

Державна установа Інститут зернових культур
Національної академії аграрних наук України

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

**УДОСКОНАЛЕНИЙ МЕТОД СИНТЕЗУ ТА ОЦІНКИ
СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ
НА ЯКІСТЬ ПРОДУКЦІЇ**

ДНІПРО, 2024

УДК 633.15:631.527

*Рекомендовано до друку вченою радою ДУ Інститут зернових культур НААН
від 29 липня 2024 року (протокол №10)*

Рецензенти:

Ю. О. Лавриненко – доктор с.-г. наук, професор, академік НААН України, головний науковий співробітник відділу селекції Інституту кліматично орієнтованого сільського господарства НААН

Б. Ф. Вареник – кандидат с.-г. наук, старший науковий співробітник, завідувач відділу селекції та насінництва перехреснозапилюваних культур Селекційно-генетичного інституту НЦНС НААН

Удосконалений метод синтезу та оцінки селекційного матеріалу кукурудзи на якість продукції: методичні рекомендації; вид. друге, доопр. і допов. Дніпро: ДУ Інститут зернових культур НААН, 2024. 16 с.

Виконавці: Дзюбецький Б.В., Черчель В.Ю., Денисюк К.В., Боденко Н.А., Ольховик М.С., Круглова М.О.

Представлено удосконалений метод синтезу та оцінки селекційного матеріалу кукурудзи на якість продукції, який ґрунтується на використанні молекулярно-генетичних функціональних маркерів каротиногенезу.

Рекомендації можуть бути використані при створенні, оцінці та доборі генотипів кукурудзи з підвищеним вмістом β -каротину в зрілому зерні з метою підвищення якості продукції.

©Державна установа Інститут зернових культур
Національної академії аграрних наук України, 2024

ВСТУП.....	4
Опис методу.....	6
Проведення аналізу.....	11
Опрацювання результатів.....	13
Список використаних джерел.....	14

ОПИС МЕТОДУ

В основі розробки лежить задача синтезу та оцінки селекційного матеріалу кукурудзи, спрямовані на підвищення вмісту β -каротину в зрілому зерні, на основі відбору генотипів за сприятливими молекулярно-генетичними функціональними маркерами каротиногенезу.

Вихідний попередник біосинтезу каротиноїдів у кукурудзи – C20-сполука – геранілгеранілпірофосфат (ГГПФ) (рис. 1). На першій стадії біосинтетичного процесу дві молекули ГГПФ за дії ферменту фітоїнсинтази перетворюються на фітоїн (C40-сполука). Утворення наступних проміжних продуктів біосинтезу каротиноїдів із фітоїну відбувається через чотири послідовні реакції десатурації, кожна з яких призводить до подовження полієнового хромофора на два пов'язані подвійні зв'язки. Проміжними продуктами цих реакцій виступають фітофлуїн, ζ -каротин та нейроспорин, а кінцевим продуктом реакцій десатурації є перша забарвлена речовина лікопін (Aluru et al., 2008, Fu et al., 2012, Thanh, 2019).

На наступному етапі каротиногенезу відбуваються реакції циклізації. При асиметричній циклізації лікопіну за дії ферменту лікопін- ϵ -циклази, який кодується геном *lcy ϵ* , утворюється одне ϵ -іонне кільце. В результаті асиметричної циклізації лікопін перетворюється на δ -каротин, який є попередником синтезу α -каротину, зеїноксантину та лютеїну. При симетричній циклізації лікопіну за дії ферменту лікопін- β -циклази (кодується геном *lcy β*) утворюється одне β -іонне кільце. В результаті симетричної циклізації лікопін перетворюється на γ -каротин, який здатен поетапно переходити у β -каротин, β -криптоксантин та зеаксантин. Молекула β -каротину містить два β -кільця, що забезпечує синтез одразу двох молекул вітаміну А і робить β -каротин найбільш ефективним попередником синтезу цього цінного вітаміну в організмі людини (Azmach et al., 2013, Muthusamy et al., 2015a, Muthusamy et al., 2015b).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. База даних NCBI.Gene [Electronic resource]. Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>.
2. Aluru M., Xu Y., Guo R. et al. Generation of transgenic maize with enhanced provitamin A content. *J.Exp.Bot.* 2008. 59 (13). 3551–3562.
3. Azmach G., Gedil M., Menkir A. et al. Marker-trait association analysis of functional gene markers for provitamin A level across diverse tropical yellow maize inbred lines. *BMC Plant Biology*. 2013. 13. 227. doi: 10.1186/1471-2229-13-227.
4. Chen W., Zhang X., Lu C. et al. Genome-wide association study of carotenoids in maize kernel. *Plant Genome*. 2024. e20495. doi: 10.1002/tpg2.20495.
5. Das A.K., Gowda M.M., Muthusamy V. et al. Development of maize hybrids with enhanced vitamin-E, vitamin-A, lysine, and tryptophan through molecular breeding. *Front Plant Sci*. 2021. 12. 659381. doi: 10.3389/fpls.2021.659381.
6. Fu Z., Chai Y., Zhou Y. et al. Natural variation in the sequence of *PSY* and frequency of favorable polymorphism among tropical and temperate maize germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 2012. doi: 10.1007/s00122-012-2026-0.
7. Garoma B., Azimach G., Bante K., Menkir A. Assessing the carotenoid profiles and allelic diversity of yellow maize inbred lines adapted to mid-altitude subhumid maize agroecology in Ethiopia. *Front Plant Sci*. 2024. 15. 1406550. doi: 10.3389/fpls.2024.1406550.
8. Harjes C. E., Rocheford T. R., Bai L. et al. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science*. 2008. 319. 330-333. doi: 10.1126/science.1150255.
9. Hwang T., Ndolo V.U., Katundu M. et al. Provitamin A potential of landrace orange maize variety (*Zea mays* L.) grown in different geographical location of central Malawi. *Food Chemistry*. 2016. 196. 1315-1324. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.067.
10. Katral A., Hossain F., Zunjare R.U. et al. Maize genotypes with favourable *dgat1-2* and *fatb* alleles possess stable high kernel oil and better fatty acid health and nutritive indices. *Int J Biol Macromol*. 2024. 20. 134848. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134848.
11. Kim J.-T., Yi G., Chung I.-M. et al. Timing and pattern of anthocyanin accumulation during grain filling in purple waxy corn (*Zea mays* L.) suggest optimal harvest dates. *ACS Omega*. 2020. 5 (25). 15702-15708. doi: 10.1021/acsomega.0c02099.

12. Kumar R., Oruna-Concha M.J., Niranjana K., Vimala Swaran K.S. A review on vitamin A deficiency and depleted immunity in South Asia: From deficiency to resilience. *Nutrition*. 2024. 124. 112452. doi: 10.1016/j.nut.2024.112452.
13. Li K., Yu Y., Zhang N. et al. Unlocking the genetic basis of vitamin E content in sweet corn kernels: expanding breeding targets through genome-wide association studies. *Plant Sci*. 2024. 112233. doi: 10.1016/j.plantsci.2024.112233.
14. Maazou A.S., Gedil M., Adetimirin V.O. et al. Heterotic grouping of provitamin A-enriched maize inbred lines for increased provitamin A content in hybrids. *BMC Genom Data*. 2023. 24(1). 57. doi: 10.1186/s12863-023-01156-z.
15. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 1980. 8 (19). 4321-4326. doi: 10.1093/nar/8.19.4321.
16. 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 and Agriculture*. 2015a. 1 (1). doi:10.1080/23311932.2015.1033141.
17. Muthusamy V., Hossain F., Thirunavukkarasu N. et al. Development of β -carotene rich maize hybrids through marker-assisted introgression of β -carotene hydroxylase allele. *PLoS ONE*. 2015b. 9 (12). doi:10.1371/journal.pone. 0113583.
18. Muthusamy V., Nepolean T., Hossain F. et al. Sequence variation in 3'UTR region of *crtRB1* gene and its effect on β -carotene accumulation in maize kernel. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 2013. 22. 401-408.
19. Naqvi S., Zhu C., Farre G. et al. Transgenic multivitamin corn through biofortification of endosperm with three vitamins representing three distinct metabolic pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009. 106 (16). 7762-7767. doi: 10.1073/pnas.090141210.
20. Sagare D.B., Shetti P., Reddy S.S. et al. Screening of maize (*Zea mays* L.) germplasm for *crtRB1-3' TE* allele enhancing provitamin A concentration in endosperm. *Res. Environ. Life Sci*. 2015a. 8 (4). 673-674.
21. Sagare D.B., Shetti P., Reddy S.S. et al. Identification of β -carotene rich maize inbreds using PCR-based assay for *crtRB1-3' TE* allele. *I. J. S. N*. 2015b. 6 (3). 441-443.
22. Satarova T.M., Denysiuk K.V., Cherchel V.Y. et al. Distribution of alleles of β -carotene hydroxylase 1 gene in modern genotypes of *Zea mays* L. *Cytol. Genet*. 2023. 57. 35–43 (2023). doi: 10.3103/S0095452723010115.
23. Thanh N.D. Provitamin a biofortification in maize through genetic engineering and marker-assisted selection. *Academia Journal of Biology*. 2019. 41(4). doi: 10.15625/0866-7160/v41n4.13804.

24. Vignesh M., Hossain F., Nepolean T. et al. Genetic variability for kernel β -carotene and utilization of *crtRB13*'TE gene for biofortification in maize (*Zea mays* L.). *Indian J. Genet.* 2012. 72 (2). 189-194.
25. Warburton M. L. Identification and use of rare natural genetic sequence variation to improve levels of β -carotene in maize. *Information Systems for Biotechnology News Report*. 2010. 23. 38.
26. Yan J., Kandianis C.B., Harjes C.E. et al. Rare genetic variation at *Zea mays crtRB1* increases beta-carotene in maize grain. *Nat. Genet.* 2010. 42. 322-327. doi: 10.1038/ng.551.