

<https://doi.org/10.15407/frg2023.02.142>

УДК 577.224:581.154:633.16

ІДЕНТИФІКАЦІЯ МУТАЦІЙ ГЕНІВ *lpa* У ЗЕРНІВКАХ ЯЧМЕНЮ ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ

В.Б. КАТРІЙ¹, Л.Г. ВЕЛИКОЖОН^{1,2}, Л.В. СЛИВКА¹, О.І. РИБАЛКА^{1,3},
Б.В. МОРГУН^{1,2}

¹Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

²Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії
наук України

03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

³Селекційно-генетичний інститут—Національний центр насіннезнавства та
сортовивчення Національної академії аграрних наук України

65036 Одеса, Овідіопольська дорога, 3

e-mail: katriy.vlad@gmail.com

Фосфор, який міститься у зерні злаків, на 65—85 % представлений у формі фітинової кислоти та її солей. Наявність мутацій у генах *lpa* спричинює зниження вмісту міо-інозитол-1,2,3,4,5,6-гексакісфосфатів у насінні, що сприяє засвоєнню організмом людини мінеральних елементів (фосфору, заліза, цинку та ін.). З огляду на це важливою є ідентифікація у селекційних лініях ячменю (*Hordeum vulgare* L.) мутацій *lpa*, які впливають на рівень накопичення фітатів у зерні. Для досягнення поставленої мети ми використали методику виділення ДНК (ЦТАБ метод), електрофорез ДНК у агарозному гелі, полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР). Відпрацьовані маркерні системи для ідентифікації мутантів *lpa1-1* та *lpa2-1* дають змогу ефективно аналізувати селекційний матеріал. Загалом серед проаналізованих нами 82 селекційних ліній було ідентифіковано 30 зразків з мутаціями *lpa1-1* та 36 — з *lpa2-1*. Застосована методика визначення алелів *lpa1-1* та *lpa2-1*, які впливають на вміст фітатів у зерні ячменю, уможливило ефективний аналіз селекційних ліній цієї культури, які будуть згодом залучені до створення досконаліших сортів.

Ключові слова: *Hordeum vulgare* L., ячмінь, *lpa*-мутації, фітинова кислота, фосфати, маркер-допоміжна селекція.

Ячмінь широко культивується в усьому світі, оскільки є джерелом солоду для пивоварної галузі, кормів і продуктів харчування. Він має відносно простий геном, розмір якого становить приблизно 4800 мільйонів пар нуклеотидів (пн) [1] та визначає його агрономічні й технологічні характеристики. Серед генів, що були вивчені у культурі ячменю, особливий інтерес становлять гени *lpa* (low phytic acid), які впливають на рівень накопичення фітатів у зернівках. Фітинова кислота (міо-інозитол-1,2,3,4,5,6-гексакісфосфат) [2] є основною фор-

Цитування: Катрій В.Б., Великожон Л.Г., Сливка Л.В., Рибалка О.І., Моргун Б.В. Ідентифікація мутацій генів *lpa* у зернівках ячменю за допомогою молекулярних маркерів. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023. 55, № 2. С. 142—149. <https://doi.org/10.15407/frg2023.02.142>

мою зберігання фосфору в зерні злаків і містить 65–85 % його загальної кількості [3]. У формі солей фітатів вона має сильні демінералізувальні властивості і здатна не тільки блокувати всмоктування й засвоєння мінералів, що надходять разом з їжею, а й вимивати з організму вже наявні запаси кальцію, магнію, заліза, міді та цинку.

У зв'язку з цим для селекції багатьох зернових культур низький вміст фітинової кислоти став бажаною ознакою. Мутанти з низьким її вмістом були отримані у результаті хімічного впливу або гамма-опромінення для кількох основних сільськогосподарських культур, включно ячмінь [6], рис (*Oryza sativa* L.) [7, 8, 9], пшениця (*Triticum aestivum* L.) [10], кукурудза (*Zea mays* L.) [11–13], соя (*Glycine max* (L.) Merr.) [14–15] та квасоля (*Phaseolus vulgaris* L.) [16].

Крім того, органічний фосфор, який накопичується у формі фітатів у зерні ячменю і не засвоюється людським організмом, тваринами з однокамерним шлунком і птицею, виводиться назовні в процесі травлення, що спричинює шкоду навколишньому середовищу, зокрема збільшенню забруднення цим елементом водою та орних земель. Зважаючи на проблематику екологічної безпеки, важливо є селекція сортів, які містять мінімальний рівень фітатів. Голозерний ячмінь з мутаціями генів *lpa* істотно сприяє поліпшенню біодоступності мінерального фосфору та зниженню накопичення органічних фосфатів у навколишньому середовищі.

Тому метою нашої роботи була розробка методики визначення алелів *lpa1-1* та *lpa2-1*, що впливають на вміст фітатів у зерні ячменю, для ефективного аналізу селекційних ліній цієї культури, які будуть згодом залучені до створення досконаліших сортів

Методика

В якості донорів мутацій *lpa* використовувалися мутантні лінії з *lpa* генотипами. Зразок ярого голозерного дворядного ячменю — зареєстрований сорт CDC Lophy (*lpa3-1*), надісланий нам професором Brian Rossnagel (University of Saskatchewan, Crop Development Centre, Saskatoon, Canada). Зразки ярого плівчастого дворядного ячменю Jersey (Нідерланди) та ярого плівчастого дворядного ячменю Abyssinian 1105 (Ефіопія) з чорним зерном отримані з колекції Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва—Національного центру генетичних ресурсів рослин України.

Схрещування проводили з ярим голозерним ячменем сорту Ахіллес, внесеним до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, добре адаптованим до умов вирощування на півдні України. Вибірка агрономічно найпривабливіших рослин з селекційної популяції особин третього покоління, яка розщеплювалася, була залучена до даного дослідження. Рослини ячменю вирощували за польових умов Одеської області на території Селекційно-генетичного інституту—Національного центру насіннезнавства та сортовивчення НААН України.

Загальну ДНК виділяли з трьох зернин, взятих з одного колоса, ЦТАБ (гексадецилтриметиламонію бромід) експрес методом, який передбачає використання лізувального буфера для якісного перевер-

дення ДНК в розчин [17, 18]. Після очищення ДНК перевіряли якість отриманої ДНК методами горизонтального електрофорезу в агарозному гелі [19] та спектрофотометричного вимірювання концентрації ДНК. Зразок готували наступним чином: в пробірку вносили 95 мкл деіонізованої води Milli-Q (Merck Millipore), додавали 5 мкл препарату загальної ДНК і перемішували. Контролем слугував 5 мкл ТЕ буфер рН 8,0. Концентрацію дослідного зразка вимірювали на фотометрі КФК-3-01 (ЗОМЗ) згідно з інструкцією виробника. Відповідно до отриманих даних здійснювали розведення зразка загальної ДНК до 30 нг/мкл.

Реакційні суміші для проведення ПЛР включали: по 0,5 мкл 10 мкМ специфічних праймерів для відповідної реакції, по 2 мкл буфера для ПЛР 10× Reaction Buffer B (Solis BioDyne), по 2 мкл 1 мМ Cresol, 60 % Sucrose (Solis BioDyne), по 1,6 мкл 25 мМ MgCl₂ (Solis BioDyne), по 2 мкл 2 мМ кожного дезоксирибонуклеотид-3-фосфата (Thermo Fisher Scientific), 0,5 од. полімерази FIREPol DNA Polymerase (Solis BioDyne), 30 нг загальної ДНК і деіонізовану воду Milli-Q до кінцевого об'єму 20 мкл. Праймери синтезовані фірмою Metabion (Німеччина) (табл. 1). Вони зберігалися у вигляді робочих розчинів концентрацією 10 мМ у стерильному ТЕ буфері (рН 8,0) за температури –20 °С.

Програма ампліфікації на обидва локуси була така: денатурація 94 °С — 4 хв, 34 цикли: денатурація 94 °С — 30 с, ренатурація 56 °С — 30 с, елонгація 72 °С — 30 с, завершення елонгації 72 °С — 5 хв. Кінцева концентрація праймерів у реакції становила 0,5 мкМ [2].

Продукти ампліфікації ДНК ідентифікували електрофоретичним розділенням у 1,2 % агарозному гелі із залученням етидій броміду як фарбувального реагенту. Мутацію *lpa1-1* у локусі ідентифікували за наявністю амплікону завдовжки 650 пн, а наявність амплікону розміром 270 пн вказувала на мутацію *lpa2-1*. Для визначення розміру продуктів ампліфікації використовували ДНК-маркер GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific, США). Напругу на електродах налаштовували залежно від розміру камери для електрофорезу (від 3 до 7 В/см), а час проведення електрофоретичного аналізу тривав від 30 хв до 2 год залежно від розмірів очікуваних ампліконів.

Результати електрофорезу візуалізували за допомогою джерела УФ-світла (LKB Transilluminator 2011 Macovue, Швеція) та документували фотоапаратом Canon EOS 600D. Отримане зображення обробляли графічним редактором GIMP і застосунком Microsoft

ТАБЛИЦЯ 1. ДНК-маркери, використані для проведення ПЛР [5]

Назва маркера	Нуклеотидна послідовність праймера	Розмір очікуваного амплікону, пн	Локус
MSU21	5'-TGGTCTTTCATGTACCTACC-3' 5'-TGTGTCATCAAGCACAACCA-3'	650	<i>lpa1-1</i>
Bmag120	5'-ATTTTCATCCCAAAGGAGAC-3' 5'-GTCACATAGACAGTTGTCTTCC-3'	270	<i>lpa2-1</i>

PowerPoint.

Результати та обговорення

Ген *lpa* вперше був ідентифікований у *Arabidopsis thaliana* в 2002 р., а подальші дослідження показали, що він також наявний і в інших видах рослин, включно рис, кукурудзу, інші злакові та томати [4, 5]. У низці праць було докладно охарактеризовано вплив мутантних *lpa*-локусів на вміст у зерні ячменю органічного й мінерального фосфору [3, 20–22] (табл. 2). Наявність мутантних генів *lpa* вказує на низький вміст зв'язаного (органічного) фосфору, що не може засвоюватись організмом людини, та підвищений вміст доступного (мінерального) фосфору [3]. Мутації *lpa1-1* і *lpa2-1* були маповані на хромосомах 2Н і 7Н відповідно, а їх наявність приводить до зменшення вмісту фітинової кислоти в насінні до 50 і 70 %, відповідно [6].

Культури з низьким вмістом фітатів є цінними для покращення процесів харчування, оскільки роблять важливі мінерали доступнішими для засвоєння організмами людини та тварин. Наявність генотипів *lpa* у культурі ячменю може впливати на його агрономічні показники, зокрема призводить до зниження врожайності та розміру насіння [23]. Тому ідентифікація мутацій *lpa1-1* та *lpa2-1* у селекційних лініях ячменю є вкрай важливою. Мутація *lpa1-1* була однією з перших ідентифікована за обробки насіння ячменю сорту Harrington азидом натрію.

У наших дослідженнях для ідентифікації мутації *lpa1-1* було проаналізовано 82 селекційні лінії ячменю. За результатами проведених полімеразних ланцюгових реакцій та електрофоретичного визначення продуктів ампліфікації ДНК ячменю у частини зразків спостерігався прояв двох ампліконів (рис. 1, доріжки 9, 12, 14) завдовжки приблизно 500 та 650 пн, що пов'язано з розщепленням та гетерозиготним станом гена. Зразки, представлені на доріжках 3, 5–8, характеризувалися гомозиготним станом гена *lpa1-1*.

Відомо, що ячмінь є хорошим джерелом дієтичної клітковини, мінералів та вітамінів. Ген *lpa2-1* впливає на експресію декількох ключових ферментів, що беруть участь у синтезі клітковини, включно целюлозу та геміцелюлозу. Ті самі 82 селекційні лінії ячменю було проаналізовано також на наявність мутації *lpa2-1*. Типова електрофореграма наведена на рис. 2. Результати проведених досліджень підтвердили існування гомозиготного (див. рис. 2, доріжка 10) та ге-

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив мутантних *lpa*-локусів на вміст у зерні ячменю органічного та мінерального фосфору [20–22]

Мутація, локус	Локалізація на хромосомі	Вплив на вміст фосфору
<i>lpa1-1</i> M422	2Н	Знижує на ~50 % вміст фітину, еквівалентно підвищує вміст мінерального фосфору. На ~15 % знижує вміст загального фосфору
<i>lpa2-1</i> M1070	7Н	Знижує на ~50 % вміст фітину, еквівалентно підвищує вміст мінерального фосфору

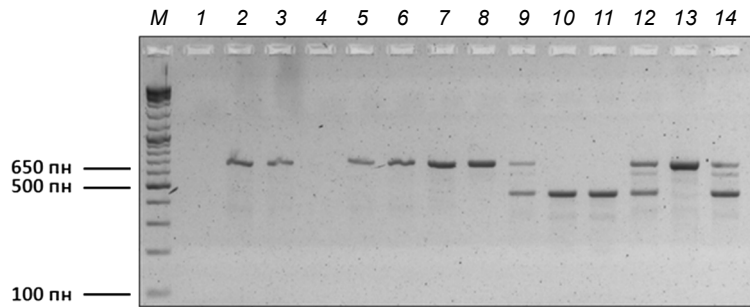


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК зразків ячменю з маркером MSU21 для виявлення мутації *lpa1-1*:

1 — контроль, ампліфікація з ТЕ буфером, без додавання ДНК; 2 — позитивний контроль (сорт Lophy); 3–14 — дослідні зразки, M — маркер молекулярної маси GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific, США)

терозиготного стану (див. рис. 2, доріжки 2, 3, 8, 9) гена *lpa2-1*. Зернівки дикого типу виявляли амплікон завдовжки приблизно 250 пн (див. рис. 2, доріжки 4–7).

Наявність мутації у локусі *lpa1-1* ідентифікували за наявністю амплікона завдовжки 650 пн. Серед досліджених рослин F₃ носіями мутації *lpa1-1* виявились 30 рослин (36,6 %), наявність гетерозиготного стану спостерігалось у 7 зразках (8,5 %). Наявність мутації у локусі *lpa2-1* ідентифікували за наявністю амплікона завдовжки 270 пн. Серед досліджених рослин мутантними за *lpa2-1* виявились 36 зразків (43,9 %), гетерозиготність локусу спостерігалась у 10 зразках (12,2 %) (табл. 3).

Отже, у дослідженій селекційній популяції зберігався ще досить високий рівень гетерозиготності генотипів. Тому одна зернівка з кожної рослини, що була взята для аналізу методом ПЛР, є репрезентативною лише для гомозиготних рослин, і не є такою для рослин гетерозиготних за мутацією. Однак проведене тестування значної кількості досліджуваних зразків все ж відображає загальну картину, яка має місце в експериментальній популяції рослин.

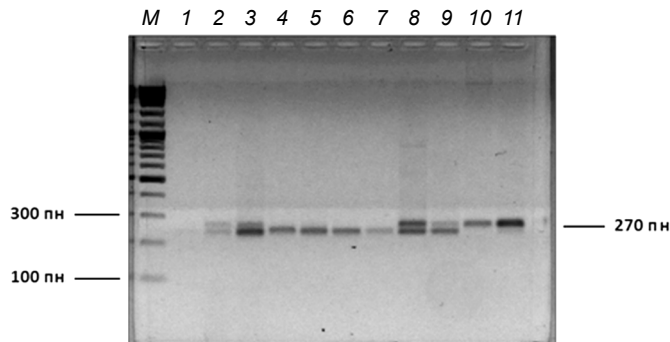


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК зразків ячменю з маркером Vmag120 для виявлення мутації *lpa2-1*:

1 — контроль (ампліфікація з ТЕ буфером, без додавання ДНК), 2–10 — дослідні зразки, 11 — позитивний контроль (сорт Lophy); M — ДНК-маркер GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific, США)

ІДЕНТИФІКАЦІЯ МУТАЦІЙ ГЕНІВ *lpa* У ЗЕРНІВКАХ ЯЧМЕНЮ

ТАБЛИЦЯ 3. Результати ідентифікації *lpa* мутацій у зерні ячменю

Варіант	<i>lpa1-1-1</i>	<i>lpa2-1-1</i>
Ідентифіковано рослин з мутацією	30 (36,6 %)	36 (43,9 %)
Ідентифіковано гетерозигот	7 (8,5 %)	10 (12,2 %)
Кількість проаналізованих селекційних ліній	82 (100 %)	82 (100 %)

Таким чином, за результатами проведених молекулярно-генетичних аналізів 82 селекційних ліній встановлено, що 36,6 % із них були носіями локусу *lpa1-1* та 43,9 % — локусу *lpa2-1*. Залучення чи спонтанної зміни алельних станів даних локусів у колекційних сортах ячменю детектовано не було. Показано, що застосовані методики ідентифікації *lpa*-мутацій, котрі впливають на вміст фітатів у зерні голозерного ячменю, дають змогу аналізувати та ідентифікувати рослини з бажаними мутаціями. Відібрані генотипи будуть надійно й оперативно використані у подальшій селекційній роботі.

REFERENCES

- Arumuganathan, K. & Earle, E.D. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol.*, 9, pp. 208-218. <https://doi.org/10.1007/BF02672069>
- Derdanier, C., Dwyer, J. & Herber, D. (2013). *Handbook of nutrition and food* (3rd ed.). CRC Press, p. 199. ISBN 978-1-4665-0572-8.
- Raboy, V. (2001). Seeds for a better future: 'low phytate', grains help to overcome malnutrition and reduce pollution. *Trends Plant Sci.*, 6, pp. 458-462. <https://doi.org/10.3390/plants4040728>
- Dorsch, J.A., Cook, A., Young, K.A., Anderson, J.M., Bauman, A.T., Volkmann, C.J., Murthy P.P.N. & Raboy, V. (2003). Seed phosphorus and inositol phosphate phenotype of barley low phytic acid genotypes. *Phytochemistry*, 62, pp. 691-706. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00610-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00610-6)
- Oliver, R.E., Yang, C., Hu, G., Raboy, V. & Zhang, M. (2009). Identification of PCR-based DNA markers flanking three low phytic acid mutant loci in barley. *J. Plant Breed. Crop Sci.*, 1, pp. 87-93. <https://doi.org/10.5897/JPBCS.9000081xxx1>
- Larson, S.R., Young, K.A., Coe, K.A., Blake, T.K. & Raboy, V. (1998). Linkage mapping of two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theor. Appl. Genet.*, 97, pp. 141-146. <https://doi.org/10.1007/s001220050878>
- Kim, S.I., Andaya, C.B., Goyal, S.S. & Tai, T.H. (2008). The rice *OsLpa1* gene encodes a novel protein involved in phytic acid metabolism. *Theor. Appl. Genet.* 117, pp. 769-779. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0818-z>
- Liu, Q.L., Xu, X.H., Ren, X.L., Fu, H.W., Wu, D.X. & Shu, Q.Y. (2007). Generation and characterization of low phytic acid germplasm in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 114, pp. 803-814. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0478-9>
- Zhao, H.J., Liu, Q.L., Fu, H.W., Xu, X.H., Wu, D.X. & Shu, Q.Y. (2008). Effect of non-lethal low phytic acid mutations on grain yield and seed viability in rice. *Field Crops Res.*, 108, pp. 206-211. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.05.006>
- Guttieri, M., Bowen, D., Dorsch, J.A., Raboy, V. & Souza, E. (2003). Identification and characterization of a low phytic acid wheat. *Crop Sci.*, 44, pp. 418-424. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.4180>
- Shi, J.R., Wang, H.Y., Wu, Y.S., Hazebroek, J., Meeley, R.B. & Ertl, D.S. (2003). The maize low-phytic acid mutant *lpa2* is caused by mutation in an inositol phosphate kinase gene. *Plant Physiol.*, 131, pp. 507-515. <https://doi.org/10.1104/pp.014258>
- Shi, J.R., Wang H.Y., Hazebroek, J., Ertl, D.S. & Harp, T. (2005). The maize low-phytic acid 3 encodes a myo-inositol kinase that plays a role in phytic acid biosynthesis in developing seeds. *Plant J.*, 42, pp. 708-719. <https://doi.org/10.1111/j.1365-13X.2005.02412.x>

13. Shi, J.R., Wang, H.Y., Schellin, K., Li, B.L., Faller, M., Stoop, J.M., Meeley, R.B., Ertl, D.S., Ranch, J.P. & Glassman, K. (2007). Embryo-specific silencing of a transporter reduces phytic acid content of maize and soybean seeds. *Nat Biotechnol.*, 25, pp. 930-937. <https://doi.org/10.1038/nbt1322>
14. Hitz, W.D., Carlson, T.J., Kerr, P.S. & Sebastian, S.A. (2002). Biochemical and molecular characterization of a mutation that confers a decreased raffinose and phytic acid phenotype on soybean seeds. *Plant Physiol.*, 128, pp. 650-660. <https://doi.org/10.1104/pp.010585>
15. Yuan, F.J., Zhao, H.J., Ren, X.L., Zhu, S.L., Fu, X.J. & Shu, Q.Y. (2007). Generation and characterization of two novel low phytate mutations in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Theor. Appl. Genet.*, 115, pp. 945-957. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0621-2>
16. Campion, B., Sparvoli, F., Doria, E., Tagliabue, G., Galasso, I., Fileppi, M., Bollini, R. & Nielsen, E. (2009). Isolation and characterisation of an *lpa* (low phytic acid) mutant in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 118., pp. 1211-1221. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2008.01569.x>
17. Brody, J.R. & Kern, S.E. (2004). History and principles of conductive media for standard DNA electrophoresis. *Anal. Biochem.*, 333, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.05.054>
18. Soma, M. (2006). Extraction and purification of DNA. Session 4. In: Training Course on the Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms. User Manual. Edited by Querci M., Jermini M., Van den Eede G. European Commission, DJ joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection: Luxembourg. p. 229.
19. Godwin, I.D., Aitken, E.A.B. & Smith, L.W. (1997). Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis*. 18, No. 9, pp. 1524-1528. <https://doi.org/10.1002/elps.1150180906>
20. Raboy, V. (2002). Progress in breeding low phytate crops. *J. Nutr.*, 132, pp. 503-505. <https://doi.org/10.1093/jn/132.3.503S>
21. Raboy, V., Young, K., Dorsch, J. & Cook, A. (2001). Genetics and breeding of seed phosphorus and phytic acid. *J. Plant Physiol.*, 158, pp. 489-497. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00361>
22. Rybalka, O.I., Schwartau, V.V., Polishchuk, S.S. & Morgun, B.V. (2019). Reduction of phytate content as a means of barley biofortification on grain mineral composition. *Fiziol. rast. genet.*, 51, No. 2, pp. 95-113. <https://doi.org/10.15407/frg2019.02.095>
23. Bregitzer, Ph., Hu, G., Marshall, J. & Raboy, V. (2017). Registration of "Sawtooth" lowphytate, hullless, spring barley. *J. Plant Reg.*, 11, pp. 81-84. <https://doi.org/10.3198/jpr2016.09.0049crc>

Received 12.04.2023

IDENTIFICATION OF *lpa* MUTATIONS IN BARLEY GRAINS USING MOLECULAR MARKERS

V.B. Katrii¹, L.G. Velykozhon^{1,2}, L.V. Slyvka¹, O.I. Rybalka^{1,3}, B.V. Morgun^{1,2}

¹Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

²Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine
148 Akademika Zabolotnoho St., 03143, Kyiv, Ukraine

³Plant Breeding and Genetics Institute—National Centre of Seed and Cultivars Investigation, National Academy of Agricultural Sciences of Ukraine

3 Ovidiopolska Road, Odesa, 65036, Ukraine
e-mail: katriy.vlad@gmail.com

Phosphorus contained in cereal grains is by 65–85 % in the form of phytic acid and its salts. Mutations in *lpa* genes lead to a decrease in the content of myo-inositol-1,2,3,4,5,6-hexak-

isphosphates in seeds, that play in favor of the assimilation of mineral elements (phosphorus, iron, zinc and others) by the human organism. That why it is so important to identify in barley (*Hordeum vulgare* L.) breeding lines *lpa* mutations that affect the level of phytates accumulation in grain. For this aim, we used DNA isolation method (CTAB method), DNA electrophoresis in agarose gel, and polymerase chain reaction (PCR). Developed marker systems for identification of *lpa1-1* and *lpa2-1* mutations allowed efficient analysis of breeding material. In total, 30 samples with *lpa1-1* and 36 — with *lpa2-1* mutations were identified among the 82 breeding lines. The applied method of detecton *lpa1-1* and *lpa2-1* mutations, which affect the content of phytates in barley grains, allowed us to find promising genotypes, which will be used in future crossings.

Key words: *Hordeum vulgare* L., barley, *lpa* mutations, phytic acid, phosphates, marker-assisted selection.

ORCID

В.Б. КАТРИЙ — Vladyslav Katryi <https://orcid.org/0000-0003-4034-3270>

Л.Г. ВЕЛИКОЖОН — Liudmyla Velykozhon <https://orcid.org/0000-0002-5935-9363>

Л.В. СЛИВКА — Людмила Сливка <https://orcid.org/0000-0001-6133-4395>

О.І. РИБАЛКА — Oleksandr Rybalka <https://orcid.org/0000-0003-0103-1012>

Б.В. МОРГУН — Bogdan Morgun <https://orcid.org/0000-0001-7041-6894>