

УДК 575.113.2:577.112.82

ГЕНЕТИЧНІ ТА СЕЛЕКЦІЙНІ КРИТЕРІЇ СТВОРЕННЯ СОРТІВ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР СПИРТО-ДИСТИЛЯТНОГО НАПРЯМУ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗЕРНА

О.І. РИБАЛКА^{1,2}, М.В. ЧЕРВОНІС¹, Б.В. МОРГУН², В.М. ПОЧИНОК², С.С. ПОЛЩУК¹

¹Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннізнавства 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

Досліджено 470 сортів і селекційних ліній зернових культур пшениці, тритикале, кукурудзи, сорго, проса, ячменю за ознакою ефективності трансформації крохмалю зерна в етанол. Найвищу ефективність трансформації спостерігали у зразків пшениці, кукурудзи, голозерного ячменю ваксі (гени *Wx*) та екстрам'якозерної пшениці (ген *Ha*). Запропоновано генетичні й селекційні критерії оцінки ферментабельності зерна при створенні сортів зернових культур спирто-дистилятного напрямку технологічного використання. Як найперспективнішу головну біоенергетичну культуру в Україні розглянуто тритикале.

Ключові слова: зернові культури, крохмаль, ферментабельність, етанол, гени *Wx*, *Ha*, критерії селекції.

Зернові культури (пшениця, кукурудза, тритикале, сорго, просо, ячмінь) широко використовуються у світі для виробництва спирту, алкогольних напоїв, а останнім часом деякі з них — для виробництва технічного біоетанолу як відновлюваного виду палива для двигунів внутрішнього згоряння. Основним продуктом зерна, що трансформується в ході послідовних ферментативних реакцій в етанол, є крохмаль. Тому від вмісту крохмалю в зерні та його хімічного складу залежить показник ефективності трансформації крохмалю в етанол (ферментабельність), вихід спирту (біоетанолу) з 1 т ферментованого зернового збіжжя, економічна ефективність переробки зерна на харчовий спирт чи технічний біоетанол. Крохмаль зерна більшості зернових культур зазвичай складається в середньому з 20—25 % амілози (лінійний полімер глюкози) і 70—75 % амілопектину (розгалужений полімер глюкози), має кілька показників фізичної та хімічної якості, що характеризують його ферментабельність: співвідношення амілоза/амілопектин, кристалічна структура, форма і фізичний розмір крохмальних гранул, співвідношення різних типів крохмальних гранул (гранулометрія), фізична стійкість крохмальних гранул до механічної дії агрегатів млина під час помелу зерна тощо. Все це загалом визначає швидкість і повноту гідролітичної трансформації крохмалю в етанол, тому крохмаль зернових культур у термінах ферментабельності поділяється на дві основні фракції, одна з яких легко ферментується, інша — стійка до амілолітичних ферментів, практично не ферментується і не трансформується в етанол. Стійкі крохмальні гранули відрізняються

від звичайних наявністю кристалічної структури, значно менш піддатливої дії кислот чи ферментативного гідролізу за участю амілаз. Виділяють іше фізично блокований крохмаль, що міститься у зерновій масі, яка блокує або затримує його взаємодію з ферментами.

Отже, ферментабельність зерна — доволі складна ознака, що залежить як від умов вирощування зернової культури (вміст крохмалю), так і від впливу генетичних чинників, що контролюють ферментативні процеси біосинтезу крохмалю та його складових. Серед генетичних чинників, які легко ідентифікуються і чинять найбільший вплив на хімічну структуру, фізичні властивості крохмалю і крохмальних гранул, вирізняють систему генів ваксі, що блокують біосинтез амілози, і генів, які впливають на консистенцію ендосперму зернівки, її твердість [7, 8].

Сказане означає, що висока ферментабельність зерна не може бути результатом випадкового збігу неконтрольованих чинників. Ця ознака може створюватись у процесі цілеспрямованого комбінування чинників позитивного впливу на ферментабельність, цілеспрямованої селекції генотипів з високою ферментабельністю зерна і створення на цій основі спеціальних сортів (гібридів) спирто-дистилятного напрямку технологічного використання.

Перелічені зернові культури і генетичні системи, що впливають на ферментабельність крохмалю, ґрунтовно досліджені нами протягом останніх шести років (з 2006). Основним завданням було встановлення генетичних і селекційних критеріїв та закономірностей створення сортів (гібридів) зернових культур спеціального спирто-дистилятного напрямку технологічного використання зерна. Результати виконаної роботи наведено у цій статті.

Методика

Досліджували зерно районуваних сортів, селекційних ліній і колекційних зразків пшениці, озимого та ярого тритикале, ячменю, проса, гібридів кукурудзи СГІ, Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва, Інституту землеробства НААН України. Генетичний і селекційний матеріал пшениці, тритикале, голозерного ячменю був створений у відділі генетичних основ селекції на основі схрещування з генетичними лініями і сортами, отриманими з Канади (проф. Б. Росснагель, СДС, Саскачеван, Канада) і США (проф. Р. Грейбош, Університет Небраски, США).

Вміст крохмалю визначали за ГОСТ 10845—98, вміст білка — за міжнародним стандартом ISO 1871. Зразки зерна піддавали ферментації згідно з галузевим стандартом ТУ 46.045—2003. Процедури ферментації та дистиляції виконували з використанням сконструйованого у відділі генетичних основ селекції СГІ лабораторного реактора-ферментатора й лабораторної дистиляційної установки. Концентрацію етанолу після ферментації визначали за допомогою високоточних пікнометрів і спеціальних розрахункових таблиць. Емісію вуглекислого газу під час ферментації обчислювали за редукцією маси реакційної суміші до і після ферментації.

Загалом протягом останніх шести років за ознакою ферментабельності ми дослідили близько 470 зразків зернових культур, із них 180 зразків (гібридів) кукурудзи, 100 зразків (сортів і ліній) озимої пшениці, 120 зразків (сортів і ліній) тритикале, 40 зразків (сортів і ліній) ячменю, 30 зразків сорго. Серед зразків озимої пшениці, кукурудзи та ячменю були представлені генотипи ваксі з генетично зміненим складом крохмалю.

Результати та обговорення

Крохмаль зерна — основний продукт, який під дією гідролітичних ферментів трансформується в етанол. За середнім умістом крохмалю основні досліджувані зернові культури мали показники, наведені в табл. 1.

Найвищий вміст крохмалю був у зерні кукурудзи і сорго. Однак деякі сорти пшениці й озимого тритикале за цим показником не поступались або поступались неістотно культурам-лідерам. Цілком очевидно, що чим вищий вміст крохмалю в зерні, тим вищим має бути вихід етанолу з 1 т зерна. Така залежність справді існує. Вірогідна позитивна кореляція між вмістом крохмалю в зерні пшениці і виходом етанолу з 1 т збіжжя в різних наших дослідах за кілька років спостережень у середньому становила $r = 0,56$. Для кукурудзи така залежність знаходилась на рівні $r = 0,36...0,87$, для тритикале — $r = 0,62...0,75$, для ячменю — $r = 0,60$.

У досліджених сортів пшениці, озимого тритикале і гібридів кукурудзи виявлено найвищі показники виходу етанолу з 1 т сухого збіжжя. Однак слід зазначити, що вихід етанолу з деяких сортів озимої пшениці був більшим, ніж з окремих гібридів кукурудзи, а деякі сорти пшениці за виходом етанолу поступалися сортам тритикале.

Сорти пшениці й озимого тритикале в середньому поступаються гібридам кукурудзи за показником виходу етанолу з 1 т сухого збіжжя (рис. 1).

ТАБЛИЦЯ 1. Середній вміст крохмалю в зерні у перерахунку на суху речовину

Культура	Середній вміст крохмалю, %	Коливання за вмістом крохмалю, %
Кукурудза	73,1	68,4—76,5
Озима пшениця	70,2	67,4—73,0
Озиме тритикале	68,6	64,9—73,6
Яре тритикале	64,9	61,4—67,7
Сорго	71,4	68,7—75,5
Просо	63,1	58,0—67,6
Ячмінь	62,2	57,5—67,0
НІР _{0,05}	1,8	
НІР _{0,01}	2,4	

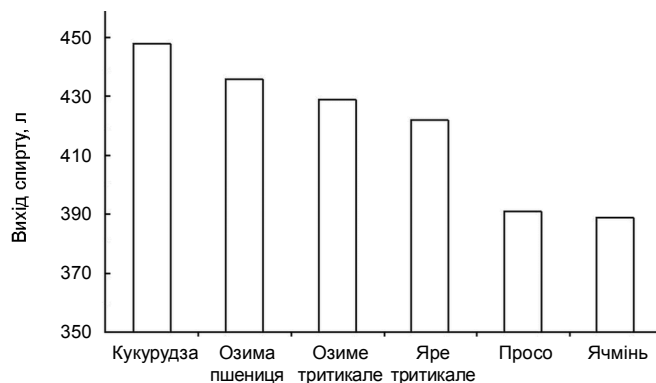


Рис. 1. Середній вихід 100 %-го етанолу з 1 т зерна різних зернових культур

Разом з тим у дослідах ми спостерігали, що зразки зерна однієї й тієї самої культури або різних культур за однакового вмісту крохмалю в зерні давали різний вихід етанолу. Більше того, вміст крохмалю в зерні, що залишався негідролізованим після ферментації, в різних зразків і різних культур також був доволі різним (рис. 2).

Це означає, що вихід етанолу залежить не лише від кількісного вмісту крохмалю в зерні, а й від інших чинників, що формують якісну характеристику крохмалю за його ферментабельністю. Щоб урахувати загальний вплив цих чинників на ферментабельність крохмалю, треба скористатись іншим критерієм, ніж вихід етанолу з 1 т збіжжя, а саме — виходом етанолу з 1 т крохмалю.

Чинниками впливу на ферментабельність крохмалю, як уже зазначалось, можуть бути: а) хімічний склад крохмалю (співвідношення амілоза/амілопектин); б) гранулометрія крохмалю (лінійний розмір крохмальних гранул і співвідношення гранул за розмірами); в) характер упаковки високополімерних молекул крохмалю в крохмальній гранулі [2, 4]. І що особливо важливо для селекції сортів зернових культур з високою ферментабельністю — це знати ступінь генетичної детермінації зазначених вище чинників якісного впливу на ферментабельність крохмалю.

Першими виявленими нами важливими генетичними чинниками позитивного впливу на ферментабельність крохмалю були гени *Wx* (ваксі) та *Ha* (hardness — твердість) у пшениці. Гени *Wx* (їх рецесивні алелі) блокують біосинтез ключового ферменту GBSS, що бере участь у біосинтезі амілози крохмалю. В результаті в крохмалі пшениці ваксі практично нульовий вміст амілози, а крохмальна гранула містить лише амیلпектин, який краще за амілозу гідролізується аміллітичними ферментами. До того ж крохмальні гранули з амیلпектину фізично нестійкі до механічної дії при помелі зерна, тому вони легко руйнуються і тим самим істотно збільшується загальна поверхня крохмальних гранул, що атакується амілазами [3, 5]. Наслідком цього є вищі швидкість і повнота аміллітичного гідролізу крохмалю.

Одним із видимих ефектів гена *Ha* (домінантний алель) на гранулометрію в ендоспермі пшениці є підвищений вміст дрібних крохмальних гранул (тип *D* за розміром у межах 2 мкм), що призводить до збільшення загальної фізичної поверхні крохмальних гранул. У результаті швидкість і повнота аміллітичного гідролізу крохмалю з високим вмістом

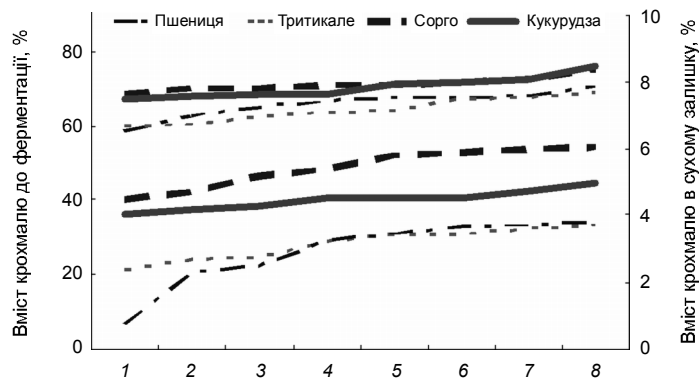


Рис. 2. Вміст крохмалю в зерні до ферментації і в сухому залишку після ферментації у восьми різних сортів (гібридів) сільськогосподарських культур

дрібних крохмальних гранул аналогічно як і за дії генів *Wx* також зростають.

На рис. 3 наведено результати визначення вмісту залишкового (негідролізованого) крохмалю після ферментативного гідролізу і дистиляції восьми зразків пшениці і тритикале сорту Богдан. Найнижчий вміст залишкового крохмалю в сухому забродженому залишку виявлено в екстрам'якозерної пшениці сорту Оксана (містить ген *Ha*), пшениці ваксі (Ваксі 5) і тритикале Богдан. У сортів хлібопекарської пшениці цей показник досягав 4 %. У перерахунку на 1 т крохмалю в зерні зразки з низьким вмістом залишкового крохмалю в сухому забродженому залишку давали вищий вихід етанолу (рис. 4). Винятком був лише сорт хлібопекарської пшениці Вікторія, який, між іншим, у досліді компанії Malteurop Ukraine серед досліджуваних сортів української селекції виявив найліпші пивоварні властивості. Це означає, що сорт Вікторія, очевидно, містить ще якийсь невідомий чинник впливу на ферментабельність крохмалю і потребує детальнішого вивчення. Найвищими показниками щодо ферментабельності крохмалю характеризувався зразок пшениці Ваксі 5.

Для коректнішого досліді з порівняння ферментабельності крохмалю з різних культур добирали зразки зерна зі вмістом крохмалю у вузькому інтервалі 67–70 %. За виходом етанолу пшениця ваксі вірогідно перевищувала всі зернові культури, що вивчалися в досліді (табл. 2). 3

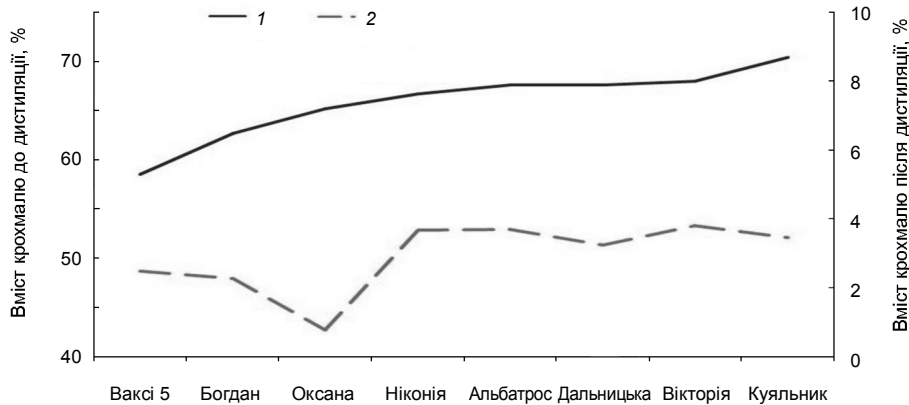


Рис. 3. Вміст крохмалю в зерновій масі різних сортів пшениці і тритикале до (1) і після (2) ферментації та дистиляції

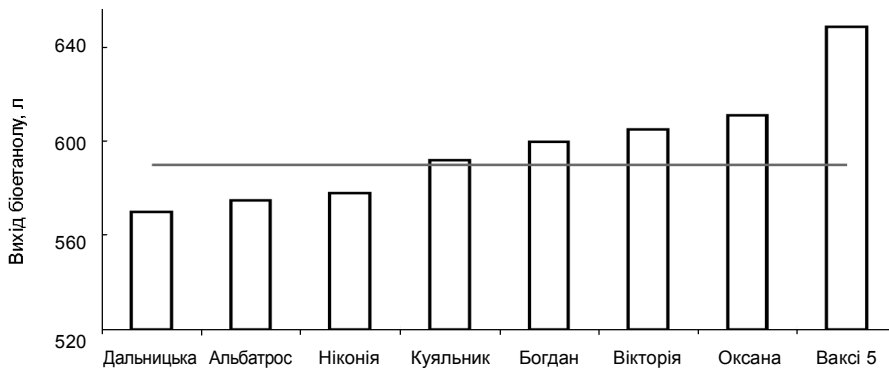


Рис. 4. Вихід етанолу (л/т крохмалю) з різних сортів і генетичних ліній пшениці та тритикале (горизонтальна лінія — середнє значення за виходом етанолу)

цих та інших дослідів можна зробити висновок, що якнайменше два генетичні чинники, а саме гени *Wx* і *Ha*, безпосередньо пов'язані з ознакою ферментабельності крохмалю. У зв'язку з цим цікаво було поєднати в одному генотипі обидва чинники. В результаті схрещувань і цілеспрямованих доборів ми отримали селекційні зразки пшениці, в яких в одному генотипі сумішались гени *Wx* і *Ha*. Отримані селекційні зразки мали екстрем'яку консистенцію ендосперму і високу амілолітичну активність («число падіння» 67–85 с), що свідчило про їх належність до типу ваксі. Хоча деякі з цих зразків були ще гетерогенними за генами *Wx* (гомогенний генотип — потрійний рецесив *wxwx, wxwx, wxwx*), ми їх попередньо випробували за ферментабельністю крохмалю (рис. 5).

Із рис. 5 видно, що зразки пшениці, в яких суміщені гени *Wx* і *Ha* (за винятком гетерогенних), істотно перевищують сорт-стандарт за виходом етанолу з 1 т крохмалю. Особливо слід виділити селекційні лінії пшениці ваксі № 8421 і № 8423, вихід спирту з 1 т крохмалю яких на 50 л вищий, ніж із сорту-стандарту. Важливо зазначити, що досліджувані

ТАБЛИЦЯ 2. Середній вихід етанолу з 1 т крохмалю з різних культур (вміст крохмалю в зерні 67–70 %)

Культура	Вихід етанолу з 1 т крохмалю, л	± до пшениці ваксі
Озима пшениця ваксі	569,2	—
Озима пшениця	551,3	–17,9*
Кукурудза	564,7	–4,5
Озиме тритикале	537,4	–31,8**
Яре тритикале	552,1	–17,2**
Просо	544,8	–24,4**
Ячмінь	520,0	–49,2**
НІР _{0,05}	9,0	
НІР _{0,01}	12,1	

Тут і в табл. 6–11: *Різниця вірогідна за рівня значущості $P \leq 0,05$; **різниця вірогідна за рівня значущості $P \leq 0,01$.

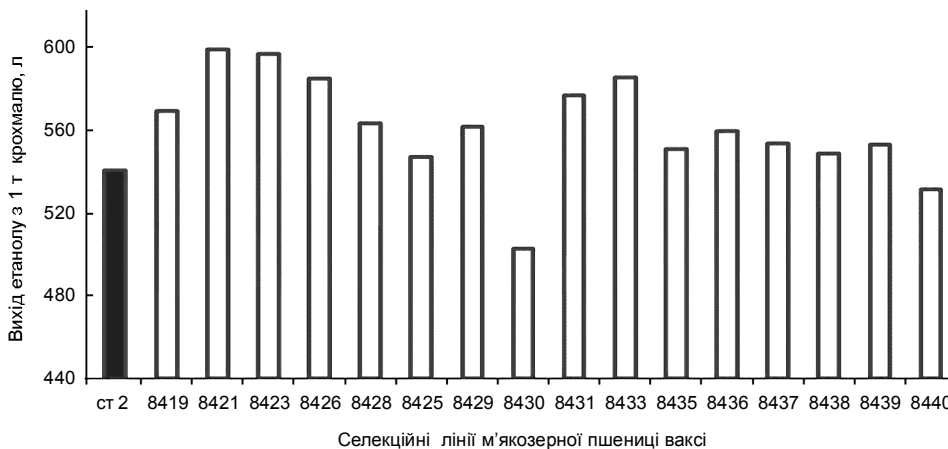


Рис. 5. Вихід етанолу з 1 т крохмалю зерна селекційних зразків із суміщеними генами *Wx*, *Ha* (ст 2 — стандарт, сорт хлібопекарської пшениці Куяльник)

зразки екстрам'якозерної пшениці ваксі добирали для досліду з майже однаковим вмістом крохмалю в зерні. Крім того, практично всі гомогенні за генами *wxwx, wxwx, wxwx + Ha* зразки містили в сухому забродженому залишку лише 2—3 % негідролізованого крохмалю, тоді як у сорту-стандарту цей показник перевищував 4 %.

Отже, результати виконаних досліджень дають підставу вважати, що основним показником ефективності трансформації крохмалю в біоетанол є вихід спирту з 1 т крохмалю. Ця ознака має чітку генетичну детермінацію і вона прямо пов'язана з такими характеристиками крохмалю, як співвідношення його основних складників (амілопектин, амілоза), гранулометрична структура крохмалю або співвідношення різних за лінійними розмірами типів крохмальних гранул А і В.

Як уже зазначалось, гранулометричний склад крохмалю безпосередньо стосується ознаки ферментабельності крохмалю, оскільки площа загальної активної поверхні крохмальних гранул, що контактує з амілазами у процесі ферментації, обернено залежить від їх діаметра: що менший діаметр крохмальної гранули, то більша площа активної поверхні зразка. У зв'язку з цим ми визначали лінійні розміри крохмальних гранул у досліджуваних зернових культур (рис. 6, табл. 3).

У пшениці, ячменю і тритикале крохмальні гранули дуже подібні як за розміром, так і за формою, їх середній розмір від 24 до 27 мкм. Гранули крохмалю проса подібні до гранул крохмалю кукурудзи, тільки гранули крохмалю проса менші (в середньому близько 9 мкм в діаметрі). В екстрам'якозерних зразках пшениці велика частка дрібних крохмальних гранул, тоді як у сортів хлібопекарської пшениці, навпаки, підвищена частка крупних крохмальних гранул.

Іншим не менш важливим для ферментабельності крохмалю чинником, від якого залежать фізико-хімічні властивості крохмалю зернових культур, є співвідношення його двох складових: амілози та амілопектину (табл. 4).

Співвідношення амілоза/амілопектин у крохмалі певною мірою визначає його технологічні властивості. Під час помелу зерна з низьким

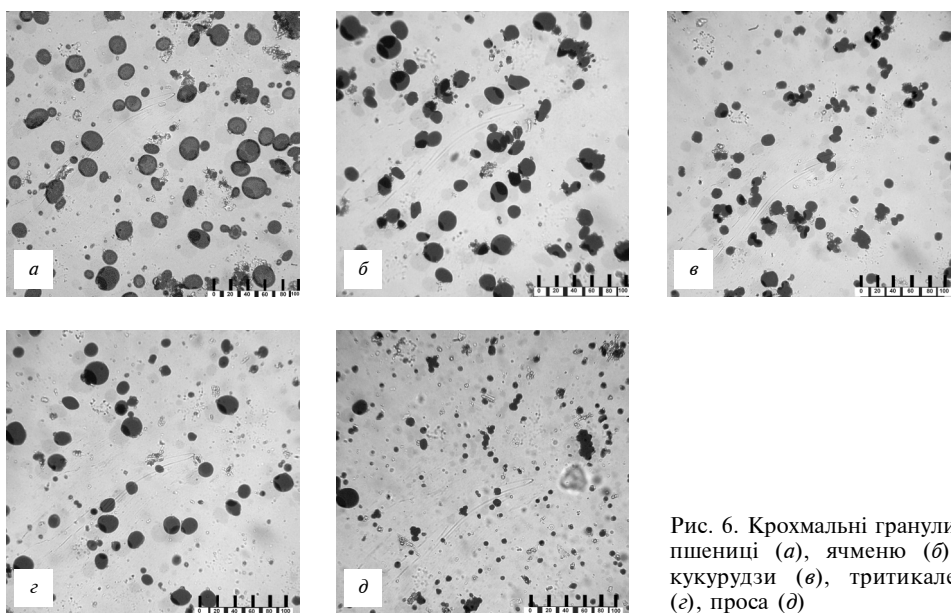


Рис. 6. Крохмальні гранули пшениці (а), ячменю (б), кукурудзи (в), тритикале (г), проса (д)

ТАБЛИЦЯ 3. Середній розмір крохмальних гранул зернових культур

Культура	Середній розмір гранул, мкм	Мінімальне та максимальне значення, мкм
Пшениця	27	20—35
Ячмінь	23	20—25
Кукурудза	13	10—15
Тритикале	24	20—28
Просо	9	3—14
НІР _{0,05}	3,8	
НІР _{0,01}	5,9	

ТАБЛИЦЯ 4. Вміст амілози в крохмалі зернових культур

Культура	Вміст амілози в крохмалі, %	Мінімальне та максимальне значення, %
Пшениця	21,6	18,2—25,0
Ячмінь	23,2	18,3—28,0
Кукурудза	24,4	23,7—25,0
Тритикале	24,4	22,8—26,0
Просо	18,7	17,0—20,4
НІР _{0,05}	2,2	
НІР _{0,01}	3,3	

вмістом амілози відсоток зруйнованих крохмальних гранул значно вищий, ніж у зерна з високим вмістом амілози, що, як зазначалось, збільшує площу активної поверхні крохмалю. Пшениця ваксі має нульовий вміст амілози в крохмалі. Крохмаль пшениці ваксі на 100 % складається з амілопектину і краще за звичайний гідролізується й трансформується в етанол, тому ці два чинники (підвищена здатність амілопектину до амілолітичного гідролізу та руйнування амілопектинових гранул під час помелу зерна) створюють максимально сприятливі умови для високої ферментабельності крохмалю пшениці ваксі. З цих причин зразки пшениці ваксі порівняно зі звичайними сортами пшениці забезпечують значно вищий вихід етанолу з 1 т крохмалю (див. табл. 2, рис. 5).

Якщо пшениця ваксі порівняно зі звичайною пшеницею справді має переваги за ознакою ферментабельності, то цей висновок може бути підтверджений і на інших зернових культурах, які мають ознаку ваксі і відповідний склад крохмалю з нульовим вмістом амілози. В наступних дослідах ми вивчали ферментабельність крохмалю у ліній кукурудзи ваксі та голозерного ячменю ваксі. Лінії кукурудзи ваксі нам надав відділ селекції та насінництва кукурудзи СГІ (А.О. Білоусов), лінії голозерного ячменю ваксі ми отримали від схрещувань сортів голозерного ячменю ваксі Alamo і Candle селекції СДС (Саскачеван, Канада; проф. Б. Роснагель) із сортами плівчастого ячменю селекції СГІ.

Зразки як пшениці, так і кукурудзи ваксі за ознакою ферментабельності крохмалю істотно переважали зразки з традиційним складом крохмалю (20—25 % амілози і 75—80 % амілопектину) в межах 35—40 л етанолу на 1 т крохмалю.

Цікаві результати дослідження ферментабельності крохмалю ми отримали на культурі ячменю. Ячмінь, як відомо, є цінною сировиною для виробництва алкогольних напоїв типу віскі, тому поліпшення ферментабельності його зерна має важливе економічне значення при виробництві алкогольних напоїв із ячмінного збіжжя [6].

Ми порівняли за ознакою ферментабельності отримані нами в програмі схрещувань лінії плівчастого і голозерного ячменю. Відмінність між цими двома сортотипами полягає лише у наявності/відсутності зернової плівки, що контролюється геном *Nud* (плівчастий) / *nud* (голозерний), розмішеним на хромосомі 1(7Н). Плівка щільно окутує зернівку плівчастого ячменю і формується на ній вже на 16-ту добу після запліднення.

З порівняння хімічного складу зерна плівчастого і голозерного ячменю помітна перевага голозерного ячменю за вмістом крохмалю (табл. 5) [9].

Істотні відмінності також за вмістом клітковини, значну частину якої у плівчастого ячменю становить плівка, утворена з целюлози, лігніну і кремнію. За рештою складників зерно ячменю плівчастого й голозерного практично не відрізняється.

Оскільки основним інгредієнтом сировини, призначеної для виробництва етанолу, є крохмаль, то отримані нами селекційні лінії, серед яких представлені також лінії ваксі, ми дослідили на вміст крохмалю (табл. 6).

Як і очікувалось, найвищий вміст крохмалю в ліній голозерного ячменю — в середньому 64,4 %, що на 3 % перевищує середнє значення у

ТАБЛИЦЯ 5. Хімічний склад зерна сортотипів плівчастого і голозерного ячменю

Компонент зерна ячменю	Плівчастий ячмінь		Голозерний ячмінь	
	середній вміст, %	мінімальне та максимальне значення, %	середній вміст, %	мінімальне та максимальне значення, %
Білок (N × 6,25)	13,7	12,5—15,4	14,1	12,1—16,6
Крохмаль	58,2	57,1— 59,5	63,4	60,5—65,2
Цукри	3,0	2,8—3,33	2,9	2,0—4,2
Ліпіди	2,2	1,9—2,4	3,1	2,7—3,9
Клітковина	20,2	18,8—22,6	13,8	12,6—15,6
Зола	2,7	2,3—3,0	2,8	2,3—3,5

ТАБЛИЦЯ 6. Вміст крохмалю в зерні ячменю у перерахунку на суху речовину

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Вміст крохмалю, %	
		у середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	61,4	—
Голозерний	9	64,4	+3,0**
Голозерний ваксі	6	63,0	+1,6*
НІР _{0,05}		1,6	
НІР _{0,01}		2,0	

плівчастого ячменю. Дещо менша перевага за цим показником у голозерного ячменю ваксі, проте вірогідна на 0,05 рівні значущості. За вмістом білка вірогідна різниця між плівчастим і голозерним типами ячменю на користь останнього (табл. 7).

Вміст білка в зерні — важливий показник зернової сировини для виробництва спирту, оскільки, по-перше, існує чітка обернена залежність цього показника від вмісту крохмалю і, по-друге, вміст білка у сухому залишку, що утворюється після ферментації зерна і дистиляції, характеризує кормову цінність останнього. Добір кращих зразків у селекційних популяціях на високий вміст крохмалю ймовірно призводитиме до зниження вмісту білка в зерні (рис. 7).

Крім крохмалю зерно ячменю містить доволі велику частку некрохмалистих полісахаридів β-глюканів, які практично не ферментувались і не гідролізувались амілазами за умов лабораторної процедури наших дослідів. У зерні ячменю, що використовується у виробництві етанолу, важливо знати вміст β-глюканів для інтерпретації результатів дослідження ферментабельності.

Вміст β-глюканів у зерні зразків ячменю визначали за допомогою NIR-аналізатора «SpectraAnalyzer» в ближньому інфрачервоному світлі (табл. 8). Досліджувані зразки ячменю істотно відрізнялись за вмістом β-глюканів. Максимальні значення зафіксовано серед ліній голозерного ячменю ваксі (7,0—8,3 %, в середньому — 7,31 %), що більше ніж на 3 % порівняно з генотипами плівчастого ячменю. Водночас селекційні лінії голозерного ячменю переважали за цим показником зразки плівчастого ячменю трохи менше, ніж на 1 %. Очевидно, що підвищений вміст у зерні β-глюканів та ознака ваксі пов'язані між собою. Це пояснюється

ТАБЛИЦЯ 7. Вміст білка в зерні ячменю у перерахунку на суху речовину

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Вміст білка, %	
		в середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	11,8	—
Голозерний	9	13,1	+1,3**
Голозерний ваксі	6	12,5	+0,7*
НІР _{0,05}		0,7	
НІР _{0,01}		1,0	

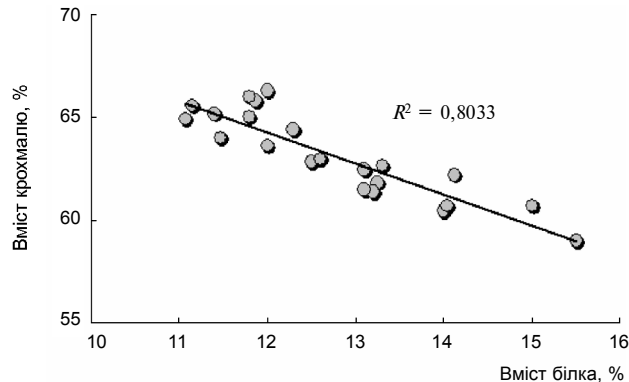


Рис. 7. Залежність показників вміст білка — вміст крохмалю в зерні ячменю

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ КРИТЕРИИ СОЗДАНИЯ СОРТОВ

ТАБЛИЦЯ 8. Вміст β-глюканів у зерні ячменю

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Вміст β-глюканів, %	
		у середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	4,28	—
Голозерний	9	5,21	0,93*
Голозерний ваксі	6	7,31	3,03**
НІР _{0,05}		0,8	
НІР _{0,01}		1,1	

тим, що у ячменів ваксі процес трансформації глюкози в крохмаль частково генетично заблокований і метаболізм за участю глюкози більшою мірою спрямований на біосинтез β-глюканів.

Отже, підвищений вміст крохмалю в генетичних ліній голозерного ячменю зі звичайним і мінімальним вмістом амілози порівняно з плівчастим ячменем робить його привабливим, відкриває перспективи в якості сировини для виробництва харчового спирту або біоетанолу. Проте постає запитання стосовно впливу високого вмісту β-глюканів у селекційних ліній голозерного ячменю ваксі на вихід біоетанолу, адже відомо, що вони підвищують в'язкість розчину, ускладнюють процес ферментації.

Ми дослідили ефективність біохімічної трансформації крохмалю зерна в спирт у селекційних ліній голозерного і плівчастого ячменю. За критерій для порівняння зразків ячменю за ознакою ферментабельності зерна взято вихід етанолу з 1 т зерна (табл. 9).

За виходом етанолу з 1 т зерна лінії голозерного ячменю на 28 л переважали зразки плівчастого ячменю. Очевидно, причиною цього є більший вміст у голозерному ячмені крохмалю, який в окремих ліній сягав 8 %. А перевага зразків голозерного ячменю ваксі над зразками плівчастого становила 49 л (!) з 1 т збіжжя. До того ж помітна різниця у виході етанолу й між селекційними лініями голозерного ячменю з нормальним і блокованим синтезом амілози, що становила в середньому 21 л/т (рис. 8).

Відмінність між досліджуваними селекційними лініями голозерного ячменю полягає перш за все у фізико-хімічних властивостях крохмалю. В генотипах ячменю ваксі аномальний його склад: нульовий вміст амілози. Очевидно, що як і у пшениць типу ваксі (і кукурудзи ваксі) крохмальні гранули ячменю ваксі нестійкі до механічної дії під час помелу зерна і, як наслідок, значна їх частина руйнується. Це приводить до збільшення загальної активної фізичної поверхні крохмалю та його

ТАБЛИЦЯ 9. Середній вихід 100 %-го етанолу

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Вихід етанолу, л /т зерна	
		у середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	339	—
Голозерний	9	367	28**
Голозерний ваксі	6	388	49**
НІР _{0,05}		13,3	
НІР _{0,01}		17,7	

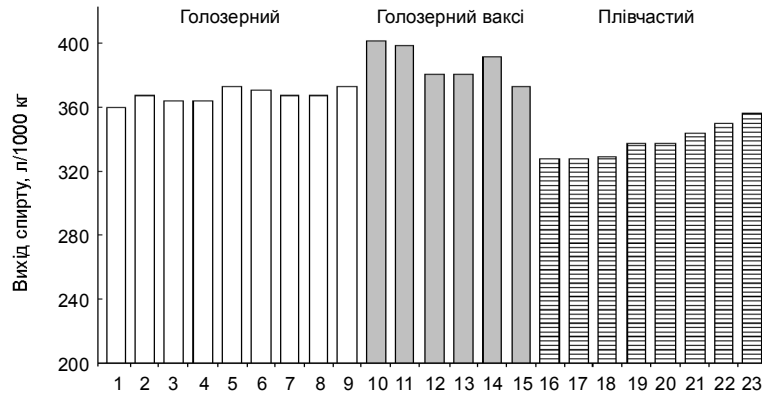


Рис. 8. Вихід етанолу в селекційних ліній (1–23) голозерного і плівчастого ячменю

ефективнішої ферментації. Крім того, крохмаль амілопектинового типу краще ферментується (табл. 10). Так, вміст крохмалю у сухому залишку після ферментації та дистиляції у генотипів ячменю ваксі мінімальний — 1,1 %, що на 0,6 % менше, ніж у генотипів плівчастого ячменю. Це і є підтвердженням того, що крохмаль з мінімальним вмістом амілози ефективніше трансформується у спирт.

Важливим за господарським значенням продуктом переробки зерна на спирт є сухий заброджений залишок (англ. DDGS — dry distilled grain soluble), що залишається після дистиляції зернового збіжжя. Це органічна маса, що відбула декілька стадій температурної обробки, фази ферментації, дріжджового бродіння, дистиляції та висушування. Має високу кормову цінність, оскільки містить легкоперетравлюваний білок, рештки крохмалю, бактеріальні білки.

Як і очікувалось, мінімальний вміст білка виявлено у генотипів плівчастого ячменю, адже значну частку маси його зернівки становить неперетравлювана клітковина, яка переважно складається з плівки (табл. 11). Перевага зразків голозерного ячменю з нормальним і модифікованим крохмалем над плівчастим за вмістом білка в DDGS досить істотна і становить 10,5 та 11,4 %, що вірогідно на 0,05 і 0,01 рівнях значущості.

Подібну картину за вмістом білка у масі DDGS після ферментації і дистиляції ферментованої зернової маси ми спостерігали і в інших зернових культур (рис. 9). Найвищий вміст білка в сухому забродженому залишку зафіксовано у зразках сорго (37–46 %). Для зерна кукурудзи, пшениці та тритикале ці показники коливались у межах 27–40 %. За даними

ТАБЛИЦЯ 10. Вміст крохмалю в сухому залишку після ферментації та дистиляції зерна ячменю

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Вміст крохмалю, %	
		у середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	1,7	—
Голозерний	9	2,4	0,7**
Голозерний ваксі	6	1,1	–0,6**
НІР _{0,05}		0,4	
НІР _{0,01}		0,5	

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ КРИТЕРИИ СОЗДАНИЯ СОРТОВ

ТАБЛИЦЯ 11. Вміст білка в сухому залишку після ферментації та дистиляції зерна ячменю

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Вміст білка, %	
		у середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	31,5	—
Голозерний	9	41,0	10,5**
Голозерний ваксі	6	42,9	11,4**
НІР _{0,05}		3,8	
НІР _{0,01}		5,1	

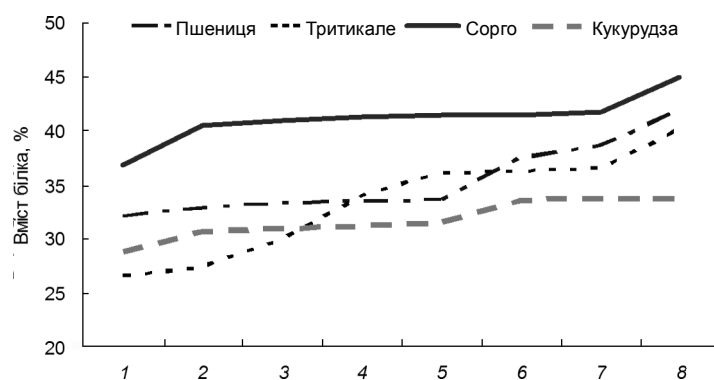


Рис. 9. Вміст білка в сухому забродженому залишку восьми довільно взятих сортів пшениці, тритикале, сорго та гібридів кукурудзи

французьких фахівців, 1 т DDGS різниться доволі високою кормовою цінністю й еквівалентна 0,6—0,7 т соєвого шроту [1, 10].

Електрофоретичним аналізом білків клейковини (гліадинів) пшениці сухого забродженого залишку виявлено, що ці білки майже повністю гідролізовані до низькомолекулярних пептидів, які значно легше засвоюються організмом тварини.

Рис. 10 ілюструє зразки електрофореграм клейковинних білків пшениці гліадинів до завантаження збіжжя в реактор-ферментатор і тих самих зразків після ферментації, дріжджового бродіння та дистиляції. Як бачимо, після ферментації і зброджування деградує більша частина білків, які перетворюються на низькомолекулярні пептиди, що швидко рухаються в електричному полі і зникають зі спектра.

Отже, зерно досліджених нами зернових культур може бути трансформоване як у харчовий спирт, так і в технічний біоетанол. Як між зерновими культурами загалом, так і між сортами і гібридами існує доволі велика відмінність за ферментабельністю зерна й крохмалю, виходом етанолу на 1 т збіжжя чи крохмалю. Істотна частка цієї варіабельності має конкретну генетичну основу, яка може бути впевнено ідентифікована і керована методами селекції при створенні сортів (гібридів) спирто-дистилятного напрямку технологічного використання зерна.

Сьогодні в Україні постало стратегічно важливе питання вибору біоенергетичних зернових культур, які б були стабільним джерелом відновлюваного біопалива. Грунтуючись на результатах наших досліджень, а також враховуючи відомі негативні соціально-етичні аспекти переробки зерна на технічний біоетанол, ми маємо всі підстави вважати, що в Україні стратегічною біоенергетичною культурою має стати тритикале. На-

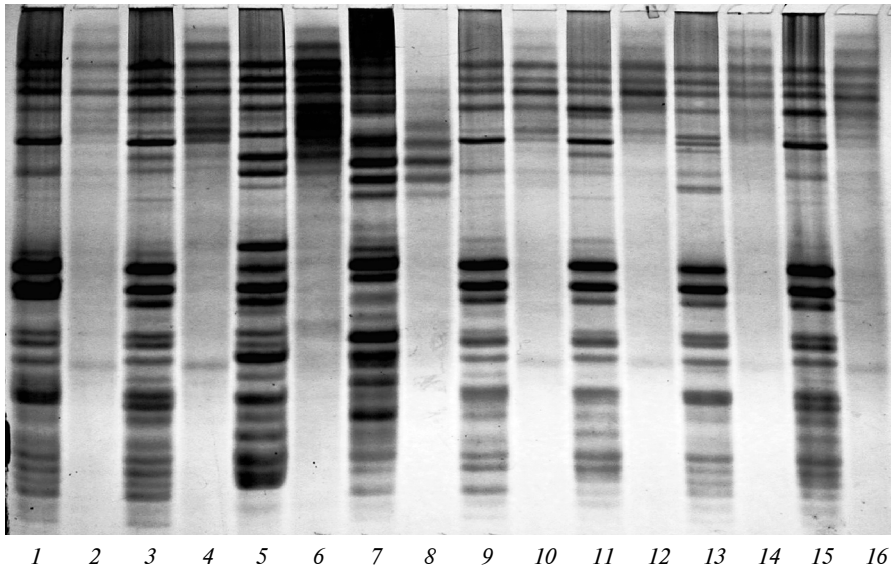


Рис. 10. Білки клейковини (гліадини) сортів пшениці в зерні до ферментації та дріжджового бродіння (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15) і після ферментації, дріжджового бродіння та дистиляції (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16)

віть без цілеспрямованого втручання селекції на високу ферментабельність окремі сорти тритикале вирізняються доволі високою ферментабельністю і за виходом етанолу не поступаються деяким гібридам кукурудзи і сортам сорго, які є культурами-лідерами за ефективністю трансформації крохмалю зерна в етанол. Кукурудза в Україні була і залишається кормовою культурою, хоча й не в усіх регіонах дає стабільно високі урожаї зерна. Сорго, хоча й посухостійка та урожайна культура, має проблеми з насінництвом, як і кукурудза потребує досушування зерна і відповідних енергетичних затрат.

Тритикале в Україні практично не має сьогодні визначеної ніші технологічного використання зерна. Селекція цієї культури згорнута або ведеться не на належному рівні через невизначеність перспективи його сортів. Разом з тим потенціал урожаю зерна культури тритикале ще далеко не вичерпаний. Потенціал сортів тритикале за морозо-/зимостійкістю незрівнянно вищий, ніж пшениці. Тритикале характеризується також високою стійкістю проти основних грибних захворювань. Білки його зерна переважають білки пшениці за показниками біологічної цінності, що робить сухий залишок DDGS тритикале після ферментації і дистиляції цінним кормом для тварин. Отже, тритикале — цінна біоенергетична і кормова культура.

У нашій лабораторії досліджено 120 зразків тритикале різного походження, втім числі озимого і ярого, і ця робота триває. У табл. 12 наведено результати дослідження ферментабельності кращих сортів тритикале Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва, який сьогодні є мабуть одним із найуспішніших центрів України щодо селекції тритикале. Деякі сорти цієї культури мають доволі високу ферментабельність крохмалю, окремі сорти харківської селекції дають вихід етанолу з 1 т зерна до 440 л (Раритет), з 1 т крохмалю — до 593 л (Харківська роза) і містять білка в сухому забродженому залишку до 42 % (!).

У Селекційно-генетичному інституті є спеціальна програма створення сортів тритикале спирто-дистилятного напрямку технологічного

ТАБЛИЦА 12. Фізико-хімічні показники ферментативного гідролізу озимого тритикале

Сорт	Вміст вологи, %	Емісія CO ₂ , л/т	Вміст крохмалю, %		Вихід спирту з 1 т зерна, л	Вихід спирту з 1 т крохмалю, л	Вміст білка, %	
			до	після			до	після
Ладне	12,46	14,25	70,1	3,8	408,96	510,70	12,3	38,3
АД 769	11,65	14,76	66,0	3,2	409,73	548,48	13,5	41,5
Юнга	12,77	13,75	69,8	3,7	419,84	524,67	11,9	38,3
Волинська дворучка	12,68	13,75	65,9	3,2	433,40	574,27	13,1	39,1
Гарле	13,03	14,76	73,6	3,9	437,44	516,91	9,3	33,7
Рапне	12,78	13,75	69,8	3,8	436,19	545,05	12,7	38,7
АД 256	12,19	14,76	72,2	3,9	433,26	526,93	11,5	37,2
АД 551-999	11,97	13,24	65,9	3,2	434,45	580,34	11,8	38,5
Раритет	12,77	14,25	67,6	3,6	440,98	569,03	12,0	37,3
Харківська роза	11,49	14,25	64,9	2,9	434,60	592,71	13,5	41,9
Середнє значення	12,38	14,15	68,58	3,8	428,88	548,91	12,16	38,45
<i>Максимальне</i>	<i>13,03</i>	<i>14,76</i>	<i>73,60</i>	<i>3,9</i>	<i>440,98</i>	<i>592,71</i>	<i>13,50</i>	<i>41,90</i>
<i>Мінімальне</i>	<i>11,49</i>	<i>13,24</i>	<i>64,90</i>	<i>3,2</i>	<i>408,96</i>	<i>510,70</i>	<i>9,30</i>	<i>33,70</i>

використання зерна. Ми створили серію високопродуктивних ліній тритикале спеціальними схрещуваннями з використанням 5D(5B) хромосомно заміщеної лінії на основі мексиканського сорту ССТ, отриманої нами від проф. А. Лукашевського (Каліфорнійський університет, США). Відсутність хромосоми 5B у цієї лінії приводить до гомеологічної кон'югації і рекомбінації хромосом пшениці і жита, продукування широкої генетичної варіабельності. Створені в результаті таких схрещувань селекційні лінії тритикале різняться дуже високими морозостійкістю і ферментабельністю, дають великий (до 450 л) вихід спирту на 1 т зерна. Одним із напрямів програми тритикале є вивчення можливості створення тритикале ваксі як додаткового ресурсу підвищення його ферментабельності.

Таким чином, можна дійти висновку, що основні зернові культури характеризуються доволі широкою варіабельністю за ознакою ферментабельності крохмалю зерна. Частина цієї варіабельності залежить від конкретних генів, задіяних у біосинтезі крохмалю, і може бути надійно ідентифікованою і контрольованою в процесі селекції сортів (гібридів) спирто-дистилятного напрямку технологічного використання зерна.

Одними з найефективніших за впливом на здатність крохмалю зерна трансформуватись в етанол є система генів *Wx* ваксі у пшениці, кукурудзи та ячменю і ген *Ha* у пшениці. Подібний фактор *Ha* є й у тритикале, оскільки його зразки здебільшого м'якозерні. Очевидно, в генетичному контролі ферментабельності задіяні й інші генетичні чинники, для ідентифікації яких мають бути використані ДНК-маркери.

Під час селекції сортів (гібридів) зернових культур спирто-дистилятного напрямку технологічного використання потрібно враховувати такі показники: урожай і натура зерна, вміст крохмалю в зерні, вміст амілози в крохмалі, співвідношення амілоза/амілопектин, гранулометрія крохмалю, вихід 100 %-го (абсолютного) етанолу з 1 т зерна й 1 т крохмалю, вміст стійкого до ферментативного гідролізу крохмалю, контроль генів *Wx* тестуванням йодною пробою на ранніх (F_2 — F_3) етапах селекції, визначення показника «число падіння» на пізніших ($> F_4$) етапах селекції, контроль гена *Ha* за допомогою ПЛР аналізу в ранніх поколіннях та NIR аналізу в пізніших.

Найперспективнішою біоенергетичною культурою в Україні слід вважати культуру озимого тритикале, яка до сьогодні не має в Україні чітко визначеної ніші технологічного використання зерна, і яка завдяки своїм агрономічним перевагам над іншими зерновими культурами здатна забезпечити стабільні врожаї зерна з високим виходом етанолу та цінного високобілкового кормового шроту для годівлі тварин.

1. Baudart Ch. Bioethanol: le plein d'avenir // Perspectives Agricoles. —2005. — 310. — P. 25—42.
2. Guan I., Seib P., Shi Y. Morphology changes in waxy wheat, normal wheat and waxy maize starch granules in relation to their pasting properties. In: Abstracts. Annual Meet., AACCC // Cereal Foods World. — 2007. — 52(4). — A19.
3. Hayakawa K., Tanaka K., Nakamura T. et al. Quality characteristics of waxy hexaploid wheat (*T. aestivum* L.). Properties of starch gelatinization and retrogradation // Cereal Chem. — 1997. — 74. — P. 576—580.
4. Kim W., Johnson J., Graybosch R., Gaines C. Physicochemical properties and end-use quality of wheat starch as a function of waxy protein alleles // J. Cereal Sci. — 2003. — 37. — P. 195—204.
5. Lumdubwong N., Seib P. Low- and medium DE maltodextrins from waxy wheat starch: preparation and properties // Stärke. — 2001. — 53. — P. 605—615.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ КРИТЕРИИ СОЗДАНИЯ СОРТОВ

6. Meyer R., Swanston J., Young G. et al. Genetic approaches to improving distilling quality in barley // *Barley Genet.* — 2000. — VIII. — P. 107–114.
7. Morris C. Puroindolines: the molecular basis of wheat grain hardness // *Plant Mol. Biol.* — 2000. — 48. — P. 633–647.
8. Nakamura T., Yamamori M., Hriano H. et al. Production of waxy (amylase-free) wheats // *Mol. Gen. Genet.* — 1995. — 248. — P. 253–259.
9. Newman R.K., Newman C.W. Barley for food and health — science, technology and products. — John Wiley & Sons, Inc., Publ. USA. — 2009. — 245 p.
10. Rosenberger A. Identification of top-performing cereal cultivars for grain-to-ethanol operations // *Zuckerindustrie.* — 2005. — 130. — P. 697–701.

Отримано 13.06.2012

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ КРИТЕРИИ СОЗДАНИЯ СОРТОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР СПИРТО-ДИСТИЛЛЯТНОГО НАПРАВЛЕНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗЕРНА

А.И. Рыбалка^{1, 2}, М.В. Червонис¹, Б.В. Моргун², В.М. Починок², С.С. Полищук¹

¹Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноведения и сортоизучения Национальной академии аграрных наук Украины, Одесса

²Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Исследованы 470 сортов и селекционных линий зерновых культур пшеницы, тритикале, кукурузы, сорго, проса, ячменя по признаку эффективности трансформации крахмала зерна в этанол. Наивысшую эффективность трансформации наблюдали у образцов пшеницы, кукурузы, голозерного ячменя вакси (гены *Wx*) и экстрамягкозерной пшеницы (ген *Ha*). Предложены генетические и селекционные критерии оценки ферментативности зерна при создании сортов зерновых культур спирто-дистиллятного направления технологического использования. В качестве наиболее перспективной главной биоэнергетической культуры в Украине рассмотрено тритикале.

GENETIC AND BREEDING CRITERIA OF CROP CULTIVARS PRODUCTION FOR ETHANOL DISTILLING END-USE

A.I. Rybalka^{1, 2}, M.V. Chervonis¹, B.V. Morgun², V.M. Pochinok², S.S. Polischuk¹

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 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

Grain starch-to-ethanol transformation efficiency of 470 crop cultivars and breeding lines of wheat, triticale, corn, sorghum, millet and barley was studied. The highest starch-to-ethanol transformation efficiency of waxy (gene *Wx*) wheat, corn and hulles barley as well as extra-soft wheat (*Ha* gene) was found. Genetic and breeding criteria of grain fermentability breeding were proposed. Triticale as the most perspective main bioenergetic crop in Ukraine has been considered.

Key words: crops, starch, fermentability, ethanol, genes *Wx* and *Ha*, breeding criteria.