

САНДЕЦЬКА Н. В., РАДЧЕНКО О. М.✉, ШЕГЕДА І. М., ДИКУН М. О., СІРАНТ Л. В.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, ORCID: 0000-0002-0558-2295, 0000-0002-3168-923X, 0009-0000-9115-2867, 0000-0003-4187-0865, 0009-0006-8400-6742

✉ ales2009@ukr.net

ДОСЛІДЖЕННЯ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ ІЗОФЕРМЕНТІВ АЛЬФА-АМІЛАЗИ
У СОРТАХ ПШЕНИЦІ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ

Мета. Дослідити варіабельність ізоферментів альфа-амілази в сортах м'якої пшениці української селекції, створених селекційними установами, які розташовані в різних кліматичних зонах: Лісостеп та Степ. **Методи.** Ізоферменти α -амілази виявляли за допомогою методу електрофоретичного розділення білків у поліакриламідному гелі. Визначали число падіння на приладі «Falling Number 1700». **Результати.** Для репрезентативної оцінки розподілу ізоферментів альфа-амілази ми досліджували районвані сорти м'якої пшениці двох селекційних центрів, які знаходяться в різних кліматичних зонах: Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ (Лісостеп) та Селекційно-генетичного інституту НААН, м. Одеса (Степ). Виявлено мінливість альфа-амілази зерна пшениці. Проведений пошук асоціацій між варіантами альфа-амілази та стійкістю до передзбирального проростання зерна. **Висновки.** Оцінена частота поширеності варіантів ізоферментів альфа-амілази в українських сортах м'якої пшениці. Серед одеських сортів переважає варіант альфа-амілази AbCd з частотою 50,0 %. В сортах селекції ІФРГ НАН України переважають фенотипи AbCd та AbCD з частотою 38,8 %. Показано, що генотипи, які містять варіанти ізоферментів AbCD та ABcD, відрізняються більшою стійкістю до передзбирального проростання, а варіанти ABCd та AbcD – меншою стійкістю до передзбирального проростання зерна.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., альфа-амілаза, ізоферменти, електрофорез, число падіння, передзбиральне проростання зерна.

Амілази є ферментами, які каталізують гідроліз крохмалу. Вони належать до класу гідролаз, підкласу глікозидаз. За властивостями, поширенням у природі та характером своєї дії на крохмаль амілолітичні ферменти поділяються на декілька груп: α -амілази, β -амілази, α -

глюкозидази, фосфорилази. У зерні пшениці присутні два специфічні ферменти, які беруть участь у гідролізі крохмалу [1]: α -амілаза є ендоамілазою, що викликає гідролітичне розщеплення α -1,4-глюканових зв'язків крохмалу та споріднених з ним вуглеводів до низькомолекулярних декстринів та частково до мальтози. β -амілаза розщеплює амілозу, перетворюючи її на мальтозу. Основні компоненти крохмалу гідролізуються ферментативним шляхом двома різними способами. Амілоза може бути гідролізована ферментом α -амілазою. таким чином, що в кінцевому підсумку виходить суміш глюкози та мальтози. Продукти α -амілазного гідролізу перетворюються на прості цукри під дією β -амілази.

Насіння рослин відрізняється за вмістом у них α - та β -амілази. У зерні пшениці, що не проросло, міститься тільки β -амілаза; α -амілаза утворюється при проростанні. Без активної α -амілази зерно злакових втрачає здатність до проростання.

Серед білкових систем фермент α -амілаза є однією з найбільш генетично поліморфних систем, відомих у пшениці. Її можна використовувати в селекційно-генетичних дослідженнях для ідентифікації сортів, вивчення взаємозв'язку між алелями, які кодують амілазу, і для оцінки сортів за стійкістю до передзбирального проростання зерна. Фермент α -амілаза контролюється двома серіями гомеологічних локусів, що знаходяться в 6 і 7 групах хромосом [2-4].

Ткачук [5] і Олеред [6] виділили два типи α -амілаз у зерні пшениці. Один із типів ферменту, який присутній у пшеничному солоді та проростаючому зерні, вони назвали «солодовою» («malt») α -амілазою. Ферменти другого типу, активні в зерні, яке дозріває, назвали «зеленими» («green») α -амілазами. Перші дослідження генетичного контролю ізоферментів α -амілази пророслої зернівки були виконані

японськими вченими. Вони прийшли до висновку, що гени, які контролюють біосинтез ізоферментів α -амілази, локалізовані в довгих плечах хромосом 6 і 7 гомеологічних груп [7-9]. Фермент α -амілази представлений трьома типами ізоферментів: GI й GII, які активні за формування і дозрівання зерна, і GIII активніші у проростанні зерні. Ізоферменти GIII-амілази проростання (термостабільні, високоефективні ферменти) – отримали назву α -AMY-1; вони є більш лужними та синтезуються через 48 годин після початку проростання. Ця група контролюється генами α -Amy-A1, α -Amy-B1 і α -Amy-D1, локалізованими в хромосомах шостої гомеологічної групи 6A, 6B та 6D. Група ізоферментів GI-амілази дозрівання (термолабільна група ізоферментів, що має слабку гідролітичну здатність) названа α -AMY-2; вони більш кислі, утворюються на кілька днів пізніше, ніж α -AMY-1, і контролюються генами α -Amy-A2, α -Amy-B2 і α -Amy-D2, локалізованими в хромосомах сьомої групи (7A, 7B та 7D) [10, 11]. GII – тип ізоферментів, які виникають у процесі розвитку зерна, контролюються генами, локалізованими в хромосомах сьомої групи. Значна гетерогенність α -амілази в зерні пшениці, що проростає, була встановлена методом електрофорезу в поліакриламідному гелі. Є дві думки щодо природи компонентів α -амілази зерна пшениці. Працюючи з великим набором різних генотипів злакових, одні автори вважають усі компоненти α -амілази ізоферментами [7]. Інші ж автори [12], вивчаючи фізико-хімічні властивості α -амілази одного генотипу і не знайшовши достатньо чітких відмінностей між компонентами, висловлювали сумніви щодо їх ізоферментної природи. Ці протиріччя, можливо, спричинені використанням різних методів вивчення гетерогенності ферменту [13]. Т. Б. Дарканбаєвим зі співавторами було запропоновано більш доступний і простий для масового аналізу метод електрофорезу в поліакриламідному гелі, який незначно поступається за розподільною здатністю ізоелектрофокусуванню [13].

Мета нашої роботи – дослідити варіабельність ізоферментів альфа-амілази в сортах м'якої пшениці української селекції, створених селекційними установами, які розташовані в різних кліматичних зонах: Лісостеп та Степ.

Матеріали і методи

У роботі було використано 53 зразки м'якої пшениці. Зерно попередньо пророщували

у чашках Петрі на фільтрувальному папері в темноті за кімнатної температури протягом 4 діб. Перед пророщуванням зерно стерилізували в розчині $KMnO_4$, нагрівали до $75^\circ C$ протягом 30 с промивали дистильованою водою [14, 15]. Для екстракції ферменту проросле зерно заливали 0,2 % розчином $CaCl_2$, який містить 30 % цукрози та бромфеноловий синій, кількість екстракційного буфера 1000 мкл. на зернівку. Після ретельного подрібнення кожної зернівки скляною паличкою, настоювали протягом години та центрифугували 4 хв за 10000 об/хв. Електрофорез проводили у пластинах 7,5 % поліакриламідного гелю [16]. Для звільнення від β -амілази в гель додавали 5М сечовину. Розділення ізоферментів проводили в трисгліциновому буфері рН 8,4 за сили струму 35 мА 4,5 години. Інкубацію амілаз проводили в 1,5 % розчині гідролізованого крохмалю в ацетатному буфері рН 5,4, який доводили до кипіння та охолоджували. Гелі витримували у розчині крохмалю 1 годину. Потім промивали проточною водою і фарбували. Склад фарби: 0,5 г KI, 260 мг I_2 , 5 г трихлороцтової кислоти, вода до 100 мл. Визначали число падіння на приладі «Falling Number 1700». Число падіння – це всесвітньо визнаний метод для визначення рівня активності альфа-амілази в зерні пшениці, вимірюється в секундах. Метод заснований на швидкій желатинізації суспензії шрота зерна в киплячій водянній бані й вимірюванні розчинення крохмалю за дії альфа-амілази, яка міститься в зразку. Число падіння є комплексною оцінкою, обернено пропорційною кількості альфа-амілази в зразку. Значення числа падіння нижче 150 с – висока активність амілази, зерно починає проростати, тоді як значення числа падіння понад 200-300 с – оптимальна активність амілази, пшениця високої якості. А понад 300 с – низька активність альфа-амілази, що свідчить про високу стійкість зерна до передзбирального проростання [17].

Результати та обговорення

Для репрезентативної оцінки розподілу ізоферментів альфа-амілази ми досліджували районовані сорти м'якої пшениці різних селекційних центрів, які розташовані в зоні Лісостепу і Степу (табл.). Умовно за походженням були сформовані такі групи: сорти Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ та сорти Селекційно-генетичного інституту НААН, м. Одеса.

Таблиця. Варіанти ізоферментів альфа-амілази у досліджуваних зразків пшениці

Сорт	Оригінатор	Варіанти ізоферментів			
		A	B	C	D
Білява*	СГІ НААН, Одеса	A	B	C	D
Дарунок Поділля	ІФРГ НАН України, ЗАТ «Зернопродукт МХП»	A	B	C	D
Злука	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	B	C	D
Астарта	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Київська остиста	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Смуглянка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Наталка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Чигиринка	ІФРГ НАН України,	A	b	C	d
Орійка	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Ласуня	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Солоха	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Лимарівна	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Соломія	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Богдана	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Золотоколоса	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Подоянка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Борія	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Сонечко	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Крижинка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Новосмуглянка	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Чорноброва	СГІ НААН, Одеса	A	b	C	d
Перлина Поділля	ІФРГ НАН України	A	b	C	d
Нива од.	СГІ НААН, Одеса	A	b	C	d
Снігурка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	d
Куяльник	СГІ НААН, Одеса	A	b	C	D
Малинівка	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Ятрань 60	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Почаївка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	D
Хуртовина	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	D
Спасівка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	D
Новокиївська	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Зимоярка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	D
Городниця	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Київська 19	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Академічна 100	ІФРГ НАН України	A	b	C	D

Продовження табл.

Бужанка	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Нагода	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Краснопілка	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Славна	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	D
Аміна	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Джамала	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Донор Київський	ІФРГ НАН України	A	b	C	D
Фаворитка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	D
Переяславка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	C	D
Каланча	ІФРГ НАН України	A	b	c	d
Володарка	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	c	d
Достаток	ІФРГ НАН України, Миронівський інститут пшениці НААН	A	b	c	d
УК 254*	ІФРГ НАН України	A	B	C	d
УК 255*	ІФРГ НАН України	A	B	C	d
Чорнозерна	ІФРГ НАН України	A	B	C	d
Стрітенська	ІФРГ НАН України	A	B	c	D
Даринка Київська	ІФРГ НАН України	A	b	c	D
Щедрівка Київська	ІФРГ НАН України, Інститут землеробства НААН	A	b	c	D

* – білозерна пшениця

Наявність у верхній частині електрофореграми одночасно трьох компонентів альфа-амілази свідчить про наявність у геномі трьох домінуючих алелів – α -Amy-A1, α -Amy-B1 та α -Amy-D1, які контролюють ізоферменти (рис. 1, 2). Компонент D альфа-амілази м'якої пшениці контролюється домінуючим алелем, локусу α -Amy-B6. Варіанти ізоферментів в електрофоретичних зонах рухливості позначали буквами A, B, C, D. Якщо в даній зоні зимограми м'якої пшениці є один компонент, то, як правило, він має складний характер і контролюється алелями трьох локусів [14]. Для класифікації сортів за ізоферментами великими буквами позначали присутність компонента, а маленькими – відсутність активності у відповідній зоні зимограми. Як видно з табл., один із найбільш поширених в сортах селекції ІФРГ НАН України та СГІ НААН є фенотип AbCd. Сорти селекції ІФРГ НАН України відрізнялися високою частотою (38,8 %) фенотипу AbCD в порівнянні з одеськими сортами (25,0 %). Він відрізняється біль-

шою стійкістю до передзбирального проростання зерна, що могло бути фактором штучного відбору генотипів.

З інших варіантів можна виділити ABCD, який був присутній у сортах селекції СГІ НААН та в сортах селекції ІФРГ НАН України з частотою 25,0 % та 4,0 %. У сортах селекції ІФРГ НАН України також присутній варіант Abcd – 6,1 %, а в одеських сортах такий варіант був відсутній. Така диференціація за поширеністю варіантів альфа-амілази, можливо, пов'язана з погодно-кліматичними особливостями регіонів.

Нами був проведений пошук асоціацій між варіантами альфа-амілази та стійкістю до передзбирального проростання зерна. Було визначено число падіння у досліджуваних зразків. Усі зразки були розділені на 2 групи: стійкі та нестійкі. До нестійких відносяться зразки, які мають число падіння менше від 200 с, а для зразків, які мають високу стійкість, характерне число падіння більше від 200 с.

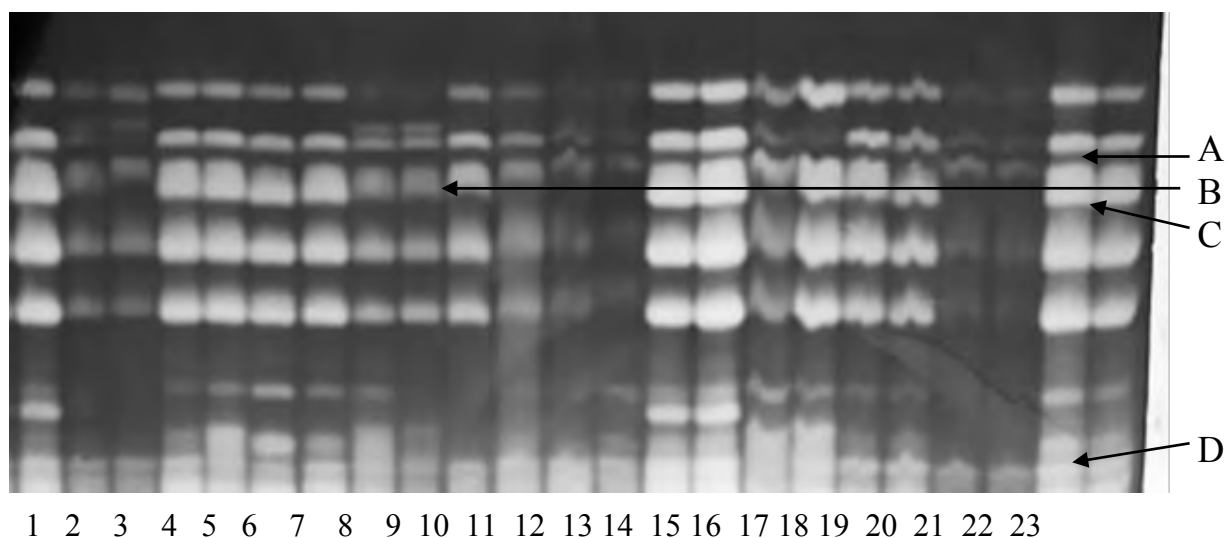


Рис. 1. Зимограми альфа-амілази сортів м'якої пшениці, де буквами позначені протестовані варіанти: 1 – Славна; 2, 3 – Чорнозерна; 4, 5 – Аміна; 6, 7 – Джамала; 8, 9 – Білява; 10, 11 – Наталка; 12, 13 – Достаток; 14, 15 – Донор Київський; 16, 17 – Фаворитка; 18, 19 – Переяславка; 20, 21 – Перлина Поділля; 22, 23 – Куяльник.

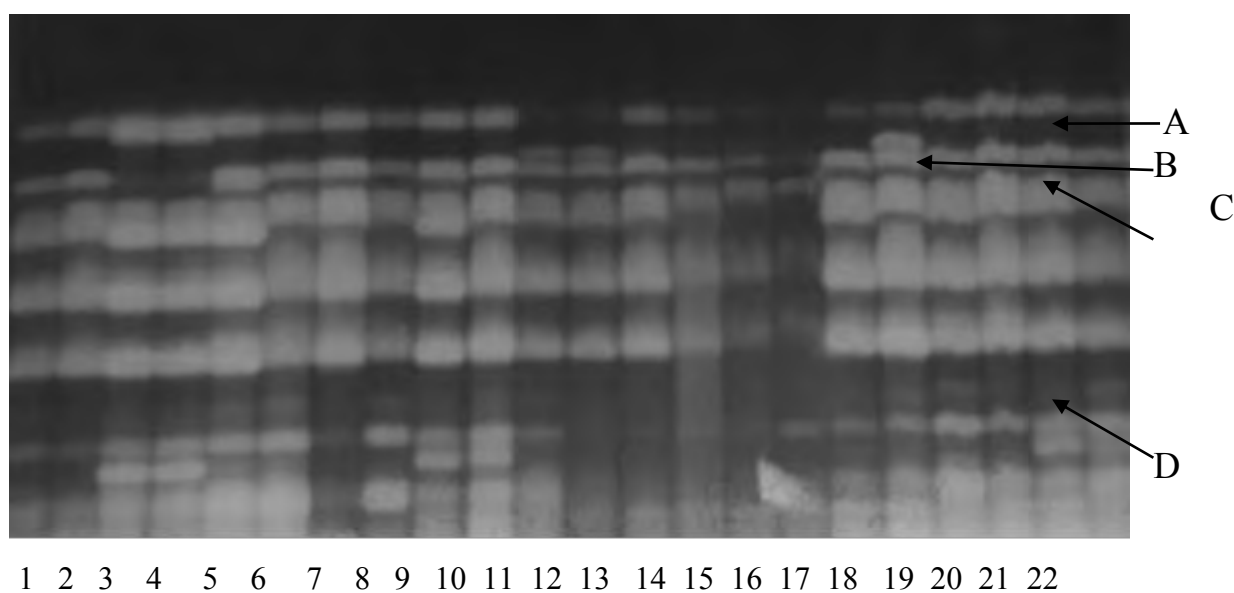


Рис. 2. Зимограми альфа-амілази сортів м'якої пшениці, де буквами позначені протестовані варіанти: 1, 2 – Городниця; 3, 4 – Щедрівка Київська; 5, 6 – Київська 19; 7, 8 – Академічна 100; 9, 10 – Бужанка; 11, 12 – Білява; 13, 14 – Наталка; 15, 16 – Достаток; 17, 18 – Стрітенська; 19, 20 – Нагода; 21, 22 – Краснопілка.

Всі досліджувані зразки були розділені на білозерні та червонозерні. Було визначено число падіння. Середній показник числа падіння у білозерних пшениць становив 101 с, а в групі червонозерних пшениць – 344 с. Варіанти альфа-амілаз ABCd та ABCD присутні у білозерних пшениць, тоді як у червонозерних пшениць виявлені такі варіанти альфа-амілаз: AbCd, AbCD, AbcD, Abcd та ABcD. Серед зразків із варіантом альфа-амілази AbCD середнє значення числа

падіння було 365 с, тоді як із варіантом альфа-амілази AbCd середнє значення числа падіння становило 341 с. А серед сортів пшениці з фенотипами ABcD та ABCD середнє значення числа падіння дорівнювало 420 та 303 с. Найменший показник числа падіння був виявлений у фенотипа ABCd – 212 с. Таким чином, можна зробити висновок, що червонозерні пшениці мають більшу стійкість до передзбирального проростання, ніж білозерні. В наших попередніх дослі-

дження варіабельності ізоферментів альфа-амілази в сортах пшениці було показано, що генотипи, які містять варіант ізоферменту AbC, відрізняються більшою стійкістю до передзбирального проростання [18, 19]. В даній роботі нами встановлено, що генотипи, які містять варіанти ізоферментів AbCD та ABcD, відрізняються більшою стійкістю до передзбирального проростання.

Висновки

Визначений склад ізоферментів альфа-амілази в українських сортах м'якої пшениці за допомогою методу електрофоретичного розділення білків та виявлено 7 варіантів альфа-амілази: AbCd, AbCD, AbcD, ABcD, Abcd, ABCd, ABCD. Серед одеських сортів переважає варіант альфа-амілази AbCd з частотою 50,0 %.

В сортах селекції ІФРГ НАН України – AbCd та AbCD з частотою 38,8 %. Показано, що генотипи, які містять варіанти ізоферментів AbCD та ABcD, відрізняються більшою стійкістю до передзбирального проростання, а зразки з варіантами ABCd та AbcD – меншою стійкістю до передзбирального проростання зерна.

Загалом виявлено 21 стійкий сорт до передзбирального проростання. Серед них 20 сортів селекції ІФРГ НАН України та 1 сорт одеської селекції. Найбільш нестійким виявився сорт Білява. В умовах, що сприяють проростанню зерна на пні, червонозерні сорти пшениці виявляють тенденцію до більшої стійкості до проростання в порівнянні з білозерними. Проведені нами дослідження дозволять прискорити створення високоякісних сортів з високою стійкістю до передзбирального проростання.

References

1. Pomeranz Y. Wheat chemistry and technology // *Enzymes*. AACC, St. Paul, Minnesota, USDA, ARS. 1971. P. 453–469.
2. Gale M. D., Law C. N., Chojecky A. Genetic control of α -amylase production in wheat. *Theor. and Appl. Genet.* 1983. Vol. 64, № 4. P. 309–316.
3. Illichevsky N. N., Kudryavtsev A. M., Upelnik V. P., Metakovsky E. V. Analysis of pedigree varieties of bread wheat based on the study of α -amylase polymorphism. *Genetics*. 1995. Vol. 31, No. 12. P. 1650–1654. [in Russian]
4. Ainsworth C., Doherty P., Erwards K. Alelic variation of α -amylase loci in hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 1985. Vol. 70, № 4. P. 400–406.
5. Tkachuk R., Kruger J. Wheat alpha-amylases. II. Physical characterization. *Cereal Chem.* 1974. Vol. 51. P. 508–529.
6. Olered R. L. α -Amylase isozymes in cereal and their influence on starch properties. *Cereal Res. Commun.* 1976. Vol. 4, № 2. P. 195–201.
7. Lunn G. D., Major B. J., Kettlewell P. Mechanisms leading to excess alpha-amylase activity in wheat (*Triticum aestivum*) grain in the U.K. *Cereal Sci.* 2001. Vol. 33. P. 313–329.
8. Nishikawa K., Furuta Y., Hina Y. Genetic studies of α -amylase isozymes in wheat. I. Genetic analysis in hexaploid wheat. *Japan J. Genet.* 1981. Vol. 56, № 4. P. 385–395.
9. Mrva K., Mares D. Regulation of high pI alpha-amylase synthesis in wheat aleurone by a gene(s) located on chromosome 6B. *Euphytica*. 1999. Vol. 109. P. 17–23.
10. Lunn G. D., Major B. J., Kettlewell P. S. Mechanisms leading to excess alpha-amylase activity in wheat (*Triticum aestivum*) grain in the U.K. *J. Cereal Sci.* 2001. Vol. 33. P. 313–329.
11. Mamytova N. S., Kuzovlev V. A., Khakimzhanov A. A. The contribution of different α -amylase isoenzymes of the commodity grain spring wheat in the formation of falling number values. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2014. Vol. 50, № 5. P. 531–537.
12. Silvanovich M. P., Hill R. D. *Cereal. Chem.* 1977. Vol. 54. P. 1270.
13. Darkanbaev T. B., Fursov O. V., Khaidarova Z. S. Grain α -amylase isoenzymes of some cereals. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*. 1980. Vol. 12, No. 3. P. 258–262.
14. State register of plant varieties suitable for dissemination in Ukraine in 2023. Kyiv, 2023. Retrieved from: <http://sops.gov.ua/reestratsiyapprav/reiestry/reiestr-sortiv-roslyn-ukrainy>.
15. Netsvetaev V. P., Bondarenko L. S., Motrin I. P. Polymorphism of alpha-amylase of soft wheat and the conjugacy of zymotypes of the enzyme with quantitative signs of plants. *Cytology and genetics*. 2015. Vol. 49, № 6. P. 21–29.
16. Davis B. J. Disc electrophoresis. 2. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. J. Acad. Sci.* 1964. Vol. 121, № 2. P. 404–427.
17. Perten H. *Application of the Falling Number method for evaluating alpha-amylase activity*. *Cereal chemistry*. 1964. Vol. 41. P. 127–140.
18. Radchenko O. M., Sandetska N. V., Dykun M. O., Sirant L. V. Isozyme polymorphism of alpha-amylase in soft wheat. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2019. Vol. 24. P. 160–165.
19. Radchenko O. M., Sirant L. V., Dykun M. O. Polymorphism of alpha-amylase in soft wheat. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2018. Vol. 24. P. 186–190.

SANDETSKA N. V., RADCHENKO O. M., SHEHEDA I. N., DYKUN M. O., SIRANT L. V.

*Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine,
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 31/17*

STUDY OF VARIABILITY ALPHA-AMYLASE ISOZYMES IN WHEAT VARIETIES OF UKRAINIAN BREEDING

Aim. To investigate the variability of alpha-amylase isoenzymes in soft wheat varieties of Ukrainian selection, created by breeding institutions located in different climatic zones (Forest Steppe and Steppe). **Methods.** Isoenzymes of alpha-amylase were detected by electrophoretic protein separation in a polyacrylamide gel. The fall number on the «Falling Number 1700» was determined. **Results.** For a representative assessment of the distribution of alpha-amylase isoenzymes, we studied the zoned varieties of common wheat from two breeding centers located in different climatic zones: the Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv (Forest-steppe) and the Breeding and Genetics Institute of the National Academy of Sciences, Odessa (Steppe). The variability of wheat grain alpha-amylase was revealed. A search for associations between alpha-amylase variants and resistance to pre-harvest grain germination was conducted. **Conclusions.** The prevalence of alpha-amylase isoenzyme variants in Ukrainian common wheat varieties was estimated. Among Odessa varieties, the AbCd alpha-amylase variant predominates with a frequency of 50.0 %. AbCd and AbCD phenotypes with a frequency of 38.8 % predominate in the selection varieties of the IFRG of the National Academy of Sciences of Ukraine. It was shown that the genotypes containing the AbCD and ABcD isoenzyme variant are more resistant to pre-harvest germination, and the ABCd and AbcD variants are less resistant to pre-harvest grain germination.

Keywords: *Triticum aestivum* L., α -amylase, isoenzymes, electrophoresis, falling number, pre-harvest germination of grain.