

СЕЛЕКЦІЯ ТА НАСІННИЦТВО

УДК 577.21:633.15

Оцінка алельного стану гена β -каротингідроксилази1 у ліній кукурудзи (*Zea mays* L.)

Гончаров Ю. О.^{1*}, Шитікова Ю. В.², Мельник С. І.², Сігалова І. О.²

¹ТОВ «Науково-дослідний Інститут аграрного бізнесу», вул. Березинська, 80, м. Дніпро, 49130, Україна, *e-mail: wildd91@gmail.com

²Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родимцева, 15, м. Київ, 03041, Україна

Мета. Проаналізувати поліморфізм 3'-кінця гена *crtRBI*, який відповідає за підвищений вміст β -каротину в зерні, у ліній кукурудзи селекції ТОВ «Науково-дослідний інститут Аграрного бізнесу». **Методи.** Виділення ДНК, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), гель-електрофорез. **Результати.** Представлені дослідження алельного стану гена *crtRBI* за молекулярним маркером до 3'-кінця у 106 нових перспективних ліній кукурудзи. За досліджуванним генетичним маркером виявлено три алелі: алель 1 (543 п.н.), алель 2 (296 п.н.) та алель 3 (296+875 п.н.). Відповідно до електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації визначено, що алель 3 представлена продуктами ампліфікації двох розмірів 296 п.н. та 875 п.н. у результаті приєднання прямого та двох зворотних праймерів, алель 2 та алель 1 утворюються внаслідок приєднання прямого та одного зворотного праймера, тому представлені продуктами ампліфікації одного розміру. Частота отриманих внаслідок ПЛР алелів становила: для алеля 1 – 0,19, алеля 2 – 0,36 та алеля 3 – 0,45. Визначено, що наявність алеля 1 розміром 543 п.н. пов'язано із збільшеним вмістом β -каротину в зерні кукурудзи. За результатами досліджень перспективних ліній визначено 20 ліній кукурудзи, які містили алель 543 п.н. (алель 1), 38 – алель 296 п.н. (алель 2) та 48 – алель 296+875 п.н. (алель 3). **Висновки.** Проаналізовано алельний стан гена *crtRBI* за маркером *crtRBI*-3'ТЕ. Визначено лінії кукурудзи, які мали сприятливу алель до підвищеного накопичення β -каротину в зерні: RL25, RL35, RL39, RL46, RL47, RL50, RL56, RL63, RL64, RL67, RL73, RL74, RL77, RL83, RL85, RL110, RL111, RL112, RL116 та RL121, які можуть бути використані у подальшій селекційній роботі на підвищений вміст β -каротину в зерні кукурудзи.

Ключові слова: кукурудза, ген *crtRBI*, частота алелю, β -каротин, сприятливий алель.

Вступ

Кукурудза є однією із зернових культур, яка здатна накопичувати в ендоспермі насіння каротиноїди у значній кількості [1–3]. Науковцями встановлено, що утворення забарвлених каротиноїдів із фітоїну, який утворюється з геранілгеранілпірофосфату, відбувається через чотири послідовні реакції десатурації, кожна з яких призводить до введення подвійних зв'язків та подовженню полієнового хромофора на дві пов'язані подвійні зв'язки. Проміжними продуктами цих реакцій є фітофлуїн, ζ -каротин та нейроспорин, а кінцевим продуктом реакцій десатурації – лікопін [4, 5]. На наступному етапі відбуваються реакції циклізації. Під дією гена β -каротингідроксилази1 (*crtRBI*) відбувається гідроксилування α -каротину та β -каротину в лютеїн і зеаксантин, відповідно. Гідроксилування каротиноїдів призводить до отримання ксантофілів, які не є попередниками вітаміну А [6].

Проблемою досліджень вмісту β -каротину в зерні, генетичного аспекту його накопичення займалися науковці з різних країн [3, 7, 8]. Дослідження щодо застосування

ДНК-маркерів, які пов'язані з господарсько-цінними ознаками ведуться з кінця 80-х рр. XX ст. На сьогодні результатами таких досліджень є маркер асоційована селекція – МАС-селекція, яку успішно застосовують селекціонери в усьому світі. Для кукурудзи МАС-селекція ведеться в напрямі стійкості до посухи, проти шкідників, поліпшення якості зерна [9, 10], зокрема й пошук шляхів добору перспективних селекційних матеріалів з підвищеним вмістом β-каротину в зерні. Ген *crtRB1* є одним з ключових генів біосинтезу каротиноїдів та пов'язаний з їх накопиченням в ендоспермі кукурудзи [11, 12]. Застосування ДНК-маркерів є актуальним для ідентифікації селекційних форм, які б мали сприятливий алель до цієї ознаки.

Мета досліджень – проаналізувати поліморфізм 3'-кінця гена *crtRB1*, який відповідає за підвищений вміст β-каротину в зерні, у ліній кукурудзи селекції ТОВ «Науково-дослідний інститут Аграрного бізнесу».

Матеріали та методика досліджень

Матеріалом для дослідження були 106 перспективних ліній кукурудзи селекції ТОВ «Науково-дослідного інституту Аграрного бізнесу». Використані лінії створені в північній підзоні Степової зони України і адаптовані до природно-кліматичних умов цієї зони.

ДНК з 7-добових проростків виділяли за модифікованим СТАВ-методом [13].

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили на ампліфікаторі (BioRad IQ5, USA) за таких умов: початкова денатурація – 94 °С, 2 хв; далі 30 циклів: 94 °С – 0,5 хв; 60 °С – 1 хв; 72 °С – 1 хв; заключна елонгація – 72 °С, 5 хв. Реакційна суміш об'ємом 20 мкл включала: 2 мкл буферу для ПЛР (10×Dream Taq Green TM), 0,2 мМ кожного dNTP, по 0,5 мкл 10 мкМ кожного праймера, 30 нг ДНК, 1 од. Dream Taq TM полімерази (Thermo Scientific). Нуклеотидна послідовність праймера *crtRB1*-3'ТЕ [10]: F – асaccatggacaagtctcg, R1 – асactctggccatgaacac, R2 – асagcaatacaggggaccag.

Продукти ампліфікації розділяли в 2 %-му агарозному гелі за напруженості електричного поля 5 В/см.

Дослідження виконані у лабораторії арбітражних досліджень і нових методів експертизи відділу лабораторних досліджень з кваліфікаційної експертизи сортів рослин (Центр сертифікаційних випробувань) Українського інституту експертизи сортів рослин спільно з лабораторією молекулярної генетики ТОВ «Науково-дослідний інститут Аграрного бізнесу».

Результати

Ген β-каротингидроксилаза1 є одним з ключових генів шляху біосинтезу каротиноїдів та пов'язаний з накопиченням каротиноїдів у ендоспермі кукурудзи [11, 12, 14, 15]. Аналіз досліджуваних зразків кукурудзи виявив наявність 3 алелей за маркером *crtRB1*-3'ТЕ у дослідженій вибірці. Нами було ідентифіковано такі алелі (рис. 1): 543 п.н. – алель 1, 296 п.н. – алель 2, 296+875 п.н. – алель 3. Попередні дослідження [14–18] засвідчили зв'язок сприятливої алелі 1 гена *crtRB1*-3'ТЕ з підвищеною концентрацією β-каротину у зерні кукурудзи.

Алель 1 відома, як сприятлива для підвищеного вмісту β-каротина за рахунок транскрипційної експресії гена *crtRB1* [7, 12, 16], тоді як алелі 2 та 3 не спричиняють такого ефекту [14]. Алель 1 за маркером *crtRB1*-3'ТЕ здатна самостійно подвоїти вміст β-каротину в зерні кукурудзи незалежно від генетичної конструкції гена *lcyε* та *crtRB1*-5'ТЕ [8, 12].

На рисунку 1 представлено електрофоретичне розподілення ампліконів, які містили ДНК досліджених зразків кукурудзи з праймером *crtRB1*-3'ТЕ. Сприятливий алель розміром 543 п.н. був виявлений на 3, 8, 16 та 17 треках, а несприятливі алелі 2 та 3 розміром 296 п.н. та 296+875 на треках 1, 2, 5, 6, 7, 10, 13, 14, 15 та 4, 12, 18 відповідно. Алель 3 на електрофореграмі має дві смуги (296 та 875 п.н.) за рахунок приєднання прямого (F) та двох зворотних праймерів (R1 та R2), тоді як алель 2 та алель 1 утворюються внаслідок приєднання прямого та одного зворотного праймера.

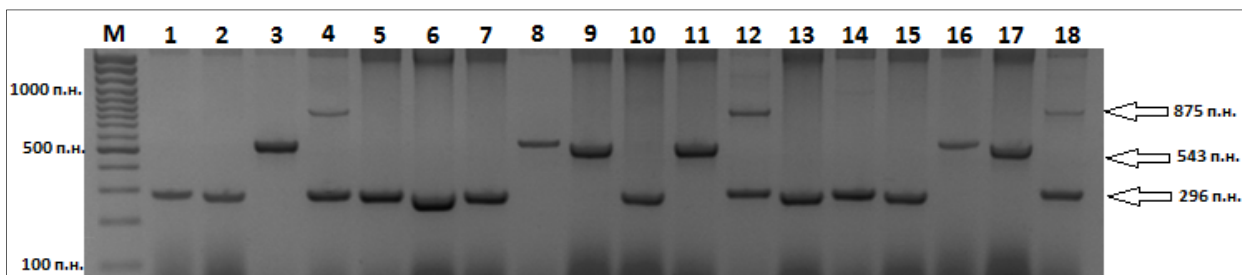


Рис. 1. Електрофорез продуктів ампліфікації тотальної ДНК кукурудзи з праймером до 3'ТЕ гена β -каротингідроксилази1:

М – маркер молекулярної маси GeneRuler 100 bp Plus; 1–18 – зразки ліній кукурудзи

Внаслідок аналізу досліджуваних ліній кукурудзи були визначено частоти ідентифікованих алелей (рис. 2).

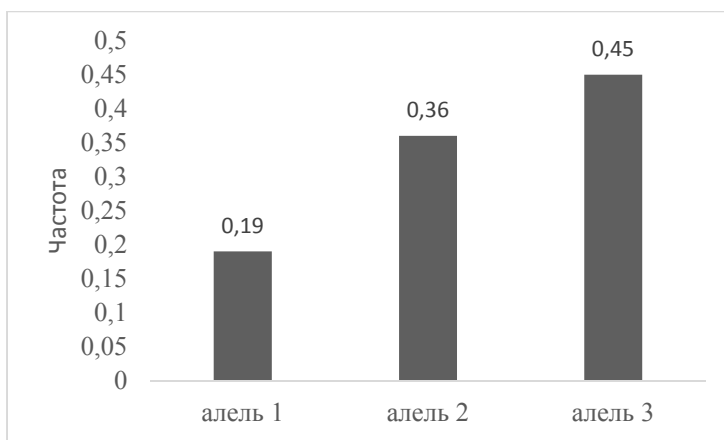


Рис. 2. Частоти ідентифікованих алелів для досліджуваних ліній кукурудзи

Відповідно до отриманих значень частота сприятливої до підвищеного накопичення β -каротину в зерні кукурудзи становила 0,19. Частоти інших, які вважаються несприятливими алелями, мали значення відповідно 0,36 для алелі 2 та 0,45 – для алелі 3.

Отримане нами значення частоти сприятливої алелі є достатньо високим. Sagare et al. (2015) [12], проаналізувавши 70 ліній індійської селекції за функціональним праймером до гена *crtRB1-3'TE*, отримали лише 4 лінії кукурудзи зі сприятливою алелем 1. Інші 66 ліній мали несприятливі алелі 2 та 3. Виявлені сприятливі алелі свідчать про те, що попередні селекційна робота за цими лініями була направлена на добір за підвищеним вмістом β -каротину.

Дослідженнями також підтверджено, що рекомендоване використання скринінгу ліній кукурудзи за сприятливою алеллю гена *crtRB1-3'TE*, як альтернативу високовитратній високоефективній рідинній хроматографії для добору донорів у беккросній програмі розведення.

Серед досліджених 106 ліній кукурудзи на поліморфізм 3'ТЕ гену *crtRB1* було визначено 20 ліній, які мали сприятливу алель 543 п.н. (алель 1), 38 ліній кукурудзи мали алель 296 п.н. (алель 2) та 48 ліній кукурудзи мали алель 296+875 п.н. (алель 3). Отже, в результаті досліджень здійснено добір перспективних ліній кукурудзи для залучення в селекційний процес з метою отримання ліній та гібридів з підвищеним вмістом β -каротину.

Висновки

Проведені дослідження свідчать про значний потенціал ліній вітчизняної селекції на підвищений вміст β -каротину в зерні кукурудзи. Визначені лінії селекції ТОВ «Науково-дослідного інституту Аграрного бізнесу», в яких встановлена наявність сприятливої алелі 1

гена *crtRBI-3*'TE: RL25, RL35, RL39, RL46, RL47, RL50, RL56, RL63, RL64, RL67, RL73, RL74, RL77, RL83, RL85, RL110, RL111, RL112, RL116 та RL121. Застосування підбраного маркера дає змогу визначити перспективні лінії щодо підвищеного вмісту каротину, які може бути використано, як донори цієї алелі у подальшому селекційному процесі.

Використана література

1. Gallagher C. E., Matthews P. D., Li F., Wurtzel E. T. Gene duplication in the carotenoid biosynthetic pathway preceded evolution of the grasses. *Plant Physiol.* 2004. Vol. 135, Iss. 3. 1776–1783. doi: 10.1104/pp.104.039818
2. Adeyemo O., Menkir A., Melaku G., Omidiji O. Genetic diversity assessment and relationship among tropical yellow endosperm maize inbred lines using SSR markers. *Maydica.* 2012. Vol. 56, No. 1/2. P. 43–50.
3. Tiwari A., Prasanna B. M., Hossain F., Guruprasad K. N. Analysis of genetic variability for kernel carotenoid concentration in selected maize inbred lines. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 2012. Vol. 72, Iss. 1. P. 1–6.
4. Fu Z., Chai Y., Zhou Y. et al. Natural variation in the sequence of PSY1 and frequency of favorable polymorphisms among tropical and temperate maize germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126, Iss. 4. P. 923–935. doi: 10.1007/s00122-012-2026-0
5. Zhou Y., Han Y., Li Z. et al. *ZmcrtrB3* Encodes a Carotenoid Hydroxylase that Affects the Accumulation of α -carotene in Maize Kernel. *J. Integr. Plant Biol.* 2012. Vol. 54, Iss. 4. P. 260–269. doi: 10.1111/j.1744-7909.2012.01106.x
6. Hwang T., Ndolo V. U., Katundu M. et al. Provitamin A potential of landrace orange maize variety (*Zea mays* L.) grown in different geographical locations of central Malawi. *Food Chem.* 2016. Vol. 196. P. 1315–1324. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.067
7. Vignesh M., Nepolean T., Hossain F. et al. Sequence variation in 3' UTR region of *crtRBI* gene and its effect on β -carotene accumulation in maize kernel. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 2013. Vol. 22, Iss. 4. P. 401–408. doi: 10.1007/s13562-012-0168-4
8. Babu R., Rojas N. P., Gao S. et al. Validation of the effects of molecular marker polymorphisms in *LcyE* and *CrtRBI* on provitamin A concentrations for 26 tropical maize populations. *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126, Iss. 2. P. 389–399. doi: 10.1007/s00122-012-1987-3
9. Gupta H. S., Hossain F., Muthusamy V. Biofortification of maize: An Indian perspective. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 2015. Vol. 75, Iss. 1. P. 1–22. doi: 10.5958/0975-6906.2015.00001.2
10. Lübberstedt T., Zein I., Andersen J. R. et al. Development and application of functional markers in maize. *Euphytica.* 2005. Vol. 146, Iss. 1–2. P. 101–108. doi: 10.1007/s10681-005-0892-0
11. Liu L., Jeffers D., Zhang Y. et al. Introgression of the *crtRBI* gene into quality protein maize inbred lines using molecular markers. *Mol. Breed.* 2015. Vol. 35, Iss. 8. P. 154. doi: 10.1007/s11032-015-0349-7
12. Sagare D. B., Shetti P., Reddy S. S. et al. Identification of β -carotene rich maize inbreds using PCR-based assay for *crtRBI-3*'TE allele. *IJSN.* 2015. Vol. 6, Iss. 3. P. 441–443.
13. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 1980. Vol. 8, Iss. 19. P. 4321–4325.
14. Yan J., Warburton M., Crouch J. Association mapping for enhancing maize (*Zea mays* L.) genetic improvement. *Crop Sci.* 2011. Vol. 51, Iss. 2. P. 433–449. doi: 10.2135/cropsci2010.04.0233
15. Xu Y., Skinner D. J., Wu H. et al. Advances in maize genomics and their value for enhancing genetic gains from breeding. *Int. J. Plant Genomics.* 2009. Vol. 2009. Art. ID 957602. doi: 10.1155/2009/957602
16. Vignesh M. Genetic analysis of provitamin A and marker-assisted breeding for β -carotene enrichment in maize : PhD thesis. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, 2012.
17. Muthusamy V., Hossain F., Thirunavukkarasu N. et al. 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.* 2015. Vol. 1, Iss. 1. P. 103–141. doi: 10.1080/23311932.2015.1033141

18. PLoS ONE Staff. Correction: Development of β -Carotene Rich Maize Hybrids through Marker-Assisted Introgression of β -carotene hydroxylase Allele. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, Iss. 3. 10(3):e0122130. doi: 10.1371/journal.pone.0122130

References

- Gallagher, C. E., Matthews, P. D., Li, F., & Wurtzel, E. T. (2004). Gene duplication in the carotenoid biosynthetic pathway preceded evolution of the grasses. *Plant Physiol.*, 135(3), 1776–1783. doi: 10.1104/pp.104.039818
- Adeyemo, O., Menkir, A., Melaku, G., & Omidiji, O. (2012). Genetic diversity assessment and relationship among tropical yellow endosperm maize inbred lines using SSR markers. *Maydica*, 56(1/2), 43–50.
- Tiwari, A., Prasanna, B. M., Hossain, F., & Guruprasad, K. N. (2012). Analysis of genetic variability for kernel carotenoid concentration in selected maize inbred lines. *Indian J. Genet. Plant Breed.*, 72(1), 1–6.
- Fu, Z., Chai, Y., Zhou, Y., Yang, X., Warburton, M. L., Xu, S., ... Yan, J. (2013). Natural variation in the sequence of PSY1 and frequency of favorable polymorphisms among tropical and temperate maize germplasm. *Theor. Appl. Genet.*, 126(4), 923–935. doi: 10.1007/s00122-012-2026-0
- Zhou, Y., Han, Y., Li, Z., Fu, Y., Fu, Z., Xu, S., ... & Yang, X. (2012). ZmcrRB3 Encodes a Carotenoid Hydroxylase that Affects the Accumulation of α -carotene in Maize Kernel. *J. Integr. Plant Biol.*, 54(4), 260–269. doi: 10.1111/j.1744-7909.2012.01106.x
- Hwang, T., Ndolo, V. U., Katundu, M., Nyirenda, B., Bezner-Kerr, R., Arntfield, S., & Beta, T. (2016). Provitamin A potential of landrace orange maize variety (*Zea mays* L.) grown in different geographical locations of central Malawi. *Food Chem.*, 196, 1315–1324. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.067
- Vignesh, M., Nepolean, T., Hossain, F., Singh, A. K., & Gupta, H. S. (2013). Sequence variation in 3' UTR region of *crtRBI* gene and its effect on β -carotene accumulation in maize kernel. *J. Plant Biochem. Biotechnol.*, 22(4), 401–408. doi: 10.1007/s13562-012-0168-4
- Babu, R., Rojas, N. P., Gao, S., Yan, J., & Pixley, K. (2013). Validation of the effects of molecular marker polymorphisms in *LcyE* and *CrtRBI* on provitamin A concentrations for 26 tropical maize populations. *Theor. Appl. Genet.*, 126(2), 389–399. doi: 10.1007/s00122-012-1987-3
- Gupta, H. S., Hossain, F., & Muthusamy, V. (2015). Biofortification of maize: An Indian perspective. *Indian J. Genet. Plant Breed.*, 75(1), 1–22. doi: 10.5958/0975-6906.2015.00001.2
- Lübberstedt, T., Zein, I., Andersen, J. R., Wenzel, G., Krützfeldt, B., Eder, J., ... Chun, S. (2005). Development and application of functional markers in maize. *Euphytica*, 146(1–2), 101–108. doi: 10.1007/s10681-005-0892-0
- Liu, L., Jeffers, D., Zhang, Y., Ding, M., Chen, W., Kang, M. S., & Fan, X. (2015). Introgression of the *crtRBI* gene into quality protein maize inbred lines using molecular markers. *Mol. Breed.*, 35(8), 154. doi: 10.1007/s11032-015-0349-7
- Sagare, D. B., Shetti, P., Reddy, S. S., Surender, M., & Pradeep, T. (2015). Identification of β -carotene rich maize inbreds using PCR-based assay for *crtRBI*-3' TE allele. *IJSN*, 6(3), 441–443.
- Murray, M. G., & Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.*, 8(19), 4321–4325.
- Yan, J., Warburton, M., & Crouch, J. (2011). Association mapping for enhancing maize (*Zea mays* L.) genetic improvement. *Crop Sci.*, 51(2), 433–449. doi: 10.2135/cropsci2010.04.0233
- Xu, Y., Skinner, D. J., Wu, H., Palacios-Rojas, N., Araus, J. L., Yan, J., ... Crouch, J. H. (2009). Advances in maize genomics and their value for enhancing genetic gains from breeding. *Int. J. Plant Genomics*, 2009, Art. ID 957602. doi: 10.1155/2009/957602
- Vignesh, M. (2012). *Genetic analysis of provitamin A and marker-assisted breeding for β -carotene enrichment in maize* (PhD thesis). Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.
- 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(1), 103–141. doi: 10.1080/23311932.2015.1033141

18. PLoS ONE Staff. (2015). Correction: Development of β -Carotene Rich Maize Hybrids through Marker-Assisted Introgression of β -carotene hydroxylase Allele. *PLoS ONE*, 10(3), e0122130. doi: 10.1371/journal.pone.0122130

УДК 577.21:633.15

Гончаров Ю. А.^{1*}, Шитикова Ю. В.², Мельник С. И.², Сигалова И. А.² Оценка аллельного состояния гена β -каротингидроксилазы1 у линий кукурузы (*Zea mays* L.) // Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків : сб. науч. тр. Киев, 2017. Вып. 25. С. 11–17.

¹ООО «Научно-исследовательский Институт аграрного бизнеса», ул. Березинская, 80, г. Днепр, 49130, Украина, *e-mail: wildd91@gmail.com

²Украинский институт экспертизы сортов растений, ул. Генерала Родимцева, 15, г. Киев, 03041, Украина

Цель. Проанализировать полиморфизм 3'-конца гена *crtRB1*, который отвечает за повышенное содержание β -каротина в зерне, у линий кукурузы селекции ООО «Научно-исследовательский институт Аграрного бизнеса». **Методы.** Выделение ДНК, полимеразная цепная реакция (ПЦР), гель-электрофорез. **Результаты.** Представлены исследования аллельного состояния гена *crtRB1* с помощью молекулярного маркера к 3'-концу у 106 новых перспективных линий кукурузы. По исследуемому генетическому маркеру обнаружены три аллели: аллель 1 (543 п.н.), аллель 2 (296 п.н.) и аллель 3 (296+875 п.н.). Согласно электрофоретическому разделению продуктов амплификации определено, что аллель 3 представлена продуктами амплификации двух размеров 296 и 875 п.н. в результате присоединения прямого и двух обратных праймеров, аллель 2 и аллель 1 образуются в результате присоединения прямого и одного обратного праймера, поэтому представлены продуктами амплификации одного размера. Частота полученных в результате ПЦР аллелей составила: для аллели 1 – 0,19, аллели 2 – 0,36 и аллели 3 – 0,45. Определено, что наличие аллели 1 размером 543 п.н. связано с увеличенным содержанием β -каротина в зерне кукурузы. По результатам исследований перспективных линий выявлены двадцать линий кукурузы, содержащих аллель 543 п.н. (аллель 1), 38 – аллель 296 п.н. (аллель 2) и 48 – аллель 296+875 п.н. (аллель 3). **Выводы.** Проанализировано аллельное состояние гена *crtRB1* по маркеру *crtRB1-3'TE*. Определены линии кукурузы, которые имели благоприятную аллель к повышенному накоплению β -каротина в зерне: RL25, RL35, RL39, RL46, RL47, RL50, RL56, RL63, RL64, RL67, RL73, RL74, RL77, RL83, RL85, RL110, RL111, RL112, RL116 и RL121, которые могут быть использованы в дальнейшем в селекционной работе направленной на повышенное содержание β -каротина в зерне кукурузы.

Ключевые слова: ген *crtRB1*, частота аллели, β -каротин, благоприятный аллель.

UDC 577.21:633.15

Honcharov, Yu. O.^{1*}, Shytikova, Yu. V.², Melnyk, S. I.², & Sihalova, I. O.² (2017). Estimation of allele status of β -carotene hydroxylase1 in maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Nauk. pracі Inst. bioenerg. kul't. cukrov. burâkiv* [Scientific Papers of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet], 25, 11–17. [in Ukrainian]

¹Research Institute of Agrarian Business, 80 Berezyńska Str., Dnipro, 49130, Ukraine, *e-mail: wildd91@gmail.com

²Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymtseva Str., Kyiv, 03041, Ukraine

Purpose. Assessing the polymorphism of *crtRB1-3'TE* gene responsible for the high content of β -carotene in maize inbred lines of Research Institute of Agrarian Business breeding. **Methods.** DNA isolation, PCR, and gel electrophoresis. **Results.** Presented in the article are the research results on the allele's status of the *crtRB1* gene with a molecular marker to 3'-ending in 106 new promising inbred maize lines. Three alleles of the gene were identified: allele 1 (543 bp), allele 2 (296 bp) and allele 3 (296+875 bp). According to the electrophoretic separation of the amplification

products, the allele 3 is represented by amplification products of two sizes (296 bp and 875 bp) as a result of the adherence of the forward and the two reverse primers. Allele 2 and allele 1 are formed as a result of the adherence of the forward and one reverse primer, so they are represented by amplification products of the single size. The frequency of resulting from PCR alleles was as following: 0.19 for allele 1, 0.36 for allele 2, and 0.45 for allele 3. It was found that allele 1 (543 bp) is linked with the high content of β -carotene in maize grain. According to the research results, 20 lines of maize were identified that contained an allele of 543 bp (allele 1), 38 allele of 296 bp (allele 2) and 48 alleles of 296+875 bp (allele 3). **Conclusions.** The *crtRB1* allele status of the *crtRB1-3'*TE marker was analyzed. 20 lines of maize were identified which had a favorable allele for the increased accumulation of β -carotene in grain: RL25, RL35, RL39, RL46, RL47, RL50, RL56, RL63, RL64, RL67, RL73, RL74, RL77, RL83, RL85, RL110, RL111, RL112, RL116 and RL121. These lines can be used in further selective work on the high content of β -carotene in a grain of corn.

Keywords: *gene crtRB1, favourable allele, β -carotene, allele frequency.*

Надійшла / Received 23.10.2017

Погоджено до друку / Accepted 06.12.2017

УДК 633.63: 631. 531.12

Мінливість маси кореневища міскантусу гігантського залежно від застосування абсорбенту за садіння ризом

Доронін В. А. *, Дрига В. В., Кравченко Ю. А., Доронін В. В.

*Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України, вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03110, Україна, *e-mail: vladimir.doronin@tdn.org.ua*

Мета. Встановити особливості формування маточних кореневищ міскантусу гігантського та мінливість їх маси залежно від елементів технології вирощування. **Методи.** Польовий, лабораторний, візуальний, вимірювально-ваговий, математично-статистичний. **Результати.** З'ясовано, що на період закінчення вегетації рослин наростання маси кореневища було інтенсивнішим за використання абсорбенту за обох строків садіння ризом порівняно з контролем. У середньому за три роки приріст маси кореневища за садіння малих ризом у перший строк на час завершення вегетації був достовірно більшим порівняно з контролем і варіював залежно від застосування виду абсорбенту від 78,4 до 433,6 г. За садіння великих ризом приріст маси кореневища був істотно більшим як порівняно з контролем, так і з варіантом, де висаджували малі ризоми. За другого строку садіння отримано аналогічну залежність. Значний вплив на формування маси кореневища мала маса ризом, які висаджували за обох строків садіння. За садіння в перший строк великих ризом (60–90 г) маса кореневища в контролі була більшою в 1,6 раза порівняно з висаджуванням малих ризом. Аналогічне збільшення маси кореневища отримано за використання абсорбенту за обох строків садіння. Мінливість маси маточних кореневищ протягом років досліджень відтворює фенотиповий характер цієї ознаки: за садіння великих ризом у перший строк у контролі в середньому 36,4 % маточних кореневищ мали масу до 600 г, 18,2 % – від 600 до 700 г, 13,6 % – від 701–800 г, 18,2 % – від 801 до 900 г і лише 13,6 % – від 901 до 1500 г, кореневищ більше 1501 г не було. Загалом показник варіював у межах від 531,0 до 869,0 г за середнього значення 736,1 г. За спільного застосування гранул та гелю абсорбенту 59,1 % маточних кореневищ мали масу 901–1500 г, 40,9 % – понад 1501 г за варіювання ознаки від 1237,7 до 2191 г за середнього значення 1653,5 г. **Висновки.** За обох строків садіння малих ризом застосування абсорбенту забезпечило достовірно більший приріст маси