

## ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТОДІВ ПІДВИЩЕННЯ ВМІСТУ АМІЛОЗИ У *TRITICUM AESTIVUM*

Морозова В.О.<sup>1</sup>, Великожон Л.Г.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> КШ ім. Ігоря Сікорського, [morozova.vera@iik.kpi.ua](mailto:morozova.vera@iik.kpi.ua)

<sup>2</sup> Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

<sup>3</sup> Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

**Мета:** оглянути існуючі методи підвищення вмісту амілози у *Triticum aestivum*. Обґрунтувати необхідність всебічного дослідження метаболізму резистентного крохмалю у *Triticum aestivum*.

**Актуальність:** у світі гостро стоїть питання покращення якості харчових продуктів, зокрема виробів із пшениці. Підвищення вмісту амілози у м'якій пшениці дозволить зробити великий крок у профілактиці низки захворювань: діабету, ожиріння, хвороб серцево-судинної системи і пов'язаних станів [1].

Найбільшого поширення набули 2 види пшениці – м'яка гексаплоїдна пшениця (*Triticum aestivum*) і тверда тетраплоїдна пшениця (*Triticum durum*). *Triticum aestivum* (хлібна пшениця, м'яка пшениця) використовується для виробництва хлібних виробів і має природньо вищий вміст амілози (біля 25% в крохмалі) – це означає, що штучне додаткове підвищення вмісту амілози із даним видом буде більш ефективно, ніж з будь-яким іншим [2].

Крохмаль – високомолекулярна речовина, суміш двох полісахаридів – амілози та амілопектину. Відомо, що співвідношення цих двох фракцій відповідає за рівень засвоюваності крохмалю, який, в свою чергу, визначає якість харчування і має вплив на стан здоров'я людини. Резистентний крохмаль має підвищений вміст фракції амілози і більшу стійкість до дії ферментів підшлункової залози – це робить даний крохмаль менш засвоюваним, що і сприяє нормальному травленню. При споживанні такого крохмалю знижується ризик виникнення гіперглікемії, ішемічної хвороби серця, а сам він є субстратом для корисної мікрофлори кишечника [3,4].

Один з класичних – метод поліплоїдії. Проте у випадку м'якої пшениці він вичерпав себе, адже *Triticum aestivum* має один із найскладніших геномів, відомих науці. Недоліки поліплоїдії: порушення укладки гетерохроматину у ядрі, так як на ядерній оболонці стає менше відносного поверхневого простору для його розміщення; проблеми для проходження мітозу та мейозу; непередбачувані зміни в експресії генів та епігенетиці [5].

На другому місці за популярністю – метод мутагенезу. Мутагенез може проводитись рядом традиційних способів, наприклад, з використанням хімічних мутагенів. Результати дії етилметансульфонату на м'яку пшеницю доволі багатообіцяючі: отримано коливання вмісту амілози в межах від ~3 до 76% у популяції. Метод має високу результативність, проте тепер важливо відібрати мутанти з високим вмістом амілози і отримати нащадків. Якщо перевірка вмісту амілози у наступних поколіннях дасть бажані результати як в батьківських ліній, можна говорити про те, що мутація успішно закріпилась [6].

Задля підвищення вмісту амілози в м'якій пшениці використовуються й новітні техніки. Так, було створено пшеницю з високим вмістом амілози шляхом цілеспрямованого мутагенезу ТаSBEIIa у озимій пшениці сорту Шенгмаї 7698 та

ярій пшениці сорту Бобвайт за допомогою CRISPR/Cas9 без трансгенезу – отримано пшеницю з частковими або потрійно нульовими алелями TaSBEIIa у Шенгмаї 7698 та Бобвайт, відповідно [7].

Новим і цікавим методом є РНК-інтерференція. РНК-інтерференція використовувалася для пригнічення двох ізоформ ферменту розгалуження крохмалю SBE II (SBEIIa та SBEIIb) в ендоспермі пшениці з метою підвищення в ньому вмісту амілози. Пригнічення експресії SBEIIb саме по собі не впливало на вміст амілози; однак пригнічення експресії як SBEIIa, так і SBEIIb призводило до того, що крохмаль містив >70% амілози [8].

Метод TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes – націлювання на індуковані локальні ушкодження в геномах) – це метод виявлення нових генетичних варіацій без необхідності прямого відбору фенотипів. Використовуючи TILLING для ідентифікації нових генетичних варіацій у геномах А, В та D м'якої гексаплоїдної пшениці, ідентифіковано мутації у формі одонуклеотидних поліморфізмів (SNP) у ферменті розгалуження крохмалю (ген: SBEIIa). Об'єднання за допомогою селекції цих нових, відкритих методом TILLING, SNP-мутантних алелей SBEIIa дозволило створити сорти м'якої пшениці з високим вмістом амілози [9].

**Висновок:** проведено аналіз досліджень з підвищення вмісту резистентного крохмалю у м'якій пшениці з метою винайдення оптимального методу для використання в умовах України. Таким чином, найбільш придатним є метод хімічного мутагенезу – простий, бюджетний, надійний і не пов'язаний із трансгенезом і складними техніками.

### Список використаної літератури:

1. Schoen A, Tiwari V. Triple null mutations in starch synthase SSIIa gene homoeologs lead to high amylose and resistant starch in hexaploid wheat. *BMC Plant Biology*. 2021. 21(1), № 74.
2. Antle J. M., Smith V. H. An Overview of World Wheat Markets. *European Review of Agricultural Economics*. 2001. № 28.
3. U. Cenci, F. Nitschke, M. Steup, B.A. Minassian, C. Colleoni, S.G. Ball Transition from glycogen to starch metabolism in Archaeplastida. *Trends Plant Sci*. 2014. № 19 (1).
4. Ardha Apriyanto, JuliaCompart, JoergFettke A review of starch, a unique biopolymer – Structure, metabolism and in planta modifications. *Plant Science*. 2022. № 318.
5. Woodhouse, M., Burkart-Waco Polyploidy. *Nature Education*. 2009. 2(1):1
6. Mishra A., Singh A., Sharma M. et al. Development of EMS-induced mutation population for amylose and resistant starch variation in bread wheat (*Triticum aestivum*) and identification of candidate genes responsible for amylose variation. *BMC Plant Biology*. 2016. 16, № 217.
7. Li J., Jiao G., et al. Modification of starch composition, structure and properties through editing of TaSBEIIa in both winter and spring wheat varieties by CRISPR/Cas9. *Plant biotechnology journal*. 2021. 19, № 5. С. 937–951.
8. J. Barsby, B. Li, High-amylose wheat generated by RNA interference improves indices of large-bowel health in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006. № 103(10).
9. Slade AJ., McGuire C., Loeffler D., Mullenberg J., Skinner W., Fazio G., Holm A., Brandt KM., Steine MN. Development of high amylose wheat through TILLING. *BMC Plant Biology*. 2012. 12, № 69.