

С. С. ПОЛІЩУК, М. В. ЧЕРВОНІС, І. Г. ТОПОРАШ, З. В. ЩЕРБИНА  
Селекційно-генетичний інститут – Національний центр  
насіннезнавства та сортовивчення

## **СТВОРЕННЯ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ ГОЛОЗЕРНОГО ЯЧМЕНЮ ХАРЧОВОГО НАПРЯМУ**

*Досліджені біохімічні, технологічні, морфологічні особливості зерна голозерного ячменю у порівнянні з сортами-стандартами півчастого ячменю. Показана провідна роль ефектів генів *pid* та *wax* у визначенні показників харчової (кормової) цінності зерна голозерного ячменю. Визначені генетичні та селекційні критерії створення сортів голозерного ячменю харчового напрямку технологічного використання зерна.*

Ключові слова: *ячмінь, голозерний, харчова цінність, селекція*

**Вступ.** Ячмінь, разом з пшеницею, був першою одомашненою культурою і вирощувався для харчового використання понад 10 000 років тому [1]. У цілому ряді регіонів світу, таких як Африка, Тибет, Китай, Корея, Японія, ячмінь як харчовий продукт взагалі ніколи не втрачав свого важливого значення [2]. Увага до ячменю як харчового продукту у світі особливо посилилася за останні 10-15 років у зв'язку з новітніми клінічними, дієтологічними і біохімічними дослідженнями продуктів із зерна ячменю, що були виконані в лабораторіях провідних країн світу. Ці дослідження показали винятково високу харчову цінність ячмінного зерна і, перш за все, його здатність *бути профілактичним засобом проти трьох найтяжчих недуг останнього століття: коронарної хвороби серця, діабету і навіть раку кишечника* [3-7]. Виняткова харчова цінність зерна ячменю пояснюється присутністю в ньому унікальних некрохмалистих полісахаридів (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-глюканів, (спрощено  $\beta$ -глюканів), цілого комплексу речовин з широким спектром антиоксидантної активності (токоли, фітостероли, флавоноли та фітофеноли), комплексу вітамінів групи В, ніотинової кислоти, цінних мінералів [8-12]. У цивілізованих країнах світу ячмінь почали активно використовувати для виробництва харчових продуктів як в чистому вигляді (крупя, пластівці, борошняні вироби), так і у вигляді різних хлібопродуктів із сумішей борошна пшениці та ячменю тощо [13-17]. Особливу популярність у харчовій галузі цивілізованого світу став набувати голозерний ячмінь, який значно більш придатний для технологічної переробки, ніж ячмінь півчастий. При цьому, на відміну від останнього, голозерний ячмінь втрачає при технологічній переробці суттєво менше біологічно цінних речовин, що містяться в оболонці зерна та зародка.

На теренах колишнього СРСР, в т. ч. і в Україні, на жаль, ще мало що відомо про унікальну харчову цінність ячмінного зерна. Наукові дослідження у цьому напрямі

практично відсутні, а сортів ячменю спеціального харчового використання (перш за все голозерного) в Україні немає. Враховуючи це, у відділі генетичних основ селекції СГІ розгорнута програма створення селекційного матеріалу для сортів голозерного ячменю харчового (кормового) використання. Ця програма ґрунтується на генетичній варіабельності, часом докорінно іншій від тої, що застосовується в селекції плівчастого ячменю переважно пивоварного напрямку технологічного використання. Технологія селекції голозерного ячменю харчового використання включає всі проблеми і складнощі селекції плівчастого ячменю плюс цілий ряд своїх специфічних задач, пов'язаних з фізичними характеристиками зерна без плівки, та його біохімічними і специфічними технологічними властивостями і оцінками. Генетичні та селекційні критерії створення й добору селекційного матеріалу голозерного ячменю харчового напрямку технологічного використання зерна розглянуті у цій статті.

**Матеріал та методи дослідження.** Для дослідження використовували зерно районуваних сортів плівчастого ячменю, перспективних селекційних ліній голозерного ячменю, створених у відділі генетичних основ селекції СГІ на основі схрещування плівчастих сортів селекції СГІ з сортами ярого голозерного ячменю (в т.ч. сортами ячменю ваксі Alamo, Candle), отриманими з Канади (Prof. B. Rosnagel, CDC, Saskatchewan, Canada), трансгенними лініями сорту Golden Promise, отриманими з США (Prof. Ann Blechl, WRRRC, USDA, California, USA). Електрофоретичний аналіз гордеїнів виконували згідно з прийнятою у відділі стандартною процедурою міні-SDS-електрофорезу [18]. Ідентифікацію генотипів ваксі здійснювали методом йодної проби та ПЛП аналізу. Визначення вмісту  $\beta$ -глюканів виконували за допомогою стандартної процедури компанії Megazyme та за допомогою NIR аналізатора "SpectraAlyzer premium" виробництва німецької компанії Zeutec. Визначення вмісту крохмалю виконували за стандартом ГОСТ 10845-98, вміст білка – за міжнародним стандартом ISO 1871. Ферментацію зразків зерна виконували згідно з галузевим стандартом ГСТУ 46.045-2003. Процедуру ферментації та дистиляції виконували з використанням сконструйованого у відділі лабораторного реактора-ферментатора та лабораторної дистиляційної установки. Концентрацію етанолу після ферментації визначали за допомогою високоточних пікнометрів та спеціальних розрахункових таблиць. Вміст олії в зерні та зернопродуктах визначали за стандартом ISO 659, вміст жирних кислот у олії – методом газової хроматографії в ультратонкій колонці на хроматографі Shimadzu 2014 за методом ISO 5508 та ISO 5509.

**Результати досліджень.** Як було сказано вище, одним з найважливіших складових зерна ячменю, що визначає його харчову цінність, є вміст у зерні (1-3)(1-4)- $\beta$ -D-глюканів, або спрощено -  $\beta$ -глюканів. Стандартним методом аналізу вмісту  $\beta$ -глюканів у зерні є лабораторна процедура, розроблена ірландською компанією Megazyme. Цей метод ухвалений Аналітичним Комітетом Королівського Австралійського Хімічного Інституту і визнаний в усьому світі.

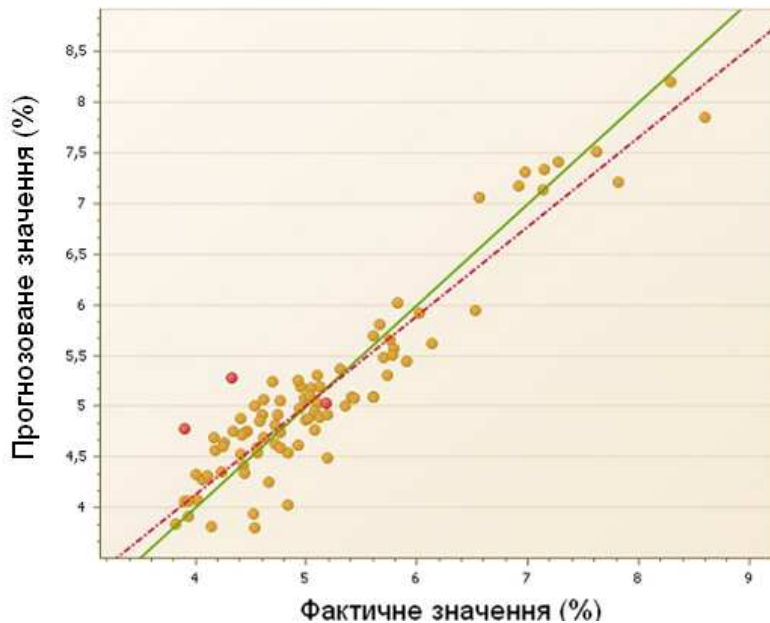


Рис.1. Кореляційна залежність між лабораторними (фактичне) та NIR (прогнозоване) показниками вмісту  $\beta$ -глюканів у зерні ячменю

#### Принцип методу:

зразки зважують та гідратують у буферному розчині, потім додають до нього очищену ліхеназу ( $[(1-3)(1-4)]\text{-}\beta\text{-D}$ -глюканаза), після закінчення гідролізу розчин фільтрують. На кінцевому етапі певну кількість фільтрату гідролізують ферментом  $\beta$ -глюкозидазою. Кількість отриманої D-глюкози визначають спектрофотометрично при довжині хвилі 510 нм та за формулою визначають вміст  $\beta$ -глюканів.

Метод Megazyme ми використовували для аналізу  $\beta$ -глюканів у зерні зразків колекції сортів та генетичних ліній голозерного і півчастого ячменю. Однак метод Megazyme є доволі працемістким, тривалим у часі і не дозволяє виконувати велику кількість зразків ячменю, необхідну при масовому аналізі в генетичних та селекційних дослідженнях. Тому нашим завданням було використати для визначення вмісту  $\beta$ -глюканів у зерні зразків ячменю експресного методу інфра-червоної спектроскопії у ближньому інфрачервоному діапазоні (NIR). Для цієї мети необхідно було виконати калібрування NIR-аналізатора на базі даних вмісту  $\beta$ -глюканів, отриманих за методом Megazyme. Визначення ІЧ-спектрів пропускання проводилось з використанням приладу "SpectraAnalyzer premium", двопробного аналізатора, що вимірює властивості речовини в ближньому інфрачервоному світлі у діапазоні хвиль 1445-2348 нм.

Калібрування було виконано з використанням 85 зразків голозерного та півчастого ячменю з широким діапазоном показників за вмістом  $\beta$ -глюканів (3,82 - 8,6%). На основі даних, отриманих з використанням NIR-спектроскопії, розрахували калібрувальну модель, яка зв'язує вміст  $\beta$ -глюканів у зразках з результатами спектрального аналізу. Коефіцієнт кореляції між фактичними показниками приладу та

передбачуваними склав  $r=0,9382$ , який є цілком прийнятним для використання цього приладу з визначення вмісту  $\beta$ -глюканів у зерні ячменю (рис. 1).

Таблиця 1

Вміст  $\beta$ -глюканів, білка в зерні та маса 1000 зерен у сортів і ліній ячменю

Група ячменю	Уміст $\beta$ -глюканів, % на абс. сух. речовину	Уміст білка, % на абс. сух. речовину	Маса 1000 зерен, г
<b>Плівчастий</b> стандарти (n=14) середнє діапазон	4,69	12,5	45,0
	3,90-5,78	11,2-14,3	40,8-49,1
<b>Голозерний</b> (n=60) середнє діапазон	4,86	14,36*	37,3*
	3,90-6,53	11,9-17,4	27,5-51,2
<b>Голозерний ваксі</b> (n=11) середнє діапазон	7,31*	15,1*	34,8*
	6,56-8,60	13,8-17,3	30,4-42,1

\* - достовірно на 5%-у рівні значущості

В таблиці 1 наведені середні дані та діапазон мінливості за умістом  $\beta$ -глюканів і білка у зерні ячменю різних груп. Зразки голозерного ячменю відрізнялися від плівчастих підвищеним умістом  $\beta$ -глюканів, однак ця різниця була недостовірною. Разом з тим знайдена достовірна різниця між цими групами ячменю за умістом білка в зерні на користь голозерних форм. Зразки голозерного ячменю ваксі достовірно відрізнялися від плівчастих як за умістом білка, так і  $\beta$ -глюканів, хоча й мали в середньому достовірно нижчу масу 1000 зерен. Нижча маса 1000 зерен у голозерних генотипів у порівнянні з плівчастими пояснюється відсутністю плівки, яка становить 10-15% маси зерна. В результаті виконаного аналізу нами були виділені найбільш перспективні за вмістом білка (вище 17%) і  $\beta$ -глюканів (майже 9%) у зерні зразки, що представляють інтерес для схрещувань і подальшої роботи з ними.

Серед селекційних сортів плівчастого ячменю найвищі показники за умістом  $\beta$ -глюканів були знайдені для сортів Сталкер (5,78%), Водограй (5,19%) і Гетьман (5,18%). Вони також будуть використовуватися нами як базові генотипи у схрещуваннях з метою підвищення вмісту  $\beta$ -глюканів у зерні.

Джерелом гена ваксі (*wax*-блокований синтез ключового ферменту GBSS біосинтезу амілози) у всіх досліджених зразків нами використані два комерційні сорти голозерного ячменю канадської селекції Alamo і Candle. У поточному році весь матеріал голозерного ячменю (ярий і озимий) включно з гібридами ранніх поколінь ( $F_3, F_4$ ) та константними селекційними лініями був аналізований за тестом на наявність гена *wax* (хромосома 7HS). Для цього від індивідуальних доборів (колосся) перед посівом відбирали по 4 зернини, подрібнювали і аналізували у розчині Люголя. Урожай ділянкових посівів 6 і 10 м<sup>2</sup> аналізували по 10 рандомізовано відібраних

зерен з кожної. Виключно лише ідентифіковані *вах* гомо/гетерогенні генотипи використовували для схрещувань та доборів.

Цілозмелене зерно ячменю, як цінний дієтичний продукт, у багатьох цивілізованих країнах використовується в суміші з борошном пшениці для виробництва хліба та різних хлібобулочних виробів. У перспективі ми також плануємо дослідження технологічних та хлібопекарських властивостей селекційних ліній голозерного ячменю у сумішах борошна ячмінь + пшениця. Тому нам цікаво було виконати попередні дослідження впливу різних часток оббивного (100% виходу) борошна голозерного ячменю сорту Ахіллес у суміші з борошном хлібопекарського ґатунку (70% вихід) сорту пшениці Куяльник. Як тест хлібопекарської якості борошно-суміші використовували розроблений у відділі метод седиментації SDS-30. Для аналізу використовували стандартну наважку 3,2 г з градуальним заміщенням частки пшеничного борошна наважкою оббивного борошна ячменю з кроком у 0,1 г. Отримані результати наведені на рисунку 2.

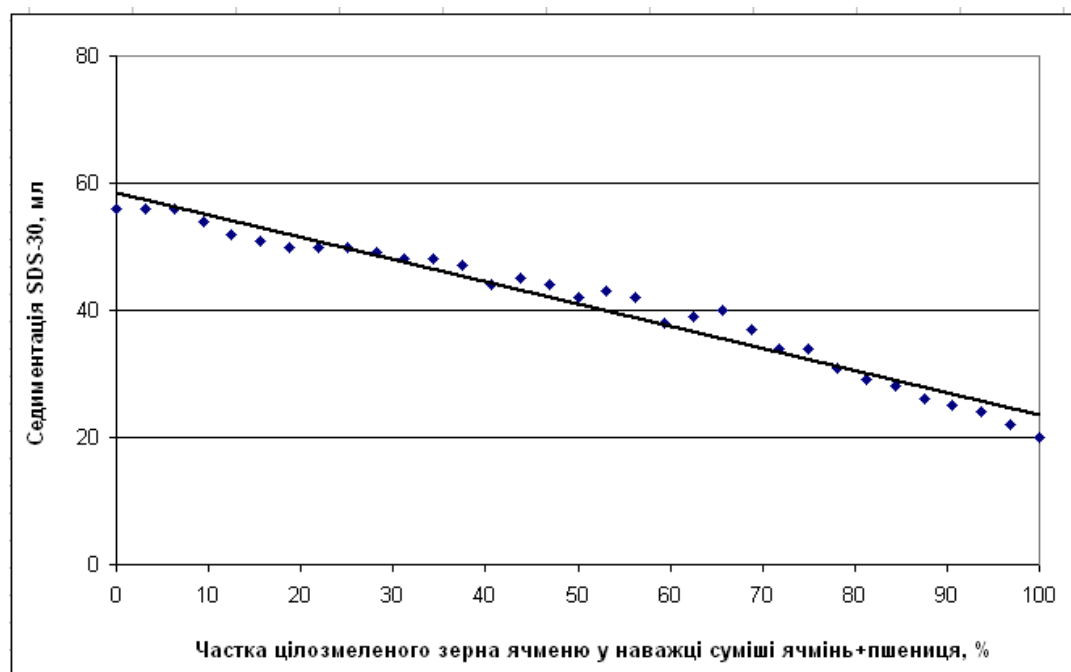


Рис. 2. Вплив на показник седиментації SDS-30 заміщення частки борошна пшениці (сорт Куяльник) оббивним борошном голозерного ячменю (сорт Ахіллес)

З наведених на рисунку 2 даних можна бачити, що заміщення частки борошна пшениці оббивним борошном голозерного ячменю призводить до чітко вираженого лінійно закономірного зниження седиментації SDS-30 борошно-суміші. Це означає, що оббивне борошно ячменю містить фактор (фактори), що призводить до зниження хлібопекарської якості борошно-суміші пшениця + ячмінь. Такими факторами, як свідчать джерела літератури, можуть бути: а) білки ячменю, б)  $\beta$ -глюкани. Незважаючи на те що борошно-суміші пшениця + ячмінь широко використовуються у виробництві дієтичних хлібопродуктів, до цього часу невідомо, що саме білки

ячменю,  $\beta$ -глюкани чи обидва ці фактори разом спричиняють негативний вплив на хлібопекарські якості сумішей. З метою вивчення цього питання нами здійснюються дослідження щонайменше у трьох незалежних напрямках.

Перший напрям – це дослідження впливу різного вмісту білка на хлібопекарські властивості суміші одного й того ж сорту ячменю Ахіллес. Дані цих досліджень будуть приведені нами у наступних публікаціях. Другий напрям – це дослідження впливу різного вмісту  $\beta$ -глюканів на хлібопекарські властивості сумішей шляхом використання у них борошна ячменю рекомбінантно-інбредних ліній ваксі (високий уміст  $\beta$ -глюканів) і нормальних, не ваксі (низький уміст  $\beta$ -глюканів) ліній, отриманих від одної й тої ж комбінації схрещування за участю батьківських генотипів, один з яких ваксі. Це також тема наступних публікацій.



Рис. 3. Субодиниці високомолекулярних HMW-глютенінів пшениці, що кодуються локусом ***Glu-D1*** пшениці - стандарт (1); субодиниця ***Glu-D1x5*** (2); субодиниця ***Glu-D1y10*** (3); субодиниці ***Glu-D1x5+y10*** (4)

І третій напрям – використання у борошно-сумішах трансгенних ліній голозерного ячменю з генами *Glu-D1x5*, *Glu-D1y10* і *Glu-D1x5+y10*, що кодують біосинтез клейковинних білків пшениці, які мають сильний позитивний вплив на якість борошна. Ідея дослідження у тому, що борошно ячменю з клейковинними білками пшениці априорі мало би, на відміну від борошна звичайного ячменю, не так суттєво знижувати хлібопекарську якість борошно-сумішей пшениця + ячмінь. Для виконання цього дослідження нами започатковано створення рекомбінантно-інбредних ліній шляхом схрещування голозерного ячменю Ахіллес з трьома оригінальними трансгенними лініями півчастого ячменю сорту Golden Promise з трансформованими генами ***Glu-D1x5***, ***Glu-D1y10*** і ***Glu-D1x5+y10*** пшениці (рис. 3, 4).

Тобто, у нашому випадку дві трансгенні лінії ячменю містять «частки» *Glu-D1x5* і *Glu-D1y10* пшеничного кластера локусу *Glu-D1x5+y10*. І одна лінія містить власне сам локус. Цей дослід дасть нам можливість вивчити вплив окремо субодиниці x5 високомолекулярних глютенінів пшениці, субодиниці y10 та обох субодиниць x5+y10 разом на змішувальні властивості борошна ячменю з борошном пшениці.

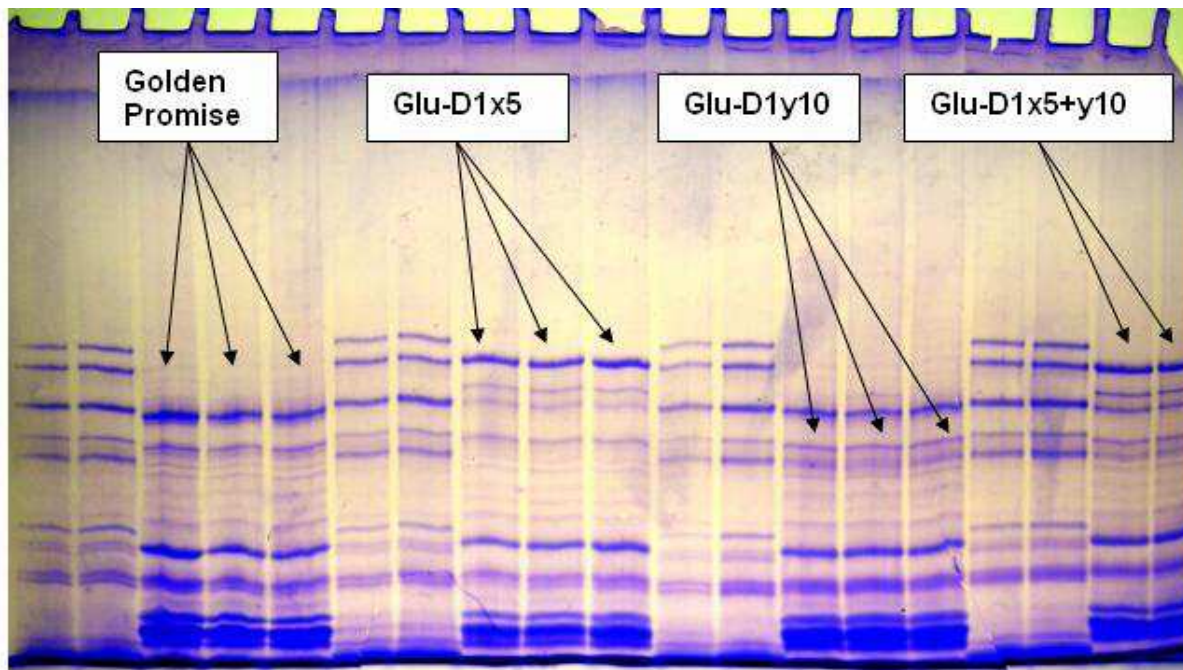


Рис.4. Електрофореграми міні-SDS-електрофорезу HMW-глютенінів трансгенних ліній півчастого ячменю сорту Golden Promise

Одним із найважливіших факторів харчової цінності зерна ячменю, як згадувалося вище, є уміст у зерні  $\beta$ -глюканів. Генотипи ваксі ячменю, на відміну від звичайного ячменю, у зв'язку зі специфічними особливостями біосинтезу крохмалю, мають суттєво (майже вдвічі) підвищений уміст у зерні  $\beta$ -глюканів. Тому значна частина створюваного нами селекційного матеріалу голозерного ячменю виконується на базі генотипів ваксі. Весь матеріал від схрещувань за участю генотипів ваксі обов'язково перед посівом ідентифікується нами за ознакою ваксі крохмалю: пурпурне забарвлення (на відміну від фіолетового у нормі) крохмальних зерен у розчині Люголя. З кожного колоса відбирали по 4 зерна для ідентифікації генотипів ваксі. Таким чином, нами проаналізовано кілька сотень генотипів від різних схрещувань.

У схрещуваннях з генотипами голозерного ячменю ваксі використано більше 60 сортів ярого та озимого півчастого ячменю як вітчизняного, так і зарубіжного походження, що вже занесені або ще не занесені в Держреєстр сортів рослин України. У поточному році нами сформовано численну колекцію практично всіх сортів ярого ячменю, що занесені в Держреєстр сортів рослин України, і значну частину колекції сортів озимого півчастого ячменю селекції Краснодарського НДІСГ (Росія). В колекції представлений вельми різноманітний генетичний матеріал, в тому числі з цікавими особливостями колоса: дворядні, шестирядні, з короткими остями, фуркатні.

Поточний сезон 2011/12 р. виявився екстремальним за кліматичними умовами: критичний стан озимих посівів за гострим дефіцитом зволоження в період сівби та розвитку рослин. Через дефіцит вологи озимі увійшли в зиму у фазі 2-3 листочків і

навіть без зачатку вузла кущіння. Температура взимку на глибині вузла кущіння опускалася до  $-16^{\circ}\text{C}$ . Як результат, практично увесь селекційний розсадник і значна частина ділянкових посівів озимого ячменю загинула. В тому числі повністю загинув і стандарт одеської селекції сорт-дворучка Достойний. Однак зберігся ряд ділянок, рослини яких перезимували практично на 100%. Серед них виявилась більшість зразків голозерного ячменю ваксі. Цей матеріал був активно використаний у програмі схрещувань озимого ячменю.

У польових дослідках ми вивчали зернову продуктивність селекційного матеріалу перспективних ліній ярого голозерного ячменю походженням від різних схрещувань у порівнянні з сортом-стандартом півчастого ячменю Геліос та нашим голозерним ячменем Ахіллес, сортом, що знаходиться у державному сортовипробуванні (табл. 2).

Таблиця 2

Урожайність константних ліній ярого голозерного ячменю  
(урожай 2012 р., площа ділянок 10 м<sup>2</sup>)

№ з/п	Походження, кількість ліній в комбінації	Маса, кг			% X сер. до півчастого стандарту
		X сер	мін	макс	
1	<b>st Геліос (півчастий)</b>	<b>4,59</b>	-	-	<b>100,0</b>
2	st Ахіллес (голозерний)	4,81	4,54	5,01	104,8
3	Candle x Henley Wx (N=4)	4,85	4,63	5,05	105,7
4	Mc Gwire x Henley (N=5)	4,86	4,72	5,18	105,9
5	Gainer x Henley (N=11)	4,73	4,43	5,38	103,1
6	(BRL6 x Гетьман) x Linus (N=2)	5,32	5,21	5,43	115,9

Слід наголосити, що зерно голозерного ячменю не містить плівки, яка у середньому становить 10-15% урожаю півчастого. На цю величину теоретично будь-який сорт півчастого ячменю матиме вищий урожай зерна (урожай брутто), ніж сорт голозерного. Отже, для об'єктивного порівняння фактичного урожаю чистого зерна півчастого сорту (урожай нетто) з голозерним слід урахувувати цю різницю. З даних таблиці 2 можна бачити, що у досліді представлено доволі багато зразків, які не поступаються за урожаем зерна кращим сортам-стандартам півчастого ячменю.

З результатів польових спостережень 2012 року можна також зробити попередній висновок про більш високу посухостійкість більшості наших перспективних ліній голозерного ячменю у порівнянні з відомими сортами-стандартами півчастого. Найкращим і доволі типовим прикладом польових спостережень є порівняння одного з наших перспективних зразків голозерного ячменю, який буде передаватися у найближчий рік до державного сортовипробування під назвою Гладіатор, з одним із найкращих сортів півчастого





Рис. 5. Колосся і рослини лінії Гладіатор (1) і сорту Достойний (2)

ячменю селекції СГІ Достойним. Обидва зразки є рослинами альтернативного типу розвитку з шестирядним колосом були висіяні весною. Весняний період до виколошування і аж до наливу зерна позначився сильною посухою. Рослини сортів-стандартів (в т.ч. Достойного) були пригніченими і викинули колос безпосередньо над флаговим листом (характерна реакція на посуху чутливих до неї сортів). Разом з тим більшість зразків голозерного ячменю у нашому досліді такої реакції не проявляли. Рослини лінії Гладіатор виглядали більш потужними і мали вищу ніж у сорту Достойний зернову продуктивність (рис. 5).

Однією з негативних ознак зерна голозерного ячменю є слабка стійкість зародка до механічної дії робочих органів молотильних механізмів (комбайн, молотарка) і як наслідок – зниження польової схожості насіння. Для подолання цього негативу в процесі селекції важливе значення має контроль за формою зернівки та характером розміщення зародка, його морфологія. У поточному році на польових дослідях ярого голозерного ячменю нами ретельно досліджені особливості морфології зерна та зародка на доборах константних ліній голозерного ячменю. Для цього визначали кількість зернівок з кожного індивідуально обмолоченого лабораторною молотаркою колоса, в умовних термінах описували забарвлення, форму зернівок та характер розміщення зародка. Після посіву визначали кількість рослин з кожного колоса, що зійшли в польових умовах, та кількість рослин, що залишилися до моменту збирання урожаю.

Близько 5000 генотипів було представлено у досліді. Результати спостережень за їх великим об'ємом у цьому звіті ми не наводимо. Висновок цих досліджень, які ми неодмінно будемо повторювати в майбутньому, наступним – головним критерієм стійкості зародка голозерного ячменю проти механічної дії молотильних органів є польова схожість, кількість нормально розвинутих рослин в

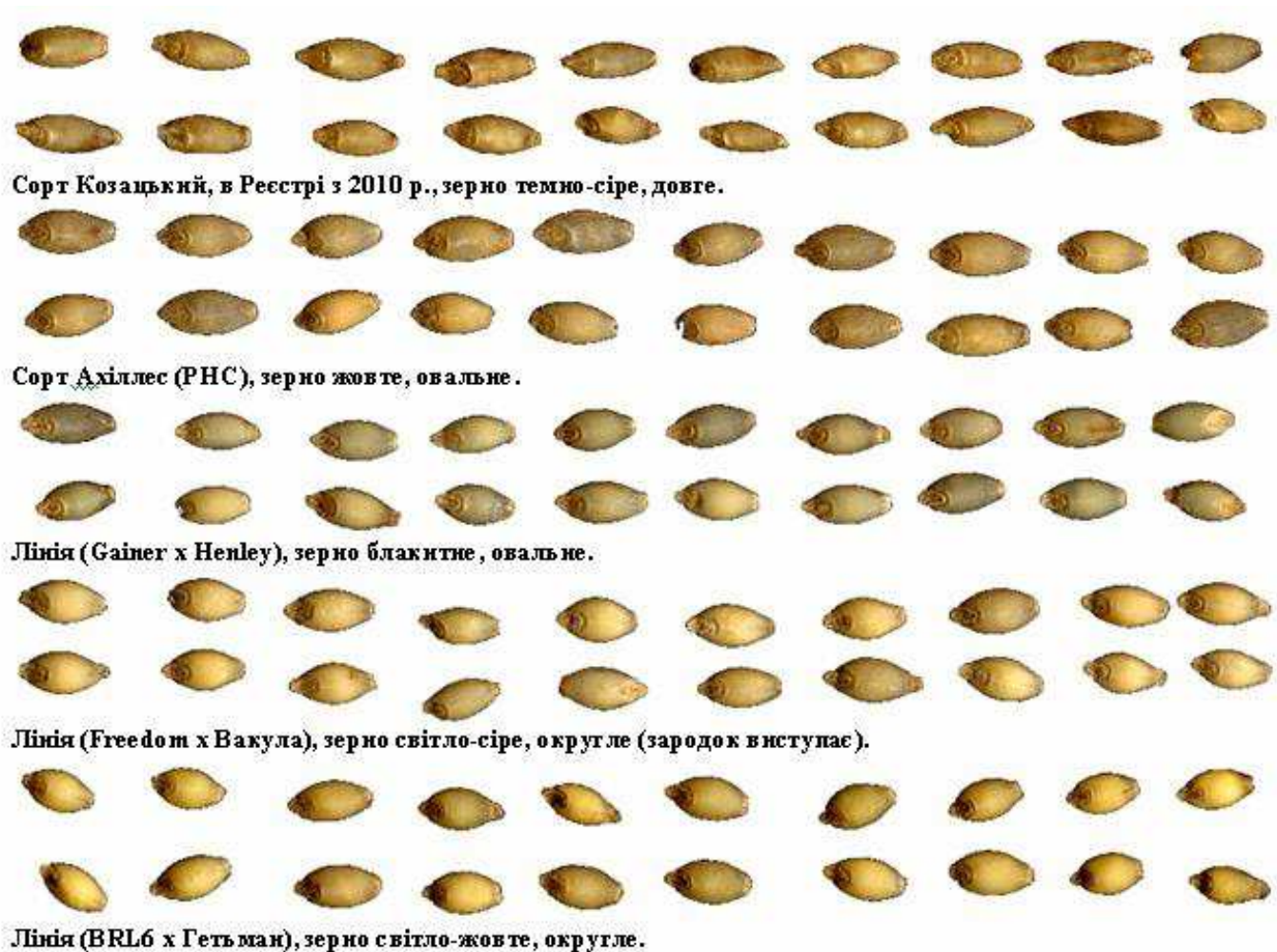


Рис. 6. Колір і форма зернівок кращих ліній голозерного ячменю

умовах польового дослідження. Імовірно також, що округле зерно зі схованим за периметр зернівки зародком є найбільш прийнятним варіантом для ефективного добору ліній голозерного ячменю з зародком, стійким проти механічної дії при обмолоті (рис. 6).

Зерно ячменю, як харчовий продукт, використовується не лише для виробництва харчових виробів, таких як крупи, пластівці, кондитерські вироби, хліб, але й для виробництва спирту та широко відомих у світі алкогольних напоїв, таких як, наприклад, віскі. Поліпшення ферментабельності зерна ячменю (ефективності трансформації зерна в етанол) має важливе економічне значення при виробництві алкогольних напоїв із ячмінного збіжжя. За підрахунками англійських експертів, підвищення виходу спирту із ячмінного зерна лише на 1% при виробництві у Великобританії популярної марки Шотландське Віскі дозволило б отримати річний прибуток у розмірі £1,1 мільйона британських фунтів [19].

Тому нами було передбачено також дослідження ліній голозерного ячменю за ознакою ферментабельності. Основним продуктом зерна, що трансформується в

ході послідовних ферментативних реакцій в етанол, є крохмаль. І тому від умісту крохмалю в зерні та його хімічного складу залежить показник ефективності трансформації крохмалю в етанол (ферментабельність), вихід спирту з тонни ферментованого зернового збіжжя, економічна ефективність переробки зерна у харчовий спирт. Крохмаль зерна ячменю, як і більшості зернових культур, зазвичай складається в середньому з 20-25% амілози (лінійний полімер глюкози) і 70-75% амілопектину (розгалужений полімер глюкози) і має кілька показників фізичної та хімічної якості, що характеризують його ферментабельність: співвідношення амілоза / амілопектин, кристалічна структура, форма і фізичний розмір крохмальних гранул та співвідношення різних типів крохмальних гранул (гранулометрія), фізична стійкість крохмальних гранул проти механічної дії лопатей млина при помелі зерна тощо. І все це загалом визначає швидкість і повноту гідролітичної трансформації крохмалю в етанол. Тому загалом крохмаль зернових культур у термінах ферментабельності поділяється на дві основні фракції, одна з яких легко ферментується, а інша є стійкою до амілолітичних ферментів, практично не ферментується і не трансформується в етанол. Стійкі крохмальні гранули відрізняються від звичайних наявністю такої кристалічної структури, яка значно менш податлива до дії кислот чи ферментативного гідролізу за участю амілаз.

Отже, ферментабельність зерна – доволі складна ознака, що залежить як від умов вирощування зернової культури (уміст крохмалю), так і від впливу генетичних факторів, що контролюють ферментативні процеси біосинтезу крохмалю та його складових. Серед відомих генетичних факторів найбільш суттєвим впливом на хімічну структуру і фізичні властивості крохмалю і крохмальних гранул вирізняється система генів ваксі (*Wx* або *Wax*), що блокують біосинтез амілози, та генів, що впливають на стан консистенції ендосперму зернівки, її твердість.

Сказане означає, що висока ферментабельність зерна не може бути результатом випадкового збігу неконтрольованих факторів. Ця ознака може бути створеною в процесі цілеспрямованого комбінування генетичних факторів позитивного впливу на ферментабельність, цілеспрямованої селекції генотипів з високою ферментабельністю зерна і створення на цій основі спеціальних сортів спиртодистильного напрямку використання.

У наших дослідженнях ми порівнювали за ознакою ферментабельності отримані нами лінії плівчастого і голозерного ячменю. Різниця між цими двома сортотипами лише у присутності / відсутності зернової плівки, наявність якої контролюється геном *Nud* (плівчастий) / *nud* (голозерний), що розміщений на хромосомі 1(7H).

Оскільки основним інгредієнтом сировини, призначеної для виробництва етанолу, є вміст крохмалю, то отримані нами селекційні лінії, серед яких представлені також лінії ваксі, були досліджені за його вмістом (табл. 3).

Вміст крохмалю в зерні ячменю, % на суху речовину

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Уміст крохмалю, %	
		в середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	61,4	-
Голозерний	9	64,4	+ 3,0**
Голозерний ваксі	6	63,0	1,6*
НСР <sub>0,05</sub> - 1,6			
НСР <sub>0,01</sub> - 2,0			

\*, \*\*, \*\*\* - достовірно на 5%-, 1%- та 0,1 % рівнях значущості

Як і очікувалося, найвищий вміст крохмалю було знайдено у ліній голозерного ячменю, в середньому 64,4%, що на 3% перевищує середнє значення у плівчастого. Дещо менша перевага за цим показником була у голозерного ячменю ваксі, проте достовірна на 5%-у рівні значущості. За умістом білка, в середньому, достовірна різниця спостерігалася між плівчастим та голозерним типами ячменю на користь останнього (табл. 4).

Уміст білка в зерні – важливий показник зернової сировини як з точки зору її харчової цінності, так і при виробництві спирту. В наших досліджах ми спостерігали чітку зворотну залежність умісту білка з умістом крохмалю ( $R^2=0,80$ ). Добір кращих зразків в селекційних популяціях на високий уміст крохмалю імовірно буде приводити до зниження умісту білка в зерні. Досліджувані зразки ячменю досить суттєво відрізнялись за умістом  $\beta$ -глюканів. Так, максимальні значення були зафіксовані серед ліній голозерного ячменю ваксі від 7,0 до 8,3%, а в середньому – 7,31%, що більше, ніж на 3% у порівнянні з генотипами плівчастого. Очевидно, що підвищений уміст у зерні  $\beta$ -глюканів та ознака ваксі пов'язані між собою. Пояснюється це тим, що у ячменів ваксі генетично блокований процес трансформації глюкози в крохмаль і, очевидно, що метаболізм за участю глюкози частково спрямований на біосинтез  $\beta$ -глюканів. У співробітництві з Інститутом клітинної біології і генної інженерії була опрацьована процедура ідентифікації гена *waх* ячменю за допомогою специфічних молекулярних маркерів.

Таблиця 4

Вміст білка в зерні ячменю, % на суху речовину

Тип ячменю	Кількість ліній, шт.	Уміст білка, %	
		в середньому	± до плівчастого
Плівчастий	8	11,8	-
Голозерний	9	13,1	+1,3**
Голозерний ваксі	6	12,5	+0,7*
НСР <sub>0,05</sub> - 0,7			
НСР <sub>0,01</sub> - 1,0			

\*, \*\*, \*\*\* - достовірно на 5%-, 1%- та 0,1 % рівнях значущості

Нами була досліджена ефективність біохімічної трансформації крохмалю зерна в спирт у селекційних ліній голозерного та плівчастого ячменю. В якості критерію для порівняння зразків ячменю за ознакою ферментабельності зерна використовували показник вихід етанолу з 1 тонни зерна. За виходом етанолу з тонни зерна лінії голозерного ячменю в середньому на 28 літрів переважають зразки плівчастого. Очевидно, що причиною цього є перевищення голозерного ячменю над плівчастим за вмістом крохмалю, який в окремих ліній сягає 8%. А перевага зразків голозерного ячменю ваксі над зразками плівчастого становила 49 (!) літрів з тонни збіжжя. До того ж помітна різниця у виході етилового спирту й між селекційними лініями голозерного ячменю з нормальним та блокованим синтезом амілози, що становила в середньому 21 літр з тонни. Більш наглядно сказане ілюструє рисунок 7.

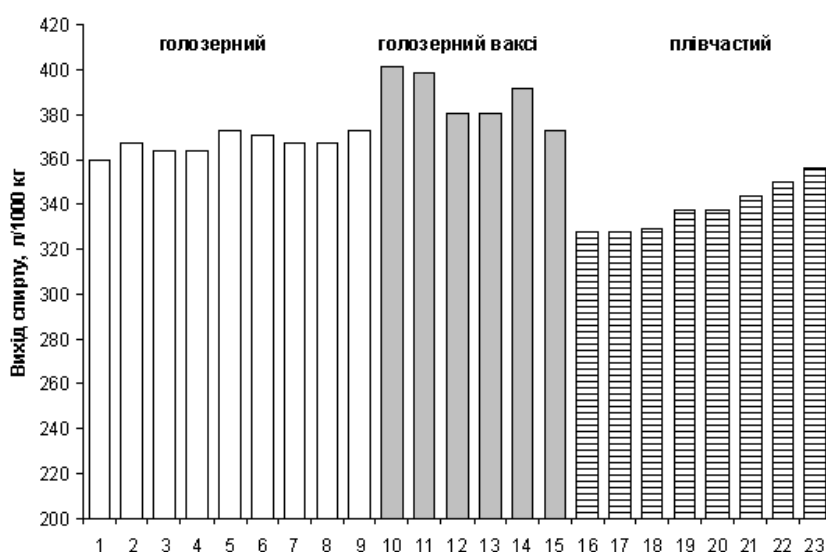


Рис. 7. Вихід етилового спирту (л / 1000 кг зерна) у селекційних ліній голозерного та плівчастого ячменю

Відмінність між досліджуваними селекційними лініями голозерного ячменю полягає перш за все у фізико-хімічних властивостях крохмалю. Генотипи ячменю ваксі мають аномальний склад: нульовий уміст амілози. Очевидно, що як і у пшениць типу ваксі (і кукурудзи ваксі), крохмальні гранули ячменю ваксі є нестійкі проти механічної дії при помелі зерна, і як наслідок – значна їх частина руйнується. Це призводить до значного підвищення загальної активної фізичної поверхні крохмалю та його більш ефективної ферментації. Крім того, крохмаль амілопектинового типу краще ферментується. Так, уміст 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 свідченням того, що крохмаль з мінімальним умістом амілози більш ефективно трансформується в спирт.

Важливим складником харчової цінності ячменю є уміст у зерні олії та її жирно-кислотний склад. Для досліджень використовували отримані нами перспективні

селекційні лінії голозерного ячменю ваксі. Максимальний уміст олії 3,24% виявився в зерні лінії №2019, найнижчий – 2,38% у зерні плівчастого сорту Командор. За жирно-кислотним складом найважливішими для здорового харчування людини є олеїнова (C18:1) та ліноленова (C18:3). Ліноленова кислота  $\omega$ -3 є особливо цінною, оскільки приймає участь у стратегічно важливих процесах метаболізму жирів у організмі людини. За умістом олеїнової кислоти в олії найвищий показник 21,11% знайдено в зерні плівчастого сорту Командор. Дещо поступалася йому (19,52%) краща лінія голозерного ячменю ваксі №2024. Отже, сорт Командор може бути донором у схрещуваннях з метою поліпшення голозерного ячменю за умістом олеїнової кислоти. Уміст олеїнової кислоти в олії ячменю відповідає середньому рівню умісту цієї жирної кислоти у соняшниковій олії. Що ж стосується умісту в олії ячменю цінної ліноленової кислоти, то за цим показником олія ячменю більш ніж у 20 разів перевищує соняшкову олію. Так, у соняшниковій олії середній уміст ліноленової кислоти сягає 0,2%, тоді як у нашій кращій лінії голозерного ячменю ваксі №2031 цей показник становив 5,49%. А у канадського голозерного сорту McGwire уміст в олії ліноленової кислоти був найвищим – 5,66%. Отже, голозерний ячмінь є цінним джерелом незамінних жирних кислот і має перспективу поліпшення за рахунок сортів-донорів плівчастого ячменю.

Одним із критеріїв харчової цінності білків зернових культур є їх розчинність, а отже доступність для протеолітичного гідролізу та ефективність засвоєння у процесі перетравлювання їжі. Важкорозчинні та нерозчинні білки значно стійкіші за розчинні проти атаки протеолітичними ферментами, гірше засвоюються. Частка високополімерних нерозчинних, стійких до протеолізу білків пшениці може бути визначеною шляхом екстракції розмеленого зерна чи борошна у 50% 1-пропанолі [20]. Цю процедуру ми використали для порівняльного аналізу розчинності білків крупи перспективних ліній голозерного ячменю по відношенню до відомих сортів пшениці та дикорослих видів пшениці. Результати досліджень подані у таблицях 6 і 7.

У таблиці 5 наведені дані розчинності білків крупи із зерна ліній голозерного ячменю (в т. ч. ліній ваксі), нашого сорту Ахіллес, комерційного зразка ячної крупи з плівчастого ячменю виробництва відомої української фірми «Жменька» та зерна сорту пшениці Селянка.

Крупу, а не зерно, голозерного ячменю ми взяли у дослідження з тих міркувань, що саме цей продукт є таким, що готовий для кулінарного обробки і споживання. З даних таблиці 5 можна бачити, що крупа майже всіх зразків голозерного ячменю суттєво відрізнялася за часткою розчинної фракції білків від сорту пшениці Селянка, причому лінії ячменю ваксі мали тенденцію до підвищення розчинності білків. Лише одна лінія №2096, що мала високу твердість зерна, суттєво відрізнялася від інших у бік зниження розчинності білків.

## Розчинність білків крупи ліній голозерного ячменю у 50% 1-пропанолі

Лінія, сорт	Уміст білка в зерні, %	Розчинність білка у 50% 1-пропанолі, %	± до сорту Селянка
2019 Wx	15,60	40,3	+18.6**
2020 Wx	15,35	40,2	+18.5**
2021 Wx	15,03	41,1	+19.4**
2022 Wx	15,86	45,3	+23.6**
2023 Wx	15,55	42,0	+20.3**
2024 Wx	15,46	41,3	+19.6**
2026 Wx	15,89	39,3	+17.6**
2028 Wx	15,76	45,9	+24.2**
2029 Wx	15,46	43,8	+22.1**
2030 Wx	15,31	40,2	+18.5**
2031 Wx	15,20	39,1	+17.4**
2048	15,57	37,5	+15.8**
2055	15,37	39,5	+17.8**
2059	16,03	36,6	+14.9**
2079	14,41	33,4	+11.7**
2083	15,96	35,8	+14.1**
2096	17,31	19,6	-2.1
«Жменька»	11,02	29,3	+7.6**
Ахіллес	19,94	42,0	+20.3**
Селянка	16,00	21,7	-
НСР 0.05 = 3.27			
НСР 0.01 = 4.48			

\*, \*\*, \*\*\* - достовірно на 5%-, 1%- та 0,1 % рівнях значущості

З наведених вище даних видно, що голозерний ячмінь має всі ознаки підвищеної харчової і кормової цінності. У співробітництві з кафедрою фізіології людини та тварин Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова досліджували гематологічні та біохімічні показники крові лабораторних щурів при харчуванні зерном зразків ярого півчастого (Святогор) та голозерного (Ахіллес) ячменю [22]. Харчовий раціон щурів складався на 70% з ячменю, решта 30% – збалансований стандартний раціон віварію. Контрольна група щурів харчувалася на стандартному раціоні віварію. У піддослідних тварин кожні 2 тижні визначали живу масу та ряд біохімічних показників крові. Для визначення біохімічних показників крові використовували стандартні проби: FDelicid – для визначення кількісного умісту гемоглобіну гемоглобінціанідним методом, загального білка – біуретовим методом, альбуміну – з індикатором бромкрезоловим зеленим, загального холестерину – ферментативним методом, систему Rightest G300 для контролю рівня глюкози в крові з використанням тест-смужок. Дані спостережень за приростом живої маси щурів наведені в таблиці 6.

Приріст маси лабораторних щурів з різним харчовим раціоном

Раціон	Приріст маси (г) за період:		
	два тижні	чотири тижні	шість тижнів
Святогор	13,33 ± 4,51	50,00 ± 8,07	75,83 ± 9,61
Ахіллес	27,50 ± 4,49	61,67 ± 5,97	90,00 ± 7,64
Контроль	33,33 ± 5,36	60,00 ± 7,07	82,50 ± 7,52

З таблиці 6 можна бачити, що за весь період досліджень при споживанні зерна ячменю у вигляді монокорму плівчастий ячмінь Святогор достовірно поступався голозерному. Це пояснюється більш високим умістом у наважці зерна голозерного ячменю, у порівнянні з плівчастим, всіх поживних речовин, оскільки неперетравний нехарчовий баласт (плівка) у голозерного ячменю відсутній. Цікавим феноменом у досліді при годівлі щурів голозерним або плівчастим ячменем було достовірне ( $p < 0,05-0,01$ ) зниження умісту загального холестерину у крові щурів на 33,4 та 25,0% відносно вихідних даних і на 26,6 та 10,7% відносно контрольної групи (табл. 7).

Особливо помітним було зниження умісту холестерину в крові щурів, що харчувалися голозерним ячменем. Ці дані повністю узгоджуються з результатами численних аналогічних досліджень, виконаних у провідних лабораторіях світу як на тваринах, так і на людях. Головним фактором, що сприяє зниженню умісту холестерину в крові піддослідних об'єктів, є некрохмалисті вуглеводи ячменю  $\beta$ -глюкани [5,23].

Таблиця 7

Вміст загального холестерину в крові щурів з різним харчовим раціоном (ммоль/л)

Раціон	Вихідні дані	2-й тиждень	4-й тиждень	6-й тиждень
Ячмінь плівчастий	3,32±0,21	2,80±0,19	2,83±0,29	2,49±0,19
Ячмінь голозерний	3,41±0,18	2,86±0,21	3,08±0,27	2,27±0,21
Контроль	3,46±0,21	3,21±0,24	3,15±0,26	3,09±0,16

Дослідження показників білкового обміну у щурів не виявило впливу харчового раціону на уміст загального білка. Уміст альбумінів збільшувався у першій та другій групах протягом всього дослідження, але за межі фізіологічної норми не виходив. В другій групі щурів, що харчувалися голозерним ячменем, спостерігалось достовірне відносно вихідних даних ( $p < 0,05$ ) збільшення альбуміну на 25,5% на шостому тижні дослідження. Імовірно це пояснюється більш високим середнім умістом білка в зразках голозерного ячменю.



Харчовий раціон, що складався з голозерного та плівчастого ячменю, впливав також на уміст глюкози в крові щурів. В першій групі щурів, яка отримувала плівчастий ячмінь, цей показник достовірно ( $p < 0,05$ ) знизився на 13,7% відносно вихідних даних, а в другій групі, яка отримувала голозерний ячмінь, – на 7,5%. Однак показники глюкози знаходились в їх фізіологічній нормі. Зниження умісту глюкози, імовірно, зумовлено впливом  $\beta$ -глюканів на тонку кишку та зменшенням її абсорбції. При цьому більш висока частка целюлози плівчастого ячменю знижує його поживні властивості, а значне зниження глюкози може свідчити про недостатність харчування ним.

### **Висновки.**

1. Гени ячменю *nud* (голозерність) і *wax* (ваксі) є серед найважливіших досліджених генетичних факторів, що мають суттєвий вплив на показники харчової (біологічної) цінності зерна ячменю.

2. Виділені перспективні лінії голозерного ячменю, які не поступаються за урожаєм зерна кращим плівчастим сортам-стандартам і переважають останні за умістом у зерні білка,  $\beta$ -глюканів, умісту та якості олії, біохімічним та гематологічним показникам крові, що характеризують фізичне здоров'я піддослідних лабораторних щурів.

3. Головним критерієм стійкості зародка зерна голозерного ячменю проти механічної дії при обмолоті є польова схожість насіння та частка нормально розвинутих у польових умовах рослин.

4. За попередніми даними польових досліджень гостропосушливого 2012 року перспективні лінії голозерного ячменю загалом є більш толерантними до посухи, ніж кращі сорти-стандарти плівчастого ячменю.

5. Визначено критерії високої ферментабельності зерна голозерного ячменю та критичні ознаки, які необхідно враховувати при селекції сортів голозерного ячменю харчового спиртодистильного напряму технологічного використання.

6. Білки зерна селекційних ліній голозерного ячменю характеризуються значно вищою, ніж білки сучасних сортів пшениці, розчинністю у 50% 1-пропанолі, що є непрямою ознакою їх вищої, у порівнянні з білками пшениці, чутливості до протеолітичного гідролізу у шлунково-кишковому тракті та засвоюваності організмом людини (тварини).

7. Отримані результати досліджень і висновки, створений перспективний генетичний та селекційний рослинний матеріал лягли в основу методології створення в Україні сортів голозерного ячменю – цінної зернової культури харчового (кормового) напряму технологічного використання зерна.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Percival J. The wheat plant. Duckworth Publishers. – London, 1921.
2. Byung-Kee Baik, Steven E. Ullrich. Barley for food: characteristics, improvement and

- renewed interest // *Journ. of Cereal Sci.* – 2008. – V.48. – P. 233-242.
3. Trowell H. Coronary heart disease and dietary fiber // *Am. Journ. Clin. Nutr.* – 1975. – V. 28. – P. 798-800.
  4. Rimm E.B., Ascherio A., Giovannucci F., Spiegelman D., Stampfer M., Willett W. Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men // *Journ. Am. Med. Assoc.* – 1996. – V. 275. – P. 447-451.
  5. Yang J.-L., Kim Y.-H., Lee H.-S., Lee M.-S., Moon Y. Barley  $\beta$ -glucan lowers serum cholesterol based on the up-regulation cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase activity and mRNA abundance in cholesterol –fed rats // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* – 2003. – V. 49. – P. 381-387.
  6. Hinata M., Ono M., Midoikawa S., Nakanishi K. Metabolic improvement of male prisoners with type 2 diabetes in Fukushima Prison. *Japan. Diabetes Res // Clin. Pract.* – 2007. – V. 77. – P. 327-332.
  7. NACRe. Fibres et prévention du cancer colorectal // *Let. Sc. IFN.* – 2001. – V. 81. – P. 1-12.
  8. Newman R.K, Newman C.W. Barley for food and health - science, technology and products // John Wiley & Sons, Inc., Publ. USA. – 2009. – P. 245.
  9. Koenig A., Wieser H., Koehler P. Distinguishing wheat and spelt using typical protein markers.// *Proc. of the 10th Intl. Gluten Workshop.* – Clermont-Ferrand, France, 2009. – P. 142 -145.
  10. Linko P., Harkanen H., Linko Y. Effect of sodium chloride in the processing of bread baked from wheat, rye and barley flours // *J. Cereal. Sci.* –1984. –2. – P. 53-62.
  11. Magnus E., Fjell K., Steinsholt K. Barley flour in Norwegian wheat bread // *Cereals in a European Context.* Ellis Horwood. – Chichester, UK, 1987. – P. 377-384.
  12. Marconi E., Graziano M., Cubadda R. Composition and utilization of barley pearling by-product for making functional pastas rich in dietary fiber and  $\beta$ -glucans // *Cereal Chem.* – 2000. – 77. – P. 133 -139.
  13. McIntosh G., Whyte J., McArthur R., Nestel P.G. Barley and wheat foods: influence on plasma cholesterol concentration in hypercholesterolemic men // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 1991. – 53. – P. 1205 –1209.
  14. NACRe. Fibres et prevention du cancer colorectal // *Let. Sc. IFN.* –2001. –81. – P. 1– 12.
  15. Newman R.K, Newman C.W. Barley for food and health – science, technology and products. – New York :John Wiley & Sons Inc. Publ. USA, 2009 – P. 245.
  16. Niffenegger E.V. Chemical and physical characteristics of barley flour as related to its use in baked products. – Bozeman, Montana: M.S. thesis. Montana State University, 1964.
  17. Percival J. The wheat plant. – London: Duckworth Publ., 1921.
  18. Rimm E.B., Ascherio A., Giovannucci F. et al. Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men // *J. Amer. Med. Assoc.* – 1996. – 275. – P. 447- 451.

19. Rosenberger A. Identification of top-performing cereal cultivars for grain-to-ethanol operations // Zuckerindustrie. – 2005. – 130. – P. 697-701.
20. Trowell H. Coronary heart disease and dietary fiber // Amer. J. Clin. Nutr. – 1975. – 28. – P. 798-800.
21. Wang L., Xue Q., Newman R. et al. Tocotrienol and fatty acid composition of barley oil and their effects on lipid metabolism // Plant Foods Hum. Nutr. – 1993. – 43. – P. 9-17.
22. Xue Q., Wang I., Newman R. et al. Influence of the hulless, waxy starch, and short-awn genes on the composition of barleys // J. Cereal. Sci. – 1997. – 26. – P. 251-257.
23. Yang J.-L., Kim Y.-H., Lee H.-S. Barley  $\beta$ -glucan lowers serum cholesterol based on the upregulation cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase activity and mRNA abundance in cholesterol –fed rats // J. Nutr. Sci. Vitaminol. – 2003. – 49. – P. 381-387.

Надійшла 19.03.2013 р.