


Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Проблемы и возможности изучения пивоваренных признаков ячменя с использованием молекулярно-генетических подходов

Н.В. Трубачеева , Л.А. Першина

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия
 natas@bionet.nsc.ru


Аннотация. Около одной трети урожая выращиваемого в мире ячменя используется для переработки в солод для обеспечения нужд пивоваренной промышленности. В связи с этим изучение генетической основы пивоваренных признаков и селекция пивоваренных сортов ячменя, адаптивных к условиям их произрастания, актуальны как во всем мире, так и в Российской Федерации, где преобладают выращивание и использование зарубежных солодовых сортов ячменя. К основным параметрам качества солода (искусственно пророщенного и высушенного зерна ячменя) относятся: экстрактивность, диастатическая сила, индекс Кольбаха, вязкость, содержание в зерне белка, β -глюкана, свободного аминного азота и растворимого белка. Большинство этих компонентов находится под контролем локусов количественных признаков (quantitative trait loci, QTL) и подвержено влиянию условий среды, что осложняет их изучение и точную локализацию. Кроме того, фенотипическая оценка пивоваренных признаков – трудоемкий и дорогостоящий процесс. В настоящее время известно более 200 QTL, связанных с пивоваренными параметрами, выявленных с привлечением двуродительских картирующих популяций. Молекулярные маркеры широко применяются как для картирования QTL-локусов, ответственных за пивоваренные качества, так и для выполнения работ по маркер-опосредованной селекции (МОС), что в комбинации с традиционными селекционными подходами дает возможность создавать эффективные стратегии, направленные на ускорение процесса получения новых перспективных генотипов. Тем не менее МОС пивоваренных признаков сталкивается с рядом трудностей, таких как невысокая точность локализации QTL-локусов, их неэффективность при переносе в другую генотипическую среду, сцепленность с нежелательными признаками, что обуславливает необходимость валидации QTL и сцепленных с ними молекулярных маркеров. В обзоре приведены результаты работ по использованию МОС для улучшения пивоваренных качеств ячменя, а также рассматриваются исследования по поиску ассоциаций между генотипом и фенотипом, выполненные с помощью ПГАА-анализа (полногеномный поиск ассоциаций) на основе последних достижений в области высокопроизводительного генотипирования (diversity array technology, DArT и single-nucleotide polymorphism, SNP маркеры).

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*; пивоваренный ячмень; QTL; маркер-опосредованная селекция, полногеномный поиск ассоциаций.

Для цитирования: Трубачеева Н.В., Першина Л.А. Проблемы и возможности изучения пивоваренных признаков ячменя с использованием молекулярно-генетических подходов. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(2): 171-177. DOI 10.18699/VJ21.021

Problems and possibilities of studying malting quality in barley using molecular genetic approaches

N.V. Trubacheeva , L.A. Pershina

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kurchatov Genomics Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia
 natas@bionet.nsc.ru

Abstract. About one-third of the world's barley crop is used for malt production to meet the needs of the brewing industry. In this regard, the study of the genetic basis of malting quality traits and the breeding of malting barley varieties that are adaptive to their growing conditions are relevant throughout the world, particularly in the Russian Federation, where the cultivation and use of foreign malting varieties of barley prevails. The main parameters of malting quality (artificially germinated and dried barley grains) are malt extract, diastatic power, Kolbach index, viscosity, grain protein, wort β -glucan, free amino nitrogen, and soluble protein content. Most of these components are under the control of quantitative trait loci (QTLs) and are affected by environmental conditions, which complicates their study and precise localization. In addition, the phenotypic assessment of malting quality traits requires elaborate, expensive phenotypic analyses. Currently, there are more than 200 QTLs associated with malting parameters, which were identified using biparental mapping populations. Molecular markers are widely used both for mapping QTL loci responsible for malting quality traits and for performing marker-assisted selection (MAS), which, in combination with conventional breeding, makes it possible to create effective

strategies aimed at accelerating the process of obtaining new promising genotypes. Nevertheless, the MAS of malting quality traits faces a series of difficulties, such as the low accuracy of localization of QTLs, their ineffectiveness when transferred to another genetic background, and linkage with undesirable traits, which makes it necessary to validate QTLs and the molecular markers linked to them. This review presents the results of studies that used MAS to improve the malting quality of barley, and it also considers studies that searched for associations between genotype and phenotype, carried out using GWAS (genome-wide association study) approaches based on the latest achievements of high-throughput genotyping (diversity array technology (DArT) and single-nucleotide polymorphism markers (SNPs)).

Key words: *Hordeum vulgare*; malting barley; QTL; marker-assisted selection; genome-wide association studies.

For citation: Trubacheeva N.V., Pershina L.A. Problems and possibilities of studying malting quality in barley using molecular genetic approaches. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(2):171-177. DOI 10.18699/VJ21.021

Введение

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) занимает четвертое место в мире по производству зерна после пшеницы, риса и кукурузы и используется для производства кормов, продуктов питания, а около 30 % зерна – для промышленной переработки в солод, большая часть которого применяется для пивоварения (Newton et al., 2011; Bond et al., 2015; <http://www.fao.org/faostat/ru/>).

Солод – это частично пророщенное зерно, у которого в процессе прорастания происходит образование гидролитических ферментов, расщепляющих крахмал в сбраживаемые сахара. Количество и состав появившихся при соложении ингредиентов (низкомолекулярных сахаров, аминокислот, жирных кислот, и ферментов) влияют на качество солода (Bamforth, 2009). Качество солода в основном определяется оптимальными значениями его экстрактивности (суммы растворенных веществ, которые при затирании переходят в раствор, определяемый при измерении его относительной плотности); диастатической силы (способность ферментов гидролизовать крахмал до простых сахаров); вязкости, отражающей растворимость и скорость фильтрации солодового суслеа; содержания β -глюкана в сусле; индекса Кольбаха, выражающего растворимость солодового белка в пивном сусле; содержания свободного аминокислота, растворимого белка и белка в зерне (Меледина и др., 2013; Cu et al., 2016). При этом необходимо, чтобы зерно было подходящего пивоваренного сорта, обладало высокой прорастающей способностью и энергией, чувствительностью к водопоглощению, не имело примесей, не содержало микробных или химических загрязнителей (Stanca et al., 2016).

Актуальным является направление селекции, ориентированное на получение сортов ячменя с высокими пивоваренными качествами и повышенной урожайностью (Li et al., 2009; Николаев и др., 2017). Соблюдение баланса между этими двумя параметрами – одна из серьезных проблем, поскольку высокая урожайность, часто зависящая от применения азотных удобрений, ассоциирована с высоким содержанием белка и β -глюкана, что нежелательно для получения высококачественного солода (Chen et al., 2006). С точки зрения селекции не существует единого стандарта ячменя, который универсально подходил бы для описания пивоваренного сорта. В свое время указывалось, что для пивоварения во всем мире использовали двурядные сорта ячменя, кроме США и Мексики, где предпочитали шестирядные сорта (Riggs, Kirby, 1978). Лучшие пивоваренные сорта – яровые, однако из-за обеднения генетического разнообразия среди них (Laidò et

al., 2009; Меледина и др., 2013), а также изменения климата возрос интерес к озимым сортам, в связи с чем пивоваренные ассоциации Европы и США включили их в ряд рекомендованных сортов (<http://www.ukmalt.com/press-release-update-november-2019>; <https://ambainc.org/amba-publications/recommended-malting-barley-varieties/>).

По производству ячменя и занятым под этой культурой площадям первое место в мире занимает Российская Федерация (Сортовые ресурсы..., 2010; <http://www.fao.org/faostat/ru/>). Однако особого развития селекция пивоваренного ячменя в России не получила, в результате чего 80–90 % солода производят или из импортируемого сырья, или при выращивании солодовых сортов зарубежной селекции (Гончаров, Мордовин, 2019). Селекция и возделывание российских сортов пивоваренного ячменя ведутся как в европейской части страны, так и в Западной Сибири и на Алтае (Сурин и др., 2014; Аниськов и др., 2016; Николаев и др., 2017; Мусалитин и др., 2019). Ввиду жестких стандартов со стороны пивоваренной промышленности и различий климатических условий в регионах Российской Федерации создание собственной сырьевой базы пивоваренного ячменя сталкивается с существенными трудностями (Сурин и др., 2014; Мусалитин и др., 2019). Как правило, импортные сорта обладают хорошими технологическими характеристиками, отвечающими требованиям современного пивоваренного производства, однако при выращивании их в российских регионах показатели произведенного из них солода и пива чаще всего не достигают заявленных характеристик (Аниськов и др., 2016; Николаев и др., 2017). Поэтому получение конкурентоспособных отечественных сортов пивоваренного ячменя, сочетающих в себе адаптивность к условиям выращивания с оптимальными технологическими параметрами, является актуальной задачей.

Пивоваренные качества ячменя относятся к сложным количественным признакам и имеют полигенный контроль (Fox et al., 2003), в связи с чем изучение их с применением традиционных методов анализа затруднено. Привлечение молекулярных маркеров позволяет значительно расширить возможности по хромосомной локализации генов и локусов количественных признаков (QTL – quantitative trait loci), детерминирующих признаки качества солода, и обеспечить селекционный процесс эффективным инструментом для ускоренного и направленного отбора растений (маркер-опосредованная селекция) (Han et al., 1997).

В этом обзоре рассматриваются и обсуждаются основные проблемы, связанные с молекулярно-генетическим картированием пивоваренных признаков, и результаты ис-

пользования современных технологий высокопроизводительного генотипирования для прикладных исследований по созданию селекционного материала с улучшенными пивоваренными свойствами.

Особенности генетического контроля пивоваренных признаков

Фенотип, определяющий пивоваренное качество ячменя, представляет собой результат взаимодействия большого количества параметров, каждый из которых имеет сложную генетическую основу (Molina-Cano et al., 1997; Fox et al., 2003). Большинство из них относятся к количественным признакам с относительно низким уровнем наследуемости, которые контролируются множеством генов (Fox et al., 2003). Например, значения наследуемости для экстрактивности, оцениваемые в F_2 и F_3 с помощью различных методов и в разных популяциях, варьировали от 8 до 70 %, а наследуемость активности α -амилазы у растений F_2 и F_3 варьировала от 37 до 65 % и от 39 до 74 % соответственно (Foster et al., 1967). Кроме того, проявление количественных признаков зачастую зависит от условий выращивания, таких как состав почвы, температура, полив и применение удобрений (Qi et al., 2005), взаимодействие генотип \times среда (Coles et al., 1991), методов проведения лабораторного анализа (Cullis et al., 2003) и сложных взаимоотношений между компонентами, определяющими признаки качества солода. Все эти аспекты обуславливают сложности для точной локализации QTL, контролирующих пивоваренные качества.

В некоторых исследованиях QTL для определенных пивоваренных качеств были обнаружены в различных районах генома, что связано с влиянием разных генотипов, задействованных в скрещивании популяций, и/или влиянием взаимодействий генотип \times среда. Например, QTL, контролирующие содержание солодового экстракта, были идентифицированы на хромосомах 1Н и 2Н в популяциях, полученных от двух североамериканских сортов (Marquez-Cedillo et al., 2000), и на хромосомах 1Н и 5Н в популяциях из австралийских и канадских сортов (Collins et al., 2003). Даже при одной и той же популяции (Blenheim \times E224/3) QTL-локусы для солодового экстракта на хромосоме 2Н разные исследователи обнаружили в разном количестве и на разных позициях (Thomas et al., 1996; Powell et al., 1997). Поэтому возникает необходимость валидации QTL с использованием разных картирующих популяций, выращенных в различающихся условиях, для возможности оценки взаимодействия QTL со средой (Panozzo et al., 2007; Elía et al., 2010).

Тем не менее QTL-анализ на основе двуродительских картирующих популяций получил широкое распространение для идентификации и локализации QTL-локусов (Marquez-Cedillo et al., 2000; Collins et al., 2003; Edney, Mather, 2004; Emebiri et al., 2005; Panozzo et al., 2007; Rae et al., 2007). Гены или QTL, контролирующие пивоваренные признаки, были идентифицированы на всех семи хромосомах ячменя, но большинство из них выявлены на хромосомах 1Н, 4Н, 5Н и 7Н (Schmalenbach, Pillen, 2009; Wang et al., 2015). Значительная часть исследований, посвященных изучению QTL, ответственных за пивоваренные качества, выполнена на основе данных

генотипирования, полученных с применением различных молекулярных маркеров (Han et al., 1997; Mather et al., 1997; Coventry et al., 2003; Panozzo et al., 2007; Rae et al., 2007; Schmalenbach, Pillen, 2009; Szűcs et al., 2009; Castro et al., 2013). Кроме того, база маркеров ячменя значительно расширилась с развитием методов детекции однонуклеотидного полиморфизма (SNP, single-nucleotide polymorphism) на основе технологии Illumina GoldenGate, что обеспечило возможность доступа к тысячам аллелей и привело к созданию высоконасыщенной консенсусной карты ячменя с 2943 локусами SNP (Close et al., 2009). Информация об этих SNP была скомбинирована с другими генетическими маркерами, такими как RFLP, AFLP, SSR и DArT, в объединенной базе пивоваренных QTL ячменя (Szűcs et al., 2009). Была составлена карта, насчитывающая 154 QTL, ассоциированных с 18 пивоваренными признаками, локализованных на всех хромосомах ячменя.

Известно не менее 268 пивоваренных QTL/генов, найденных в более чем 20 картирующих популяциях (Hayes et al., 2000; Zale et al., 2000; Fang et al., 2019). Однако результаты этих исследований сложно применять напрямую в селекции по многим причинам. Например, большинство картирующих популяций не включают генотипы, используемые для получения новых сортов; QTL могут быть специфичны для определенной популяции; желательные для пивоваренного качества аллели могут быть зафиксированы только в конкретных генотипах; некоторые QTL могут иметь низкую точность локализации из-за малого размера картирующих популяций (Sneller et al., 2009). Особая проблема для селекции – то, что QTL, идентифицированные в картирующих популяциях, могут не сегрегировать в селекционных популяциях, как, например, QTL для пивоваренных качеств на хромосомах 4Н и 7Н ячменя (Condon et al., 2008). Вследствие этого подчеркивается, что использование для картирования местных селекционных линий может быть более эффективным для выявления QTL, адекватных конкретным условиям выращивания и целям селекции (Pozniak et al., 2012).

Использование маркер-ориентированной селекции для улучшения пивоваренных качеств

Маркер-ориентированная селекция (МОС) ячменя представляет особый интерес в плане получения генотипов с хорошими пивоваренными свойствами, так как фенотипическая оценка качества солода с задействованием лабораторного оборудования – дорогостоящий процесс, требует больших объемов зерна. Эти признаки находятся под влиянием взаимодействия генотипа со средой. Молекулярные маркеры для оценки пивоваренных качеств могут обеспечить быстрый отбор растений на ранних этапах селекционных исследований и изучение популяций большого размера, тем самым увеличивая вероятность обнаружения желаемых генетических комбинаций (Igarua et al., 2000).

Для количественных признаков, к которым относятся пивоваренные, МОС имеет два основных ограничения. Во-первых, по сравнению с моногенными признаками, количественные признаки характеризуются низкой наследуемостью, что влечет за собой менее точную оценку

их генетической локализации. В результате возникает необходимость отбора большого фрагмента хромосомы, что сопряжено с переносом многих потенциально нежелательных генов. Во-вторых, многие из аллелей QTL трудно обнаружить при переносе в другую генотипическую среду (Rae et al., 2007). Большинство исследований по картированию QTL, отвечающих за качество солода, были основаны на скрещивании родителей, контрастных по пивоваренным качествам, например, пивоваренный сорт × кормовой сорт, что идет вразрез с общепринятой практикой селекции пивоваренного ячменя, в которой обычно не используют кормовые генотипы. В связи с этим локусы количественных признаков, ответственные за пивоваренные качества, перед использованием в МОС должны быть проверены в селекционных программах. Кроме того, некоторые из идентифицированных QTL нельзя применять для МОС, поскольку они ассоциированы не только с целевыми, но и с нежелательными признаками. Так, один из таких QTL обнаружен на длинном плече хромосомы 3Н и ассоциирован не только с увеличением силы диастаза, но и с повышением вязкости сула (Panozzo et al., 2007).

Одним из успешных примеров улучшения пивоваренных качеств с использованием МОС служат работы, связанные с ферментом β-амилазой, которая в основном определяет силу диастаза (Zhang et al., 2007). Локус *Bmy1* на хромосоме 4Н контролирует активность β-амилазы, соотношение свободного/связанного фермента и термостабильность, а его аллели – различные изоферментные типы. Были разработаны ПЦР-маркеры, позволяющие проводить отбор различных аллелей β-амилазы, что дает возможность использовать эти маркеры в МОС в зависимости от потребностей пивоварения (Erkkilä, 1999). Например, в случае необходимости высокой диастатической силы и ферментативной активности нужно проводить отбор аллелей *Sd2-H* и *Sd3*. С помощью молекулярных маркеров и дигаплоидной технологии был осуществлен перенос аллеля *Bmy1-Sd3* от *Hordeum spontaneum* L. в два коммерческих сорта культурного ячменя. В результате активность β-амилазы и диастатическая сила у этих сортов увеличились в среднем на 30 % (Li et al., 2004). Использование CAPS-маркера позволило перенести аллель *Sd3* термостабильной β-амилазы от дикорастущего ячменя *H. spontaneum* в коммерческий сорт Gairdner и получить элитные линии с высокими пивоваренными качествами (Xu et al., 2018). Описание маркеров, использованных в работах, посвященных МОС пивоваренных признаков ячменя, приведено в Приложении¹.

Культурный ячмень содержит две изоформы фермента липоксигеназы, которая окисляет ненасыщенные жирные кислоты в соответствующие гидроксипероксиды. Одна из изоформ – LOX1 – способствует синтезу веществ, ухудшающих вкусовую стабильность пива (Hirota et al., 2006). Установлено, что этот признак кодируется локусом на хромосоме 4Н, а отсутствие данного белка вызвано однонуклеотидной мутацией. Применение CAPS-маркера для отбора мутантов, лишенных изофермента LOX1, позволило создать новые селекционные линии за три года, хотя обычно для этого требуется около десяти лет. Обнаружено,

что в пиве, приготовленном с использованием ячменя, не имеющего LOX1 (null-Lox сорта), содержание веществ, вызывающих застарелый вкус из-за окисления, было снижено на 75 % по сравнению с пивом, приготовленным из обычного ячменного солода (Hirota et al., 2005). Один из показателей качества пива – стабильность пивной пены, которая зависит от совместного действия различных белков, изо-альфа-кислот, полисахаридов и ионов металлов, содержащихся в пиве. Для отбора гаплотипов белков Z4 и Z7, ассоциированных с качеством пивной пены, были разработаны CAPS-маркеры и показана их эффективность при анализе 23 сортов пивоваренного ячменя (Iimure et al., 2011).

Представлена возможность использования МОС для отбора популяций с улучшенными пивоваренными качествами (Coventry et al., 2003). Например, было выявлено, что линии, несущие аллель, сцепленный с SSR-маркером EVmac501 на хромосоме 1Н, характеризуются повышенными, по сравнению с другими линиями, значениями диастатической силы, β- и α-амилазы. Кроме того, этот маркерный локус ассоциирован с повышенным содержанием солодового экстракта, поэтому рассматривается как перспективный для применения в МОС (Collins et al., 2003). Использование МОС для отбора растений, несущих целевые пивоваренные признаки, позволило создать перспективные селекционные линии при скрещивании кормового ячменя сорта Keel с тремя сортами-донорами, имевшими высокие показатели пивоваренного качества (Vassos et al., 2004). F. Nan с коллегами (1997) провели сравнение эффективности селекции пивоваренных качеств с помощью фенотипического подхода и маркер-ассоциированной селекции с применением молекулярных маркеров, фланкирующих районы генома QTL1 и QTL2, ответственные за процент солодового экстракта, активность α-амилазы, силу диастаза и содержание β-глюкана в солоде. Установлено, что для QTL1 подход, основанный на комбинации МОС и оценки фенотипа, более эффективен, чем просто отбор по фенотипу, сопряженный с трудоемкими и дорогостоящими методами оценки компонентов солода. Процесс отбора желаемых генотипов может быть значительно облегчен с помощью ПЦР-маркеров, в связи с чем ряд RFLP-маркеров для пивоваренных QTL был конвертирован в ПЦР-маркеры (Lee, Penner, 1997).

Известны также другие примеры использования МОС для работы с QTL, ассоциированными с пивоваренными признаками. Так, с помощью молекулярных маркеров была подтверждена локализация на хромосоме 5Н двух QTL, влияющих на пивоваренные качества. В дальнейшем отбор генотипов, несущих аллели от пивоваренного сорта Harrington, позволил получить дигаплоидные линии с улучшенными пивоваренными характеристиками, такими как низкое значение β-глюкана и содержание белка в зерне, высокая сила диастаза и солодового экстракта (Igartua et al., 2000). Применение ПЦР-маркеров к району QTL на хромосоме 5Н, влияющему на активность α-амилазы, дало возможность интрогрессировать этот признак от сорта пивоваренного ячменя Mogex в кормовой ячмень Labelle (Ayoub et al., 2003). Это исследование показало, что МОС можно успешно привлекать для работы с QTL в популяциях, где только один из родителей (сорт

¹ Приложение см. по адресу:
<http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2021-25/appx4.pdf>

Могех) использован для первоначальной идентификации и картирования QTL. Посредством SSR-маркеров была осуществлена интрогрессия QTL-районов, ответственных за содержание белка, показатели солодового экстракта и вязкости, от озимого сорта пивоваренного ячменя Nuge в дигаметоидную популяцию, полученную от скрещивания Nuge с яровым сортом Tremois (Laidò et al., 2009). Были созданы SSR-маркеры, фланкирующие QTL-локусы на хромосомах 2Н, 6Н и 7Н, имеющие значительный эффект на содержание белка, которые, по мнению авторов, могут быть полезными при создании сортов с высоким содержанием белка (Fan et al., 2017). В работе с популяциями, полученными при скрещивании элитных пивоваренных сортов ячменя, было проведено картирование QTL-локусов, ответственных за пивоваренные качества, и определены два SSR-маркера, перспективных для использования в МОС (Panozzo et al., 2007).

Полногеномный анализ ассоциаций как перспектива развития молекулярной селекции пивоваренных качеств

С появлением более экономичных высокопроизводительных платформ генотипирования, таких как Diversity Array Technology (DArT) (Wenzl et al., 2004) и Illumina's GoldenGate Assay (Close et al., 2009), и усовершенствованием методов статистического анализа и компьютерных программ полногеномный анализ ассоциаций – ПГАА (genome-wide association studies, GWAS) – стал многообещающей альтернативой традиционному QTL-анализу двуродительских популяций для обнаружения и точного картирования локусов количественных признаков. К преимуществам этого метода относятся более широкий охват генетического разнообразия популяции, т. е. одновременного изучения большого числа аллелей, высокая разрешающая способность картирования, вплоть до установления полиморфизма единичного нуклеотида, и сокращение времени исследования из-за отсутствия необходимости создавать картирующую популяцию (Rafalski, 2010).

Для эффективного применения имеющихся технологий рядом исследователей при выполнении ПГАА были использованы сведения, полученные в ходе длительных селекционных испытаний, что существенно снижает стоимость генетических исследований. Например, были скомбинированы данные по пивоваренным качествам из 97 селекционных испытаний, проведенных на 1862 линиях, с результатами применения 3072 SNP-маркеров для ассоциативного картирования. Выявлено, что этот подход обеспечивает повышенную точность для идентификации QTL, связанных с пивоваренными качествами, по сравнению с предыдущими исследованиями по картированию (Mohammadi et al., 2014). Кроме того, метод ПГАА позволяет идентифицировать гораздо большее количество молекулярных маркеров по сравнению с традиционным QTL-картированием (Cai et al., 2013). В другом исследовании были использованы данные о фенотипических проявлениях 18 пивоваренных признаков, накопленные за 25 лет для 174 европейских сортов ячменя, при изучении ПГАА с применением DArT-маркеров.

Помимо подтверждения уже известных QTL на хромосомах 1Н, 2Н и 5Н, были обнаружены новые ассоциации,

например маркеры, сцепленные с индексом пивоваренного качества и вязкости (Matthies et al., 2014). Коллекция из 91 элитной линии ячменя была проанализирована с помощью ПГАА с целью поиска DArT-маркеров, ассоциированных с семью пивоваренными качествами, определено 19 предполагаемых маркерных экспрессирующихся последовательностей, ответственных за ассоциации маркер-признак (Beattie et al., 2010). Изучение коллекции из 224 яровых генотипов ячменя с использованием 1536 SNP позволило обнаружить 57 новых QTL, ответственных за хозяйственно ценные признаки, в том числе содержание крахмала и белка в зерне (Pasam et al., 2012). Таким образом, установленные в рассмотренных исследованиях ассоциации между генотипом и фенотипом могут быть полезными для отбора родительских генотипов, несущих желаемые аллели, с целью моделирования будущих селекционных исследований, хотя полученные результаты нуждаются в валидации в полевых условиях.

Закключение

Пивоваренное качество ячменя – результат сложного взаимодействия различных компонентов, контролируемых множеством генов. В связи с этим отбор по фенотипическим признакам является трудоемким и дорогостоящим процессом. Маркер-опосредованная селекция пивоваренных признаков представляет собой эффективную альтернативу или дополнение к традиционному подходу, однако требует детальной информации о генетической структуре генов/QTL, отвечающих за целевые признаки. Анализ QTL широко используется для хромосомной локализации хозяйственно ценных признаков и выявления молекулярных маркеров. К настоящему времени идентифицировано большое число QTL, контролирующих пивоваренные признаки, а применение ассоциированных с ними молекулярных маркеров и современных достижений, полученных в области высоко разрешающего генотипирования, дает возможность проводить эффективный отбор желаемых генотипов для селекции сортов ячменя с высокими пивоваренными качествами.

Список литературы / References

- Аниськов Н.И., Николаев П.Н., Поползухин П.В., Сафонова И.В., Братцева Л.И. Новый среднеспелый сорт ярового пивоваренного ячменя Омский 100. *Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та*. 2016; 4(138):14-19.
- [Anis'kov N.I., Nikolaev P.N., Popolzukhin P.V., Safonova I.V., Bratseva L.I. A new middle-ripening spring malting barley variety Omskiy 100. *Vestnik Altayskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2016; 4(138):14-19. (in Russian)]
- Гончаров С.В., Мордовин А.Н. Пивоваренный ячмень – драйвер интенсификации. В: Биологизация земледелия: перспективы и реальные возможности: Сб. статей междунар. науч.-практ. конф. Воронеж, 2019;116-125.
- [Goncharov S.V., Mordovin A.N. Malting barley is a driver of intensification. In: *Biologization of Agriculture: Prospects and Real Opportunities*. Voronezh, 2019;116-125. (in Russian)]
- Меледина Т.В., Прохорчик И.П., Кузнецова Л.И. Биохимические процессы при производстве солода: Уч. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013.
- [Meledina T.V., Prokhorchik I.P., Kuznetsova L.I. *Biochemical Processes in Malt Production*. St. Petersburg, 2013. (in Russian)]

- Мусалитин Г.М., Борадулина В.А., Кузикеев Ж.В. Ячмень в Алтайском крае и итоги селекции. *Вестн. Бурят. гос. с.-х. акад. им. В.П. Филиппова*. 2019;2(55):29-34.
[Musalitin G.M., Boradulina V.A., Kuzikeev Zh.V. Barley in the Altai region and the results of breeding. *Vestnik Buryatskoy Gosudarstvennoy Sel'skokhozyaystvennoy Akademii im. V.R. Filippova = Bulletin of the Filippov Buryat State Agricultural Academy*. 2019; 2(55):29-34. (in Russian)]
- Николаев П.Н., Поползухин П.В., Аниськов Н.И., Юсова О.А., Сафонова И.В. Агробиологическая характеристика пивоваренного сорта ярового ячменя Омский 100. *Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции*. 2017;178(4):90-99. DOI 10.30901/2227-8834-2017-4-90-99.
[Nikolaev P.N., Popolzhukhin P.V., Aniskov N.I., Yusova O.A., Safonova I.V. Agrobiological characteristics of the malting spring barley cultivar Omskiy 100. *Trudy po Prikladnoy Botanike, Genetike i Selekcii = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2017;178(4):90-99. DOI 10.30901/2227-8834-2017-4-90-99. (in Russian)]
- Сортовые ресурсы зернофуражных культур Нечерноземной зоны России (каталог). Екатеринбург: ГНУ Уральский НИИСХ, 2010. [Varietal Resources of Grain Fodder Crops in the Nonchernozem Zone of Russia (Catalog). Yekaterinburg: GNU Ural Research Institute of Agriculture Publ., 2010. (in Russian)]
- Сурин Н.А., Зобова Н.В., Ляхова Н.Е. Генетический потенциал и селекционная значимость ячменя в Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(2):378-386.
[Surin N.A., Zobova N.V., Lyahova N.E. The genetic potential of barley in Siberia and its importance for breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(2):378-386. (in Russian)]
- Ayoub M., Armstrong E., Bridger G., Fortin M.G., Mather D.E. Marker-based selection in barley for a QTL region affecting alpha amylase activity of malt. *Crop Sci*. 2003;43:556-561.
- Bamforth C.W. Current perspectives on the role of enzymes in brewing. *J. Cereal Sci*. 2009;50:353-357. DOI 10.1016/j.jcs.2009.03.001.
- Beattie A.D., Edney M.J., Scoles G.J., Rosnagel B.G. Association mapping of malting quality data from western Canadian two-row barley cooperative trials. *Crop Sci*. 2010;50(5):1649. DOI 10.2135/cropsci2009.06.0334.
- Bond J., Capelhart T., Allen E., Kim G. Boutique Brews, Barley, and the Balance Sheet: Changes in Malt Barley Industrial Use Require an Updated Forecasting Approach. Washington, DC: Economic Research Division, United States Department of Agriculture, 2015:18-23.
- Cai S., Yu G., Chen X., Huang Y.C., Jiang X.G., Zhang G.P., Jin X. Grain protein content variation and its association analysis in barley. *BMC Plant Biol*. 2013;13(35). DOI 10.1186/1471-2229-13-35.
- Castro A., Cammarota L., Gomez B., Gutierrez L., Hayes P.M., Locatelli A., Motta L., Pieroni S. Genome-wide association mapping of malting quality traits in relevant barley germplasm in Uruguay. In: Zhang G., Li C., Liu X. (Eds.). *Advances in Barley Sciences*. New York: Springer, 2013;37-46. DOI 10.1007/978-94-007-4682-4_3.
- Chen J., Dai F., Wei K., Zhang G. Relationship between malt qualities and β -amylase activity and protein content as affected by timing of nitrogen fertilizer application. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2006;7: 79-84. DOI 10.1631/jzus.2006.B0079.
- Close T.J., Bhat P.R., Lonardi S., Wu Y., Rostoks N., Ramsay L., Druka A., Stein N., Svensson J.T., Wanamaker S., Bozdag S., Roose M.L., Moscou M.J., Chao S., Varshney R.K., Szucs P., Sato K., Hayes P.M., Matthews D.E., Kleinhofs A., Muehlbauer G.J., DeYoung J., Marshall D.F., Madishetty K., Fenton R.D., Condamine P., Graner A., Waugh R. Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics*. 2009; 10:582. DOI 10.1186/1471-2164-10-582.
- Coles G.D., Jamieson P.D., Haslemore R.M. Effect of moisture stress on malting quality in triumph barley. *J. Cereal Sci*. 1991;14:161-177. DOI 10.1016/S0733-5210.
- Collins H.M., Panozzo J.F., Logue S.J., Jefferies S.P., Barr A.R. Mapping and validation of chromosome regions associated with high malt extract in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Aust. J. Agric. Res*. 2003;54:1223-1240. DOI 10.1071/AR02201.
- Condon F., Gustus C., Rasmusson D., Smith K. Effect of advanced cycle breeding on genetic diversity in barley breeding germplasm. *Crop Sci*. 2008;48:1027-1036. DOI 10.2135/cropsci2007.07.0415.
- Coventry S.J., Collins H.M., Barr A.R., Jefferies S.P., Chalmers K.J., Logue S.J., Langridge P. Use of putative QTLs and structural genes in marker assisted selection for diastatic power in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). *Aust. J. Agric. Res*. 2003;54:1241-1250. DOI 10.1071/AR02193.
- Cu S.T., March T.J., Stewart S., Degner S., Coventry S., Box A., Stewart D., Skadhauge B., Burton R.A., Fincher G.B., Eglinton J. Genetic analysis of grain and malt quality in an elite barley population. *Mol. Breed*. 2016;36:129. DOI 10.1007/s11032-016-0554-z.
- Cullis B.R., Smith A.B., Panozzo J.F., Lim P. Barley malting quality: are we selecting the best? *Aust. J. Agric. Res*. 2003;54:1261-1275. DOI 10.1071/AR02195.
- Edney M.J., Mather D.E. Quantitative trait loci affecting germination traits and malt friability in a two-rowed by six rowed barley cross. *J. Cereal Sci*. 2004;39:283-290. DOI 10.1016/j.jcs.2003.10.008.
- Elía M., Swanston J.S., Moralejo M., Casas A., Pérez-Vendrell A.M., Ciudad F.J., Thomas W.T.B., Smith P.L., Ullrich S.E., Molina-Cano J.-L. A model of the genetic differences in malting quality between European and north American barley cultivars based on a QTL study of the cross Triumph \times Morex. *Plant Breed*. 2010;129: 280-290. DOI 10.1111/j.1439-0523.2009.01694.x.
- Emebiri L.C., Moody D.B., Horsley R., Panozzo J., Read B.J. The genetic control of grain protein content variation in a doubled haploid population derived from a cross between Australian and north American two-rowed barley lines. *J. Cereal Sci*. 2005;41:107-114. DOI 10.1016/j.jcs.2004.08.012.
- Erkkilä M.J. Intron III-specific markers for screening of β -amylase alleles in barley cultivars. *Plant Mol. Biol. Rep*. 1999;17:139-147. DOI 10.1023/A:1007595821379.
- Fan C., Zhai H., Wang H., Yue Y., Zhang M., Li J., Wen S., Guo G., Zeng Y., Ni Z., You M. Identification of QTLs controlling grain protein concentration using a high-density SNP and SSR linkage map in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Plant Biol*. 2017;17(1):122. DOI 10.1186/s12870-017-1067-6.
- Fang Y., Zhang X., Xue D. Genetic analysis and molecular breeding applications of malting quality QTLs in barley. *Front. Genet*. 2019; 10:352. DOI 10.3389/fgene.2019.00352.
- Foster A.E., Peterson G.A., Banasik O.J. Heritability of factors affecting malting quality of barley. *Crop Sci*. 1967;7:611-613. DOI 10.2135/cropsci1967.0011183X000700060016x.
- Fox G.P., Panozzo J.F., Li C.D., Lance R.C.M., Inkerman P.A., Henry R.J. Molecular basis of barley quality. *Aust. J. Agric. Res*. 2003; 54:1081-1101. <https://doi.org/10.1071/AR02237>.
- Han F., Romagosa I., Ullrich S., Jones B., Hayes P., Wesenberg D. Molecular marker-assisted selection for malting quality traits in barley. *Mol. Breed*. 1997;3:427-437. DOI 10.1023/A:1009608312385.
- Hayes P., Castro A., Marquez-Cedillo L., Corey A., Henson C., Jones B., Kling J., Mather D., Matus I., Rossi C. A summary of published barley. *QTL Reports*. 2000. <http://www.barleyworld.org/northamericanbarley/qtlsummary.php>.
- Hirota N., Kaneko T., Kuroda H., Kaneda H., Takashio M., Ito K., Takeda K. Characterization of lipoxigenase-1 null mutants in barley. *Theor. Appl. Genet*. 2005;111(8):1580-1584. DOI 10.1007/s00122-005-0088-y.
- Hirota N., Kuroda H., Takoi K., Kaneko T., Kaneda H., Yoshida I., Takashio M., Ito K., Takeda K. Brewing performance of malted lipoxigenase-1 null barley and effect on the flavor stability of beer. *Cereal Chem*. 2006;83(3):250-254. DOI 10.1094/CC-83-0250.
- Igartua E., Edney M., Rosnagel B.G., Spaner D., Legge W.G., Scoles G.J., Eckstein P.E., Penner G.A., Tinker N.A., Briggs K.G., Falk D.E., Mather D.E. Marker-based selection of QTL affecting grain and malt quality in two-row barley. *Crop Sci*. 2000;40:1426-1433. DOI 10.2135/cropsci2000.4051426x.

- Imure T., Kihara M., Ichikawa S., Ito K., Takeda K., Sato K. Development of DNA markers associated with beer foam stability for barley breeding. *Theor. Appl. Genet.* 2011;122:199-210. DOI 10.1007/s00122-010-1436-0.
- Laidò G., Barabaschi D., Tondelli A., Gianinetti A., Stanca A.M., Li Destri Nicosia O., NDi F., Francia E., Pecchioni N. QTL alleles from a winter feed type can improve malting quality in barley. *Plant Breed.* 2009;128:598-605. DOI 10.1111/j.1439-0523.2009.01636.x.
- Lee S.J., Penner G.A. The conversion of RFLP markers to allele specific amplicons linked to QTLs governing malting quality in barley. *Mol. Breed.* 1997;3:457-462. DOI 10.1023/A:1009660921822.
- Li C.D., Cakir M., Lance R. Genetic improvement of malting quality through conventional breeding and marker-assisted selection. In: Zhang G., Li C. (Eds.). *Genetics and Improvement of Barley Malt Quality. Advanced Topics in Science and Technology in China.* Berlin; Heidelberg: Springer, 2009.
- Li C.D., Lance R., Tarr A., Broughton S., Harasymow S., Appels R., Jones M. Improvement of barley malting quality using a gene from *Hordeum spontaneum*. In: VI Int. Barley Genet. Symp. Brno, Czech Republic, 2004.
- Marquez-Cedillo L.A., Hayes P.M., Jones B.L., Kleinhofs A., Legge W.G., Rossnagel B.G., Sato K., Ullrich S.E., Wesenberg D.M. QTL analysis of malting quality in barley based on the doubled-haploid progeny of two elite north American cultivars representing different germplasm groups. *Theor. Appl. Genet.* 2000;101:173-184. DOI 10.1007/s001220051466.
- Mather D.E., Tinker N.A., LaBerge D.E., Edney M., Jones B.L., Rossnagel B.G., Legge W., Briggs K.G., Irvine R.G., Falk D.E., Kasha K.J. Regions of the genome that affect grain and malt quality in a north American two-row barley cross. *Crop Sci.* 1997;37:544-554. DOI 10.2135/cropsci1997.0011183X003700020039x.
- Matthies I.E., Malosetti M., Röder M.S., van Eeuwijk F. Genome-wide association mapping for kernel and malting quality traits using historical European barley records. *PLoS One.* 2014;9(11):e110046. DOI 10.1371/journal.pone.0110046.
- Mohammadi M., Endelman J.B., Nair S.S., Chao S., Jones S.S., Muehlbauer G.J., Ullrich S.E., Baik B.J., Wise M.L., Smith K.P. Association mapping of grain hardness, polyphenol oxidase, total phenolics, amylose content, and β -glucan in US barley breeding germplasm. *Mol. Breed.* 2014;34:1229-1243. DOI 10.1007/s11032-014-0112-5.
- Molina-Cano J., Francesch M., Perez-Vendrell A.M., Ramo T., Voltas J., Brufau J. Genetic and environmental variation in malting and feed quality of barley. *J. Cereal Sci.* 1997;25:37-47. DOI 10.1007/s00122-015-2481-5.
- Newton A.C., Flavell A.J., George T.S., Leat P., Mullholland B., Ramsay L., Revoredo-Giha C., Russell J., Steffenson B.J., Swanston J.S., William T.B., Waugh R., Waugh T., White P.J., Bingham I.J. Crops that feed the world 4 barley: a resilient crop? Strengths and weaknesses in the context of food security. *Food Secur.* 2011;3:141-178. DOI 10.1007/s12571-011-0126-3.
- Panozzo J.F., Eckermann P., Mather D.E., Moody D.B., Black C.K., Collins H.M., Barr A.R., Lim P.O., Cullis B.R. QTL analysis of malting quality traits in two barley populations. *Aust. J. Agric. Res.* 2007;58(9):858-866. DOI 10.1071/AR06203.
- Paris M., Jones M.G.K., Eglinton J.K. Genotyping single nucleotide polymorphisms for selection of barley β -amylase alleles. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2002;20:149-159. DOI 10.1007/BF02799430.
- Pasam R.K., Sharma R., Malosetti M., Van Eeuwijk F.A., Hase-neyer G., Kilian B., Graner A. Genome-wide association studies for agronomical traits in a world wide spring barley collection. *BMC Plant Biol.* 2012;12(1):16. DOI 10.1186/1471-2229-12-16.
- Powell W., Thomas W.T.B., Baird E., Lawrence P., Booth A., Harrower B., McNicol J.W., Waugh R. Analysis of quantitative traits in barley by the use of amplified fragment length polymorphisms. *Heredity.* 1997;79:48-59. DOI 10.1038/hdy.1997.122.
- Pozniak C.J., Clarke J.M., Clarke F.R. Potential for detection of marker-trait associations in durum wheat using unbalanced, historical phenotypic dataset. *Mol. Breed.* 2012;30:1537-1550. DOI 10.1007/s11032-012-9737-4.
- Rae S.J., Macaulay M., Ramsay L., Leigh F., Matthews D., O'Sullivan D.M., Donini P., Morris P.C., Powell W., Marshall D.F., Waugh R., Thomas W.T.B. Molecular barley breeding. *Euphytica.* 2007;158:295-303. DOI 10.1007/s10681-006-9166-8.
- Rafalski J.A. Association genetics in crop improvement. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2010;13:1-7. DOI 10.1016/j.pbi.2009.12.004.
- Riggs T.J., Kirby E.J.M. Developmental consequences of two-row and six-row ear type in spring barley. *J. Agric. Sci.* 1978;91:199-205.
- Qi J.C., Chen J.X., Wang J.M., Wu F.B., Cao L.P., Zhang G.P. Protein and hordein fraction content in barley seeds as affected by sowing date and their relations to malting quality. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005;6(11):1069-1075. DOI 10.1631/jzus.2005.B1069.
- Schmalenbach I., Pillen K. Detection and verification of malting quality QTLs using wild barley introgression lines. *Theor. Appl. Genet.* 2009;118:1411-1427. DOI 10.1007/s00122-009-0991-8.
- Sneller C.H., Mather D.E., Crepeux S. Analytical approaches and population types for finding and utilizing QTL in complex plant populations. *Crop Sci.* 2009;49:363-380. DOI 10.2135/cropsci2008.07.0420.
- Stanca A.M., Gianinetti A., Rizza F., Terzi V. Barley: an overview of a versatile cereal grain with many food and feed uses. In: Wrigley C.W., Corke H., Seetharaman K., Faubion J. (Eds.). *Encyclopedia of Food Grains.* 2nd ed. Oxford: Elsevier, 2016:147-152.
- Szűcs P., Blake V.C., Bhat P.R., Close T.J., Cuesta-Marcos A., Muehlbauer G.J., Ramsay L.V., Waugh R., Hayes P.M. An integrated resource for barley linkage map and malting quality QTL alignment. *Plant Genome.* 2009;2:134-140. DOI 10.3835/plantgenome2008.01.0005.
- Thomas W.T.B., Powell W., Swanston J.S., Ellis R.P., Chalmers K.J., Barua U.M., Jack P., Lea V., Forster B.P., Waugh R., Smith D.B. Quantitative trait loci for germination and malting quality characters in a spring barley cross. *Crop Sci.* 1996;36:265-273. DOI 10.2135/cropsci1996.0011183X003600020009x.
- Vassos E.J., Barr A.R., Eglinton J.K. Genetic conversion of feed barley varieties to malting types. In: *Proceedings of the 9th International Barley Genetics Symposium.* Czech, 20-26 June, 2004.
- Wang J., Yang J., Zhang Q., Zhu J., Jia Q., Hua W., Shang Y., Li C., Zhou M. Mapping a major QTL for malt extract of barley from a cross between TX9425 \times Naso Nijo. *Theor. Appl. Genet.* 2015;128:943-952. DOI 10.1007/s00122-015-2481-5.
- Wenzl P., Carling J., Kudrna D., Jaccoud D., Huttner E., Kleinhofs A., Kilian A. Diversity arrays technology (DART) for whole-genome profiling of barley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101:9915-9920. DOI 10.1073/pnas.0401076101.
- Xu Y., Zhang X., Harasymow S., Westcott S., Zhang W., Li C. Molecular marker-assisted backcrossing breeding: an example to transfer a thermostable β -amylase gene from wild barley. *Mol. Breed.* 2018;38:63-72. DOI 10.1007/s11032-018-0828-8.
- Zale J., Clancy J., Ullrich S., Jones B., Hayes P. Summary of barley malting quality QTLs mapped in various populations. *Barley Genet. Newsl.* 2000;30:44-54.
- Zhang W.S., Li X., Liu J.B. Genetic variation of Bmy1 alleles in barley (*Hordeum vulgare* L.) investigated by CAPS analysis. *Theor. Appl. Genet.* 2007;114:1039-1050. DOI 10.1007/s00122-006-0497-6.

ORCID ID

N.V. Trubacheeva orcid.org/0000-0002-6701-6811
L.A. Pershina orcid.org/0000-0002-9941-2026

Благодарности. Работа выполнена в рамках проекта Минобрнауки России «Курчатовский центр геномных исследований мирового уровня» № 075-15-2019-1662.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 03.08.2020. После доработки 24.09.2020. Принята к публикации 26.10.2020.