

<https://doi.org/10.15407/frg2020.06.469>

УДК 633.15:575.113.2. 57.045

## ОЦІНКА СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ, АДАПТОВАНОГО ДО УМОВ СТЕПУ УКРАЇНИ, ЗА АЛЕЛЬНИМ СТАНОМ ГЕНА $\beta$ -КАРОТИНГІДРОКСИЛАЗІ1

Ю.О. ГОНЧАРОВ<sup>1</sup>, Л.М. ПРИСЯЖНЮК<sup>2</sup>, Ю.В. ШИТІКОВА<sup>2</sup>, С.І. МЕЛЬНИК<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ТОВ «Науково-дослідний інститут аграрного бізнесу»

52502 Дніпропетровська обл., Синельниківський р-н, с. Веселе, вул. Токова, 2A

<sup>2</sup>Український інститут експертизи сортів рослин

03041 Київ, вул. Генерала Родімцева, 15

e-mail: prysiazhniuk\_1@ukr.net

Наведено результати молекулярно-генетичного аналізу алельного стану гена  $\beta$ -каротингідроксилазі1 у 63 самозапильних інбредних ліній кукурудзи вихідної комбінації CM358×BH41. У польових умовах упродовж 2018–2019 рр. оцінено загальну комбінаційну здатність (ЗК3) та специфічну комбінаційну здатність (СК3) за урожайністю та збиральною вологістю зерна досліджуваних ліній. За допомогою факторного аналізу визначено частки впливу генотипу самозапильних ліній та ліній-тестерів, умов вегетаційного періоду року на ознаки урожайності та збиральної вологості зерна. В результаті дослідження поліморфізму 3'-кінця гена *crtRB1* ідентифіковано 12 ліній зі сприятливим алелем розміром 543 пн, що характеризувались підвищеним вмістом каротиноїдів у зерні. В середньому за 2018–2019 рр. високу оцінку ЗК3 за показником «урожайність зерна» отримали лінії RLI19 і RLI34 (відповідно 3,36 та 3,72 т/га). За показником «збиральна вологість зерна» серед досліджених самозапильних ліній найліпшими виявилися лінії RLI19 і RLI49 з низькими оцінками ЗК3 у 2018–2019 рр.: відповідно –1,58 та –1,3 %. За урожайністю зерна лінії RLI19 і RLI34 з високою оцінкою ЗК3 за 2018–2019 рр., є практично цінними як селекційний матеріал для гетерозисної селекції і можуть бути широко використані у програмах гібридизації. Лінії кукурудзи RLI19 і RLI49, із низькою оцінкою ЗК3 за показником «збиральна вологість зерна» доцільно використовувати для створення гібридів із низькою вологістю зерна. В результаті досліджень визначено, що на урожайність тесткросів і збиральну вологість зерна кукурудзи найбільше впливають умови вегетаційного періоду року – відповідно 58 і 36 %. Отже, визначення ліній, перспективних для створення гетерозисних гібридів за урожайністю, ґрунтуються на високих оцінках ефектів ЗК3 і СК3, а лінії, цінні для отримання гібридів із низькою збиральною вологістю зерна – на найнижчих оцінках ефектів ЗК3 та варіансів СК3.

**Ключові слова:** алель, каротиногенез, загальна комбінаційна здатність, специфічна комбінаційна здатність, частка впливу факторів.

Щитування: Гончаров Ю.О., Присяжнюк Л.М., Шитікова Ю.В., Мельник С.І. Оцінка селекційного матеріалу кукурудзи, адаптованого до умов Степу України, за алельним станом гена  $\beta$ -каротингідроксилазі1. *Фізіологія рослин і генетика*. 2020. 52, № 6. С. 469–482. <https://doi.org/10.15407/frg2020.06.469>

Кукурудза (*Zea mays L.*) — одна з основних продовольчих культур, яку вирощують у більш як 150 країнах світу на загальній площі близько 187 млн гектарів, валовий збір зерна становить 1 млрд 138 млн т [1].

Зерно кукурудзи з жовтим кольором ендосперму характеризується значним вмістом β-каротину — джерела вітаміну А [2] — та високим рівнем загальних каротиноїдів. Зазвичай сорти жовтої кукурудзи містять у зерні від 0,5 до 1,5 мкг/г β-каротину [3—6]. Дослідженнями Yan та співавт. [7] показано, що ген *crtRB1*, який є ключовим у шляху біосинтезу каротиноїдів, відповідає за підвищений вміст β-каротину в зерні кукурудзи. Цей ген розміщений у хромосомі 10 і кодує фермент β-каротингідроксилазу, який бере участь у біосинтезі лікопіну. Виявлено три поліморфні сайти гена *crtRB1*, які істотно впливають на вміст β-каротину: 5'ТЕ — 5'-нетрансльований регіон, InDel4 — у кодуючому регіоні та 3'ТЕ — охоплює шостий екзон і 3'-нетрансльований регіон. Поліморфізм гена *crtRB1* визначається трьома алелями: 543 пн (алель 1), 296 + 875 пн (алель 2) та 296 пн (алель 3), причому наявність сприятливого алеля 1 впливає на знижену експресію гена й пов'язана з підвищеним вмістом β-каротину [7]. Маркер *crtRB1*-3'ТЕ до гена *crtRB1* використовують у маркер-асоційованій селекції (MAC) на підвищений вміст β-каротину [8, 9].

В останні роки в Україні й за кордоном активно досліджують ідентифікацію та створюють лінії кукурудзи з підвищеним вмістом β-каротину в зерні за допомогою MAC [10—18]. Разом з тим успіх селекційної роботи великою мірою залежить від адаптивної здатності вихідного матеріалу до умов конкретної зони вирощування. Отримання гібридів із високим вмістом каротиноїдів у зерні ґрунтуються не тільки на поєднанні ліній з максимальною експресією генів, які визначають вміст каротиноїдів, а й на пошуку комбінацій з виявленням позитивного ефекту гетерозису за цією ознакою [14].

Успіх гетерозисної селекції кукурудзи залежить від правильного добору вихідного матеріалу. Наявність господарсько цінних ознак у батьківських форм не гарантує їх виявлення у потомства [19]. Необхідною вимогою до вихідного матеріалу в процесі селекції на гетерозис є добір форм за спадковими факторами, які визначають комбінаційну здатність [20]. Оцінка рівня комбінаційної здатності є одним із головних етапів селекційного процесу щодо створення високоворожайних гібридів, адаптованих до конкретних умов вирощування [21, 22], тому актуальною залишається оцінка ліній кукурудзи, які містять *crtRB1*-3'ТЕ поліморфізм, за комбінаційною здатністю для подальшого використання у селекційній роботі.

Метою дослідження був добір перспективних ліній кукурудзи за наявністю сприятливого алеля гена β-каротингідроксилази1 та їх оцінка за комбінаційною здатністю для подального використання у селекційній роботі.

## Методика

Досліджували 63 лінії кукурудзи селекції ТОВ «Науково-дослідний інститут аграрного бізнесу» (ТОВ «НДІ АБ»), які належать до гено-плазм Айодент.

## ОЦІНКА СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ

Молекулярно-генетичні дослідження проводили в лабораторії молекулярно-генетичного аналізу Українського інституту експертизи сортів рослин спільно з лабораторією молекулярної генетики ТОВ «ДУ АБ». ДНК екстрагували з п'ятидобових проростків кукурудзи за допомогою цетилтритеміламонійброміду (ЦТАБ) із дворазовим очищеннем суміші хлороформом і розчином етанолу. Отриману ДНК розчиняли в ТЕ-буфері [23].

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили з використанням маркера crtRB1-3'ТЕ до алеля 1, який пов'язаний із підвищеним вмістом каротинойдів у зерні. Нуклеотидна послідовність праймерів: F (прямий) — ACACCACATGGACAAGTCG, R1 (зворотний 1) — ACACTCTGGCCCATGAACAC, R2 (зворотний 2) — ACAGCAATA-CAGGGGACCAAG [7]. Реакційна суміш об'ємом 20 мкл містила: однократний буфер для ПЛР ( $10\times$ Dream Taq Green TM), по 0,2 мМ кожного dNTP, по 0,25 мКМ кожного праймера, 30 нг ДНК, 1 од. Dream Taq TM полімерази (Thermo Scientific). Температурні параметри ПЛР: початкова денатурація — 94 °C, 2 хв; далі 30 циклів: 94 °C — 0,5 хв; 60 °C — 1 хв; 72 °C — 1 хв; завершальна елонгація — 72 °C, 5 хв. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі (BioRad IQ5, USA).

Продукти ПЛР розділяли в 2 %-му агарозному гелі за напруженості електричного поля 5 В/см протягом 2 годин. Розміри отриманих ампліконів визначали за допомогою програми TotalLab TL120 (тестова версія).

Польові досліди проведено на дослідних ділянках ТОВ «Науково-дослідний інститут аграрного бізнесу» (с. Веселе, Дніпропетровська обл.) упродовж 2018—2019 рр. Показники температури повітря та кількості опадів у період вегетації кукурудзи надала Синельниківська гідрометеостанція. Середньодобова температура повітря в 2018 р. на початку вегетації кукурудзи у квітні—травні становила 12,9 та 18,6 °C. З червня по серпень температура підвищувалася з 21,4 до 23,6 °C. З квітня по липень вологозабезпечення було достатнім, сума опадів становила від 20,1 до 69,5 мм. Серпень був посушливий з повною відсутністю опадів. Середньодобова температура повітря в 2019 р. з квітня по червень становила 10,9—23,9 °C, кількість опадів у травні і червні була недостатньою — відповідно 21,3 і 1,0 мм. Зниження середньої температури до норми (20,9 °C) у липні сприяло нормальному запиленню качанів.

Досліджувані лінії отримані в результаті семи повторних самозапилень ліпших рослин із вихідної комбінації СМ 358 × ВН 41. Лінії створені в північній підзоні Степової зони України та адаптовані до природно-кліматичних умов цієї зони. Генетичну цінність самозапильних ліній визначали за загальноприйнятими методиками [24—26].

Досліджувані лінії схрещували під ізоляторами на трьох качанах кожної гібридної комбінації. Щоб визначити лінії кукурудзи як перспективний селекційний матеріал для отримання адаптованого до умов степу України, було оцінено ефекти ЗКЗ і варіанси СКЗ методом топкросних схрещувань [24]. Для визначення ЗКЗ використовували три тестери: два сестринські гібриди — СГ290С (плазма Ланкастер), СГ247 С (плазма Ланкастер) та одну лінію СА6263 (Рейд/Ланкастер). Стандартом слугувала вихідна лінія СМ358.

Частку впливу факторів (самозапильна лінія, лінія-тестер, умови вегетаційного періоду року) на урожайність і збиральну вологість зерна тесткросів визначали за допомогою трьохфакторного дисперсійного аналізу і програмами STATISTICA 12.0 (тестова версія) [27].

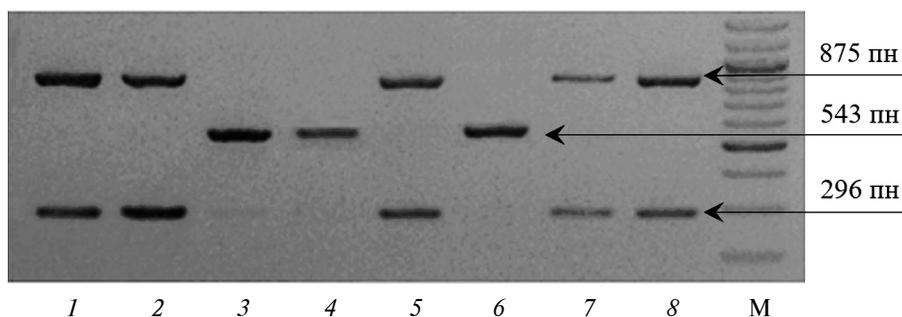
### Результати та обговорення

За даними аналізу вихідних ліній за маркером *crtRB1*-3'ТЕ визначено, що вихідна лінія CM358 містила сприятливий алель 1 гена *crtRB1* — 543 пн, а лінія BH41 — несприятливий алель 2, який виявлявся наявністю двох ампліконів розмірами 296 + 875 пн. Поліморфізм гена *crtRB1* у досліджених самозапильних ліній представлений двома алельними варіантами: 543 пн (алель 1) та 296 + 875 пн (алель 2) (рис. 1).

Як бачимо, в лініях RLI10, RLI15, RLI49 ідентифіковано алель розміром 543 пн, що відповідає підвищенню вмісту β-каротину в зерні цих самозапильних ліній. У лінії RLI3, RLI7, RLI12, RLI41, LI47 виявлено несприятливий алель 2, на що вказує наявність двох ампліконів 296 + 875 пн на треках 1, 2, 5, 7, 8.

Серед 63 досліджених ліній кукурудзи ідентифіковано 12 ліній: RLI4, RLI10, RLI15, RLI19, RLI23, RLI26, RLI30, RLI32, RLI34, RLI40, RLI45, RLI49, зі сприятливим алелем (543 пн), який розташований на 3'-кінці послідовностей нуклеотидів гена *crtRB1*.

За результатами досліджень Sagare та співавт. [9] запропоновано використання ідентифікації генотипів з підвищеним вмістом β-каротину за алельним станом гена *crtRB1*-3'ТЕ, як альтернативу високо-витратній хроматографії. Kostadinovic та співавт. [10] досліджували дві стандартні лінії та три батьківські лінії з підвищеним рівнем β-каротину відповідно до селекційної програми Інституту кукурудзи в Сербії. Сприятливий алель 1 за маркером *crtRB1*-3'ТЕ вони ідентифікували у ліній-донорів, а в рекурентних лініях виявили два алелі розмірами 296 і 1221 пн, не пов'язані з підвищеним вмістом β-каротину [10]. Vignesh та співавт. [16] виявили залежність між підвищеним рівнем каротиноїдів у зерні та наявністю сприятливих алелів за трьома поліморфними сайтами гена *crtRB1*. У наших попередніх



**Рис. 1.** Електрофорограма продуктів ампліфікації ДНК самозапильних ліній кукурудзи з праймерами до гена *crtRB1* (маркер *crtRB1*-3'ТЕ):

1, 2, 5, 7, 8 — відповідно лінії RLI3, RLI7, RLI12, RLI41, RLI47; 3, 4, 6 — лінії RLI10, RLI15, RLI49; M — маркер молекулярної маси GeneRuler 100 bp Plus (Thermo Fisher Scientific)

## ОЦІНКА СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ

дослідженнях встановлено позитивну кореляцію між вмістом каротинів у зерні кукурудзи й наявністю сприятливих алелів за двома ключовими генами каротиногенезу: лікопінепсилонциклази та  $\beta$ -каротингідроксилази [28]. Подібні дослідження провели також Yan та співавт. [7] і довели кореляційний зв'язок між наявністю сприятливих алелів ключових генів каротиногенезу та підвищеним вмістом  $\beta$ -каротину в зерні. У результаті виконаної роботи ми отримали перспективні лінії кукурудзи із сприятливим алелем 1 гена *crtRB1* з підвищеним вмістом  $\beta$ -каротину.

Самозапильні лінії кукурудзи реагують на зміну зовнішніх чинників середовища, що є причиною мінливості оцінок ефектів ЗКЗ і СКЗ [19]. Оцінки ефектів ЗКЗ і варіантів СКЗ окремих форм дають уявлення про важливість генів, які контролюють розвиток окремої ознаки, і дають змогу конкретизувати шляхи використання досліджуваних батьківських форм [20].

Ефекти ЗКЗ самозапильних ліній кукурудзи оцінено за основними селекційними ознаками «урожайність зерна» та «збиральна вологість зерна» у період 2018–2019 рр. (табл. 1).

У результаті аналізу визначено, що за урожайністю зерна в 2018 р. високу оцінку ЗКЗ мали лінії RLI34, RLI40 (відповідно 6,26 і 5,49 т/га), у 2019 р. — лінії RLI4, RLI32 (відповідно 2,96 і 3,51 т/га). За збиральною вологістю зерна в 2018 р. низько оцінено ЗКЗ ліній RLI26, RLI49 —1,85 %, в 2019 р. ЗКЗ ліній RLI19, RLI32 — відповідно —2,15 і —1,38 %.

У середньому за 2018–2019 рр. за урожайністю зерна високо оцінено ЗКЗ ліній RLI19, RLI34 (відповідно 3,36 та 3,72 т/га). Се-

ТАБЛИЦЯ 1. Ефекти загальної комбінаційної здатності ( $g_0$ ) за ознаками «урожайність зерна» та «збиральна вологість зерна» самозапильних ліній кукурудзи

Лінія	Урожайність, т/га		Збиральна вологість зерна, %	
	2018 р.	2019 р.	2018 р.	2019 р.
RLI4	0,66	2,96	1,22	0,02
RLI10	2,36	—3,77	0,28	0,45
RLI15	—0,54	—2,32	2,45	2,09
RLI19	5,23	1,49	—1,02	—2,15
RLI23	0,59	3,19	2,82	1,82
RLI26	—3,07	—0,95	—1,85	0,92
RLI30	—0,47	0,18	—1,52	—0,48
RLI32	—2,24	3,51	—0,32	—1,38
RLI34	6,26	1,17	—0,32	—0,45
RLI40	5,49	—0,24	0,78	—0,38
RLI45	—0,21	—2,32	—1,12	—0,08
RLI49	—9,51	—2,53	—1,85	—0,75
CM358 (st)	—4,57	—0,39	0,42	0,35
HIP <sub>05</sub>	1,04	1,38	0,34	0,51

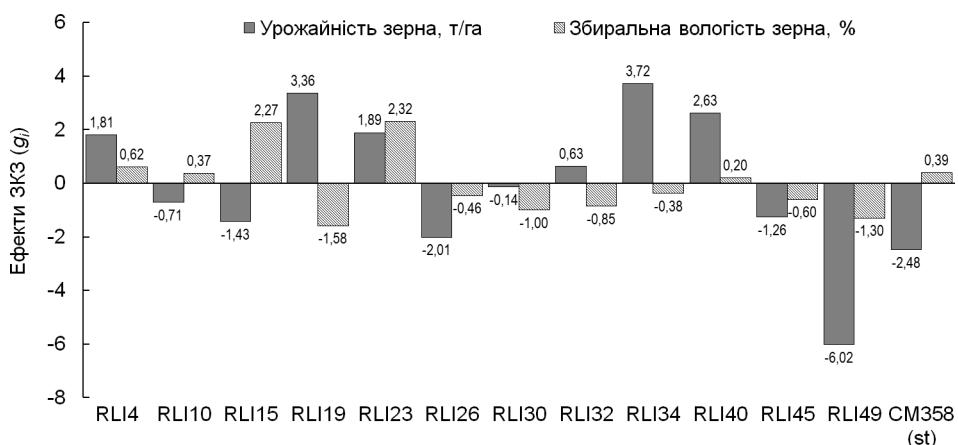


Рис. 2. Оцінка ефектів загальної комбінаційної здатності ( $g_i$ ) самозапильних ліній кукурудзи за ознаками «урожайність зерна» та «збиральна вологість зерна» за 2018–2019 рр.

редні значення ефектів ЗКЗ за урожайністю зерна мали лінії RLI4, RLI23, RLI40 (відповідно 1,81; 1,89 і 2,63 т/га) (рис. 2).

За показником «збиральна вологість зерна» серед досліджених самозапильних ліній найліпшими виявилися RLI19 та RLI49 з низькими оцінками ЗКЗ в 2018–2019 рр.: відповідно –1,58 та –1,3 %. Середніми оцінками ЗКЗ за досліджувані роки характеризувались лінії RLI30 та RLI32 (–1,0 та –0,85 %). У результаті аналізу комбінаційної здатності щодо вологості зерна виділено лінії RLI15 і RLI23 (відповідно 2,27 і 2,32 %) з достовірно позитивними ЗКЗ, що вказує на досить повільну втрату вологи зерном при дозріванні.

Отже, за урожайністю зерна лінії RLI19, RLI34, що отримали високу оцінку ефектів ЗКЗ за 2018–2019 рр., мають практичну цінність як селекційний матеріал для гетерозисної селекції і можуть бути широко використані у програмах гібридизації. Лінії кукурудзи RLI19, RLI49, з низькими оцінками ЗКЗ за показником «збиральна вологість зерна» доцільно використовувати для створення гібридів із низькою вологістю зерна. Щодо самозапильних ліній, які характеризуються середніми оцінками ефектів ЗКЗ за досліджуваними показниками, то доцільність їх використання в селекційному процесі залежатиме від їх специфічної комбінаційної здатності.

Цікавим є визначення варіансів на основі ефектів СКЗ самозапильних ліній кукурудзи в конкретній гібридній комбінації. Варіанси СКЗ за урожайністю та збиральною вологістю зерна самозапильних ліній кукурудзи в 2018 та 2019 рр. наведено в табл. 2.

На основі отриманих даних визначено, що в 2018 р. високі варіанси СКЗ за ознакою «урожайність зерна» мали лінії RLI10, RLI40 (відповідно 20,82 та 11,44 т/га). За ознакою «збиральна вологість зерна» найнижчі варіанси СКЗ мали лінії RLI10, RLI32: у 2018 р. –0,91 і –0,89 %, у 2019 р. –0,70 і –0,69 %. У 2019 р. найвищі варіанси СКЗ за урожайністю визначено у ліній RLI40, RLI49 (відповідно 9,88 і 5,20 т/га). В середньому за досліджувані роки за ознакою «урожайність зерна» виділяються лінії RLI10, RLI40 з високими варіансами СКЗ (відповідно 9,56 і 10,66 т/га). За ознакою «збиральна вологість

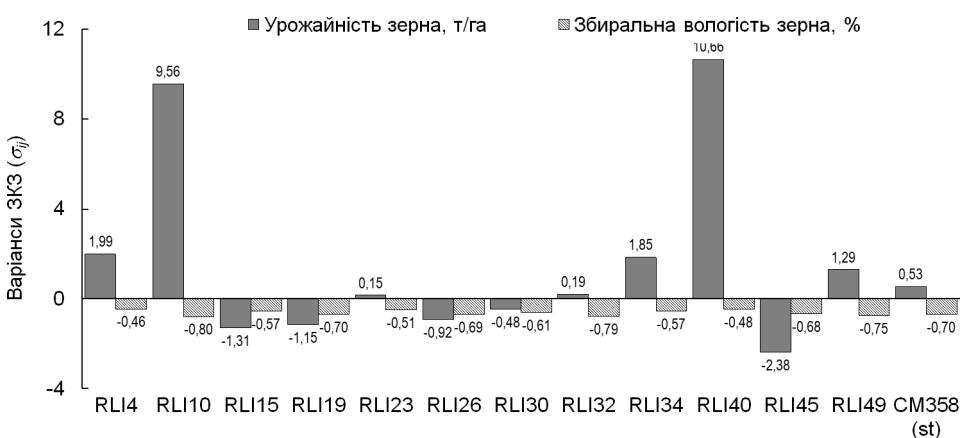
## ОЦІНКА СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ

**ТАБЛИЦЯ 2.** Варіанси специфічної комбінаційної здатності ( $\sigma_{ij}$ ) за ознаками «урожайність зерна» та «збиральна вологість зерна» ліній кукурудзи

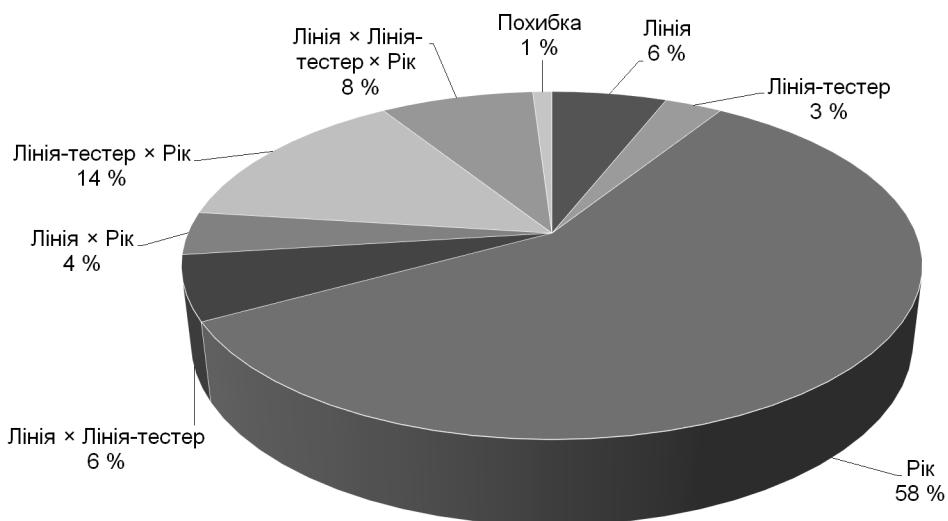
Лінія	Урожайність, т/га		Збиральна вологість зерна, %	
	2018 р.	2019 р.	2018 р.	2019 р.
RLI4	4,09	-0,12	-0,32	-0,60
RLI10	20,82	-1,70	-0,91	-0,70
RLI15	0,31	-2,92	-0,87	-0,26
RLI19	-2,62	0,32	-0,85	-0,55
RLI23	-1,03	1,32	-0,36	-0,66
RLI26	0,65	-2,49	-0,78	-0,59
RLI30	-1,08	0,12	-0,65	-0,58
RLI32	3,12	-2,75	-0,89	-0,69
RLI34	2,25	1,45	-0,71	-0,43
RLI40	11,44	9,88	-0,32	-0,65
RLI45	-2,00	-2,76	-0,75	-0,62
RLI49	-2,62	5,20	-0,86	-0,64
CM358 (st)	2,81	-1,76	-0,76	-0,65

зерна» в середньому за 2018—2019 pp. варіанси СКЗ ліній RLI10 і RLI32 становили відповідно —0,8 і —0,79 % (рис. 3).

У результаті аналізу визначено, що за ознакою «урожайність зерна» найперспективнішою для створення простих гетерозисних гібридів кукурудзи є лінія RLI40 із середньою оцінкою ЗКЗ 2,63 т/га, однак вона характеризується високими варіансами СКЗ (10,66 г/га). Відповідно до отриманих даних, лінії RLI19, RLI34 з високими оцінками ефектів ЗКЗ за урожайністю, але низькими варіансами СКЗ (відповідно —1,15 та —0,57 т/га), за цією ознакою найдоцільніше використовувати для отримання гібридів кукурудзи складнішої структури (подвійних міжлінійних) або синтетичних сортів-популяцій.



**Рис. 3.** Варіанси специфічної комбінаційної здатності самозапильних ліній кукурудзи за ознаками «урожайність зерна» та «збиральна вологість зерна» за 2018—2019 pp.



**Рис. 4.** Частка впливу факторів на ознаку «урожайність зерна» тесткросів кукурудзи (2018–2019 рр.)

За ознакою «збиральна вологість зерна» лінія RLI32 із середньою оцінкою ЗКЗ  $-0,85\%$  за досліджувані роки та низькими варіансами СКЗ ( $-0,79\%$ ) може забезпечити в гібридах низьку збиральну вологість. Проблематичним буде селекційне використання ліній RLI15, RLI26, RLI45, які за урожайністю мали низькі оцінки ЗКЗ ( $-1,43$ ,  $-2,01$  та  $-1,26$  т/га) і варіансів СКЗ (відповідно  $-1,31$ ,  $-0,92$  та  $-2,38$  г/га) за досліджуваний період.

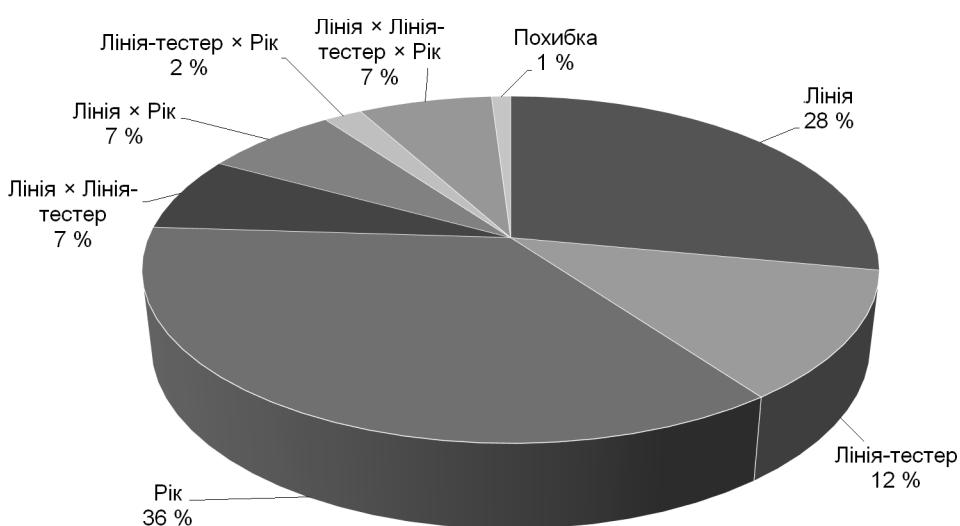
Згідно з результатами наших досліджень, оцінки ефектів ЗКЗ і варіансів СКЗ значно варіювали залежно від року досліджень. Для виявлення впливу чинників на показники урожайності та збиральної вологості зерна тесткросів кукурудзи проведено трьохфакторний дисперсійний аналіз. Визначено, що найбільший вплив на урожайність тесткросів кукурудзи чинять умови вегетаційного періоду року — 58 %. Генотип самозапильної лінії впливає на ознаку урожайності на 6 %, лінія-тестер — на 3 %. Частки взаємодії факторів становлять 4–14 %, причому взаємодія факторів лінія-тестер  $\times$  рік впливає найбільше — на 14 %, факторів лінія  $\times$  рік — найменше (рис 4).

Отже, за результатами дисперсійного аналізу, значні розбіжності оцінок ефектів ЗКЗ за ознакою врожайності можна пояснити різними кліматичними умовами року. Наприклад, 2018 р. характеризувався незначною кількістю опадів та їх повною відсутністю в серпні, що негативно вплинуло на наливання зерна кукурудзи.

Частка впливу умов вегетаційного періоду року на ознаку «збиральна вологість зерна» становить 36 %. Істотно впливає на ознаку збиральної вологості зерна генотип самозапильної лінії — на 28 %, лінія-тестер — на 12 % (рис. 5).

Визначено, що частки взаємодії факторів, які впливають на збиральну вологість зерна, становлять 2–7 %. Найменший вплив (2 %) чинить взаємодія лінія-тестер  $\times$  рік, взаємодія інших — 7 %. Отже, зважаючи на те що генотип самозапильної лінії значно впливає на збиральну вологість зерна, варіанси СКЗ ліній RLI10, RLI32 залиша-

### ОЦІНКА СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ



**Рис. 5.** Частка впливу факторів на ознаку «збиральна вологість зерна» тесткросів кукурудзи (2018–2019 рр.)

лись стабільно низькими. Однак слід зазначити, що оцінки ефектів ЗКЗ за цією ознакою відрізнялися залежно від року, про що також свідчить значний вплив умов вегетаційного періоду року.

Abdel-Moneam та співавт. [29] застосували оцінки ефектів ЗКЗ та СКЗ для виявлення перспективних для селекції інbredних ліній кукурудзи за основними господарсько цінними ознаками. Отримані авторами результати показали, що лінії з високими оцінками ЗКЗ і СКЗ можна використовувати у селекційному процесі з метою поліпшення досліджуваних властивостей.

Кривошеєв та співавт. [19] оцінили 37 ліній кукурудзи в системі топкросних скрещувань за ЗКЗ і СКЗ з метою визначення ліній, цінних для селекції на гетерозис за урожайністю зерна. За результатами оцінки автори здійснили добір ліній, які поєднали високі оцінки ЗКЗ і СКЗ, та за їх участі створили високоврожайні тесткросні гіbridні комбінації.

Malik та співавт. [30] довели важливість оцінювання селекційного матеріалу кукурудзи за ефектами ЗКЗ і СКЗ. Вони оцінили 9 інbredних ліній кукурудзи тропічного походження і встановили, що найвищі ефекти ЗКЗ і СКЗ за урожайністю мають лінії з помірних екологічних зон. Дві досліджені лінії мали високі значення ЗКЗ за вологістю зерна. Отже, розрахунок ЗКЗ і СКЗ інbredних ліній дає змогу оцінити їх характеристики в різних гіbridних комбінаціях.

Фед’ко та співавт. [18] оцінили комбінаційну здатність інbredних ліній кукурудзи за урожайністю та збиральною вологістю зерна. За результатами досліджень вони визначили, що найліпшими лініями, що забезпечать низьку збиральну вологість зерна, є лінії з найнижчими ефектами ЗКЗ і варіансами СКЗ за досліджені роки. Отже, визначення ліній, перспективних для створення гетерозисних гібридів за урожайністю, базується на високих оцінках ефектів ЗКЗ і СКЗ, а лінії, цінні для отримання гібридів із низькою збиральною вологістю зерна — на найнижчих оцінках ефектів ЗКЗ і варіансів СКЗ.

Визначенню ЗКЗ і СКЗ ліній кукурудзи за вмістом каротиноїдів і токоферолів на основі хроматографічного аналізу присвячена праця [31]. Автори оцінили 10 ліній кукурудзи в системі діалельних схрещувань. За результатами оцінки ЗКЗ і СКЗ вони виділили лінії з високими рівнями лютейну,  $\beta$ -криптоксантину та загальних каротиноїдів.

Ми оцінювали господарсько цінні характеристики за ефектами ЗКЗ і варіансами СКЗ у ліній кукурудзи, виділених за підвищеним вмістом каротиноїдів за ДНК маркером *crtRB1-3'TE*. Такий підхід дав змогу зменшити кількість польових випробувань і зосередити добір на вивчені господарсько цінних характеристик, які визначають комерційну цінність гібридів.

Отже, в результаті молекулярно-генетичного аналізу 63 ліній кукурудзи виділено 12 ліній, зі сприятливим алелем (543 пн) 3'-кінця гена *crtRB1*, що свідчить про підвищений вміст каротиноїдів у зерні. В результаті оцінки ефектів ЗКЗ за урожайністю визначено, що лінії RLI19, RLI34, мають високу оцінку ефектів ЗКЗ за досліджувані роки. За показником «збиральна вологість зерна» найліпшими виявились лінії RLI19, RLI49, з низькими оцінками ефектів ЗКЗ у 2018–2019 рр. За комплексною оцінкою ефектів ЗКЗ та варіансів СКЗ за ознакою «урожайність зерна» найперспективнішою для створення простих гетерозисних гібридів кукурудзи визнана лінія RLI40. За ознакою «збиральна вологість зерна» лінія RLI32 продемонструвала значний потенціал у швидкій віддачі вологи. Отже, поєднання молекулярних методів з оцінкою комбінаційної здатності ліній кукурудзи свідчить про ефективність комплексного підходу щодо добору вихідного матеріалу для подальшого селекційного процесу.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAOSTAT). URL: <http://faostat.fao.org>
2. Menkir A., Liu W., White W.S., Maziya-Dixon B., Rocheford T. Carotenoid diversity in tropical-adapted yellow maize inbred lines. *Food Chem.* 2008. **109**, N 3. P. 521–529. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.002>
3. Mishra P., Singh N.K. Spectrophotometric and TLC based characterization of kernel carotenoids in short duration maize. *Maydica*. 2010. **55**, N 2. P. 95–100.
4. Harjes C.E., Rocheford T.R., Bai L., Brutnell T.P., Kandianis C.B., Sowinski S.G., Yan J. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science*. 2008. **319**, N 5861. P. 330–333. <https://doi.org/10.1126/science.1150255>
5. Pfeiffer W.H., McClafferty B. Harvest Plus: breeding crops for better nutrition. *Crop Sci.* 2007. **47**, N 3. P. S88–S105. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.09.0020IPBS>
6. Weber E.J. Carotenoids and tocots of corn grain determined by HPLC. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1987. **47**. P. 337–339. <https://doi.org/10.1007/BF02612988>
7. Yan J., Kandianis C.B., Harjes C.E., Bai L., Kim E.H., Yang X., Fernandez M.G.S. Rare genetic variation at *Zea mays crtRB1* increases  $\beta$ -carotene in maize grain. *Nat. Genet.* 2010. **42**, N 4. P. 322–327. <https://doi.org/10.1038/ng.551>
8. Muthusamy V., Hossain F., Thirunavukkarasu N., Saha S., Gupta H.S. Allelic variations for lycopene- $\epsilon$ -cyclase and  $\beta$ -carotene hydroxylase genes in maize inbreds and their utilization in  $\beta$ -carotene enrichment programme. *Cogent Foods and Agriculture*. 2015. **1**, N 1033141. P. 1–8. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1033141>
9. Sarague G.F., Tatum L.A., General V.S. Specific combining ability in single crosses of corn. *J. Amer. Soc. Agron.* 1942. **34**. P. 923–932. <https://doi.org/10.2134/agronj1942.00021962003400100008x>

## ОЦІНКА СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ

10. Kostadinovic M., Ignjatovic-Micic D., Vancetovic J., Ristic D., Obradovic A., Stevanovic M., Mladenovic Drinic S. Parental polymorphism analysis in marker assisted selection for  $\beta$ -carotene rich maize. *Agrosym 2018: proceedings of the IX International Agricultural Symposium* (Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 4–7 2018). Jahorina, 2018. P. 333–338.
11. Muthusamy V., Hossain F., Thirunavukkarasu N., Choudhary M., Saha S., Bhat J.S., Gupta H.S. Development of  $\beta$ -carotene rich maize hybrids through marker-assisted introgression of  $\beta$ -carotene hydroxylase allele. *PLoS One*. 2014. **9**, N 12. P. e113583. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113583>
12. Babu R., Rojas N.P., Gao S., Yan J., Pixley K. Validation of the effects of molecular markerpolymorphisms in lcyE and crtRB1 on provitamin A concentrations for 26 tropical maize populations. *Theor. Appl. Genet.* 2013. **126**, N 2. P. 389–399. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1987-3>
13. Гончаров Ю.О., Шитікова, Ю.В., Мельник С.І., Сігалова І.О. Оцінка алельного стану гена  $\beta$ -каротингідроксилази1 у ліній кукурудзи (*Zea mays L.*). *Наукові праці Ін-ту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2017. Вип. 27. С. 11–17.
14. Дзюбецький Б.В., Сатарова Т.М., Черчель В.Ю., Дяченко Т.А., Гончаров Ю.О. Вміст каротиноїдів в зерні ліній кукурудзи. *Бюл. Ін-ту сільського господарства степової зони*. 2016. № 11. С. 18–22.
15. Гончаров Ю.О., Сатарова Т.М., Дзюбецький Б.В., Черчель В.Ю. Алельний стан ключових генів каротиногенезу за ДНК-маркерами у ліній кукурудзи та їхніх гібридів. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2016. № 4. С. 26–32. [https://doi.org/10.21498/2518-1017.4\(33\).2016.88666](https://doi.org/10.21498/2518-1017.4(33).2016.88666)
16. Vignesh M., Hossain F., Nepolean T., Saha S., Agrawal P.K., Guleria S.K., Gupta H.S. Genetic variability for kernel  $\beta$ -carotene and utilization of crtRB1 3' TE gene for biofortification in maize (*Zea mays L.*). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2012. **72**, N 2. P. 189.
17. Zunjare R.U., Hossain F., Muthusamy V., Baveja A., Chauhan H.S., Bhat J.S., Gupta H.S. Development of biofortified maize hybrids through marker-assisted stacking of  $\beta$ -carotene hydroxylase, lycopene- $\epsilon$ -cyclase and opaque2 genes. *Frontiers in plant science*. 2018. N 9. P. 178. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00178>
18. Фед’ко М.М., Боденко Н.А., Юхімович О.Р., Гаврюшенко О.О. Комбінаційна здатність інбредних ліній кукурудзи (*Zea mays L.*). *Зрошуване землеробство*. 2012. Вип. 57. С. 200–207.
19. Кривошеев Г.Я., Игнатьев А.С., Шевченко Н.А. Комбинационная способность раннеспелых самоопыленных линий кукурузы и тестеров в системе топкроссовых скрещиваний. *Политехнический сетевой электронный научный журнал Кубанского гос. аграр. ун-та*. 2015. № 114. С. 1–10.
20. Анащенков С.С. Анализ комбинационной способности новых самоопыленных линий и тестеров кукурузы. *Политехнический сетевой электронный научный журнал Кубанского гос. аграр. ун-та*. 2012. **80**, № 6. С. 1–10.
21. Сотченко Ю.В. Оценка комбинационной способности линий и тестеров в топкроссовых скрещиваниях. *Кукуруза и сорго*. 2000. № 2. С. 11–14.
22. Замковой Г.А., Супрунов А.И. Селекционная ценность самоопыленных линий кукурузы по основным хозяйственным признакам. *Кукуруза и сорго*. 2011. № 4. С. 27–30.
23. Методика проведення кваліфікаційної експертизи сортів рослин на придатність до поширення в Україні. Методи визначення показників якості продукції рослинництва / За ред. С.О. Ткачик. Вінниця: Нілан-ЛТД, 2015. 160 с.
24. Гур’єва І.А., Рябчун В.К., Козубенко Л.В. Методичні рекомендації польового та лабораторного вивчення генетичних ресурсів кукурудзи. Видання друге доповнене. Харків, 2003. 43 с.
25. Вольф В.Г. Методические рекомендации по применению математических методов для анализа экспериментальных данных по изучению комбинационной способности. Харьков, 1980. 76 с.
26. Хотылева Л.В. Методы селекции и оценки самоопыленных линий на комбинационную способность. Основы селекции и семеноводства гибридной кукурузы. Москва, 1968. С. 124–152.

27. Ермантраут Е.Р., Присяжнюк О.І., Шевченко І.Л. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних в пакеті Statistica 6.0: методичні вказівки. Київ: Поліграф-Консалтинг, 2007. 56 с.
28. Prysiazhniuk L., Honcharov Y., Melnyk S., Dikhtiar I. Application of DNA markers for the assessment of allele state of the key genes of carotenogenesis in maize (*Zea mays* L.) seeds. *J. Microbiol., Biotechnol. and Food Sci.* 2019. **8**, N 5. P. 1141–1144. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.8.5.1141-1144>
29. Abdel-Moneam M.A., Attia A.N., El-Emery M.I., Fayed E.A. Combining ability and heterosis for some agronomic traits in crosses of maize. *Pakistan J. of Biol. Sci.* 2009. **12**, N 5. P. 433–438. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.433.438>
30. Malik S.I., Malik H.N., Minhas N.M., Munir M. General and specific combining ability studies in maize diallel crosses. *Int. J. Agric. & Biol.* 2004. **6**, N 5. P. 856–859.
31. Egesel C.O., Wong J.C., Lambert R.J., Rocheford T.R. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Sci.* 2003. **43**, N 3. P. 818–823. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.8180>

Отримано 25.09.2020

*REFERENCES*

1. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAOSTAT). URL: <http://faostat.fao.org> (06.07.2018)
2. Menkir, A., Liu, W., White, W.S., Maziya-Dixon, B. & Rocheford, T. (2008). Carotenoid diversity in tropical-adapted yellow maize inbred lines. *Food chemistry*, 109, No. 3, pp. 521–529.
3. Mishra, P. & Singh, N.K. (2010). Spectrophotometric and tlc based characterization of kernel carotenoids in short duration maize. *Maydica*, 55, No. 2, p. 95.
4. Harjes, C.E., Rocheford, T.R., Bai, L., Brutnell, T.P., Kandianis, C.B., Sowinski, S.G. & Yan J. (2008). Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science*, 319, No. 5861, pp. 330–333. <https://doi.org/10.1126/science.1150255>
5. Pfeiffer, W.H. & McClafferty, B. (2007). HarvestPlus: breeding crops for better nutrition. *Crop Sci.*, No. 47, pp. S88–S105. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.09.0020IPBS>
6. Weber, E.J. (1987). Carotenoids and tocots of corn grain determined by HPLC. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 64, No. 8, pp. 1129–1134. <https://doi.org/10.1007/BF02612988>
7. Yan, J., Kandianis, C.B., Harjes, C.E., Bai, L., Kim, E.H., Yang, X. & Fernandez, M.G.S. (2010). Rare genetic variation at *Zea mays* crtRB1 increases β-carotene in maize grain. *Nature genetics*, 42, No. 4, pp. 322–327. <https://doi.org/10.1038/ng.551>
8. Muthusamy, V., Hossain, F., Thirunavukkarasu, N., Saha, S. & Gupta, H.S. (2015). Allelic variations for lycopene-ε-cyclase and β-carotene hydroxylase genes in maize inbreds and their utilization in β-carotene enrichment programme. *Cogent Food & Agriculture*, 1, No. 1, p. 1033141. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1033141>
9. Sprague, G.F. & Tatum, L.A. (1942). General vs. specific combining ability in single crosses of corn 1. *Agronomy J.*, 34, No. 10, pp. 923–932. <https://doi.org/10.2134/agronj1942.00021962003400100008x>
10. Kostadinovic, M., Ignjatovic-Micic, D., Vancetovic, J., Ristic, D., Obradovic, A., Stevanovic, M. & Mladenovic Drinic, S. (2018). Parental polymorphism analysis in marker assisted selection for β-carotene rich maize. Proceedings of the IX International Agricultural Symposium «Agrosym 2018» (pp. 333–338. Jahorina), Bosnia and Herzegovina.
11. Muthusamy, V., Hossain, F., Thirunavukkarasu, N., Choudhary, M., Saha, S., Bhat, J.S. & Gupta, H.S. (2014). Development of β-carotene rich maize hybrids through marker-assisted introgression of β-carotene hydroxylase allele. *PLoS One*, 9, No. 12, p. e113583. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113583>
12. Babu, R., Rojas, N.P., Gao, S., Yan, J. & Pixley, K. (2013). Validation of the effects of molecular marker polymorphisms in LcyE and CrtRB1 on provitamin A concentrations

- for 26 tropical maize populations. *Theor. Appl. Gen.*, 126, No. 2, pp. 389-399. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1987-3>
13. Honcharov, Yu.O., Shytikova, Yu.V., Melnyk, S.I. & Sihalova, I.O. (2017). The evaluation of the allelic state of the  $\beta$ -carotene hydroxylase1 gene in maize lines (*Zea mays* L.). *Scientific papers of Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet*, No. 27, pp. 11-17 [in Ukrainian].
  14. Dziubetskyi, B.V., Satarova, T.M., Cherchel, V.Yu., Diachenko, T.A. & Honcharov, Yu.O. (2016). The carotenoids content in the grain of maize lines. *Bulletin Institute of Agriculture of Steppe Zone NAAS of Ukraine*, No. 11, pp. 18-23 [in Ukrainian].
  15. Honcharov, Yu.O., Satarova, T.M., Dziubetskyi, B.V. & Cherchel, V.Yu. (2016). Allelic status of key genes of carotenogenesis on DNA-markers in maize lines and their hybrids. *Plant Varieties Studying and Protection*, No. 4, pp. 26-32 [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.21498/2518-1017.4\(33\).2016.88666](https://doi.org/10.21498/2518-1017.4(33).2016.88666)
  16. Vignesh, M., Hossain, F., Nepolean, T., Saha, S., Agrawal, P.K., Guleria, S.K. & Gupta, H.S. (2012). Genetic variability for kernel  $\beta$ -carotene and utilization of crtRB1 3' TE gene for biofortification in maize (*Zea mays* L.). *Indian J. Genet. and Plant Breed.*, 72, No. 2, p. 189.
  17. Zunjare, R.U., Hossain, F., Muthusamy, V., Baveja, A., Chauhan, H.S., Bhat, J.S. & Gupta, H.S. (2018). Development of biofortified maize hybrids through marker-assisted stacking of  $\beta$ -carotene hydroxylase, lycopene- $\epsilon$ -cyclase and opaque2 genes. *Frontiers in Plant Science*, No. 9, p. 178. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00178>
  18. Fedko, M.M., Bodenko, N.A., Yukhimovich, O.R. & Havriushenko, O.O. (2012). Combinational ability of inbred maize lines (*Zea mays* L.). *Irrigated Agriculture*, 57, pp. 200-207 [in Ukrainian].
  19. Krivosheev, G.Ya., Ignatev, A.S. & Shevchenko, N.A. (2015). Combining ability of early maturing self-pollinated maize lines and testers in the system of topcross crosses. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*, No. 114, pp. 1-10 [in Russian].
  20. Anashenkov, S.S. (2012). Analysis of combining ability of new inbred lines of maize and testers. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*, 80, No. 6, pp. 1-10 [in Russian].
  21. Sotchenko, Yu.V. (2000). Evaluation of the combining ability of lines and testers in topcross crosses. *Maize and Sorghum*, No. 2, pp. 11-14 [in Russian].
  22. Zamkovoy, G.A. & Suprunov, A.I. (2011). Breeding value of self-pollinated maize lines by main economic characteristics. *Maize and Sorghum*, No. 4, pp. 27-30 [in Russian].
  23. Tkachyk, S.O. (Ed.) (2015). Methods of examination of plant varieties of cereals, cereals and legumes for suitability for distribution in Ukraine. Vinnytsia: FOP Korzun D.Yu. [in Ukrainian].
  24. Hurieva, I.A., Riabchun, V.K. & Kozubenko, L.V. (2003). Methodical recommendations of field and laboratory study of genetic resources of corn. The second edition. Kharkiv [in Ukrainian].
  25. Volf, V.G. (1980). Methodical recommendations on the use of mathematical methods for the analysis of experimental data on the study of combinational ability. Kharkiv [in Russian].
  26. Hotyileva, L.V. (1968). Breeding methods and evaluation of self-pollinated lines for combining ability. Basics of breeding and seed production of hybrid maize. Moscow [in Russian].
  27. Ermantraut, E.R., Prysiazhniuk, O.I. & Shevchenko, I.L. (2007). Statistical analysis of agronomic study data in the software suite Statistica 6.0. Kyiv: PolihrafKonsaltynh [in Ukrainian].
  28. Prysiazhniuk, L., Honcharov, Y., Melnyk, S. & Dikhtiar, I. (2019). Application of DNA markers for the assessment of allele state of the key genes of carotenogenesis in maize (*Zea mays* L.) seeds. *J. Microbiol., Biotechnol. and Food Sci.*, 8, No. 5, pp. 1141-1144. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.8.5.1141-1144>
  29. Abdel-Moneam, M.A., Attia, A.N., El-Emery, M.I. & Fayed, E.A. (2009). Combining ability and heterosis for some agronomic traits in crosses of maize. *Pakistan J. Biol. Sci.*, 12, No. 5, pp. 433-438. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.433.438>

- 
30. Malik, S.I., Malik, H.N., Minhas, N.M. & Munir, M. (2004). General and specific combining ability studies in maize diallel crosses. *Int. J. Agricult. & Biol.*, 6, No. 5, pp. 856-859.  
31. Egesel, C.O., Wong, J.C., Lambert, R.J. & Rocheford, T.R. (2003). Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Sci.*, 43, No. 3, pp. 818-823.

Received 25.09.2020

THE EVALUATION OF MAIZE BREEDING MATERIAL ADAPTED TO  
CONDITIONS OF THE STEPPE OF UKRAINE BY ALLELIC STATE OF  
 $\beta$ -CAROTENE HYDROXYLASE1 GENE

*Yu.O. Honcharov<sup>1</sup>, L.M. Prysiazhniuk<sup>2</sup>, Yu.V. Shytikova<sup>2</sup>, S.I. Melnyk<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Research Institute of Agrarian Business

2A Tokova St., Vesel village, Synelnykove district, Dnipro region 52502, Ukraine

<sup>2</sup>Ukrainian Institute for Plant Variety Examination

15 Heneralna Rodymtseva St., Kyiv, 03041, Ukraine

e-mail: prysiazhniuk\_1@ukr.net

The results of molecular genetic analysis of the allelic state of the  $\beta$ -carotene hydroxylase1 gene in 63 self-pollinated inbred maize lines of the initial combination CM358×BH41 are presented. The assessment of the general (GCA) and specific combining ability (SCA) of the studied lines was carried out during 2018–2019 in field for grain yield and grain moisture content before harvesting. The influence rates of the genotype of self-pollinated lines and tester lines, the conditions of the growing season on the characteristics of grain yield and grain moisture content were determined by ANOVA. As result of the study of the 3' end of the *crtRB1* gene polymorphism, 12 lines were detected which had a favorable allele 543 bp and were characterized by high content of carotenoids in the grain. The high GCA score for grain yield was observed for lines RLI19 and RLI34 (3.36 and 3.72 t/ha, respectively) on average 2018–2019. For grain moisture content before harvesting, among the studied self-pollinated lines, RLI19 and RLI49 lines were the best, which had low value of the GCA in 2018–2019: –1.58 and –1.3 %, respectively. For grain yield, lines RLI19 and RLI34, which showed a high value of the GCA effects during 2018–2019, are of practical value as breeding material for heterotic breeding and can be widely used in hybridization programs. The maize lines RLI19 and RLI49, which had low value of the GCA for grain moisture content, will be expediently used to create hybrids with low grain moisture content. As a result of the study, it was determined that the conditions of the growing season have the greatest influence on the yield of test crosses and the grain moisture content before harvesting – 58 % and 36 %, respectively. Thus, the detection of lines that are promising for creating heterotic hybrids for yield is based on high value of the effects of GCA and SCA. The low value of GCA and SCA for grain moisture content of lines allows to obtain hybrids with low grain moisture content.

**Key words:** allele, carotenogenesis, general combining ability, specific combining ability, influence of factors.