

УДК 547.458; 547.458.611; 575.224.46.044; 633.16; 633.24

СОДЕРЖАНИЕ КРАХМАЛА И АМИЛОЗЫ В ЗЕРНЕ МУТАНТНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЯЧМЕНЯ

© *Н.А. Боме*^{1*}, *Н.В. Тетяников*², *Л.И. Вайсфельд*³, *Н.Н. Колоколова*¹, *Л.А. Вассерман*³,
*В.Г. Гольдштейн*⁴, *Л.П. Носовская*⁴, *Л.В. Адикаева*⁴

¹ Тюменский государственный университет, ул. Володарского, 6, Тюмень, 625003 (Россия), e-mail: bomena@mail.ru

² Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, ул. Загорьевская, 4, Москва, 115598 (Россия)

³ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334 (Россия)

⁴ Всероссийский научно-исследовательский институт крахмалопродуктов – филиал ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, ул. Некрасова, 11, Красково, 140051 (Россия)

Крахмал является составной частью зерна злаковых культур (в том числе ячменя), его содержание и свойства существенно влияют на переработку и качество продукции. Одним из методов, обеспечивающих увеличение варьирования содержания крахмала и амилозы в крахмале, является химический мутагенез. Химические мутагены обеспечивают возможность получения новых аллельных вариаций, гены которых участвуют в биосинтезе крахмала. Для создания мутантных популяций ячменя в нашем исследовании использован химический мутаген фосфемид с концентрациями раствора 0.002% и 0.01%. Из семян двух образцов ячменя (Зерноградский-813, к-30453, Россия, var. *erectum*; Dz02-129, к-22934, Эфиопия var. *nigripallidum*) из мировой коллекции Всероссийского института генетических ресурсов им. Н.И. Вавилова после обработки мутагеном в полевых условиях были выращены и оценены по комплексу селекционных признаков три мутантных поколения (M₁, M₂, M₃). В зерне мутантных и контрольных популяций второго (M₂) и третьего (M₃) поколений определено содержание крахмала А и Б, а также содержание амилозы в крахмале.

Применение мутагена привело к достоверному снижению массовой доли амилозы в крахмале изученных образцов во втором (M₂) мутантном поколении. В третьем (M₃) поколении ингибирующее действие сохранилось только у образца Dz02-129. В зерне сорта Зерноградский 813 в M₃ содержание крахмала и амилозы в крахмале было выше контроля. Отбор форм с повышенным содержанием амилозы в крахмале, имеющих потенциальную ценность для перерабатывающей промышленности, целесообразно проводить, начиная с M₃.

Ключевые слова: химический мутаген, фосфемид, крахмал А, крахмал Б, мезга, мутантное поколение растений.

Введение

Зерно ячменя широко используется в качестве корма для животных, сырья для пивоварения, основного источника пищи в некоторых регионах мира, а также ценится как компонент здорового питания [1–3]. Соотношение амилозы и амилопектина, двух компонентов в крахмале ячменя, влияет на свойства крахмала

и, как следствие, на качество продуктов питания и кормов [4].

Стресс-факторы могут нарушить нормальный уровень крахмала в тканях растений, рассматриваемый как резервуар для сахара и регулирующий баланс углерода [5]. Описано уменьшение массовой доли амилозы в крахмале зерна пшеницы под влиянием химического мутагена этилметансульфоната (ЭМС) [6]. Авторы не обнаружили раз-

Боме Нина Анатольевна – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий кафедрой, e-mail: bomena@mail.ru

Тетяников Николай Валерьевич – кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник, e-mail: tetyannikovnv@ya.ru

Вайсфельд Лариса Ильинична – главный специалист, e-mail: liv11@yandex.ru

Колоколова Наталья Николаевна – кандидат биологических наук, доцент, e-mail: campanella2004@mail.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

личий по форме и размерам гранул крахмала, извлеченного из зерна контрольных и опытных образцов. Похожие результаты получены при исследовании клубней кассавы, в которых мутагенное воздействие привело к снижению массовой доли амилозы до 14.8%, по сравнению с исходным материалом [7]. Об увеличении содержания амилозы в крахмале зерна ячменя сообщают Morell et.al. [8].

Нами для индукции мутаций у пшеницы, ячменя, льна используется химический мутаген фосфемид [9–14]. Идентифицированы морфологические изменения растений в период вегетации (высота растений, линейные размеры листьев, соцветий). Для оценки физиологического состояния использована экспресс-диагностика динамики накопления и деградации хлорофилла в листьях на основе показаний оптического счетчика SPAD 502plus. Определена устойчивость растений к воздействию абиотических и биотических факторов окружающей среды. Для понимания биохимических процессов, протекающих в растительном организме под влиянием мутагена, проводится изучение содержания крахмала и амилозы в крахмале мутантных форм ячменя [15].

Цель настоящей работы – исследование влияния химического мутагена фосфемид на изменение массовой доли амилозы в крахмале, извлеченном из зерна двух мутантных популяций ячменя.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования были взяты семена мутантных популяций ячменя второго (M_2) и третьего поколений (M_3) созданных на основе двух образцов из мировой коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (Зерноградский-813, к-30453, Россия, var. *erectum*; Dz02-129, к-22934, Эфиопия var. *nigripallidum*).

Для получения первого поколения (M_1) по 300 сухих семян каждого образца в Институте биологии Тюменского государственного университета (ТюмГУ) обрабатывались водным раствором препарата фосфемид (ди-(этиленимид)-пиримидил-2-амидофосфорная кислота) в концентрациях 0.002% ($2 \cdot 10^{-3}$ М) и 0.01% ($1 \cdot 10^{-2}$ М), экспозиция 3 ч. Затем семена промывали в проточной водопроводной воде в течение 40 мин. Контроль – семена, выдержанные в дистиллированной воде. Синтез фосфемид был осуществлен в лаборатории физических и химических методов анализа на Химическом факультете Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ) профессором Е.В. Бабаевым.

Полевое исследование мутантных популяций проводили в 2016–2018 гг. на экспериментальном участке биостанции ТюмГУ «Озеро Кучак» на окультуренной дерново-подзолистой почве, супесчаной по гранулометрическому составу (содержание гумуса 3.67%, рН – 6.6). Биостанция расположена в Нижнетавдинском районе Тюменской области.

Посев контрольных и опытных вариантов осуществляли по 25 семян в 4-кратной повторности на делянках с длиной рядка 1 м, число рядков 2, междурядье 15 см, глубина посева 5–6 см, расстояние между растениями в рядке – 10 см. Второе и третье поколение высевали на делянках с учетной площадью 1 м², повторность 4-кратная.

Семена контрольных и мутантных популяций второго (M_2) и третьего (M_3) поколений были переданы в ВНИИ крахмалопродуктов – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН. Семена первого поколения (M_1) в исследование не включали из-за недостаточного количества для биохимического анализа. Также семена мутантных популяций находятся на хранении в генофонде Института биологии Тюменского государственного университета.

Содержание крахмала в зерне ячменя определяли поляриметрическим методом Эверса [16], ГОСТ 10845-98; массовую долю сухих веществ (влажность зерна) – весовым методом, описанным Н.Р. Андреевым, Н.И. Филипповой [17], ГОСТ 13586.5-93. Для количественного определения амилозы в крахмале использовали фотоколориметрический метод [18], ГОСТ ISO 6647-1-2015.

Переработка зерна ячменя на крахмал и побочные продукты осуществлялась сернистокислотным ме-

Вассерман Любовь Александровна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник,
e-mail: lwasserma@mail.ru

Гольдштейн Владимир Георгиевич – кандидат технических наук, заведующий отделом,
e-mail: 6919486@mail.ru

Носовская Лилия Петровна – старший научный сотрудник, e-mail: vniik@arrisp.ru

Адикаева Лариса Владимировна – научный сотрудник,
e-mail: vniik@arrisp.ru

тодом на лабораторной установке «завод на столе», разработанной ВНИИ крахмалопродуктов.

Навески ячменя массой 75 г замачивали в 0.4%-ном растворе метабисульфита натрия в течение 48 ч при температуре 48–50 °С. По окончании процесса замачивания полученный зерновой экстракт отделяли от зерна, емкость заполняли водой и выдерживали смесь в течение 3 ч при температуре

45 °С. Затем промывную воду отделяли от зерна, добавляли 150 мл воды, нагретой до 40 °С, и измельчали водно-зерновую смесь на блендере Braun в течение 3 мин.

В каждую пробу с измельченным и обрушенным зерном добавляли фермент Viscoferm (компания Novozymes, Дания) из расчета 0.2 г/кг зерна. Ферментировали при постоянном перемешивании в течение 4 ч при pH 4.6 и температуре 50 °С. Для снижения водородного показателя зерновой массы использовали 1 N соляную кислоту. После ферментации отделенную на центрифуге зерновую массу разбавляли водой до массовой доли СВ 18–20% и семикратно промывали на капроновом сите №70 для отделения крахмалобелковой суспензии от клетчатки (мезги). Промытую до йодной пробы мезгу высушивали и определяли массу мезги и массовую долю в ней крахмала. Крахмальные суспензии фильтровали через бумажный фильтр на воронке Бунзена под вакуумом. Полученные образцы высушивали для определения их массы (выхода продуктов из переработанного зерна – крахмала А, крахмала Б, мезги).

Обсуждение результатов

В литературе описана потеря крахмала в листьях *Hordeum vulgare* L. в ответ на абиотический стресс [19, 20]. В нашем исследовании в качестве стресс-фактора рассматривается химический мутаген фосфемид.

Определение массовой доли крахмала на сухое вещество показало, что у образцов Зерноградский 813 и Dz02-129 обработка семян мутагеном не привела к потере крахмала в зерне (табл.).

Высокое содержание воды в зерне влияет на пищевую ценность зерна, его сохранность, переработку, способствует развитию микроорганизмов [21]. По нашим данным, влажность зерна соответствовала требованиям ГОСТ 13586.5-93.

Гранулы крахмала, получаемого при экстракции, могут значительно различаться по размерам [22]. Принято крахмал, гранулы которого характеризуются размерами более 10 мкм, относить к крахмалу А, в котором массовая доля белка менее 0.6%. В крахмале Б размеры гранул менее 10 мкм, они сложно отделяются от белкового компонента, поэтому массовая доля белка относительно высокая и составляет 15–20%.

Анализ выхода крахмала А при переработке зерна M₂ выявил статистически достоверное различие с контролем (на 5.7% меньше) у сорта Зерноградский 813 в варианте с концентрацией фосфемиды 0.002%. Наибольший выход мезги у исследуемых генотипов отмечен при слабой концентрации раствора мутагена (рис. 1).

В зерне M₃ мутантные популяции образца Dz02-129 по данному показателю не отличались от контрольных образцов. В зерне опытных вариантов (0.002 и 0.01%) сорта Зерноградский 813 наблюдалось увеличение содержания крахмала А. При сравнении зерна, выращенного в разных условиях вегетационных периодов 2017 и 2018 годов, в вариантах без фосфемиды у Dz02-129 различий по крахмалу А не обнаружено. Выход крахмала А у сорта Зерноградский 813 в условиях 2018 году снизился на 4.9%. Только в одном случае концентрация мутагена 0.01% (Зерноградский 813) способствовала снижению выхода крахмала Б на 2.4%, что может быть связано с изменением размеров крахмальных гранул. Уменьшение выхода мезги в этом варианте, по сравнению с контрольным образцом, позволяет предположить об изменениях структуры эндосперма.

Таким образом, у сорта Зерноградский 813 негативное влияние химического мутагена фосфемиды (концентрация 0.002%) на выход крахмала в зерне, проявившееся в M₂, не обнаружено в M₃, более того, превышение опытных вариантов над контролем составило 3.7–6.8%. Выход мезги, полученный при переработке зерна мутантной популяции, был на 1.9% больше, чем в контроле, что может быть связано с недостаточно полным восстановлением данного сорта от воздействия мутагенного фактора. Зерно третьего поколения образца Dz02-129 с применением фосфемиды также характеризовалось повышенным выходом мезги по сравнению с контролем (на 2.6%) при незначительно различающихся показателях крахмалов.

Влияние химического мутагена на влажность и содержание массовой доли крахмала в зерне ячменя во втором (M₂) и третьем поколении (M₃), 2017–2018 гг.

Образец	Вариант опыта	Второе поколение (M ₂)		Третье поколение (M ₃)	
		влажность, %	массовая доля крахмала, % АСВ зерна*	влажность, %	массовая доля крахмала, % АСВ зерна
Dz02-129	Контроль	7.8	53.9	8.4	56.1
	0,002%	7.4	54.7	8.1	56.3
	0,01%	7.5	54.2	8.7	55.9
Зерноградский 813	Контроль	7.7	58.4	7.9	61.0
	0,002%	7.6	58.7	8.2	59.9
	0,01%	7.0	58.8	8.3	60.5

Примечание: * АСВ – абсолютно сухое вещество

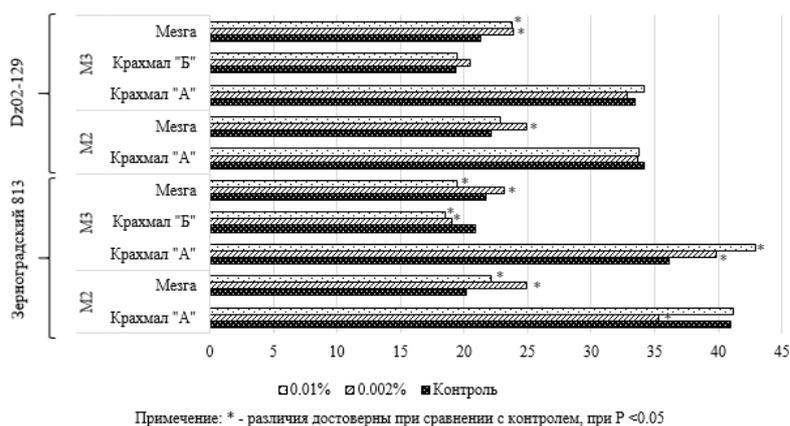


Рис. 1. Выход извлекаемых продуктов из зерна ячменя второго (M_2) и третьего (M_3) поколения в контрольных и опытных вариантах, %, 2017–2018 гг.

Крахмалы хранятся в виде нерастворимых в воде гранул в хлоропластах листьев и в амилопластах других тканей растений. Гранулы представляют собой относительно плотные частицы компактных молекул с полукристаллическими свойствами [23]. Сравнительная антология сканирующих электронных микрофотографий гранул крахмала из 54 растительных источников, различающихся по размерам от крупных (100 мкм) до очень маленьких (0.2 мкм), и формам, опубликована Jane et al. [24]. В нашем исследовании выявлено, что крахмал во всех образцах представлен как мелкими, так и более крупными гранулами сферической формы.

Обработка мутагеном не приводила к изменениям морфологии гранул крахмала, что можно видеть на микрофотографиях сорта Зерноградский (рис. 2).

Крахмальные гранулы состоят из двух типов полисахаридов: линейной амилозы, содержание которой обычно составляет 20–30%, и разветвленного амилопектина [25]. В пределах амилопластов синтез амилозы достигается благодаря ферменту GBSS (granule-bound starch synthase), который также называют *ваху-протеин*. *Ваху-протеины* кодируются генами под названиями *Wx* или *wx*. Каждый неактивный *wx* – рецессивный аллель вызывает снижение до определенного уровня содержания амилозы в зерне пшеницы [26].

Изменения в содержании амилозы могут влиять на физико-химические и функциональные свойства крахмала и, как следствие, возможности его использования в различных промышленных целях [27].

Химический мутагенез может приводить к нарушению структуры крахмала, деформации крахмальных гранул, изменению соотношения амилозы и амилопектина. Применение фосфемид в концентрации 0.002% на образце Dz02-129 приводило к статистически достоверному уменьшению содержания массовой доли амилозы в крахмале, экстрагированном из зерна второго (M_2) и третьего (M_3) поколений, по сравнению с контролем на 5.2–5.8% соответственно (рис. 3).

У сорта Зерноградский 813 ингибирующее влияние фосфемид на содержание амилозы отмечено только в M_2 при концентрации 0.002% (на 6.0% меньше контроля); в M_3 показатель амилозы увеличивался в вариантах с мутагеном на 1.3–2.5%. Полученные данные позволяют предположить, что фосфемид (концентрация 0.002%) в более раннем втором мутантном поколении вызывает частичную блокировку синтеза амилозы в выделяемом крахмале образцов Dz02-129 и Зерноградский 813.

Восстановление показателя до уровня контроля и выше в третьем поколении (M_3) у большинства вариантов с высокой концентрацией раствора мутагена (0.01%) может быть связано с фактором отбора растений, обладающих высокой биологической устойчивостью.

Анализ экспериментальных данных показал, что в первом (M_1) и втором поколениях (M_2) семена исходных образцов на обработку фосфемидом (особенно при концентрации 0,01%) отвечали нарушением процессов прорастания, что проявилось в показателях полевой всхожести. Сорт Зерноградский 813 имел полевую всхожесть меньше контроля на 42.0%, а образец Dz02-129 – на 24.0%; выживаемость растений в течение вегетационного периода превышала контроль и составила 93.3–100.0%. Высокая концентрация мутагена приводила к снижению количества полноценных всходов, однако в дальнейшем растения проявляли высокую устойчивость к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды. Ингибирующий эффект мутагена был ярко выражен в первых двух поколениях (M_1 и M_2) и полностью отсутствовал в третьем поколении (M_3). Прорастание семян и формирование всходов в M_3 (май 2018 г.) проходили при пониженной среднесуточной температуре воздуха (на 3.1 °C ниже нормы) и избыточном количестве осадков (182% по отношению к норме). В этих условиях отмечены низкие показатели полевой всхожести семян в контроле (36.3–45.0%). В мутантных популяциях наблюдалось статистически достоверное увеличение всхожести (на 18.7–20.7% – Dz02-129; 20.9% – Зерноградский 813).

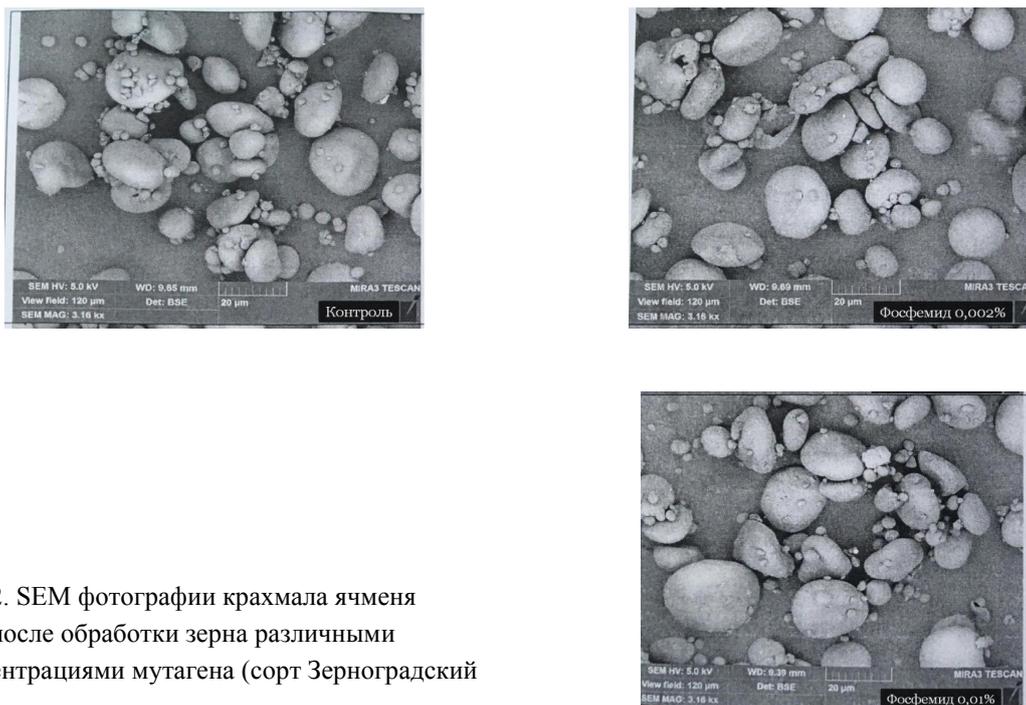


Рис. 2. SEM фотографии крахмала ячменя до и после обработки зерна различными концентрациями мутагена (сорт Зерноградский 813).

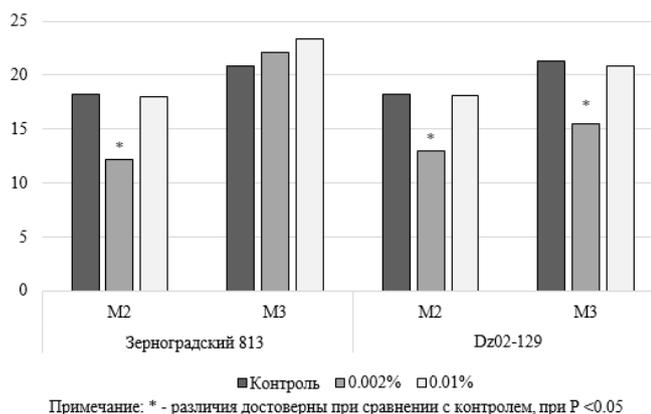


Рис. 3. Массовая доля амилозы в крахмале, экстрагируемом из зерна ячменя второго (M_2) и третьего (M_3) поколений, в сравнении с контролем, %, 2017–2018 гг.

Известно, что ремобилизация крахмала под воздействием стресса является альтернативным источником энергии и углерода, что способствует получению высококачественных семян даже в неблагоприятных условиях [5].

Выводы

Для отбора форм растений ячменя с высоким качеством зерна необходимо понимание синтеза крахмала. Ставилась задача проследить за изменениями содержания крахмала в зерне ячменя под влиянием химического мутагена фосфемид в разных концентрациях (0.002 и 0.01%).

Ингибирующий эффект мутагена по массовой доле амилозы у сорта Зерноградский 813 проявился только во втором мутантном поколении M_2 и не обнаружен в более позднем третьем поколении M_3 . Применение фосфемид на образце Dz02-129 при концентрации 0.002% приводило к снижению показателя в M_2 и M_3 ; при концентрации 0.01% различий с контролем не обнаружено.

Стабилизация показателей выхода крахмала в вариантах с фосфемидом относительно контроля отмечена в исследуемых образцах зерна третьего поколения M_3 . У семян мутантных популяций M_3 отмечено статистически достоверное увеличение полевой всхожести по сравнению с контролем, что позволяет предположить возможность ремобилизации синтеза крахмала под воздействием стресс-фактора.

Установлено, что мутантные популяции ячменя, полученные при обработке семян водным раствором препарата фосфемид, можно рассматривать как хорошую платформу для отбора генотипов с повышенным содержанием амилозы и рекомендовать их практической селекции.

Список литературы

1. Baik В.К., Ullrich S.E. Barley for Food: Characteristics, Improvement, and Renewed Interest // Journal of Cereal Science. 2008. Vol. 48. N2. Pp. 233–242. DOI: 10.1016/j.jcs.2008.02.002.
2. Типсина Н.Н., Пуляева О.С. Биологическая ценность продуктов переработки ячменя // Вестник КрасГАУ. 2013. №8. С. 226–229.
3. Меледина Т.В., Матвеев И.В., Федоров А.В. Несоложенные материалы в пивоварении. СПб.: Университет ИТМО, 2017. 66 с.
4. Zeeman S.C., Kossmann J., Smith A.M. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants // Annu. Rev. Plant Biol. 2010. Vol. 61. N1. Pp. 209–234. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112301.
5. Thalmann M., Santelia D. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress // New Phytologist. 2017. Vol. 214. N3. Pp. 943–951. DOI: 10.1111/nph.14491.
6. Hogg A.C., Gause K., Hofer P., Martin J.M., Graybosch R.A., Hansen L.E., Giroux M.J. Creation of a high-amylose durum wheat through mutagenesis of starch synthase II (SSIIa) // Journal of Cereal Science. 2013. Vol. 57. N3. Pp. 377–383. DOI: 10.1016/j.jcs.2013.01.001.
7. Kanagarasu S., Poonguzhali S., Joel A.J. Isolation and Characterization of Starch Mutants Through Induced 6634 Mutagenesis in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) // Advances in Life Sciences. 2016. Vol. 5. N17. Pp. 6634–6645.
8. Morell M.K., Kosar-Hashemi B., Cmiel M., Samuel M.S., Chandler P., Rahman S., Buleon A., Batey I.L., Li Z. Barley *sex6* mutants lack starch synthase IIa activity and contain a starch with novel properties // Plant J. 2003. Vol. 34. Pp. 173–185. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2003.01712.x.
9. Bome N.A., Weissfeld L.I., Ripberger E.I., Bome A.Ya. New chemical mutagen to create a biotic diversity of *Triticum aestivum* L. // 50 years of VOGIS: successes and prospects. 8–10. X. The collection of theses of the All-Russian conference 50 years of VOGIS: Successes and prospects. Moscow, 2016. P. 98.
10. Боме Н.А., Вайсфельд Л.И., Бабаев Е.В., Боме А.Я., Колоколова Н.Н. Агробиологические признаки яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при обработке семян химическим мутагеном фосфемидом // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. №3. С. 570–579. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.3.570rus.
11. Korolyov K., Bome N., Weisfeld L. Study of reaction of flax (*Linum usitatissimum* L.) genotypes on mutagenic stressor in the modeled and natural environmental conditions // Zemdirbyste-Agriculture. 2019. N1. Pp. 29–36. DOI: 10.13080/z-a.2019.106.004.
12. Тетяников Н.В. Эколого-биологические особенности внутривидового разнообразия *Hordeum vulgare* L. и его использование для создания новых форм: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Москва, 2019. 22 с.
13. Bome N.A., Korolev K.P., Tetyannikov N.V., Weisfeld L.I., Kolokolova N.N. Mutagenic effect of phosphemide for induction of mutations of *Hordeum vulgare* L. and *Linum usitatissimum* L. // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen2019). 2019. P. 49. DOI: 10.18699/PlantGen2019-031.
14. Bome N.A., Korolev K.P., Tetyannikov N.V., Weisfeld L.I., Kolokolova N.N. Creation of mutant populations of barley (*Hordeum vulgare* L.) and flax (*Linum usitatissimum* L.) induced by the chemical mutagen of the phosphemide // Current Challenges in Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology Proceedings of the Fifth International Scientific Conference PlantGen2019. Novosibirsk, 2019. Pp. 92–94. DOI: 10.18699/ICG-PlantGen2019-29.
15. Боме Н.А., Королев К.П., Тетяников Н.В., Колоколова Н.Н., Боме А.Я., Вайсфельд Л.И., Вассерман Л.А., Гольштейн В.Г. Исследование толерантности культурных растений в экстремальных условиях Северного Зауралья // Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные подходы и методы в защите растений». Екатеринбург, 2018. С. 105–107.
16. Рожнов Е.Д. Определение крахмала методом Эверса. Бийск: Издательство Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова, 2016. 18 с.
17. Андреев Н.Р., Филиппова Н.И. Технохимический контроль кукурузо-крахмального производства. Методическое пособие. М.: Россельхозакадемия, 2007. 123 с.
18. Закирова А.Ш., Ягофаров Д.Ш., Канарский А.В., Сидоров Ю.Д. Применение фотоколориметрического метода для количественного определения амилозы в крахмале // Вестник Казанского университета. 2011. №10. С. 195–198.
19. Villadsen D., Rung J.H., Nielsen T.H. Osmotic stress changes carbohydrate partitioning and fructose-2,6-bisphosphate metabolism in barley leaves // Functional Plant Biology. 2005. Vol. 32. N11. Pp. 1033–1043.
20. D'Amour G., Van Dame M., Urban L. Long-term drought modifies the fundamental relationships between light exposure, leaf nitrogen content and photosynthetic capacity in leaves of the lychee tree (*Litchi chinensis*) // Journal of Plant Physiology. 2008. Vol. 165. Pp. 1370–1378.
21. Полонский В.И., Сумина А.В. Влияние генотипа и условий года выращивания на поглощение воды зерном ячменя // Вестник КрасГАУ. 2013. №4. С. 58–63.
22. Андреев Н.Р. Основы производства нативного крахмала. М: Пищепромиздат, 2001. 289 с.
23. Robyt J. Starch: Structure, Properties, Chemistry, and Enzymology // Glycoscience. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. Pp. 1437–1472. DOI: 10.1007/978-3-540-30429-6_35.

24. Jane J-L., Kasemsuwan T., Leas S., Zobel H., Robyt J.F. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy // *Starch/Starke*. 1994. Vol. 46. Pp. 121–129.
25. Zobel H.F. Starch crystal transformations and their industrial importance. Molecular to granules: a comprehensive starch review // *Starch/Starke*. 1988. Vol. 40. N1. Pp. 1-7. DOI: 10.1002/star.19880400102.
26. Рыжкова Т.А., Третьяков М.Ю., Нещетаев В.П., Сорокопудова О.В., Акиншина О.В., Аркадьева А.В. Гены и реологические свойства шрота мягкой пшеницы // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки*. 2012. №15(134). Вып. 20. С. 46–50.
27. Asare E.K., Jaiswal S., Maley, J., Baga M., Sammynaiken R., Rossnagel, B.G., et al. Barley grain constituents, starch composition, and structure affect starch in vitro enzymatic hydrolysis. // *J. Agric. Food Chem.* 2011. Vol. 59. Pp. 4743–4754. DOI: 10.1021/jf200054e.

Поступила в редакцию 13 июня 2020 г.

После переработки 23 июня 2020 г.

Принята к публикации 28 сентября 2020 г.

Для цитирования: Боме Н.А., Тетянников Н.В., Вайсфельд Л.И., Колоколова Н.Н., Вассерман Л.А., Гольдштейн В.Г., Носовская Л.П., Адикаева Л.В. Содержание крахмала и амилозы в зерне мутантных популяций ячменя // *Химия растительного сырья*. 2020. №4. С. 243–250. DOI: 10.14258/jcrpm.2020048010.

Bome N.A.^{1}, Tetjannicov N.V.², Weisfeld L.I.³, Kolokolova N.N.¹, Wasserman L.A.³, Goldstain V.G.⁴, Nosovskaya L.P.⁴, Adikaeva L.V.⁴* THE CONTENT OF STARCH AND AMYLOSE IN THE GRAIN OF MUTANT POPULATIONS OF BARLEY

¹ Tyumen State University, Volodarskogo, 6, Tyumen, 625003 (Russia), e-mail: bomena@mail.ru

² Federal Horticultural Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery, Zagor'yevskaya, 4, Moscow, 115598 (Russia)

³ Emanuel Institute Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Kosygina, 4, Moscow, 119334 (Russia)

⁴ All-Russian Research Institute of Starch Products – branch of the Federal Research Center of Food Systems named after V.M. Gorbato RAS, Nekrasova, 11, Kraskovo, 140051 (Russia)

Starch is an integral part of grain of cereal crops (including barley), its content and properties significantly affect the processing and quality of products. One of the methods for increasing the variation in starch and amylose contents in starch is chemical mutagenesis. Chemical mutagens provide the possibility to obtain new allelic variations whose genes are involved in starch biosynthesis. In order to create mutant populations of barley, we used in our study the chemical mutagen phosphemide with solution concentrations of 0.002% and 0.01%. Three mutant generations (M₁, M₂, M₃) were grown from the seeds of two barley samples (Zernogradsky 813, k-30453, Russia, var. *Erectum*; Dz02-129, k-22934, Ethiopia var. *Nigripallidum*) from the world collection of the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Genetic Resources, after treatment with a mutagen in the field, and evaluated by a complex of selection traits. The starch content A and B and amylose content in starch were determined in the grain of the mutant and control populations of the second (M₂) and third (M₃) generations.

The application of mutagen led to a significant decrease in the mass fraction of amylose in the starch of the studied samples in the second (M₂) mutant generation. In the third (M₃) generation, the inhibitory effect was preserved only in the sample Dz02-129. In the grain of the Zernogradsky 813 cultivar in M₃, the starch and amylose contents in starch were above the control. The selection of forms with the elevated content of amylose, which have potential value for the processing industry, is advisable to carry out, starting with M₃.

Keywords: chemical mutagen, phosphemide, starch A, starch B, pulp, mutant plant generation.

* Corresponding author.

References

1. Baik B.K., Ullrich S.E. *Journal of Cereal Science*, 2008, vol. 48, no. 2, pp. 233–242. DOI: 10.1016/j.jcs.2008.02.002.
2. Tipsina N.N., Pulyayeva O.S. *Vestnik KrasGAU*, 2013, no. 8, pp. 226–229. (in Russ.).
3. Meledina T.V., Matveyev I.V., Fedorov A.V. *Nesolozhenyye materialy v pivovarenii*. [Unmalted materials in brewing]. St. Petersburg, 2017, 66 p. (in Russ.).
4. Zeeman S.C., Kossmann J., Smith A.M. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2010, vol. 61, no. 1, pp. 209–234. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112301.
5. Thalmann M., Santelia D. *New Phytologist*, 2017, vol. 214, no. 3, pp. 943–951. DOI: 10.1111/nph.14491.
6. Hogg A.C., Gause K., Hofer P., Martin J.M., Graybosch R.A., Hansen L.E., Giroux M.J. *Journal of Cereal Science*, 2013, vol. 57, no. 3, pp. 377–383. DOI: 10.1016/j.jcs.2013.01.001.
7. Kanagarasu S., Poonguzhali S., Joel A.J. *Advances in Life Sciences*, 2016, vol. 5, no. 17, pp. 6634–6645.
8. Morell M.K., Kosar-Hashemi B., Cmiel M., Samuel M.S., Chandler P., Rahman S., Buleon A., Batey I.L., Li Z. *Plant J.*, 2003, vol. 34, pp. 173–185. DOI: 10.1046/j.1365-3113X.2003.01712.x.
9. Bome N.A., Weissfeld L.I., Ripberger E.I., Bome A.Ya. *50 years of VOGIS: successes and prospects. 8-10. X. The collection of theses of the All-Russian conference 50 years of VOGIS: Successes and prospects*, Moscow, 2016, p. 98.
10. Bome N.A., Weissfeld L.I., Babayev Ye.V., Bome A.Ya., Kolokolova N.N. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*, 2017, vol. 52, no. 3, pp. 570–579. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.3.570rus. (in Russ.).
11. Korolyov K., Bome N., Weisfeld L. *Zemdirbyste-Agriculture*, 2019, no. 1, pp. 29–36. DOI: 10.13080/z-a.2019.106.004.
12. Tetyannikov N.V. *Ekologo-biologicheskiye osobennosti vnutrividovogo raznoobraziya Hordeum vulgare L. i yego ispol'zovaniye dlya sozdaniya novykh form: avtoref. dis. ... kand. s.-kh. nauk*. [Ecological and biological features of the intraspecific diversity of *Hordeum vulgare* L. and its use for the creation of new forms: author. dis. ... Cand. agricultural sciences]. Moscow, 2019, 22 p. (in Russ.).
13. Bome N.A., Korolev K.P., Tetyannikov N.V., Weisfeld L.I., Kolokolova N.N. *Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen2019)*, 2019, p. 49. DOI: 10.18699/PlantGen2019-031.
14. Bome N.A., Korolev K.P., Tetyannikov N.V., Weisfeld L.I., Kolokolova N.N. *Current Challenges in Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology Proceedings of the Fifth International Scientific Conference PlantGen2019*, Novosibirsk, 2019, pp. 92–94. DOI: 10.18699/ICG-PlantGen2019-29.
15. Bome N.A., Korolev K.P., Tetyannikov N.V., Kolokolova N.N., Bome A.Ya., Weisfeld L.I., Wasserman L.A., Goldstain V.G. *Materialy vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem «Sovremennyye podkhody i metody v zashchite rasteniy»*. [Materials of the All-Russian scientific-practical conference with international participation "Modern approaches and methods in plant protection"]. Ekaterinburg, 2018, pp. 105–107. (in Russ.).
16. Rozhnov Ye.D. *Opredeleeniye krakhmala metodom Eversa*. [Determination of starch by the Evers method]. Biysk, 2016, 18 p. (in Russ.).
17. Andreyev N.R., Filippova N.I. *Tekhnokhimicheskiy kontrol' kukuruzokrakhmal'nogo proizvodstva. Metodicheskoye posobiye*. [Technochemical control of corn starch production. Methodical manual]. Moscow, 2007, 123 p. (in Russ.).
18. Zakirova A.Sh., Yagofarov D.Sh., Kanarskiy A.V., Sidorov Yu.D. *Vestnik Kazanskogo universiteta*, 2011, no. 10, pp. 195–198. (in Russ.).
19. Villadsen D., Rung J.H., Nielsen T.H. *Functional Plant Biology*, 2005, vol. 32, no. 11, pp. 1033–1043.
20. D'Amour G., Van Dame M., Urban L. *Journal of Plant Physiology*, 2008, vol. 165, pp. 1370–1378.
21. Polonskiy V.I., Sumina A.V. *Vestnik KrasGAU*, 2013, no. 4, pp. 58–63. (in Russ.).
22. Andreyev N.R. *Osnovy proizvodstva nativnogo krakhmala*. [Basics of native starch production]. Moscow, 2001, 289 p. (in Russ.).
23. Robyt J. *Glycoscience*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2008, pp. 1437–1472. DOI: 10.1007/978-3-540-30429-6_35.
24. Jane J-L., Kasemsuwan T., Leas S., Zobel H., Robyt J.F. *Starch/Starke*, 1994, vol. 46, pp. 121–129.
25. Zobel H.F. *Starch/Starke*, 1988, vol. 40, no. 1, pp. 1–7. DOI: 10.1002/star.19880400102.
26. Ryzhkova T.A., Tret'yakov M.Yu., Netsvetayev V.P., Sorokopudova O.V., Akinshina O.V., Arkad'yeva A.V. *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Yestestvennyye nauki*. 2012, vol. 15(134), no. 20, pp. 46–50. (in Russ.).
27. Asare E.K., Jaiswal S., Maley, J., Baga M., Sammynaiken R., Rossnagel, B.G., et al. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, vol. 59, pp. 4743–4754. DOI: 10.1021/jf200054e.

Received June 6, 2020

Revised June 23, 2020

Accepted September 28, 2020

For citing: Bome N.A., Tetjannicov N.V., Weisfeld L.I., Kolokolova N.N., Wasserman L.A., Goldstain V.G., Nosovskaya L.P., Adikaeva L.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 243–250. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020048010.