

УДК 577.21+633.16+663.421+544.475

## ПОШИРЕНІСТЬ АЛЕЛІВ ГЕНА *HvITR1*, ЩО КОДУЄ ІНГІБІТОР ТРИПСИНУ СМЕ (ВТІ-СМЕ), ПОВ'ЯЗАНИЙ ІЗ КОЛОЇДАЛЬНОЮ СТАБІЛЬНІСТЮ ПИВА, У ЗАРЕЄСТРОВАНИХ В УКРАЇНІ СОРТАХ ЯЧМЕНЮ

А. І. Степаненко<sup>1</sup>  
 Б. В. Моргун<sup>1</sup>  
 О. В. Степаненко<sup>1</sup>  
 С. С. Поліщук<sup>2</sup>  
 О. І. Рибалка<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут клітинної біології та генетичної інженерії  
 НАН України, Київ

<sup>2</sup>Селекційно-генетичний інститут — Національний центр  
 насіннезнавства та сортовивчення НААН України, Одеса

E-mail: molgen@icbge.org.ua

Отримано 21.07.2014

Виконано біотехнологічний аналіз сучасних сортів ячменю вітчизняної та зарубіжної селекції для виявлення цінних *SE-ve* генотипів. Ідентифікацію алельного стану гена проведено у 109 сортах ячменю за допомогою розроблених мультиплексних ПЛП для SNAP-системи молекулярних маркерів. Серед досліджених сортів алель *SE+ve* виявлено у 75 сортів ячменю, алель *SE-ve* — у решти сортів. Гетерогенними (+/-) виявилися 6 зразків, у яких знайдено обидва алелі: *SE+ve* та *SE-ve*. Одержані результати порівняно з даними Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, показали, що 8 сортів, зазначених як фуражні, несуть алель *SE+ve* і жоден з них не несе алель *SE-ve*. Із 38 сортів, якість яких було визначено як придатну для пивоваріння, 19 містять алель *SE+ve*, решта — алель *SE-ve*.

Результати проведеного аналізу колекції сортів ячменю за алельним складом гена *HvITR1* мають важливе технологічне значення як за добору пар для селекції сортів пивоварного напрямку, елітних рослин у селекційних популяціях, так і для об'єктивної оцінки партій зерна, призначених для виготовлення якісних та стабільних під час зберігання напоїв.

**Ключові слова:** біотехнологія ячменю, помутніння пива, СМЕ-протеїн.

Здатність пива до помутніння є важливою ознакою готового продукту, що зумовлюється наявністю СМЕ-протеїну, синтез якого контролює ген *HvITR1*. Цей ген має два алелі — активний *SE+ve*, що продукує СМЕ-протеїн, і неактивний *SE-ve*, який не транскрибується. Утворення осаду в процесі зберігання пива відбувається внаслідок порушення його колоїдальної стабільності і є ознакою старіння напою або його забруднення. Відомі кілька чинників, що здатні впливати на колоїдальну стабільність пива. Одним з найпоширеніших є взаємодія між протеїнами з високим вмістом проліну та поліфенолами. Серед протеїнів, які найчастіше беруть участь у формуванні осаду в пиві, є протеїни з родини СМ-протеїнів. Вони отримали свою назву через здатність екстрагуватися з ендосперму сумішшю розчинників хлороформ: метанол (2:1 об'єм/об'єм) і трапляються в ендоспермі майже всіх дослідже-

них злаків. СМ-протеїни за своєю функцією належать до інгібіторів трипсину/ $\alpha$ -амілази. Найактивнішим серед СМ-інгібіторів трипсину ячменю є мономер СМЕ з молекулярною масою 13 кДа. Нуклеотидну послідовність гена інгібітора трипсину ячменю (ВТІ) було секвеновано і за послідовністю амінокислот ідентифіковано як СМЕ-протеїн. Ген, що кодує СМЕ-протеїн, локалізований у хромосомі 3Н ячменю [1–3].

Цей ген, позначений символом *HvITR1* (GenBank Accession X65875), має два алелі: активний *SE+ve*, що продукує СМЕ протеїн, і неактивний *SE-ve*, за якого не відбувається біосинтез СМЕ-протеїну [2]. Очевидно, що сорт ячменю пивоварного використання має містити алель *SE-ve* і бути вільним від СМЕ-протеїну як фактора, який спричинює погіршення якості пива в процесі його зберігання. Було показано, що більшість сортів австралійської та світової селекції ячменю

несуть алель *SE+ve* (близько 83%) [4]. Зручним біотехнологічним інструментом для контролю алельного стану гена *HvITR1* є система молекулярних маркерів, які базуються на мультиплексних полімеразних ланцюгових реакціях (ПЛР).

В Україні в процесі селекції ячменю ані за добору пар для схрещування, ані за добору елітних рослин у селекційних популяціях не контролюються основні показники пивоварної якості, зокрема відсутній контроль генетичних факторів, які спричиняють помутніння пива під час його зберігання. Враховуючи критично важливе значення цієї ознаки при створенні нових сортів пивоварного ячменю, необхідно знати характеристики генотипів за алелями гена *HvITR1*. Тому метою роботи було впровадити системи молекулярних маркерів для генотипування алелів *SE-ve* та *SE+ve* і дослідити їх поширеність серед сортів колекції ярого ячменю, комерціалізованих в Україні.

### Матеріали і методи

Колекцію зразків ярого ячменю в досліді було представлено сортами селекції Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннезнавства та сортовивчення НААН України, занесеними у Держреєстр сортів рослин України, сортами і сортозразками зарубіжної селекції; дослідними зразками голозерного ячменю відділу генетичних основ селекції СГП НЦНС НААНУ.

Вивчення алельного стану гена *HvITR1* проведено за допомогою SNAP-(Single-Nucleotide Amplified Polymorphism) маркерів, які є зручним та надійним інструментом дослідження [3]. Як внутрішній контроль обрано ген домашнього господарства — *Barley glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (GenBank Accession M36650.1).

Виділення загальної ДНК 109 сортозразків ячменю здійснено методом з використанням ЦТАБ-буфера з незначними модифікаціями [5].

Реакційні суміші включали: по 0,5 мкМ форвардного та реверсного праймерів, 2 мкл буфера для ПЛР 10×DreamTaq™ Green Buffer (Thermo Scientific), 0,2 мМ кожного дезоксирибонуклеотид-3-фосфату (Thermo Scientific), 1 од. полімерази DreamTaq™ DNA Polymerase (Thermo Scientific), 30 нг сумарної рослинної ДНК, деіонізовану воду Milli-Q (Millipore) до кінцевого об'єму 20 мкл.

Для ПЛР з праймерами до послідовності гена *G3PDH* ячменю (з метою перевірки якості виділеної ДНК) застосовували праймери: TaG3PDHF, 5'-CAACG-CTAGC-TGCAC-CACTA-ACT-3'; TaG3PDHR, 5'-ACTCC-TCSTT-GATAG-CAGCC-TT-3' [6]. Для реакції використовували 30 нг ДНК. Режим ампліфікації: денатурація 94 °C — 3 хв, 34 цикли 94 °C — денатурація 30 с, 57 °C — реасоціація 30 с, 72 °C — елонгація 24 с, завершальна елонгація 72 °C — 5 хв.

Для ПЛР на послідовність гена *HvITR1* використовували дві реакції: а) праймери: форвардний — 5'-CAACT-AACAG-AAAGT-CAGAA-AGCAC-3'; реверсний — 5'-AGGGC-AGTTG-GGCGAA-3' [3]; 30 нг загальної ДНК. Режим ампліфікації: денатурація 94 °C — 3 хв, 34 цикли 94 °C — денатурація 30 с, 61 °C — реасоціація 30 с, 72 °C — елонгація 30 с, завершальна елонгація 72 °C — 5 хв; б) праймери: форвардний — 5'-CAACT-AACAG-AAAGT-CAGAA-AGCAC-3'; реверсний — 5'-AGGGC-AGTTG-GGCGTA-3' [3]; 30 нг очищеної загальної ДНК. Режим ампліфікації: денатурація 94 °C — 3 хв, 34 цикли 94 °C — денатурація 30 с, 62 °C — реасоціація 30 с, 72 °C — елонгація 39 с, завершальна елонгація 72 °C — 5 хв.

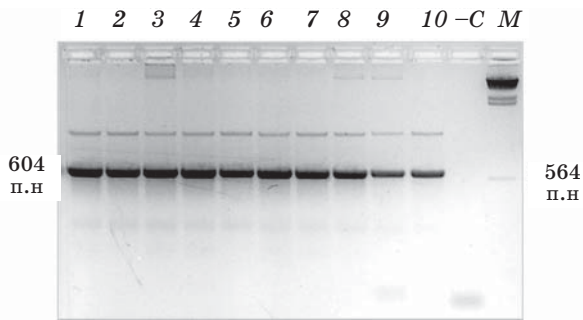
Розділення отриманих фрагментів ДНК проведено за допомогою горизонтального електрофорезу в 1,2 % агарозному гелі у натрійборатному буфері [7–8]. Візуалізацію результатів здійснено в УФ-світлі за допомогою фотосистеми Canon EOS 600D. У зразках *SE+ve* очікували амплікон 455 пар нуклеотидів (п. н.) з праймерами SE-F і SE-R1 (набір 1). За наявності *SE-ve* алеля ПЛР з праймерами SE-F і SE-R2 (набір 2) спостерігали амплікон такої самої довжини, 455 п. н., за рахунок SNAP- маркерів.

З метою дослідження було розроблено мультиплексні ПЛР із праймерами набору 1 або 2 у поєднанні із праймерами до послідовності референтного гена *G3PDH* ячменю.

### Результати та обговорення

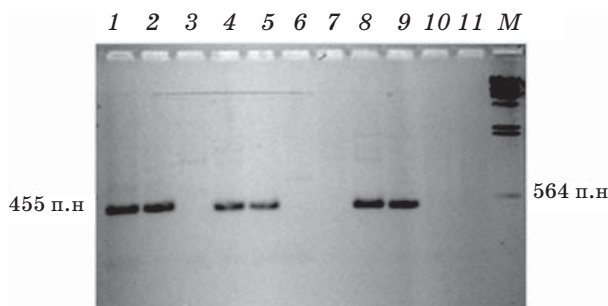
Визначення якості виділення ДНК здійснено шляхом поставлення ПЛР на послідовність гена *G3PDH*. Типові результати цієї контрольної ампліфікації наведено на рис. 1.

У разі одержання позитивного сигналу на даний референтний ген виявляли алельні варіанти гена *HvITR1*. Попередній підбір умов реакції проведено за

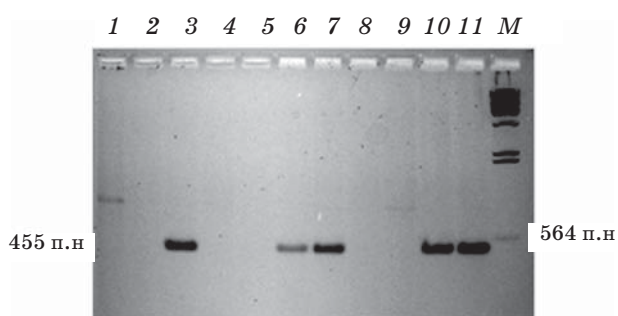


**Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК праймерами TaG3PDHF/ TaG3PDHR:**

1 — Розаліна; 2 — Хадар; 3 — Beatrise; 4 — Клер;  
5 — Модерн; 6 — Еней; 7 — Gainer; 8 — Козацький;  
9 — Ахілес; 10 — Ковзан; 11 — Vojos;  
-C — негативний контроль;  
M — маркер молекулярної маси  
ДНК бактеріофага  $\lambda$ /HindIII



**Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК з праймерами SE-F і SE-R1:**  
1 — Candle; 2 — Хадар; 3 — Розаліна; 4 — Клер;  
5 — Модерн; 6 — Еней; 7 — Gainer;  
8 — Козацький; 9 — Ахілес; 10 — Ковзан;  
11 — Danuta; M — маркер молекулярної маси  
ДНК бактеріофага  $\lambda$ /HindIII



**Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК з праймерами SE-F і SE-R2:**  
1 — Candle; 2 — Хадар; 3 — Розаліна; 4 — Клер;  
5 — Модерн; 6 — Еней; 7 — Gainer;  
8 — Козацький; 9 — Ахілес; 10 — Ковзан;  
11 — Danuta; M — маркер молекулярної маси  
ДНК бактеріофага  $\lambda$ /HindIII

допомогою уніплексної реакції з використанням двох наборів праймерів. Результати типової ампліфікації з праймерами SE-F і SE-R1 подано на рис. 2.

Результати типової ампліфікації з праймерами SE-F і SE-R2 подано на рис. 3.

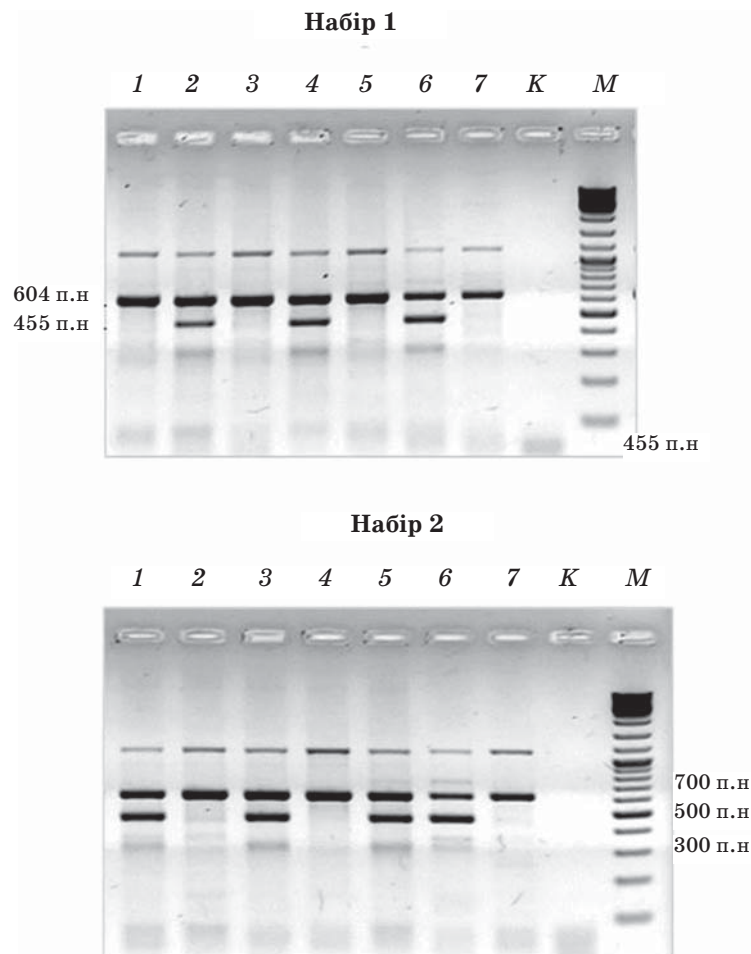
Для сортів *SE+ve* спостерігали наявність амплікона 455 п. н. з використанням першого набору праймерів, а для *SE-ve* — другого. Для гетерогенних сортів очікувані амплікони було ідентифіковано в обох реакціях.

З метою інтенсифікації процесу визначення алельних варіантів та для уникнення хибно-негативних результатів ПЛР було розроблено дві мультиплексні реакції з праймерами наборів 1 і 2 відповідно із залученням праймерів до референтного гена *G3PDH*. Результати типових ампліфікацій наведено на рис. 4.

У таблиці подано результати дослідження 109 сортів і селекційних зразків ярого ячменю. Серед них алель *SE+ve* ідентифіковано у 75 зразків, алель *SE-ve* — у решти. Шість зразків виявилися гетерогенними (+/-), у яких знайдено обидва алелі — *SE+ve* та *SE-ve*. Частка зразків ячменю з алелем *SE+ve* становить 75%, або 3/4 від загальної чисельності сортів дослідженої колекції. Це означає, що зразки ячменю з алелем *SE+ve* є потенційно непридатними для використання як сировини для солодування і пивоваріння, оскільки містять СМЕ- протеїн як фактор ризику погіршення якості пива під час його зберігання. Ці результати, порівняно з даними Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2013 р. [9], виявили, що 8 сортів, зазначених як фуражні, несуть алель *SE+ve* і жоден з них не несе алель *SE-ve*. 19 сортів, якість яких було визначено як пивоварну, містять алель *SE+ve*, а 19 сортів — алель *SE-ve*.

Домінування алеля *SE+ve* серед сортів ярого ячменю в Україні не є несподіваним, оскільки, як було зазначено вище, цілеспрямованої селекції сортів ячменю пивоварного напряму технологічного використання зерна в Україні практично немає.

Результати аналізу колекції сортів ярого ячменю за алельним складом гена *HvITR1* мають важливе технологічне значення як за добору пар для схрещування, селекції сортів пивоварного напряму, елітних рослин у селекційних популяціях, так і вибору партій зерна ячменю для виготовлення якісних, стабільних у зберіганні напоїв. Контроль присутності алеля *SE+ve* в елітних рослин має критичне значення, оскільки його експресія створює ризик помутніння пива під



**Рис. 4. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК з використанням мультиплексної ПЛР:**  
 1, 3, 5 — сорти ячменю типу *SE-ve*; 2, 4 — сорти ячменю типу *SE+ve*. Для набору 1: 6 — позитивний контроль, сорт ячменю типу *SE+ve*; 7 — позитивний контроль, сорт ячменю типу *SE-ve*; для набору 2: 6 — позитивний контроль, сорт ячменю типу *SE-ve*; 7 — позитивний контроль, сорт ячменю типу *SE+ve*.  
 К — негативний контроль; М — маркер молекулярної маси, GeneRuler™ DNA Ladder Mix

**Алелі *SE+ve* та *SE-ve* у сортах ярого ячменю**

№	Зразок	Країна походження	<i>SE</i> (ген <i>HvITR1</i> )*	Потенційне використання відповідно до Держреєстру [9]
1	Annabell	Німеччина	-	пв
2	Bellona	Німеччина	+/-	-
3	Claire	Німеччина	+	пв
4	Danuta	Німеччина	-	пв
5	JB Maltasia	Німеччина	-	пв
6	Jenifer	Німеччина	-	пв
7	Jenifer (Київ)	Німеччина	+	пв
8	KBC Aliciana	Німеччина	-	пв
9	Ksanady	Німеччина	+	пв
10	Marthe	Німеччина	+	фж
11	Shakira	Німеччина	+	пв
12	Енріке	Німеччина	-	пв
13	КВС Бамбіна	Німеччина	-	пв

№	Зразок	Країна походження	SE (ген <i>HvITR1</i> )*	Потенційне використання відповідно до Держреєстру [9]
14	Розаліна	Німеччина	-	пв
15	Alamo	Канада	+	-
16	Candle	Канада	+	-
17	Gainer	Канада	-	-
18	McGwire	Канада	-	-
19	Golden Promise	Великобританія	+	-
20	Golden Promise Тр 2х5	Великобританія	+	-
21	Golden Promise Тр 3 у10	Великобританія	+	-
22	Golden Promise Тр 4х5 +у10	Великобританія	+	-
23	Kristalia	Великобританія	+	пв
24	Квенч	Великобританія	+	пв
25	Beatrise	Данія	+	пв
26	Дала	Франція	+	-
27	Војос	Чехія	+	пв
28	Malz	Чехія	+	-
29	Kangoos	Нідерланди	+	-
30	Henley	Австралія	+	-
31	Daura	н/в	+	-
32	Philadelphia	н/в	-	-
33	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>trifurcatum</i>	Україна	+	-
34	Адепт	Україна	+	фж
35	Ахілес	Україна	+	-
36	Ахілес №40	Україна	+	-
37	Вакула	Україна	+	пв
38	Вестнік	Україна	-	-
39	Водограй	Україна	+	пв
40	Воєвода	Україна	-	пв
41	Воєвода'	Україна	-	пв
42	Всесвіт	Україна	+	пв
43	Галактик	Україна	+	пв
44	Галатея	Україна	-	-
45	Галичин	Україна	+	-
46	Гамбрінус	Україна	+	-
47	Геліос	Україна	+	пв
48	Геліос'	Україна	+	пв
49	Геліос 1	Україна	+	пв
50	Гетьман	Україна	-	пв
51	Дерибас	Україна	+	-
52	Дружба	Україна	+/-	-
53	Едем	Україна	+	-
54	Еней	Україна	-	пв
55	Еней'	Україна	-	пв
56	Еней 1	Україна	+	пв

№	Зразок	Країна походження	SE (ген <i>HvITR1</i> )*	Потенційне використання відповідно до Держреєстру [9]
57	Зоряний	Україна	-	пв
58	Лот	Україна	+	фж
59	Ітиль	Україна	+/-	-
60	Казковий	Україна	+	-
61	Ковзан	Україна	-	пв
62	Козацький	Україна	+	фж
63	Командор	Україна	-	пв
64	Командор'	Україна	-	пв
65	Лука	Україна	+	-
66	Лука'	Україна	+	-
67	Медікум 46	Україна	-	-
68	Модерн	Україна	+	фж
69	Модерн (Київ)	Україна	+	фж
70	Незалежний	Україна	+	-
71	Нутанс 106	Україна	+	-
72	Нутанс 244	Україна	+	-
73	Нутанс 518	Україна	-	-
74	Нутанс 778	Україна	+	-
75	Оболонь	Україна	+	-
76	Одеський 100	Україна	+/-	-
77	Одеський 111	Україна	+/-	-
78	Одеський 115	Україна	+	-
79	Одеський 131	Україна	+	-
80	Одеський 14	Україна	+	-
81	Одеський 151	Україна	+	-
82	Одеський 18	Україна	+	-
83	Одеський 36	Україна	+	-
84	Одеський 69	Україна	+/-	-
85	Одеський 70	Україна	+	-
86	Одеський 82	Україна	+	-
87	Одеський 9	Україна	+	-
88	Палідум 107	Україна	+	-
89	Палідум 32	Україна	-	-
90	Первенець	Україна	+	-
91	Переможний	Україна	+	-
92	Південний	Україна	+	пв
93	Прерія	Україна	+	-
94	Престиж	Україна	+	-
95	Романтик	Україна	+	-
96	Рось	Україна	+	-
97	Святогор	Україна	-	пв
98	Святогор'	Україна	-	пв
99	Селеніт	Україна	+	пв
100	Славутич	Україна	+	-
101	Сталкер	Україна	+	фж

№	Зразок	Країна походження	SE (ген HvITR1)*	Потенційне використання відповідно до Держреєстру [9]
102	Степовий	Україна	+	-
103	Тайфун	Україна	+	-
104	Хадар	Україна	+	фж
105	Чарівний	Україна	+	-
106	Чорноморець	Україна	+/-	-
107	Чудовий	Україна	+	-
108	Южный	Україна	+	-
109	Юкатан	Україна	+	пв

Примітка: \* — у колонці «SE»: «+» — SE+ve; «-» — SE-ve; «+/-» — наявні обидва алелі. ПЛР-тестування проведено принаймні двічі.

\*\* — у колонці «Зразок» місто походження матеріалу для зразків №№7 і 69 — Київ, для решти зразків — Одеса.

\*\*\* — у колонці «Країна походження»: «н/в» — не визначено;

у колонці «Потенційне використання»: «пв» — пивоварний, «фж» — фуражний.

час зберігання навіть за умов, якщо всі інші показники пивоварної якості зразка ячменю в нормі. За добору пар для схрещування з метою селекції сортів пивоварного ячменю важливо, щоб обидві батьківські форми (або принаймні одна з них) містили алель SE-ve. Присутність алеля SE+ve не є бажа-

ною у сортів ячменю харчового та кормового напрямів використання зерна, оскільки СМЕ-протеїн належить до класу інгібіторів трипсину/ $\alpha$ -амілази, які є ключовими ензимами травного тракту кишечника людини і тварин.

## REFERENCES

1. Paz-Ares J., Hernandez-Lucas C., Salcedo G., Aragoncillo C., Ponz F., Garcia-Olmedo F. The CM-proteins from cereal endosperm: immunochemical relationships. *J. Exp. Bot.* 1983, 34(4), 388–395.
2. Ye L., Huang L., Huang Y., Wu D., Hu H., Li C., Zhang G. Haze activity of different barley trypsin inhibitors of the chloroform/methanol type (BTI-CMe). *Food Chem.* 2014, V. 165, P. 175–180.
3. Ye L., Dai F., Qiu L., Sun D., Zhang G. Allelic diversity of a beer haze active protein gene in cultivated and Tibetan wild barley and development of allelic specific markers. *J. Agric. Food Chem.* 2011, V. 59, P. 7218–7223.
4. Robinson L., Healy P., Stewart D., Eglinton J. K., Ford C. M., Evans D. E. The identification of a barley haze active protein that influences beer haze stability: the genetic basis of a barley malt haze active protein. *J. Cereal Sci.* 2007, V. 45, P. 335–342.
5. Murray M., Thompson W. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acids Res.* 1980, 8(19), 4321–4325.
6. Kim Y.-Y., Kim D.-Y., Shim D., Song W.-Y., Lee J., Schroeder J. I., Kim S., Moran N., Lee Y. Expression of the novel wheat gene TM20 confers enhanced cadmium tolerance to bakers' yeast. *J. Biol. Chem.* 2008, 283(23), 15893–15902.
7. Brody J., Kern S. History and principles of conductive media for standard DNA electrophoresis. *Anal. Biochem.* 2004, V. 333, P. 1–13.
8. Singhal H., Ren Y. R., Kern S. E. Improved DNA electrophoresis in conditions favoring polyborates and Lewis acid complexation. *PLoS One.* 2010, 5(6), e11318, 1–6.
9. State Register of Plant Varieties Suitable for Distribution in Ukraine in 2013. — Kyiv: Ukrainian Institute for Plant Variety Examination. 2013. P. 30–37.

**РАСПРОСТРАНЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА *HvITR1*, КОДИРУЮЩЕГО ИНГИБИТОР ТРИПСИНА CMe (BTI-CMe), СВЯЗАННЫЙ С КОЛЛОИДАЛЬНОЙ СТАБИЛЬНОСТЬЮ ПИВА, СРЕДИ ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ В УКРАИНЕ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ**

*А. И. Степаненко*<sup>1</sup>  
*Б. В. Моргун*<sup>1</sup>  
*Е. В. Степаненко*<sup>1</sup>  
*С. С. Полищук*<sup>2</sup>  
*О. И. Рыбалка*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт клеточной биологии  
и генетической инженерии  
НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Селекционно-генетический институт —  
Национальный центр семеноведения  
и сортоизучения НААН Украины, Одесса

*E-mail: molgen@icbge.org.ua*

Выполнен биотехнологический анализ современных сортов ячменя отечественной и зарубежной селекции для выявления ценных *SE-ve* генотипов. Идентификация аллельного состояния гена проведена у 109 сортов ячменя с помощью разработанных мультиплексных ПЦР для SNAP-системы молекулярных маркеров. Среди исследованных сортов аллель *SE+ve* обнаружен в 75 сортах ячменя, аллель *SE-ve* — у остальных сортов. Гетерогенными (+/-) оказались 6 образцов, в которых найдены оба аллеля: *SE+ve* и *SE-ve*. Полученные результаты по сравнению с данными Государственного реестра сортов растений, пригодных для распространения в Украине, показали, что 8 сортов, указанных как фуражные, несут аллель *SE+ve* и ни один из них не несет аллель *SE-ve*. Из 38 сортов, качество которых было определено как пригодное для пивоварения, 19 содержат аллель *SE+ve*, остальные — аллель *SE-ve*. Результаты проведенного анализа коллекции сортов ячменя по аллельному составу гена *HvITR1* имеют важное технологическое значение как для подбора пар для селекции сортов пивоваренного направления, элитных растений в селекционных популяциях, так и для объективной оценки партий зерна, предназначенных для изготовления качественных и стабильных при хранении напитков.

**Ключевые слова:** биотехнология ячменя, помутнение пива, CMe-протеин.

**DISTRIBUTION OF ALLELES OF *HvITR1* GENE ENCODING CMe (BTI-CMe) TRYPSIN INHIBITOR WHICH RELATED WITH COLLOIDAL STABILITY OF BEER AMONG BARLEY VARIETIES REGISTERED IN UKRAINE**

*A. I. Stepanenko*<sup>1</sup>  
*B. V. Morgun*<sup>1</sup>  
*O. V. Stepanenko*<sup>1</sup>  
*S. S. Polishchuk*<sup>2</sup>  
*O. I. Rybalka*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cell Biology and Genetic  
Engineering of the National Academy  
of Sciences of Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup>The Plant Breeding and Genetics Institute —  
National Center of Seed and Cultivar  
Investigation of the National Academy  
of Agricultural Sciences, Odesa, Ukraine

*E-mail: molgen@icbge.org.ua*

The biotechnological analysis of modern barley varieties of national and foreign origin for the presence of valuable *SE-ve* genotypes was done. Identification of the allelic status of the gene was performed among 109 barley samples using the developed multiplex PCR system for SNAP molecular markers. Among the studied varieties *SE+ve* allele was identified in 75 barley samples and the other contained *SE-ve* allele. 6 samples which revealed both alleles *SE+ve* and *SE-ve* were heterogeneous (+/-).

The obtained results were compared with the data of the State register of plant varieties suitable for dissemination in Ukraine and showed that 8 samples referred to as forage, contained *SE+ve* allele and none of them were *SE-ve* allele. Of 38 varieties, which quality was identified as suitable for brewing, 19 contained *SE+ve* allele, the rest — allele *SE-ve*. The results of performed analysis of the spring barley collection for allelic composition of *HvITR1* gene are of great practical importance as for the correct selection of mating pairs for malting breeding, for the selection of elite plants in breeding populations, or evaluation of barley seeds for beverage brewing purposes.

**Key words:** barley biotechnology, haze beer, CMe protein.