

<https://doi.org/10.15407/frg2020.03.238>

УДК 575.113.2:577.112.82

МУТАЦІЯ У ЛОКУСІ *sex6*, ЯКА РАДИКАЛЬНО ПОЛІПШУЄ ХАРЧОВУ ЦІННІСТЬ ЗЕРНА ЯЧМЕНЮ

О.І. РИБАЛКА^{1,2}, В.Б. КАТРІЙ², Б.В. МОРГУН^{2,3}, С.С. ПОЛІЩУК¹

¹Селекційно-генетичний інститут—Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення Національної академії аграрних наук України
65036, Одеса, Овідіопольська дорога, 3

²Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17

³Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України

03143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

e-mail: molgen@icbge.org.ua

Сорт голозерного ячменю Himalaya 292 з унікальними харчовими характеристиками створений CSIRO (Австралія) на основі індукованої мутагеном ази-дом натрію мутації у локусі *sex6*. Мутація містить стоп-кодон, що виник в результаті G на A транзиції і блокує активність ферменту крохмальних гранул SSIIa, який каталізує гілкування полімеру глюкози у складі крохмалю. В результаті вміст нерозгалуженого полімеру глюкози (амілози) у складі крохмалю зерна істотно збільшується від звичайного для ячменю рівня 20–25 % до високого — 70 %. Оригінальний сорт ярого голозерного ячменю Himalaya 292 досліджували протягом кількох років у польових умовах дослідного поля СГІ—НЦНС. Сорт виявився абсолютно не адаптованим, особливо до посушливих умов вирощування, рослини були дуже слабкими і формували лише по 1–2 колоса на рослину з дрібним зморшкуватим зерном. Від бінарного схрещування Himalaya 292 × Datcha (Австрія) на матеріалі генотипів F_{4/5} була створена дослідна селекційна популяція, і в результаті доборів було взято 200 краших за агрономічними характеристиками рослин для детекції у зерні мутації в локусі *sex6* методом ПЛР у поєднанні з рестрикційним аналізом і паралельного визначення у зерні вмісту амілози. В результаті виконаної роботи відібрано генотипи з імовірним підвищеним вмістом амілози у крохмалі, які будуть використані у подальшій селекційній роботі з популяцією. Зроблено висновок, що сорт Himalaya 292 може бути використаним у селекційній програмі міжсортових схрещувань виключно як генетичне джерело мутації у локусі *sex6* з метою створення адаптованих до посухи сортів голозерного ячменю з високим вмістом у зерні амілози.

Ключові слова: голозерний ячмінь, крохмаль, амілоза, мутація, локус *sex6*, синтаза крохмалю.

Крохмаль є головним вуглеводним енергоємним компонентом зерна, який визначає його не лише енергетичну, а й біологічну цінність за

Цитування: Рибалка О.І., Катрій В.Б., Моргун Б.В., Поліщук С.С. Мутація у локусі *sex6*, яка радикально поліпшує харчову цінність зерна ячменю. *Фізіологія рослин і генетика*. 2020. 52, № 3. С. 238–247. <https://doi.org/10.15407/frg2020.03.238>

такими важливими для здоров'я характеристиками як гліцемічний індекс — GI (glycemic index) та гліцемічне навантаження GL (glycemic load). GI характеризує швидкість, з якою крохмаль харчового продукту конвертується у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) людини в глюкозу, а GL є похідною величиною від значення GI продукту та його спожитої кількості. Що вище GI, то вища швидкість конверсії крохмалю в глюкозу, і відповідно нижча біологічна цінність продукту, яка у свою чергу тісно пов'язана з ризиком розвитку метаболічного синдрому та цукрового діабету II типу [1]. З моменту впровадження у 1981 р. GI став ключовим показником, що нині широко використовується для характеристики фізіологічної реакції організму, пов'язаної із вживанням вуглеводних харчових продуктів [2].

GI значною мірою залежить від біохімічного складу крохмалю, а саме від співвідношення його компонентів: амілози (біополімер D-глюкози з лінійною молекулярною структурою) та амілопектину (біополімер D-глюкози з розгалуженою молекулярною структурою). У нормі крохмаль ячмінного зерна містить 25—30 % амілози, а решта — амілопектин. Амілоза має значно повільнішу за амілопектин швидкість ензиматичної деградації у ШКТ людини до кінцевого продукту глюкози, а недеградована частка амілози утворює так званий резистентний RS-крохмаль. Отже, що вищий вміст у крохмалі амілози, то нижчий GI вуглеводного продукту, нижчий GL, і відповідно вища його біологічна цінність. Крім того, з підвищенням вмісту у крохмалі амілози зростає вміст у зерні RS-крохмалю, який є надзвичайно стійким до ферментів травлення у тонкому відділі кишечника людини і відіграє роль цінної для здоров'я дієтичної клітковини [3]. Тому підвищення вмісту амілози в крохмалі зерна, що рівнозначне поліпшенню його харчової (біологічної) цінності, є одним із стратегічних завдань селекції багатьох зернових культур, і в тому числі ячменю [4].

Радикальні зміни у складі крохмалю ячменю за вмістом амілози були досягнуті групою австралійських вчених Федерального агентства з наукових досліджень CSIRO [5]. У ході скринінгу генотипів зі зморшкуватим зерном після обробітку насіння сорту Himalaya мутагеном азидом натрію ними був ідентифікований новий мутант голозерного ячменю з високим вмістом амілози [6]. Виділена мутантна лінія M292, що згодом стала комерційним сортом, отримала назву Himalaya 292, а відповідна мутація (G на A транзиція) була картована у локусі *sex6* (*shrunkен endosperm xenia*). Вона знижувала вміст у зерні крохмалю до 27 % порівняно з 49 % у контролі і водночас підвищувала частку амілози у крохмалі до 71 %. У мутантній лінії ячменю був ідентифікований стоп-кодон, який унеможлилював трансляцію транскриптів для синтезу ферменту синтази крохмалю (SSIIa).

З моменту створення сорт голозерного ячменю Himalaya 292 став джерелом нової функціональної їжі (торгова марка BARLEYmax™ в Австралії) з низьким вмістом крохмалю, високим вмістом амілози та резистентного крохмалю і некрохмалистих полісахаридів у формі β-глюканів (понад 10 %).

Використання зерна сорту Himalaya 292 у якості корму для тварин і їжі для людини продемонструвало його відчутний позитивний

вплив на індекси функціонування кишечника, і в першу чергу — на активацію біосинтезу кишковою мікробіотою коротколанцюгових жирних кислот, які відіграють стратегічну фізіологічну роль у функціонуванні кишечника та низки інших життєво важливих органів тварин і людини [7—9].

Враховуючи унікальну харчову (біологічну) цінність сорту голозерного ячменю *Himalaya 292* та його привабливість як функціонального комерційного продукту, ми вперше в Україні започаткували його використання у схрещуваннях в якості генетичного джерела мутації у локусі *sexb*, для створення на базі цього джерела сортів голозерного ячменю з високою харчовою цінністю зерна подібною до *Himalaya 292*.

Метою нашої роботи було опрацювання лабораторної процедури молекулярної ідентифікації мутації у локусі *sexb* та визначення вмісту амілози у мінімальній кількості зерна для добору у селекційних популяціях мутантних генотипів ячменю з високим вмістом амілози в крохмалі.

Методика

Вихідний матеріал у кількості 5 насінин оригінального сорту голозерного ячменю *Himalaya 292* був розмножений у вегетаційних горщиках та в подальшому висіяний на дослідному полі СГІ—НЦНС в Одесі.

На кожній з п'яти рослин по 1—2 колоса були кастровані й запилені пилком ярого плівчастого ячменю сорту *Datcha* (Австрія, 2011), який має відмінні агрономічні характеристики. Того ж року отримані зерна F_1 були висіяні у вегетаційні горщики. Рослини F_1 були самозапилені й отримані зерна F_2 , які наступного року навесні були висіяні на дослідному полі поруч з вихідними сортами-стандартами *Himalaya 292* та *Datcha* за схемою: метрові рядки із шириною міжрядь 0,45 м. Серед рослин, отриманих у подальшому популяції F_3 і F_4 , проводили індивідуальні добори особин із задовільними агрономічними характеристиками та типовою для сорту *Himalaya 292* маркерною ознакою зерна (див. рис. 1). З кожної окремої рослини F_4 брали по одній зернівці (покоління F_5) для ПЛР-аналізу їхньої ДНК та визначення вмісту амілози у крохмалі ендосперму.

Загальну ДНК із зернівки ячменю виділяли за стандартною методикою з використанням СТАВ (cetyltrimethylammonium bromide). Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили зі специфічними праймерами відповідно до [10]. Послідовності праймерів (Metabion, Німеччина), які ампліфікували ділянку з транзицією G на A становили: ZLSS2P4 (5' CCT GGA ACA CTT CAG ACT GTA CG 3') та ZLBSSIIP5 (5' CTT CAG GGA GAA GTT GGT GTA GC 3').

Програма ампліфікації була наступною: плавлення 94 °C — 3 хв; далі 35 циклів 94 °C — 30 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 30 с; на завершення 72 °C — 3 хв та 25 °C — 1 хв. Довжина очікуваного амплікону для обох варіантів була однаковою і становила 270 пн. Транзицію G на A у *Himalaya 292* виявляли проводячи гідроліз ендонуклеазою *BspLI*

(NlaIV) (Thermo Fisher Scientific). Сайт розпізнавання рестриктази і розщеплення являв собою таку послідовність:



Реакційна суміш для гідролізу містила 10 мкл продуктів ПЛР, 17,5 мкл деіонізованої води типу Milli-Q, 2 мкл реакційного 10x буферу та 2 одиниці активності ферменту. Пробірки інкубували за температури 37 °С упродовж 12 год. Продукти рестрикції розділяли методом електрофорезу нуклеїнових кислот у 2 % агарозному гелі з натрійборатним буфером та 0,5 мкг/мл бромистого етидію. Візуалізовані в УФ-світлі спектри документували цифровим фотоапаратом. Після розщеплення рестриктазою *Vsp*LI ампліфікованого фрагменту гена (завдовжки 270 пн) дикий тип давав 3 очікувані фрагменти — 111 пн, 103 і 56 пн, а мутантний 2 — 167 та 103 пн (див. рис. 2).

Визначення вмісту амілози здійснювали на основі здатності розчину амілози змінювати колір при взаємодії з розчином йоду. За основу використовували протокол описаний в [11] із власними модифікаціями. У скляній ступці, максимально подрібнювали одну або дві зернини дослідного зразка, відбирали наважку 0,01 г та переносили у термостійкий стакан. Далі додавали 10 мл розчину 1 М NaOH, перемішували та нагрівали надвисокочастотним випромінюванням впродовж 7 хв (джерелом був магнетрон потужністю 90 кВт). Після цього розчин охолоджували до кімнатної температури. Вміст охолодженого стакану змивали дистильованою водою в колбу 2—3 рази, доводили об'єм до 25 мл та перемішували. У дві окремі пробірки відбирали по 2,5 мл отриманого розчину крохмалю з наступним додаванням 2 мл 0,3 н лимонної кислоти, 1 мл свіжого розчину йоду та 10 мл дистильованої води. Оптичну густину вимірювали на фотометрі фотоелектричному КФК-3-01(ЗОМЗ, СРСР) за довжини хвилі 620 нм. Вміст амілози визначали за калібрувальним графіком, для побудови якого використовували чисту амілозу (amylose type II from potato, Sigma) у різних концентраціях.

Результати та обговорення

Завданням даної роботи було не лише провести заплановані лабораторні дослідження, а й отримати селекційно цінний, адаптований до умов вирощування в Одеській області матеріал голозерного ячменю з високим вмістом у крохмалі амілози, який був би придатним для нашої нової селекційної програми зі створення високоамілозного сорту голозерного ячменю для посушливих умов Півдня України.

Морфологічні особливості рослин і зерна сорту *Himalaya 292* були ретельно досліджені у посіві за польових умов протягом 2015—2019 рр. На жаль, рослини цього генотипу були погано адаптовані до кліматичних умов Півдня України, особливо до нестачі вологи. В умовах польового дослідження вони виглядали досить кволими і формували зморшкувате зерно з характерною боріздкою (рис. 1). Морфологічні й агрономічні характеристики рослин гібридів F_1 та рослин у популяціях F_2 — F_4 були набагато кращими порівняно з вихідним сортом *Himalaya 292*.

У поколіннях F_2 — F_4 проводили добори кращих за агрономічними параметрами рослин, акцентуючи увагу на характерних для сорту Himalaya 292 особливостях зернової борізки та товщини зерна, котрі ми вважали можливими морфологічними маркерними ознаками мутації у локусі *sexb*.

У поколінні $F_{4/5}$ (рослини покоління F_4 , а зерно на них — F_5) були здійснені селекційні добори кращих за агрономічними особливостями рослин з високою зерною продуктивністю. Серед популяції за наявності характерних особливостей борізки зерна та без них були дібрані 200 рослин для ПЛР-аналізу та визначення вмісту амілози у крохмалі.

За результатами аналізу ДНК амплікон Himalaya 292 довжиною 270 пн розділявся на фрагменти довжиною 167 пн та 103 пн, в той час як дикий тип — на фрагменти 111 пн 103 пн та 56 пн (рис. 2). Відповідно до даних ПЛР, досліджувана популяція рослин була розділена за типом Himalaya 292 та диким типом, характерним для сорту Datcha.

Кожний зразок популяції $F_{4/5}$ ячменю паралельно досліджували методом ПЛР і визначали вміст амілози у зерні (рис. 3). Всі 200 досліджених зразків розподілилися за вмістом у зерні амілози на три групи (рис. 4): тип сорту Datcha (25—30 %), тип сорту Himalaya 292 (65—70 %), і проміжний тип (35—60 %). У популяції $F_{4/5}$



Рис. 1. Колоси і зерно сорту голозерного ячменю Himalaya 292

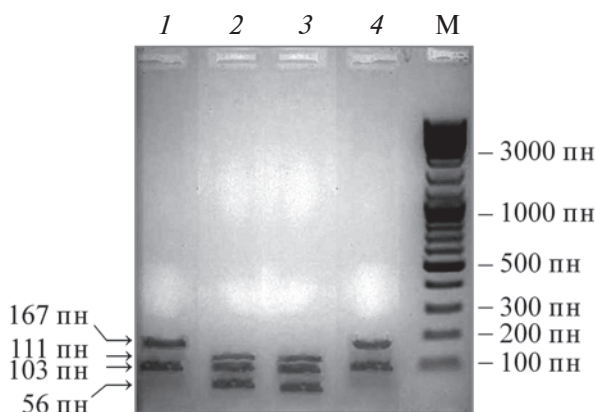


Рис. 2. Результати рестрикційного аналізу ампліфікованих фрагментів ДНК: доріжки 1 і 4 — тип Himalaya 292; 2 і 3 — дикий тип, характерний для сорту Datcha; М — маркер молекулярної маси DNA Ladder Mix



Рис. 3. Приклади розчинів з різною концентрацією амілози:

1 – 60–65 %; 2 – 25–30; 3 – 50–55 %

Himalaya 292 × *Datcha* зберігається ще досить високий рівень гетерозиготності генотипів. Тому одна зернівка з кожної рослини, що була взята для аналізу, за вмістом амілози та ПЛР-тестом є репрезентативною лише для гомозиготних рослин, і не є репрезентативною для рослин гетерозиготних за мутацією. Однак, таке тестування популяції все ж віддзеркалює загальну картину, що має місце в популяції за вмістом амілози у крохмалі в результаті прояву мутації у локусі *sexb* або альтернативного алеля дикого типу.

Наявність генотипів з проміжним рівнем вмісту амілози між крайніми значеннями для *Himalaya 292* і *Datcha* (див. рис. 4) свідчить, що у гетерозиготних генотипів в результаті наявності алеля дикого типу частково відновлюється активність ферменту *SSIIa*, і вміст розгалуженого полімеру глюкози (амілопектину) зростає за рахунок зниження вмісту нерозгалуженого полімеру (амілози).

Отже, в результаті виконаної роботи нами дібрано генотипи з достовірним підвищеним вмістом амілози у крохмалі, які будуть використані у подальшій селекційній роботі з популяцією. Сорт *Himalaya 292*, як генетичне джерело *ssIIa* мутації у локусі *sexb*, є

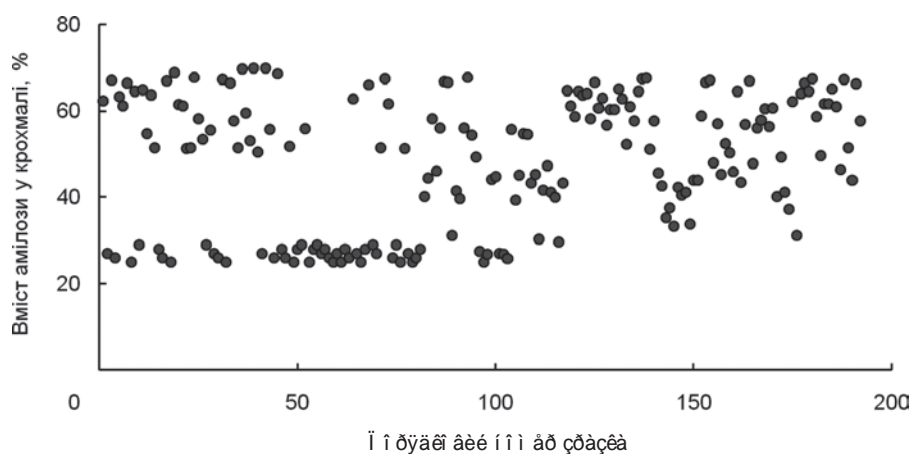


Рис. 4. Розподіл зразків популяції $F_{4/5}$ *Himalaya 292* × *Datcha* за вмістом амілози у крохмалі

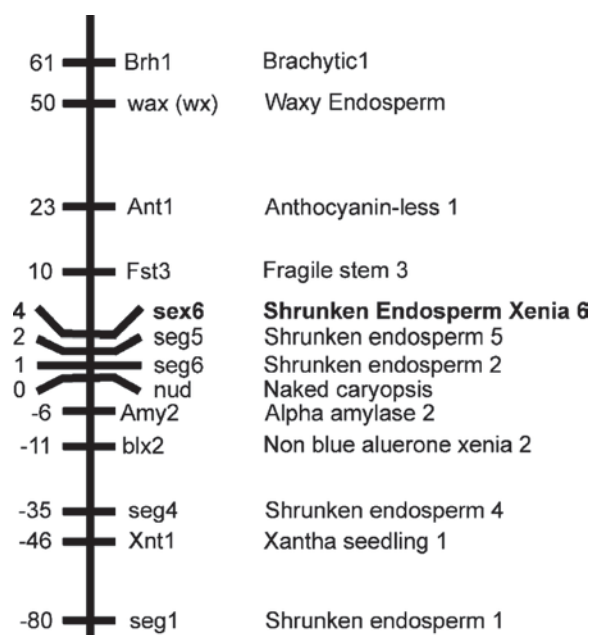


Рис. 5. Проксимально розміщені цільові локуси *sex6* і *nud* на хромосомі 7Н ячменю [5]

надзвичайно важливим для створення сортів харчового голозерного ячменю з унікальними харчовими характеристиками. Тому, дана мутація нами вже активно використовується у спеціальній селекційній програмі, спрямованій на створення сортів високоамілозного голозерного ячменю, а кількість селекційних популяцій буде значно збільшена.

Для ефективного селекційного використання мутації у локусі *sex6* важливо знати її позицію на генетичній карті хромосоми ячменю відносно інших цільових генів, та можливі її плейотропні ефекти на інші важливі ознаки ячменю. На рис. 5 подано генетичну карту хромосоми 7Н ячменю [5] з розміщеними на ній локусами *sex6*, *nud*, *wax* та *blx2*, які є цільовими у нашій селекційній програмі створення сортів голозерного (локус *nud*) ячменю з високим вмістом у зерні амілози (локус *sex6*), некрохмалистих полісахаридів β -глюканів (локус *wax*) та пігментів антоціанінів (локус *blx2*).

Локус *nud* (голе зерно, без щільного прикріплення лусок) у нашій селекційній програмі є базовим, оскільки стратегічним завданням програми є створення сортів голозерного ячменю. Локус *nud* розміщений доволі тісно (на відстані 16,2 сМ) від локусу *sex6*. Це означає, що при доборі в селекційних популяціях від схрещування типу *nud* \times *Nud* (голозерний \times плівчастий) цільових голозерних генотипів є висока імовірність добору генотипів, які комбінують водночас голе зерно з цільовим локусом *sex6*.

Мутація у локусі *sex6* має чітко виражений плейотропний ефект на ряд важливих морфологічних ознак зерна ячменю, пов'язаних із зерновою продуктивністю. Так, за даними авторів сорту Himalaya 292, мутація знижує масу 1000 зерен з 51 г у вихідного сорту Himalaya до 32 г у мутантної лінії M292. У мутантної лінії зберігаються такі самі

лінійні розміри зерна за його довжиною і шириною, що й у вихідного сорту. Однак, товщина зерна різко знижена від середньої 2,8 мм у вихідного сорту до 1,6 мм у мутантної лінії. Зниження маси і товщини зерна пов'язано, перш за все, зі зниженням вмісту крохмалю у зерні від 49 % у сорту *Himalaya* до 17,7 % у мутантної лінії M292 і похідного від неї сорту *Himalaya* 292 [5].

Автори дослідження *Himalaya* 292 вказують на важливий морфологічний показник мутантної зернівки — співвідношення довжини зернівки (L) до її товщини (T). У мутантних генотипів співвідношення L/T у середньому >3,5; тоді як у генотипів дикого типу воно <3,5. Автори дослідження вважають, що співвідношення L/T <3,5 може слугувати корисним діагностичним параметром при селекційному доборі генотипів з мутантним алелем у локусі *sex6* [5].

Мутація у локусі *sex6* має також плейотропний ефект на інші ферменти шляху біосинтезу крохмалю зерна, блокуючи зв'язування з крохмальною гранулою таких ензимів як SSI, ензимів Па і Пб, що каталізують гілкування полімерної молекули крохмалю. В результаті, навіть великі за розміром крохмальні гранули А-типу у мутантного сорту *Himalaya* 292 (M292) мають істотні відмінності порівняно з гранулами відповідного типу вихідного сорту *Himalaya* (рис. 6). Внаслідок мутації істотно змінені також фізичні і реологічні властивості крохмалю зерна ячменю [5].

З огляду на радикальні зміни морфологічних та біохімічних характеристик зерна ячменю під дією мутації у локусі *sex6*, цілком очевидно, що мутантний генотип, буде поступатися за урожаєм зерна генотипу дикого типу. Тому, важливим завданням селекції сортів високоамілозного ячменю на основі *Himalaya* 292 є пошук компенсаторних механізмів і селекційних ознак рослин, які балансували би втрату урожаю зерна, зумовлену мутацією.

Однак, незважаючи на зниження врожаю, харчова (біологічна) цінність зерна ячменю, що містить мутацію у локусі *sex6*, є незрівнянно вищою, ніж у зерна з алелем дикого типу. Всебічну характеристику харчової цінності зерна ячменю сорту *Himalaya* 292 подано у низці експериментальних публікацій та рекламних статей, виданих фахівцями CSIRO [7—9, 12—14].

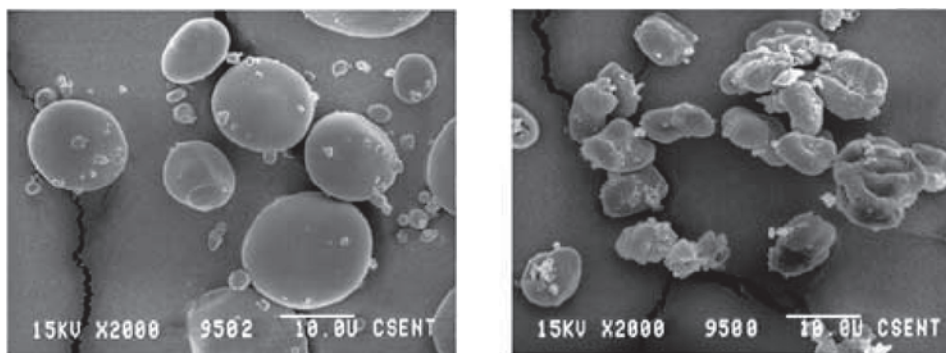


Рис. 6. Електронна скан-мікрографія гранул крохмалю: сорти *Himalaya* (ліворуч), *Himalaya* 292 (M292) (праворуч) [5]

Починаючи з 2014 року, продукти функціонального харчування із цільного зерна сорту Himalaya 292 (злакові сніданки, харчові обгортки, хліб, каші, мюслі, тощо) під торговою маркою BARLEYmax™ стабільно зайняли харчові ринки продуктів здорового харчування Австралії, США, Великобританії, Японії. Сподіваємося, що по завершенні нашої селекційної програми на харчовому ринку України також з'являться унікальні за біологічною цінністю функціональні харчові продукти, створені на основі високоамілозних сортів голозерного ячменю з мутацією в локусі *sex6*.

Таким чином, у результаті виконаної роботи встановлено, що сорт голозерного ячменю Himalaya 292 з унікальними харчовими характеристиками, створений CSIRO (Австралія) на основі індукованої мутагеном азидом натрію мутації у локусі *sex6*, не адаптований до посушливих умов вирощування Півдня України. Він може бути використаним у селекційній програмі міжсорткових схрещувань виключно як генетичне джерело мутації у локусі *sex6* з метою створення адаптованих до посухи сортів голозерного ячменю з високим вмістом у зерні амілози. Нами створено дослідну селекційну популяцію F_{4/5} Himalaya 292 × Datcha, опрацьовано лабораторні процедури для детекції *sex6* мутантних генотипів і вимірювання вмісту амілози у зерні, дібрано генотипи з достеменно підвищеним вмістом амілози у крохмалі, які будуть використані у подальшій селекційній роботі з популяцією.

REFERENCES

1. Englyst, K., Vinoy, S., Englyst, H. & Lang, V. (2003). Glycaemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *Br. J. of Nutr.*, 89, pp. 329-339. <https://doi.org/10.1079/BJN2002786>
2. Jenkins, D., Wolever, T. & Taylor, R. (1981). Glycemic index of foods: a physiological basis of carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.*, 134, pp. 362-366. <https://doi.org/10.1093/ajcn/34.3.362>
3. Shi, Y-Ch. & Maningat, C. (2013). Resistant starch: sources, applications and health benefits. ISBN: 978-1-118-52875-4 Wiley-Blackwell.
4. Rybalka, O., Morgun, B. & Polishchuk, S. (2016). Barley as a product of functional nutrition. Kyiv, Logos [in Ukrainian].
5. Morell, M., Kosar-Hashemi, B., Cmiel, M., Samuel, M., Chandler, P., Rahman, S., Buleon, A., Batey, I. & Li, Z. (2003) Barley *sex6* mutants lack starch synthase IIa activity and contain a starch with novel properties. *Plant J.*, 34, pp. 173-185. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01712.x>
6. Zwar, J.A. & Chandler, P.M. (1995). α -Amylase production and leaf protein synthesis in a gibberellin-responsive dwarf mutant of 'Himalaya' barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta*, 197, pp. 39-48. <https://doi.org/10.1007/BF00239937>
7. Topping, D., Morell, M., King, R., Li, Z., Bird, A. & Noakes, M. (2003). Resistant starch and health — Himalaya 292, a novel barley cultivar to deliver benefits to consumers. *Starch-Starke*, 55, pp. 539-545. <https://doi.org/10.1002/star.200300221>
8. Bird, A., Flory, C., Davies, D., Usher, S. & Topping, D. (2004). A novel barley cultivar (Himalaya 292) with a specific gene mutation in starch synthesis IIa raises large bowel starch and short-chain fatty acids in rats. *J. Nutr.*, 134, pp. 831-835. <https://doi.org/10.1093/jn/134.4.831>
9. Bird, A., Jackson, M., King, R., Davies, D., Usher, S. & Topping, D. (2004). A novel high-amylose barley cultivar (*Hordeum vulgare* var. Himalaya 292) lowers plasma cholesterol and alters indices of large-bowel fermentation in pigs. *Br. J. Nutr.*, 92, pp. 607-615. <https://doi.org/10.1079/BJN20041248>

10. Redzhina, A., Morell, M. & Rakhman, S. (2007). Barley with varied activity of branching enzyme and starch and starch-containing products with increased amylose content. Patent RU 2303870 C2. Retrieved from <http://patentimages.storage.googleapis.com/6a/83/39/198277ffd919b4/RU2303870C2.pdf>
11. Mohammadkhani, A. (2005). Survey of starch amylose content in naked barley (*H. vulgare nudum*). Pakistan J. of Nutrition, 4, pp. 183-186. DOI: 10.3923/pjn.2005.183.186
12. Lee, Bruce. (2009). The BARLEYmax Better Nutritional Report. Public Health Association Australia. CSIRO, Australia.
13. Li, Zhongyi. (2009). BARLEYmax™ Better Nutritional Report. CSIRO, Australia.
14. Bird, A., Vuaran, M., King, R., Noakes, M., Keogh, J., Morell, M. & Topping, D. (2008). Wholegrain foods made from a novel high-amylose barley variety (Himalaya 292) improve indices of bowel health in human subjects. Br. J. of Nutr., 99, pp. 1032-1040. <https://doi.org/10.1017/S000711450783902X>

Received 05.05.2020

BARLEY LOCUS *sex6* MUTATION THAT SUBSTANTIALLY IMPROVES NUTRITIONAL GRAIN VALUES

O.I. Rybalka^{1,2}, *V.B. Katrii*², *B.V. Morgun*^{2,3}, *S.S. Polyshchuk*¹

¹Plant Breeding and Genetics Institute—National Center of Seed and Cultivars Investigation, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
3 Ovidiopolska Road, Odesa, 65036, Ukraine

²Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv 03022, Ukraine

³Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine

148 Akademika Zabolotnoho St., Kyiv, 03143, Ukraine

e-mail: molgen@icbge.org.ua

Hull-less barley cultivar with unique nutritional properties Himalaya 292 was developed by CSIRO (Australia) on the base of induced by sodium aside mutation in the *sex6* locus. The mutation contains a stop-codon appeared as G to A transition and suppresses activity of the SSIIa starch granules bound enzyme responsible for branching of glucose polymer in the starch structure. As a result, the content of a non-branching glucose polymer (amylose) in the starch composition substantially increased from normal 20–25 % to high — 70 %. The original hull-less barley cultivar Himalaya 292 was examined in PBGI–NCSCI under field conditions for several years. The cultivar appeared to be not adapted, particularly to arid growing conditions. The plants were weak with 1-2 containing with small shrunken grains. From the binary cross Himalaya 292 × Datcha (Austria) on the base of F_{4/5} genotypes the experimental breeding population was created, among which 200 best genotypes were selected and subjected to the *sex6* mutation detection by PCR coupled with restriction analysis and simultaneous grain amylose content examination. As the research performed, significantly high-amylose barley genotypes were selected for the further use in breeding program. The conclusion was made that the hull-less barley cultivar Himalaya 292 can be used exclusively as the genetic source of mutation in the *sex6* locus for breeding program of adaptive to drought high amylose hull-less barley varieties development.

Key words: hull-less barley, starch, amylose, mutation, locus *sex6*, starch synthase.