

УДК 633.11:577.21

МАРКЕРНИЙ АНАЛІЗ ГЕНІВ ПОЛІФЕНОЛОКСИДАЗИ (*PPO*) У СОРТАХ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ

А.І. СТЕПАНЕНКО¹, А.В. ТРОЯНОВСЬКА², Б.В. МОРГУН^{1,3}, Т.В. ЧУГУНКОВА³, Л.Г. ВЕЛИКОЖОН³, О.І. РИБАЛКА^{2,3}, С.С. ПОЛІЩУК²

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України

03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

e-mail: molgen@icbge.org.ua

²Селекційно-генетичний інститут—Національний центр насіннізнавства та сортовивчення Національної академії аграрних наук України
65036 Одеса, Овідіопольська дорога, 3

³Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

За допомогою мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій на основі STS-маркерів *PPO29* і *PPO33* проаналізовано алельні варіанти генів поліфенолоксидази (*PPO*), які пов'язані з потемнінням борошна пшениці. В більшості сортів ідентифіковано фрагменти 391 та 490 пар нуклеотидів, що зумовлюють високу активність ферменту і відповідають алелям *Ppo-A1a*, *Ppo-D1b*. Виявлено зразки з комплексом алелів низької активності поліфенолоксидази.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., поліфенолоксидаза, гени *PPO*, полімеразна ланцюгова реакція, молекулярні маркери.

Тісто, отримане з борошна біло- і червонозерних сортів пшениці, має різну здатність до потемніння. Ферментативне побуріння сировини в процесі технологічної переробки є небажаним явищем, яке може істотно впливати на товарний вигляд продуктів із зерна пшениці. Передусім це стосується таких продуктів, як локшина, різні сорти плоского білого хліба, млинці, вареники, макарони тощо. Особливо негативно потемніння впливає на якість продуктів із білозерних сортів пшениці, які, за визначенням, повинні мати високу білизну і відповідну споживчу вартість. Встановлено, що зміна забарвлення тіста має генетичну природу [18]. Тому спеціалісти провідних науково-дослідних центрів світу ведуть селекцію сортів м'якої і твердої пшениці з використанням джерел, у яких відсутня ознака потемніння тіста, а також ретельно контролюють її в процесі схрещувань.

Ключову роль у перебігу реакції потемніння відіграє фермент поліфенолоксидаза (ПФО, *PPO*; КФ 1.10.3.2 або КФ 1.14.18.1, відомий також як тирозиназа). Загалом це складний фізіолого-біохімічний процес, зумовлений активністю кількох ферментів, які каталізують окиснення киснем повітря амінокислоти тирозину з утворенням темнозабарвлених меланінів. ПФО виявляють у більшості як рослинних, так і тваринних тканин. В організмі тварин і людини вона бере участь в утворенні меланінів — пігментів шкіри, волосся, райдужної оболонки ока.

© А.І. СТЕПАНЕНКО, А.В. ТРОЯНОВСЬКА, Б.В. МОРГУН, Т.В. ЧУГУНКОВА, Л.Г. ВЕЛИКОЖОН, О.І. РИБАЛКА, С.С. ПОЛІЩУК, 2014

Потемніння зрізів картоплі, фруктів, грибів, та інших рослинних тканин переважно або й повністю залежить від її дії. ПФО окиснює дубильні речовини чайного листка, зумовлює колір житнього хліба, родзинок та ін. Зміна забарвлення причавлених фруктів та овочів на коричневе (зазвичай), червоне чи синє також є результатом дії цього ферменту. До 50 % втрат свіжих тропічних фруктів в усьому світі пов'язують з ним. Йдеться не лише про небажаний колір, а й про втрату поживних речовин, набуття побічного присмаку та загальне зниження якості плодів [18]. У харчовій промисловості його в основному вивчають з метою запобігання ферментативному потемнінню продуктів при виготовленні виробів з борошна з підвищеною активністю ПФО.

Відомо, що активність ПФО в сортах твердої пшениці нижча, ніж у сортах гексаплоїдної м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.). Вона зростає з дозрівання зерна і досягає максимуму в ендоспермі на 21—25-ту добу після запилення. В сухому зрілому зерні пшениці та борошні фермент знаходиться в неактивній формі [4, 5].

За синтез ферменту ПФО відповідають гени *PPO*, які представлені мультигенною родиною і розміщені в різних локусах [12]. У багатьох культур, зокрема картоплі, томату, цукрової тростини, квасолі, гени *PPO* вже клоновані й секвеновані [2, 5, 7]. Схарактеризовано також структуру генів ПФО у різних видів диплоїдної (*T. monococcum*, *T. urartu*, *Aegilops tauschii*, *Ae. speltoides*), тетраплоїдної (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides* і *durum*) та гексаплоїдної (*T. aestivum* Klasic ID377s) пшениці [3, 10].

У праці [17] вперше доведено, що підвищена активність алелів *PPO* пов'язана з хромосомами 2AL та 2DL. Низька активність цього ферменту залежить від генів, які локалізовані у хромосомах 2В, 3D, 6В [4, 6]. Результати сучасних досліджень підтвердили, що активність ПФО визначається в основному алелями *PPO* хромосом другої гомеологічної групи геномів пшениці А і D [4, 11, 15, 16].

Для визначення алельного складу генів, які кодують ПФО пшениці, ефективними виявились маркери STS (sequence tagged site). Так, із використанням двох кодомінантних функціональних STS-маркерів PPO18 [14] і PPO33 [8] та двох комплементарних домінантних STS-маркерів PPO16 і PPO29 [8] було протестовано 57 сортів пшениці з різних агрокліматичних зон Індії [12]. Маркери PPO18 та PPO33 ідентифікують фрагменти, які відповідають алелям *Ppo-A1a* та *Ppo-A1b* з високою й низькою активністю ферменту ПФО. В результаті використання маркера PPO16 при дослідженні 41 сорту виявлено фрагмент, що вказує на наявність алеля *Ppo-D1a*, який зумовлює низьку активність ПФО. У 16 із 41 проаналізованого генотипу таких продуктів ампліфікації не виявлено, що може свідчити про наявність у рослинному матеріалі алеля *Ppo-D1b*, який відповідає за високу активність ферменту. В тих же 16 генотипах за використання комплементарного STS-маркера PPO29 було ампліфіковано фрагмент, який відповідає алелю *Ppo-D1b*. Це доводить, що комплементарні домінантні STS-маркери досить ефективні для проведення маркер-супровідної селекції (MAS) пшениці, і можуть бути використані в селекційних програмах. Перспективним є створення сортів пшениці, геноми яких містять гени низької активності ферменту ПФО, адже при виготовленні виробів з борошна таких пшениць ризик потемніння буде значно меншим [3].

Слід зазначити, що сорти пшениці української селекції практично не досліджували у напрямі встановлення алельного складу генів *PPO*.

Разом з тим в Україні ініційовано селекційну програму зі створення сортів пшениці з низькою активністю ПФО. Для ефективної реалізації такого завдання актуальним є застосування сучасних методів MAS-селекції.

Метою наших досліджень була валідація STS-маркерів PPO29, PPO33 для виявлення алельного поліморфізму генів *Pro-A1* та *Pro-D1* у сортах, синтетичних лініях і амфідиплоїдах м'якої пшениці.

Методика

Матеріалом дослідження було зерно 143 сортів пшениці вітчизняної та зарубіжної селекції, 39 ліній білозерної озимої м'якої пшениці та 64 амфідиплоїди. Загальну ДНК виділяли зі шроту пришивдшеним модифікованим ЦТАБ-методом [13]. Алельний стан генів ПФО досліджували за допомогою мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій (ПЛР) із використанням STS-маркерів PPO29, PPO33 [8]. Для гена *Pro-A1* (маркер PPO33) застосовували праймери: (F) 5'-CCA GAT ACA CAA CTG CTG GC-3'; (R) 5'-TGA TCT TGA GGT TCT CGT CG-3', розмір очікуваних ампліконів — 391 і 582 пн, згідно з базою даних Генетичного банку (GenBank, The National Center for Biotechnology Information). Умови ампліфікації: первинна денатурація 94 °C 4 хв та 34 цикли: денатурація 94 °C 30 с, реасоціація 59 °C 30 с, елонгація 72 °C 1 хв, кінцева елонгація 72 °C 5 хв. Для визначення алельного стану гена *Pro-D1* (маркер PPO29) використовували праймери: (F) 5'-TGA AGC TGC CGG TCA TCT AC-3'; (R) 5'-AAG TTG CCC ATG TCC TCG CC-3', розмір очікуваного амплікона 490 пн. Програма мультиплексної низхідної (touch-down) ПЛР: первинна денатурація 94 °C 3 хв та 8 циклів: 94 °C 30 с, реасоціація 68 °C 30 с (з кожним циклом температуру знижували на 1 °C), елонгація 72 °C 1 хв та 25 циклів, кінцева елонгація 72 °C 5 хв. У роботі застосовували праймери до референтного гена пшениці *TaTM20* (934 пн) із послідовностями: (F) 5'-AAG GGT TGC TCC TCT TCG CGA TCT TG-3'; (R) 5'-GTA CAT GCC AGC ACC GTA TGG ATT G-3' [1, 9]. Продукти ампліфікації розділяли методом електрофорезу в 1,2 %-му агарозному гелі з додаванням бромистого етидію на основі 1 × SB електродного буфера.

Результати та обговорення

Для визначення алельного стану генів ПФО у сортах пшениці проводили їх тестування за допомогою STS-маркерів PPO33, PPO29. Як уже зазначалось, використання двох кодомінантних функціональних маркерів PPO18 та PPO33 [12] дає змогу виявити алелі, локалізовані на хромосомі 2A. PPO18 ідентифікує послідовності 685 та 876 пн, які відповідають алелям *Pro-A1a*, *Pro-A1b* з високою й низькою активністю ферменту. При проведенні ПЛР з маркером PPO33 очікували амплікони розміром 290 і 481 пн відповідно для алелів *Pro-A1a*, *Pro-A1b* [8, 12]. Однак ми спостерігали амплікони 391 та 582 пн, що підтверджено аналізом нуклеотидної послідовності гена *Pro-A1* з Генетичного банку.

Комплементарні домінантні маркери PPO16, PPO29 виявляють лише по одному фрагменту — 713 і 490 пн — на хромосомі 2D, які визначають алелі *Pro-D1a* з низькою активністю й *Pro-D1b* з високою активністю ПФО [12].

МАРКЕРНИЙ АНАЛІЗ ГЕНОВ ПОЛІФЕНОЛОКСИДАЗЫ (*PPO*)

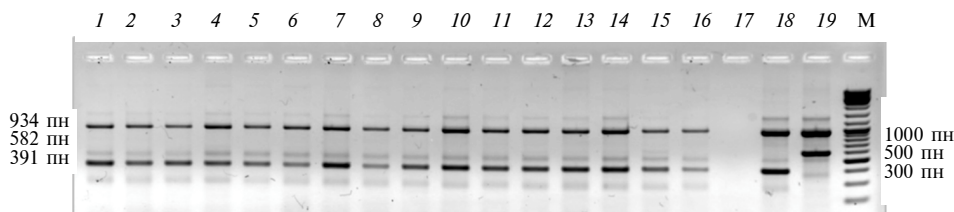


Рис. 1. Електрофореграма мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції до гена *Ppo-A1* та референтного гена пшениці *TaTM20* :

1, 2 — Золотоколоса; 3, 4 — Солоха; 5, 6 — Смуглянка; 7, 8 — Славна; 9, 10 — Чорнява; 11, 12 — Спасівка; 13, 14 — Сотниця; 15, 16 — Полянка; 17 — ТЕ буфер; 18 — позитивний контроль на алель *Ppo-A1a*, лінія 3118; 19 — позитивний контроль на алель *Ppo-A1b*, лінія 3162; М — тут і на рис. 2—4 маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

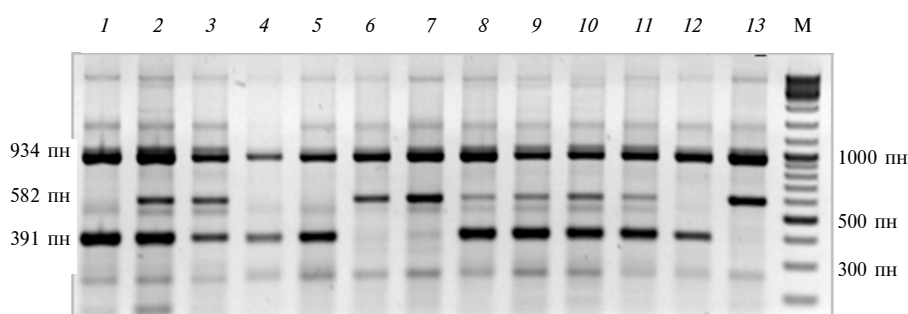


Рис. 2. Електрофореграма мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції до гена *Ppo-A1* та референтного гена пшениці *TaTM20* :

1 — Дворянка; 2, 3 — Древянка; 4, 5 — Скарбниця; 6, 7 — Єдність; 8, 9 — Добровичина; 10, 11 — Заграва; 12 — позитивний контроль на алель *Ppo-A1a*, лінія 3118; 13 — позитивний контроль на алель *Ppo-A1b*, лінія 3162

Результати аналізу ДНК досліджених сортів пшениці за допомогою STS-маркера PPO33 засвідчили, що вони є носіями алеля *Ppo-A1a*, який відповідає за високу активність ферменту ПФО. На всіх проаналізованих електрофореграмах були амплікони завдовжки 391 пн. Типову електрофореграму наведено на рис. 1.

Водночас у сортах Єдність (доріжки 6, 7, рис. 2) та Білява ідентифіковано алель *Ppo-A1b*, який зумовлює низьку активність ферменту ПФО.

Слід зазначити, що серед проаналізованого матеріалу (рис. 2, 3) траплялись сорти, зокрема Заграва, Гілея, Фаворитка та інші, в яких

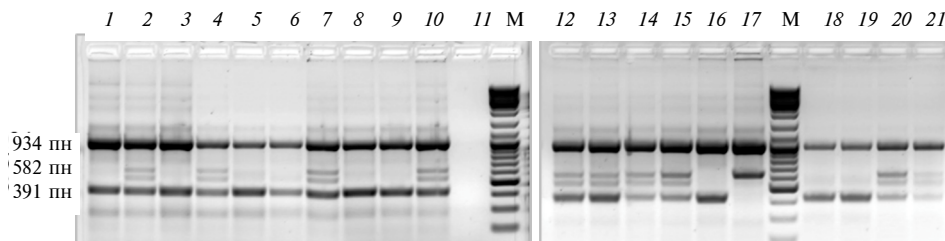


Рис. 3. Електрофореграма мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції до гена *Ppo-A1* та референтного гена пшениці *TaTM20* :

1 — Борія; 2 — Фаворитка; 3 — Княгиня Ольга; 4 — Заграва; 5, 6 — Солоха; 7, 8 — Донецька 46; 9, 10 — Херсонська 6/0; 11 — ТЕ буфер; 12, 13 — Антонівка; 14, 15 — Нігіт; 16 — позитивний контроль на алель *Ppo-A1a*, лінія 3118; 17 — позитивний контроль на алель *Ppo-A1b*, лінія 3162; 18, 19 — Миронівська 65; 20, 21 — Гілея

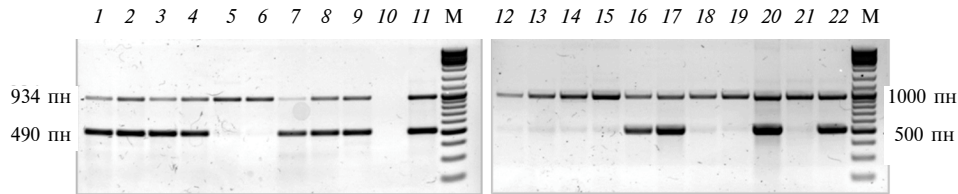


Рис. 4. Электрофореграма мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції до гена *Ppo-D1* та референтного гена пшениці *TaTM20* :

1, 2 — Золотоколоса; 3, 4 — Солоха; 5, 6 — Смуглянка; 7, 8 — Славна; 9 — Чорнява; 10 — ТЕ буфер; 11 — позитивний контроль на алель *Ppo-D1b*, сорт Антонівка; 12, 13 — Спасівка; 14, 15 — Сотниця; 16, 17 — Полянка; 18, 19 — Борія; 20, 22 — позитивний контроль на алель *Ppo-D1b*, сорт Антонівка; 21 — негативний контроль на алель *Ppo-D1b*, сорт Білява

крім амплікону 391 пн (гени високої активності ферменту) проявлявся також амплікон завдовжки 582 пн та нерозпізнаний амплікон близько 500 пн, що може свідчити про поліморфізм ДНК у цьому локусі й гетерогенність досліджуваного матеріалу.

Для ідентифікації алеля *Ppo-D1b*, пов'язаного з високою активністю ПФО, використовували STS-маркер PPO29, який виявляє один фрагмент завдовжки 490 пн. На рис. 4 наведено типову електрофореграму мультиплексної ПЛР до алелів гена, що кодують синтез ферменту ПФО в геномі D.

Загалом було показано, що хромосома 2 геному D більшості проаналізованих сортів містила алель *Ppo-D1b*, який визначає високу активність ПФО. Як зазначено у праці [12], де для аналізу генів *PPO* в геномі D було використано крім маркера PPO29 також комплементарний домінуючий маркер PPO16, за відсутності в сорті алеля *Ppo-D1b* у ньому має бути алель *Ppo-D1a*, який відповідає за низьку активність ферменту. Цей встановлений факт ми використали у своїй роботі. У таблиці наведено результати аналізу сортів за алельним станом генів *Ppo-A1*, *Ppo-D1*.

Аналіз сортів за наявністю алелів гена *PPO* у геномах A і D показав, що більшість із них несе алелі високої активності ПФО — до 98,6 % *Ppo-A1a* та до 66,4 % *Ppo-D1b*. Разом з тим два сорти з алелями низької активності ПФО в обох досліджених геномах можуть бути донорами у відповідних селекційних програмах.

Крім сортів ми проаналізували також лінії білозерної пшениці. Більшість із 39 зразків (32) містили алель *Ppo-A1a* (82,1 %). У геномах інших ліній було виявлено алелі низької активності ПФО — *Ppo-A1b* (17,9 %). Стосовно геному D фрагмент завдовжки 490 пн, який відповідає алелю *Ppo-D1b*, траплявся серед проаналізованого матеріалу з частотою в 46,6 %, тобто розподіл алелів високої і низької активності ПФО виявився приблизно однаковим. Результати маркерного аналізу свідчать про перспективність ліній білозерної пшениці для отримання селекційного матеріалу з низькою активністю ПФО.

Аналіз амфідиплоїдів показав наявність у 59 (92,2 %) із 64 проаналізованих зразків алеля *Ppo-A1a*. Серед них виявлено 5 зразків з ампліконами 582 та близько 500 пн, які ідентифікувалися також у деяких досліджених сортах пшениці.

Цікавий розподіл алелів гена поліфенолоксидази у геномі D. Серед усіх генотипів амфідиплоїдів лише один зразок був носієм алеля високої активності *Ppo-D1b*. Це означає, що решта зразків досліджених амфідиплоїдів містили алель *Ppo-D1a* низької активності ферменту.

МАРКЕРНИЙ АНАЛІЗ ГЕНОВ ПОЛІФЕНОЛОКСИДАЗИ (*PPO*)

Розподіл сортів пшениці за алельним станом генів, які визначають активність ферменту поліфенолоксидази

Генотип	Очікувана активність ПФО	Сорт
<i>Ppo-A1a</i> <i>Ppo-D1b</i>	Висока	Актер (Актеур), Альбатрос одеський, Безоста 1, Благодарка, Борвій, Бунчук, Ватажок, Вихованка, Вікторія, Гармонія, Дворянка, Доброслава, Доброчин, Донецька 46,* Досконала, Дюк, Епоха, Жайвір, Журавка, Задумка, Заможність, Запорука, Здобуток, Землячка, Зиск, Зміна, Знахідка, Золотоколоса, Зорепад, Кірія, Княгиня Ольга, Колега, Колумбія, Корелі, Косовиця, Красень, Куяльник, Лад, Лановий, Ластівка одеська, Лебідка, Литанівка, Лідер, Миронівська 61, Миронівська 65, Наталка, Небокрай, Нива одеська, Ніконія, Новокиївська, Новосмуглянка, Одеська 51, Писанка, Повага, Подяка, Поліська 90, Полянка, Польовик, Пошана, Селянка, Славна, Соломія, Солоха, Статна, Супутниця, Трипільська, Турунчук, Українка, Українська 246, Хист, Чорнява, Ятрань 60, Bankuti, Federer, Glenlea, Oslo
<i>Ppo-A1a/b**</i> , <i>Ppo-D1b</i>	Висока	Антонівка, Аранка, Володарка, Гілея, Гурт, Доброчинна, Донецька 46,* Древланка, Заграва, Зимоярка, Крижинка, Миронівська 808, Пивна, Торчинська, Трізо, Тюбальт, Фаворитка, Nirit
<i>Ppo-A1a/b**</i> , <i>Ppo-D1a</i>	Висока	Гренні, Миронівська 30, Панна, Херсонська б/о,* Хуторянка, Chinese spring, Norin 16
<i>Ppo-A1a</i> , <i>Ppo-D1a</i>	Висока	Білоцерківська н/к, Богдана, Борія, Годувальниця, Господиня, Грездівлиця, Дальницька, Донецька 48, Донська н/к, Звятига, Золото України, Істина, Київська остиста, Ласуня, Ліона, Ліра, Місія, Недра, Нива Київщини, Новосибірська 67, Одеська 265, Одеська 267, Отаман, Переяславка, Пилипівка, Подолянка, Скарбниця, Служниця, Смуглянка, Соната, Сонечко, Сотниця, Спасівка, Ужинок, Херсонська б/о*, Чорноброва, Шедрівка Київська, Bobwhite, Marquis, Norin 35
<i>Ppo-A1b</i> , <i>Ppo-D1a</i>	Низька	Білява, Єдність

*Для сортів Донецька 46 та Херсонська б/о спостерігали гетерогенність вихідного матеріалу.

**Генотипи з невизначеним ампліконом.

Отже, в результаті проведеного маркерного аналізу виявлено, що майже всі проаналізовані сорти пшениці у хромосомі 2 геному А містять алель *Ppo-A1a*, який визначає високу активність ферменту ПФО. Серед новоствореного селекційного матеріалу білозерної пшениці частота трапляння цього алеля становить 82,1 %. Частота алеля *Ppo-D1b*, який також визначає високу активність ПФО, для сортів становила 66,4 %, для ліній білозерної пшениці — 46,6 %, для амфідиплоїдів — лише 1,6 %, тобто у більшості створених амфідиплоїдів у геномі D переважають гени низької активності ПФО.

Ми довели, що використання молекулярно-генетичних маркерів може бути ефективним для аналізу геномів пшениці на наявність алелів, відповідальних за активність ПФО. Такий підхід є сучасним і перспективним для створення сортів пшениці з новими оригінальними ознаками.

1. Степаненко А.І., Моргун Б.В., Чугункова Т.В. та ін. Скринінг сортів озимої м'якої пшениці на наявність пшенично-житньої транслокації за ДНК-маркерами // Вісн. Укр.

- тов-ва генетиків і селекціонерів. — 2012. — **10**, № 2. — С. 311—318.
2. Anderson J.V., Fuerst E.P., Hurkman W.J. et al. Biochemical and genetic characterization of wheat (*Triticum* spp.) kernel polyphenol oxidases // J. Cereal Sci. — 2006. — **44**, N 3. — P. 353—367.
 3. Chang C., Zhang H.P., Xu J. et al. Variation in two PPO genes associated with polyphenol oxidase activity in seeds of common wheat // Euphytica. — 2007. — **154**. — P. 181—193.
 4. Demeke T., Morris C.F., Campbelle K.J. et al. Wheat polyphenol oxidase // Crop Sci. — 2001. — **41**, N 6. — P. 1750—1757.
 5. Demeke T., Morris C. Molecular characterization of wheat polyphenol oxidase (PPO) // Theor. Appl. Genet. — 2002. — **104**, N 5. — P. 813—818.
 6. Fuerst E.P., Xu S.S., Beecher B. Genetic characterization of kernel polyphenol oxidase in wheat and related species // J. Cereal Sci. — 2008. — **48**. — P. 359—368.
 7. He X.Y., He Z.H., Morris C.F., Xia X.C. Cloning and phylogenetic analysis of polyphenol oxidase genes in common wheat and related species // Genet. Res. Crop Evolution. — 2009. — **56**, N 3. — P. 311—321.
 8. He X.Y., He Z.H., Zhang L.P. et al. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the PPO genes in common wheat // Theor. Appl. Genet. — 2007. — **115**. — P. 47—58.
 9. Kim Y.Y., Kim D.Y., Donghwan Shim et al. Expression of the novel wheat gene TM20 confers enhanced cadmium tolerance to bakers' yeast // J. Biol. Chem. — 2008. — **283**, N 23. — P. 15893—15902.
 10. Massa A.N., Beecher B. Polyphenol oxidase (PPO) in wheat and wild relatives: molecular evidence for a multigene family // Theor. Appl. Genet. — 2007. — **114**. — P. 1239—1247.
 11. Raman R., Raman H., Martin P. Functional gene markers for polyphenol oxidase locus in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Mol. Breed. — 2007. — **19**, N 4. — P. 315—328.
 12. Singh R., Goutam U., Gupta R. et al. Allelic variations of functional markers for polyphenol oxidase (PPO) genes in Indian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // J. Genet. — 2009. — **88**, N 3. — P. 325—329.
 13. Stewart C.N., Via L.E. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications // Bio Techniques. — 1993. — **14**, N 5. — P. 748—749.
 14. Sun D.J., He Z.H., Xia X.C. et al. A novel STS marker for polyphenol oxidase activity in bread wheat // Mol. Breed. — 2005. — **16**, N 3. — P. 209—218.
 15. Sun Y., He Z., Ma W., Xia X. Alternative splicing in the coding region of Ppo-A1 directly influences the polyphenol oxidase activity in common wheat (*Triticum aestivum* L.) // Funct. Integr. Genomics. — 2011. — **11**, N 1. — P. 85—93.
 16. Vatanabe N., Takeuchi A., Nakayama A. Inheritance and chromosomal location of the homeologous genes affecting phenol color reaction of kernels in durum wheat // Euphytica. — 2004. — **139**. — P. 87—93.
 17. Wrigley C.W., McIntoch R.A. Genetic control of factors regulating of phenol reaction of wheat and rye grain // Wheat Inf. Serv. — 1975. — **40**. — P. 6—10.
 18. Chemical changes in food during processing / Ed. by Thomas Richardson, John W. Finley. — New York: AVI Book; Van Nostrand Reinhold Company, 1986. — 519 p.

Отримано 29.09.2014

МАРКЕРНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ (PPO) В СОРТАХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

А.И. Степаненко¹, А.В. Трояновская², Б.В. Моргун^{1,3}, Т.В. Чугункова³, Л.Г. Великожон³,
А.И. Рыбалка^{2,3}, С.С. Полищук²

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной академии наук Украины, Киев

²Селекционно-генетический институт—Национальный центр семеноведения и сортоизучения Национальной академии аграрных наук Украины, Одесса

³Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

С помощью мультиплексных полимеразных цепных реакций на основе STS-маркеров PPO29 и PPO33 проанализированы аллельные варианты генов полифенолоксидазы (PPO), связанные с потемнением муки пшеницы. У большинства сортов идентифицированы фрагменты 391 и 490 пар нуклеотидов, которые обуславливают высокую активность фермента и соответствуют аллелям *Ppo-A1a* и *Ppo-D1b*. Выявлены образцы с комплексом аллелей низкой активности полифенолоксидазы.

MARKER ANALYSIS OF POLYPHENOL OXIDASE GENES (*PPO*) IN BREAD WHEAT CULTIVARS

*A.I. Stepanenko*¹, *A.V. Troyanovska*², *B.V. Morgun*^{1,3}, *T.V. Chugunkova*³, *L.G. Velykozhon*³,
A.I. Rybalka^{2,3}, *S.S. Polischuk*²

¹Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine
148 Akademika Zabolotnoho St., Kyiv, 03143, Ukraine

²Plant Breeding and Genetics Institute—National Center of Seed and Cultivars Investigation,
National Academy of Agricultural Sciences of Ukraine

3 Ovidiopolska road, Odesa, 65036, Ukraine

³Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasytkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The allelic variation of polyphenol oxidase genes (*PPO*) associated with browning of wheat flour were defined using STS-markers PPO33 and PPO29. For most cultivars studied 391 bp and 490 bp fragments with high activity (*PPO-A1a* and *PPO-D1b*) were identified. The samples with complex of alleles determining low activity of polyphenol oxidase were revealed.

Key words: *Triticum aestivum* L., polyphenol oxidase, *PPO* genes, polymerase chain reaction, molecular markers.