varieties of the National Institute of Agriculture of NAAS (9) and scientific institutions of Poland (1) and the Russian Federation (4). For control, we used soft winter waxy-wheat Sofiyka and wheat with wild of starch Oksana. Field, laboratory (infrared spectrometry, light microscopy, polymerase chain reaction (PCR)) methods, weights and mathematical and statistical methods of research were used to evaluate the collection material.

According to the results of molecular genetic analysis of the *Wx* gene polymorphism in the winter triticales collection samples, it was found that all the tested samples had wild type alleles according to the *Wx-B1* gene and were characterized by the absence of the *Wx-D1* gene. The *Wx-A1* gene revealed samples with both wild-type alleles and presence in the genome of the wax-allele. 8 collections with *Wx-A1* gene alleles were selected: selection numbers 141, 153, 201, 223, 229 and varieties Lubomir, Petrol and Poliskii 7.

The selected samples varied significantly in terms of such characteristics as grain productivity, weight of 1000 grains, starch content. The tendency to decrease the size of the granules and increase the evenness of the granulometric structure of the starch in the samples with the presence of the wax-allele of the *Wx-A1* gene was established. *Wx-A1* gene allele samples are valuable starting material for the creation of new winter triticales varieties with increased amylopectin starch suitable for bioethanol processing.

Key words: winter triticales, bioethanol, starch, polymerase chain reaction, amylopectin, amylose, allelic state of wax genes, waxy-allele, wild type.



Copyright: © Levchenko O.

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.

ЛЕВЧЕНКО О.С., <https://orcid.org/0000-0003-1639-326X>

