

## Аналіз електрофоретичних спектрів зеїнів для оцінки генетичного різноманіття ліній кукурудзи (*Zea mays* (L.) Merr.)

Л. М. Присяжнюк<sup>1\*</sup>, Т. М. Сатарова<sup>1</sup>, С. О. Ткачик<sup>1</sup>,  
Ю. В. Шитікова<sup>1</sup>, Б. В. Дзюбецький<sup>2</sup>, В. Ю. Черчель<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родимцева, 15, м. Київ, 03041, Україна,  
\*e-mail: prysiazhniuk\_l@ukr.net

<sup>2</sup>ДУ Інститут зернових культур НААН України, вул. В. Вернадського, 14, м. Дніпро, 49600, Україна

**Мета.** Оцінити електрофоретичні спектри зеїнів ліній кукурудзи для створення панелі паспортизації. **Методи.** Електрофорез запасних білків, кластерний аналіз. **Результати.** Наведено результати досліджень 31 лінії кукурудзи за запасними білками насіння з використанням електрофоретичного розділення компонентів зеїну. На основі визначення відносної електрофоретичної рухливості зеїнів встановлено, що досліджувані лінії кукурудзи є однорідними та мають відмінності за компонентним складом зеїнів, що дає змогу їх ідентифікувати. Визначено, що найбільш подібними лініями є 'ДК744' та 'ДК298', 'ДК3070' та 'ДК633/325', 'PLS61' та 'Chi31', у яких виявлено більшу кількість спектрів з однаковою відносною електрофоретичною рухливістю. Визначено унікальні компоненти зеїну 96, 32 та 41 у досліджуваних лініях 'ДК267', 'ДК129-4' та 'ДК236'. Кластерний аналіз дав змогу з'ясувати, що лінії 'ДК325', 'ДК267' та 'ДК276' перебувають на найбільшій відстані від усіх досліджуваних ліній. Відповідно до генетичних дистанцій достатній рівень подібності (300–400) за спектрами зеїну виявлено між лініями зародкової плазми Айодент та Ланкастер. **Висновки.** Для оцінки генофонду кукурудзи доцільно застосовувати метод електрофорезу запасних білків, оскільки він дає змогу оцінити їхню однорідність та визначити ступінь генетичної спорідненості. Виявлено, що найвіддаленішими дослідженими лініями є 'ДК315', 'ДК267' та 'ДК276'. Встановлено, що загальновідомі еталонні лінії 'PLS61' та 'Chi31' сформували окремих кластер. Отже, застосування методу електрофорезу запасних білків дало змогу виділити найбільш віддалені лінії, які належать до одного типу зародкової плазми, та визначити подібні компоненти зеїну в лінії різних геноплазм.

**Ключові слова:** поліморфізм запасних білків, електрофорез у ПААГ, генетичні дистанції, відносна електрофоретична рухливість, кукурудза, зеїн.

### Вступ

Одним з найважливіших елементів селекції і експертизи сортів, гібридів, ліній сільськогосподарських рослин є їх точна та об'єктивна ідентифікація [1–3].

Для оцінки генетичного різноманіття кукурудзи ефективним є використання електрофорезу, який дає змогу виявити поліморфізм запасних білків насіння. За допомогою цього методу за компонентним складом спектрів зеїну можна оцінювати інбредні лінії на генетичну однорідність, а також з великою часткою ймовірності виявити ступінь генетичної спорідненості тих чи інших ліній між собою [5–6]. Реєстрацію електрофоретичних спектрів здійснюють у величинах відносної електрофоретичної рухливості (rf) або молекулярній масі білкових компонентів (kDa) [7–8]. Дослідження компонентного складу зеїнів з метою їх застосування для потреб селекції, зокрема, для контролю за чистотою ліній, визначення автентичності, а також оцінки генофонду кукурудзи про-

Larysa Prysiazhniuk

<http://orcid.org/0000-0003-4388-0485>

Tatiana Satarova

<http://orcid.org/0000-0002-5571-1139>

Svitlana Tkachyk

<http://orcid.org/0000-0002-2402-079X>

Yuliia Shytikova

<http://orcid.org/0000-0002-1403-694X>

Boris Dzubetsky

<http://orcid.org/0000-0003-2955-232X>

Vladyslav Cherchel

<http://orcid.org/0000-0002-0429-4961>

дять з 70-х рр. ХХ ст. іноземні та вітчизняні науковці [9–10]. Відомо досить багато робіт з вивчення зеїнових маркерів для визначення різних груп стиглості кукурудзи, якісного складу білків зерна, здійснення об'єктивного контролю за ступенем генетичної однорідності ліній, виявлення генетично віддалених ліній для отримання максимального гетерозисного ефекту, визначення «відсотка» гібридності та ін. Отже, у зв'язку з інтенсифікацією селекції та насінництва актуальним є визначення генетичного походження ліній та їхній розподіл. Такий підхід забезпечує підвищення ефективності експертизи, оскільки результати цієї експертизи тісно пов'язані з проблемами об'єктивної оцінки сортового матеріалу.

*Мета досліджень* – виявити та охарактеризувати спектри зеїнів ліній кукурудзи селекції ДУ Інститут зернових культур НААН України для їх паспортизації.

### Матеріали та методика досліджень

Матеріалом для дослідження була 31 лінія кукурудзи. Серед них 28 ліній селекції ДУ Інституту зернових культур НААН 'ДК411', 'ДК257', 'ДК742', 'ДК744', 'ДК315', 'ДК633/266', 'ДК680МВ', 'ДК296', 'ДК267', 'ДК633', 'ДК366', 'ДК247', 'ДК276', 'ДК959', 'ДКФ2', 'ДК253', 'ДК272', 'ДК273', 'ДК129-4', 'ДК377', 'ДК2323', 'ДК239', 'ДК212', 'ДК4201', 'ДК298', 'ДК3070', 'ДК236', 'ДК633/325' та три загальновідомі лінії 'A188', 'PLS61' та 'Chi31'.

Вибірка для одного аналізу включала 40 повторень кожного зразка. Електрофорез зеїнів проводили у вертикальних пластинах поліакриламідного гелю (ПААГ) за Методикою проведення кваліфікаційної експертизи сортів рослин на придатність до поширення в Україні (Методи визначення показників якості продукції рослинництва) [11]. Пластина містила 8,5% акриламідну і 7,5 М сечовину. В розчин для екстракції зеїну входила 8 М сечовина та 3% меркаптоетанол. Електрофорез проводили без охолодження протягом 5 годин за напруги 500 В. Електрофоретичний спектр зеїну містить від 12 до 22 основних компонентів [12], які записували у величинах відносної електрофоретичної рухливості (rf). Цей показник обчислюють за «внутрішнім стандартом», яким можуть бути компоненти, які добре виражені та по можливості спільні для всіх або більшості досліджуваних ліній [13–14]. За такий стандарт використали компонент з rf 60. Рухливість інших компонентів визначали відносно внутрішнього стандарту за допомогою програмного забезпечення TotalLab TL 120.

Генетичні дистанції між досліджуваними лініями кукурудзи оцінювали на основі кластерного аналізу з використанням програми STATISTICA 12. Лінії групували за допомогою незваженого методу середніх зв'язків [15–16].

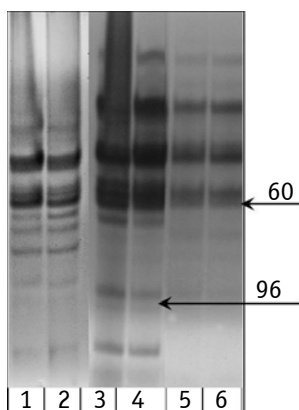
### Результати досліджень

Для дослідження поліморфізму 31 ліній кукурудзи за спектрами запасних білків зеїнів визначали відносну електрофоретичну рухливість білкових компонентів досліджуваних зразків. Електрофоретичні спектри зеїнів містили від 12 до 19 компонентів для кожної лінії. Відомо, що відсутність або мінімальна кількість відмінностей за спектрами зеїну свідчить про близьку спорідненість ліній і невелику ймовірність високого рівня гетерозису. Цей висновок ґрунтується на результатах вивчення великої кількості вітчизняних і зарубіжних ліній і гібридів (простих, трилінійних, подвійних міжлінійних та ін.). Численними дослідженнями доведено: у генетично чистої лінії всі зерна вибірки (не менше 30 насинин) мають однаковий спектр зеїну [17–19]. Унаслідок електрофоретичного розділення зеїнів кукурудзи визначено, що досліджувані лінії мають один тип спектрів кожна, що свідчить про їхню однорідність.

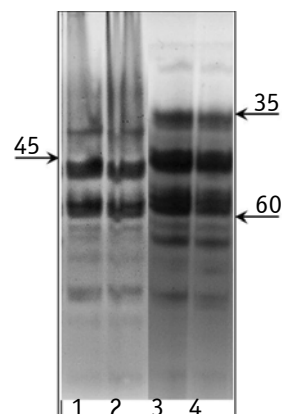
Для електрофоретичних спектрів досліджуваних ліній унікальними виявилися компоненти 96, 32 та 41 у лініях 'ДК267', 'ДК129-4' та 'ДК236' відповідно (рис. 1). Слід зауважити, що вказані лінії мають також різний тип зародкової плазми: Ланкастер (Oh 43), Со 125 та Ланкастер × Лакон відповідно [20–21]. Згідно з отриманими електрофореграмами за компонентним складом зеїнів найбільш подібними між собою були лінії 'ДК744' та 'ДК298'. Із 16 ідентифікованих компонентів цих ліній встановлено наявність по одному унікальному компоненту: 45 – у лінії 'ДК744' та 35 – у 'ДК298' (рис. 2). Більшість компонентів зеїну були однакового розміру або відрізнялись на одну одиницю.

Між досліджуваними лініями 'ДК3070' та 'ДК633/325' помічено також високу спорідненість за компонентами зеїну. Із 16 виявлених компонентів лінії 'ДК3070' та 17 лінії 'ДК633/325' 9 ідентифікованих фрагментів були спільними. Відповідно до електрофоретичного розподілу зазначені лінії мали основні відмінності за чотирма компонентами: 44, 49, 58 та 72 (рис. 3).

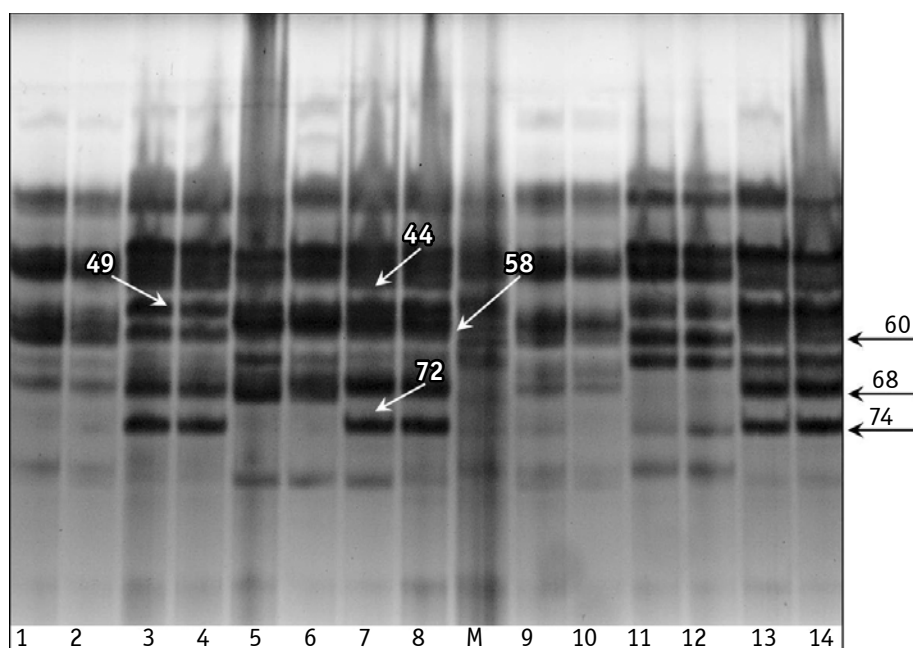
Також певний ступінь подібності виявлено у ліній 'PLS61' та 'Chi31', зокрема з 15 компонентів зеїну вони мають 8 спільних. На рисунку 3 показано, що одним із найбільш



**Рис. 1.** Приклад електрофоретичного розподілу компонентів зеїну у ліній кукурудзи:  
1–2 – 'ДК296', 3–4 – 'ДК267', 5–6 – 'ДК276'



**Рис. 2.** Приклад електрофоретичного розподілу компонентів зеїну у ліній кукурудзи:  
1–2 – 'ДК744', 3–4 – 'ДК298'



**Рис. 3.** Приклад електрофоретичного розподілу компонентів зеїну у ліній кукурудзи:  
1–2 – 'ДК298', 3–4 – 'ДК3070', 5–6 – 'ДК236', 7–8 – 'ДК633/325', М – універсальний маркер (суміш досліджуваних генотипів), 9–10 – 'A188', 11–12 – 'PLS61', 13–14 – 'Chi31'

виражених компонентів, яким вони відрізняються, є компонент розміром 68. Компонент 74 із представлених на рисунку зразків присутній у всіх, крім лінії 'A188'.

Спільними для більшої кількості ліній, крім компонента зеїну із значенням відносної електрофоретичної рухливості 60, були компоненти розміром 38, 50, 58, 63, 68, 80 та 86, які мали найвище значення частоти стрічальності (рис. 4).

Дослідженнями багатьох вчених було встановлено комплексну структуру зеїнокодуючих генів у разі використання мРНК для синтезу кДНК-клонів. На основі гібридизації індивідуальних клонів з геномною ДНК було доведено, що зеїни кодують 150 генів [12], які розташовані на 4 та 7 хромосомах. Дослідження

ми Г. В. Заякиной і А. А. Созінова [5] доведено зчеплене успадкування зеїнокодуючих локусів декількох компонентів зеїну, а також і незалежне успадкування окремих локусів.

Відомо, що однією з основних маркерних ознак для встановлення відмінностей між різними типами зародкової плазми є форма зернівки кукурудзи. Сидорова В. В. та ін. [13] проводили дослідження з кременистим, зубовидним та напівзубовидним підвидами кукурудзи. Внаслідок цього, враховуючи зчеплений характер успадкування зеїнокодуючих локусів, було визначено наявність спільних компонентів зеїну в ліній кукурудзи з різними типами зародкової плазми.

У дослідженнях нами отримано результати, згідно з якими не тільки лінії кукурудзи

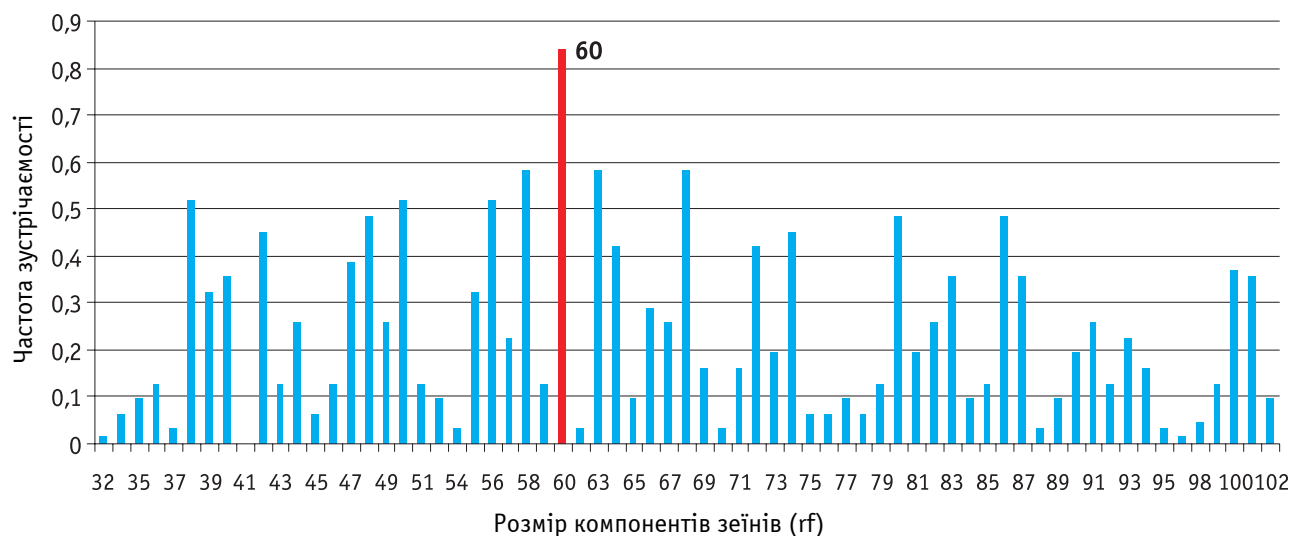


Рис. 4. Розподіл частот зустрічаємості компонентів зеїну в досліджуваних лініях кукурудзи

‘ДК3070’ та ‘ДК633/325’ зародкової плазми Ланкастер (Мо17), а й лінії ‘ДК744’ та ‘ДК298’ геноплазм відповідно Айодент та Ланкастер є подібними за компонентами зеїну.

Оскільки поліморфізм зеїну, що виявляється електрофорезом, носить адаптивний характер, генетичні зміни в генотипах супроводжуються відповідними змінами в спектрах білка [13, 22–24]. Таким чином, метод електрофорезу зеїну дає змогу не тільки ідентифікувати лінії та гібриди кукурудзи, а й здійснювати контроль за однорідністю ліній та ступенем гібридності.

Для диференціації ліній на основі результатів електрофоретичного розділення за компонентами зеїну був проведений кластерний аналіз, який відображає генетичні дистанції між ними (рис. 5).

За даними аналізу генетичних дистанцій між досліджуваними лініями кукурудзи, варто зазначити, що найбільш віддаленими є лінії із значенням понад 400–500. Отже, група ліній ‘ДК267’, ‘ДК633’, ‘ДК366’, ‘ДК247’, ‘ДК276’, ‘ДК959’ та ‘ДКФ2’ показала найвищий рівень відмінності стосовно до інших ліній. Результатами розрахунку генетичних дистанцій підтверджується подібність між лініями ‘ДК744’ та ‘ДК298’, ‘ДК3070’ та ‘ДК633/325’, а також між лініями ‘PLS61’ та ‘Chi31’. Відстань між подібними лініями становить від 200 до 300. Генетичні дистанції за спектрами зеїну між лініями плазми Айодент та плазми Ланкастер становили 300–400, що свідчить про певний рівень їхньої подібності.

Варто звернути увагу на те, що між групами кластерів, які об’єднують лінії однакового або близьких типів зародкової плазми, простежується тенденція до збільшення ге-

нетичних дистанцій до загальновідомих еталонних ліній ‘A188’, ‘PLS61’ та ‘Chi31’.

Враховуючи те, що абсолютно однаковими вважають об’єкти з цифровим виразом генетичних дистанцій «нуль», або ж які є максимально близькими до нуля, а абсолютно різними – з найбільшим значенням, можна зробити висновок, що за отриманими розрахунками лінії різняться між собою.

Результати ієрархічної класифікації у вигляді філогенетичного дерева наведено на рисунку 6.

На основі отриманої дендрограми визначено 11 кластерів за електрофоретичним розділенням запасних білків, які сформовані лініями ‘ДК411’ та ‘ДК239’, ‘ДК744’ та ‘ДК298’, ‘PLS61’ та ‘Chi31’, ‘ДК633/266’ та ‘A188’, ‘ДК3070’ та ‘ДК633/325’, ‘ДК257’ та ‘ДК742’, ‘ДК129-4’ та ‘ДК377’, ‘ДК212’ та ‘ДК4201’, ‘ДК633’ та ‘ДКФ2’, ‘ДК272’ та ‘ДК273’, ‘ДК366’ та ‘ДК247’.

Інші лінії не увійшли до жодного кластера, проте лінія ‘ДК236’ наближена до кластера, утвореного лініями ‘ДК3070’ та ‘ДК633/325’, лінія ‘ДК2323’ – до кластера ‘ДК129-4’ та ‘ДК377’, лінії ‘ДК680МВ’ та ‘ДК296’ прилягають до кластера ‘ДК257’ та ‘ДК742’, але перебувають на більшій відстані порівняно з попередніми. Також до кластера ‘ДК272’ та ‘ДК273’ прилягають лінії ‘ДК253’ та ‘ДК959’.

За аналізом дендрограми встановлено, що лінії ‘ДК315’, ‘ДК267’ та ‘ДК276’ перебувають на найбільшій відстані від усіх досліджуваних ліній. Слід зауважити, що всі ці лінії мають різний тип зародкової плазми: Айодент та Ланкастер (Oh43) у ‘ДК315’ та ‘ДК267’ відповідно.

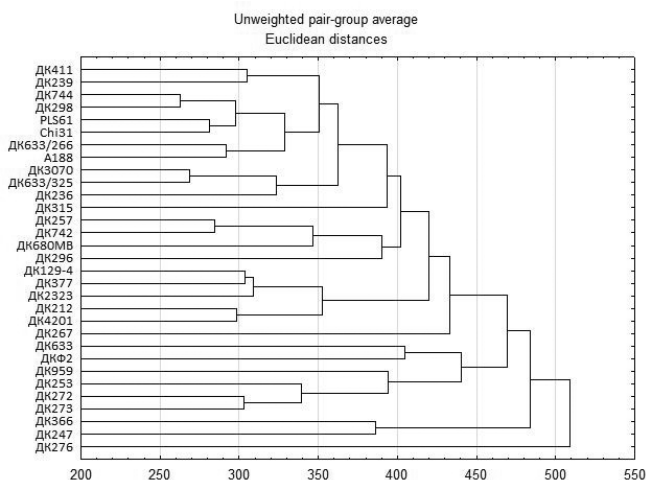
Отже, застосування методу електрофоретичного розділення компонентів запасного

	ДК257	ДК742	ДК744	ДК315	ДК633/266	ДК680МВ	ДК296	ДК267	ДК633	ДК366	ДК247	ДК276	ДК959	ДКФ2	ДК253
ДК411	356	411	299	389	296	409	432	372	418	498	464	526	525	472	440
ДК257	284	357	352	367	342	331	390	456	476	457	413	489	500	476	457
ДК742		352	351	321	321	362	364	472	467	482	464	510	509	474	453
ДК744		331	331	315	315	423	386	419	469	498	477	523	513	493	459
ДК315				345	345	463	425	494	492	534	490	526	520	499	460
ДК633/266						438	362	424	453	499	475	547	515	489	444
ДК680МВ							416	447	492	436	471	481	491	503	464
ДК296							493	486	503	486	454	525	476	444	463
ДК267								424	459	496	479	552	551	517	508
ДК633									466	479	386	473	465	405	352
ДК366												531	456	531	503
ДК247												505	480	464	457
ДК276													564	472	489
ДК959														494	411
ДКФ2															397

	ДК272	ДК273	ДК129-4	ДК377	ДК2323	ДК239	ДК212	ДК4201	ДК298	ДК3070	ДК236	ДК633/325	А188	PLS61	Сн31
ДК411	474	423	412	417	389	305	392	427	347	405	343	405	363	332	324
ДК257	452	398	452	470	459	393	447	471	363	411	407	411	449	409	360
ДК742	418	431	462	512	463	452	470	466	266	369	433	384	375	365	358
ДК744	432	445	386	414	314	297	364	384	263	383	364	326	373	289	336
ДК325	427	459	488	492	427	414	483	460	375	435	438	412	418	361	413
ДК633/266	430	453	434	468	395	386	430	391	270	355	388	381	292	300	348
ДК680МВ	477	413	428	452	476	443	433	447	435	452	434	438	465	474	454
ДК296	406	433	434	473	414	471	426	400	365	400	472	418	432	375	382
ДК267	533	489	456	440	443	390	427	426	420	456	353	412	413	459	425
ДК633	481	412	525	487	506	467	474	486	473	486	443	478	467	456	418
ДК366	483	441	499	492	505	524	480	492	505	477	476	459	519	521	474
ДК247	492	414	494	499	517	498	492	499	470	488	509	501	534	493	447
ДК276	560	510	531	527	496	457	452	472	535	479	487	502	566	508	478
ДК959	381	392	527	487	501	564	527	502	526	518	557	525	527	498	501
ДКФ2	484	436	509	543	513	465	455	458	466	440	454	466	519	431	398
ДК253	369	309	503	510	488	461	458	440	464	501	457	490	476	437	443
ДК272	303	452	459	437	437	502	452	437	425	435	472	427	465	413	425
ДК273		427	424	458	475	475	406	440	437	433	452	438	494	436	381
ДК129-4			304	313	403	396	374	421	421	430	417	380	436	414	410
ДК377				305	375	375	375	403	470	449	440	436	471	421	426
ДК2323					352	352	324	337	386	386	401	349	380	337	398
ДК239							333	368	378	436	342	400	432	385	366
ДК212								298	401	395	405	355	457	401	367
ДК4201									413	418	404	390	453	371	414
ДК298									306	365	365	336	274	281	286
ДК3070												269	382	318	279
ДК236												281	387	374	329
ДК633/325												407	366	316	
А188														361	389
PLS61															281

Рис. 5. Генетичні дистанції між досліджуваними лініями кукурудзи на основі електрофоретичного розділення зеїнів (від синього до червоного кольору вказано генетичні дистанції в порядку їх зменшення)



**Рис. 6. Розподіл ліній кукурудзи за ступенем спорідненості на основі електрофоретичного розділення зеїнів**

білка зеїну є ефективним для диференціації 31 дослідженої лінії кукурудзи. Він дає змогу виділити найбільш віддалені лінії з одним типом зародкової плазми або визначити спільні риси у ліній з різними типами.

**Висновки**

Встановлено, що застосування методу електрофорезу запасних білків для оцінки генофонду кукурудзи дає змогу визначити ступінь генетичної спорідненості ліній за компонентами зеїну та оцінити їхню однорідність. Із 31 дослідженої лінії найбільш віддаленими від решти є ‘ДК315’, ‘ДК267’ та ‘ДК276’, які між собою також перебувають на значній відстані. Визначено найподібніші групи ліній, які мають найменші генетичні дистанції, зокрема ‘ДК744’ та ‘ДК298’, ‘ДК3070’ та ‘ДК633/325’.

Встановлено, що загальновідомі лінії ‘PLS61’ і ‘Chi31’ сформували окремих кластер між собою, а лінія ‘A188’ – спільний кластер з ‘ДК633/266’, що може свідчити про наявність спільних зеїнокодуючих генних локусів.

З огляду на те, що лінії, які належать до різних типів зародкової плазми, за компонентним складом зеїну виявили різний ступінь близькості, доцільно рекомендувати застосування методу електрофорезу до залучення у селекційний процес. Результати цих досліджень сприятимуть оптимальному добору вихідних батьківських форм для досягнення високого ефекту гетерозису в гібридах.

**Використана література**

1. Zhang Z., Yang J., Wu Y. Transcriptional regulation of zein gene expression in maize through the additive and synergistic action of opaque2, Prolamine-box binding factor, and O2 heterodimerizing proteins. *Plant Cell*. 2015. Vol. 27, Iss. 4. P. 1162–1172. doi: 10.1105/tpc.15.0003.

2. Сидорова В. В., Конарев А. В., Керв Ю. А., Матвеева Г. В. Белковые маркеры в анализе генетического разнообразия, селекции и семенном контроле кукурузы. *Аграрная Россия*. 2015. № 12. С. 2–10.

3. Тютюнов С. И., Воронин А. Н., Журба Г. М., Хорошилов С. А. Основные результаты селекции гибридов кукурузы в Белгородском НИИСХ. *Селекция растений: прошлое, настоящее и будущее* : сб. матер. I Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (г. Белгород, 24–26 ноября 2016 г.). Белгород, 2017. С. 180–185.

4. Iqbal J., Shinwari Z. K., Rabbani M. A., Khan S. Genetic variability assessment of maize (*Zea mays* L.) germplasm based on total seed storage proteins banding pattern using SDS-PAGE. *Eur. Acad. Res*. 2014. Vol. 2. Iss. 2. P. 2144–2160.

5. Заякина Г. В., Созинов А. А. Генетический анализ проламинов кукурузы (зеинов). *Цитология и генетика*. 1993. Т. 27, № 5. С. 23–26.

6. Сидорова В. В., Матвеева Г. В., Керв Ю. А., Конарев А. В. Возможности использования зеиновых маркеров в повышении эффективности гетерозисной селекции кукурузы. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. Санкт-Петербург, 2012. Т. 170. С. 147–157.

7. Wall J. S., Fey D. A., Paulis J. W. Improved two-dimensional electrophoretic separation of separation to study of zein inheritance in corn genotypes. *Cereal chem*. 1984. Vol. 61, Iss. 2. P. 141–146.

8. Yao D., Qi W., Li X. et al. Maize opaque10 encodes a cereal-specific protein that is essential for the proper distribution of zeins in endosperm protein bodies. *PLoS Genet*. 2016. Vol. 12, Iss. 8. e1006270. doi: 10.1371/journal.pgen.1006270.

9. Заякина Г. В., Созинов А. А. Генетический анализ зеинов кукурузы: наследование минорных компонентов. *Цитология и генетика*. 1997. Т. 31, № 4. С. 5–11.

10. Беліков Є. І., Купріченко Т. Г. Вивчення врожайності ранньостиглих гібридів кукурудзи різних гетерозисних моделей в умовах степової зони України. *Бюл. Ін-ту сільського господарства степової зони НААН України*. 2015. № 9. С. 58–62.

11. 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.

12. Заякина Г. В., Попов В. Н., Созинов А. А. Локализация зеин-кодирующих кластеров на хромосоме 4 у кукурузы. *Генетика*. 1998. Т. 34, № 7. С. 1000–1003.

13. Сидорова В. В., Конарев А. В., Матвеева Г. В., Тимофеева Г. И. Использование электрофоретического спектра зеина для прогнозирования гетерозиса у кукурузы. *Аграрная Россия*. 2004. № 6. С. 34–41.

14. Сидорова В. В., Матвеева Г. В., Конарев А. В. и др. Зеиновые маркеры в анализе генофонда кукурузы и повышении эффективности селекции. *Аграрная Россия*. 2012. № 7. С. 5–11.

15. Ермантраут Е. Р., Присяжнюк О. І., Шевченко І. Л. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних в пакеті Statistica 6.0. Київ : ПоліграфКонсалтинг, 2007. 55 с.

16. Everitt B. S., Landau S., Leese M., Stahl D. Cluster Analysis. 5<sup>th</sup> ed. Chichester : Wiley, 2011. 346 p. doi: 10.1002/9780470977811

17. Bänziger M., Setimela P. S., Hodson D., Vivek B. Breeding for improved drought tolerance in maize adapted to southern Africa. *New directions for a diverse planet* : Proc. 4<sup>th</sup> Int. Crop Sci. Congress (Brisbane, 26 Sep. – 1 Oct. 2004). Brisbane, Australia, 2004. 10 p. URL: www.cropscience.org.au/icsc2004/pdf/152\_banzigerm.pdf

18. Сидорова В. В., Керв Ю. А., Матвеева Г. В., Конарев А. В. Идентификация генетического разнообразия кукурузы по спектрам белков в решении фундаментальных и прикладных вопросов ресурсов и селекции культуры. *Генетические ресурсы растений – основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни* : тезисы докл. Междунар. науч. конф. (Санкт-Петербург, 6–8 октября 2014 г.). Санкт-Петербург, 2014. С. 90.

19. Комарова Г., Ротарь А., Палий А., Михалаки А. Проявление эффекта гетерозиса у кукурузы на уровне белковых маркеров. *Știința agricolă*. 2017. № 2. С. 11–15.

20. Сатарова Т. М., Борисова В. В., Черчель В. Ю., Деркач К. В., Абраїмова О. Є. Генетичні дистанції лінії кукурудзи та їх цитостерильних аналогів за поліморфізмом SNP-маркерів. *Селекція і насінництво* : міжвід. темат. наук. зб. Харків, 2013. Вип. 103. С. 124–134.
21. Сатарова Т. М., Деркач К. В., Абраїмова О. Є. Оцінка реципрокного ефекту в культурі *in vitro* у генотипів кукурудзи зародкової плазми Ланкастер. *Бюл. Ін-ту зернового господарства*. 2011. № 40. С. 20–24.
22. Эльконин Л. А., Доманина И. В., Итальянская Ю. В. Генетическая инженерия как инструмент модификации состава запасных белков и повышения питательной ценности зерна у злаков. *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51, № 1. С. 17–30. doi: 10.15389/agrobiology.2016.1.17rus.
23. Zheng X.-Q., Liu X.-L., Yu S.-F. et al. Effects of extrusion and starch removal pretreatment on zein proteins extracted from corn gluten meal. *Cereal Chem.* 2014. Vol. 91, No. 5. P. 496–501. doi: 10.1094/CCHEM-07-13-0141-R.
24. Liua H., Shib J., Suna C. et al. Gene duplication confers enhanced expression of 27-kDa  $\gamma$ -zein for endosperm modification in quality protein maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2016. Vol. 113, Iss. 18. P. 4964–4969. doi: 10.1073/pnas.1601352113.
- ## References
1. Zhang, Z., Yang, J., & Wu, Y. (2015). Transcriptional regulation of zein gene expression in maize through the additive and synergistic action of opaque2, Prolamine-box binding factor, and O2 heterodimerizing proteins. *Plant Cell.*, 27(4), 1162–1172. doi: 10.1105/tpc.15.0003.
2. Sidorova, V. V., Konarev, A. V., Kerv, Yu. A., & Matveeva, G. V. (2015). Protein Markers in the Analysis of a Genetic Variety, Breeding, and the Corn Seed Control. *Agrarnaya Rossiya* [Agrarian Russia], 12, 2–10. [in Russian]
3. Tyutyunov, S. I., Voronin, A. N., Zhurba, G. M., & Khoroshilov, S. A. (2017). Main results of maize hybrids breeding at Belgorod Research Institute of Agriculture. In *Selektsiya rasteniy: proshloe, nastoyashchee i budushchee: sbornik materialov I Vseros. nauchno-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem* [Breeding of plants: past, present and future: a collection of materials of the 1st All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation] (pp. 180–185). Nov. 24–26, 2016, Belgorod, Russia. [in Russian]
4. Iqbal, J., Shinwari, Z. K., Rabbani, M. A., & Khan, S. (2014). Genetic variability assessment of maize (*Zea mays* L.) germplasm based on total seed storage proteins banding pattern using SDS-PAGE. *Eur. Acad. Res.*, 2(2), 2144–2160.
5. Zayakina, G. V., & Sozinov, A. A. (1993). Genetic analysis of maize prolamins (zeins). *TSitol. Genet.* [Cytology and Genetics], 27(5), 23–26. [in Russian]
6. Sidorova, V. V., Matveeva, G. V., Kerv, Yu. A., & Konarev, A. V. (2012). Possibilities of zein markers use to increase efficiency of maize heterosis breeding. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii* [Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding], 170, 147–157. [in Russian]
7. Wall, J. S., Fey, D. A., & Paulis, J. W. (1984). Improved two-dimensional electrophoretic separation of separation to study of zein inheritance in corn genotypes. *Cereal chem*, 61(2), 141–146.
8. Yao, D., Qi, W., Li, X., Yang, Q., Yan, S., Ling, H., ... Song, R. (2016). Maize opaque10 encodes a cereal-specific protein that is essential for the proper distribution of zeins in endosperm protein bodies. *PLoS Genet.*, 12(8), e1006270. doi: 10.1371/journal.pgen.1006270.
9. Zayakina, G. V., & Sozinov, A. A. (1997). Genetic analysis of maize zeins: inheritance of minor components. *TSitol. Genet.* [Cytology and Genetics], 31(4), 5–11. [in Russian]
10. Bielikov, Ye. I., & Kuprichenkova, T. H. (2015). Study of yielding capacity of early-season hybrids of various heterotic models under the conditions of the Steppe zone of Ukraine. *Biuletен Instytutu silskoho gospodarstva stepovoi zony NAAN Ukrainy* [Bulletin of the Institute of Agriculture of the Steppe zone, NAAS of Ukraine], 9, 58–62. [in Ukrainian]
11. Tkachyk, S. O. (Ed.). (2015). *Metodyka provedennia kvalifikatsiinoi ekspertyzy sortiv roslyn na prydatnist do poshyrennia v Ukraini. Metody vyznachennia pokaznykiv yakosti produktsii roslynnytstva* [Regulations on the procedure and the conduct of qualification tests for suitability of crop varieties for dissemination in Ukraine. Methods of determining quality indices of crop products]. Vinnytsia: Nilan-LTD. [in Ukrainian]
12. Zayakina, G. V., Popov, V. N., & Sozinov, A. A. (1998). Localization of zein coding clusters on chromosome 4 in maize. *Genetika* [Genetics], 34(7), 1000–1003. [in Russian]
13. Sidorova, V. V., Konarev, A. V., Matveeva, G. V., & Timofeeva, G. I. (2014). The use of zein electrophoretic spectrum to predict heterosis in corn. *Agramaya Rossiya* [Agrarian Russia], 6, 34–41. [in Russian]
14. Sidorova, V. V., Matveeva, G. V., Konarev, A. V., Kerv, Yu. A., Kudryavtsev, A. M., Upelnik, V. P., & Yankovskiy, N. K. (2012). Zein Markers in Maize Genepool Analysis and Breeding Improvement. *Agrarnaya Rossiya* [Agrarian Russia], 7, 5–11. [in Russian]
15. Ermantraut, E. R., Prysiazniuk, O. I., & Shevchenko, I. L. (2007). *Statystychni analiz ahronomichnykh doslidnykh danykh v paketi STATISTICA 6.0* [Statistical analysis of agronomic study data in the software suite Statistica 6.0]. Kyiv: PolihrafKonsaltnyh. [in Ukrainian]
16. Everitt, B. S., Landau, S., Leese, M., & Stahl, D. (2011). *Cluster Analysis*. (5<sup>th</sup> ed.). Chichester: Wiley. doi: 10.1002/9780470977811
17. Bänziger, M., Setimela, P. S., Hodson, D., & Vivek, B. (2004). Breeding for improved drought tolerance in maize adapted to southern Africa. In *New directions for a diverse planet: Proc. 4<sup>th</sup> Int. Crop Sci. Congress*. Sept. 26 – Oct. 1, 2004, Brisbane, Australia. Retrieved from www.cropsociety.org.au/icsc2004/pdf/152\_banzigerm.pdf
18. Sidorova, V. V., Kerv, Yu. A., Matveeva, G. V., & Konarev, A. V. (2014). Identification of the genetic diversity of corn for protein spectra in the solution of fundamental and applied tasks of resources and breeding of crop. In *Geneticheskie resursy rasteniy – osnova prodovol'stvennoy bezopasnosti i povysheniya kachestva zhizni: tezisy dokladov Mezhdunar. nauch. konf.* [Genetic resources of plants are the basis of food security and improving the quality of life: Abst. Int. Sci. Conf.] (p. 90). Oct. 6–8, 2014, Saint Petersburg, Russia.
19. Komarova, G., Rotar, A., Paliy, A., & Mikhalaki, A. (2017). The expression of the effect of heterosis in corn at the level of protein markers. *Štinja agricolă* [Agricultural Science], 2, 11–15. [in Russian]
20. Satarova, T. M., Borysova, V. V., Cherchel, V. Yu., Derkach, K. V., & Aбраїмова, О. Ye. (2013). Genetic distances of corn lines and their cytosterile analogues for polymorphism of SNP markers. *Selektsia i Nasinnitstvo* [Plant Breeding and Seed Production], 103, 124–134. [in Ukrainian]
21. Satarova, T. M., Derkach, K. V., & Aбраїмова, О. Ye. (2011). Evaluation of the reciprocal effect *in vitro* culture in genotypes of corn germ plasma Lancaster. *Biuletен Instytutu zernovoho gospodarstva* [Bulletin of the Institute of Grain Farming], 40, 20–24. [in Ukrainian]
22. El'konin, L. A., Domanina, I. V., & Ital'yanskaya, Yu. V. (2016). Genetic engineering as a tool for modifying the composition of reserve proteins and improving the nutritional value of grain in cereals. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 51(1), 17–30. doi: 10.15389/agrobiology.2016.1.17rus. [in Russian]
23. Zheng, X.-Q., Liu, X.-L., Yu, S.-F., Wang, X.-J., Ma, Y.-Q., Yang, S., & Jing, S.-S. (2014). Effects of extrusion and starch removal pretreatment on zein proteins extracted from corn gluten meal. *Cereal Chem.*, 91(5), 496–501. doi: 10.1094/CCHEM-07-13-0141-R.
24. Liu, H., Shi, J., Sun, C., Gong, H., Fan, X., Qiu, F., ... Wu, Y. (2016). Gene duplication confers enhanced expression of 27-kDa  $\gamma$ -zein for endosperm modification in quality protein maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 113(18), 4964–4969. doi: 10.1073/pnas.1601352113

УДК 633.15.543.545.2.577.112

Присяжнюк Л. М.<sup>1\*</sup>, Сатарова Т. Н.<sup>1</sup>, Ткачик С. А.<sup>1</sup>, Шитикова Ю. В.<sup>1</sup>, Дзюбецкий Б. В.<sup>2</sup>, Черчель В. Ю.<sup>2</sup>Анализ электрофоретических спектров зеинов для оценки генетического разнообразия линий кукурузы (*Zea mays* (L.) Merr.) // Plant Varieties Studying and Protection. 2018. Т. 14, № 1. С. 89–96.<https://doi.org/10.21498/2518-1017.14.1.2018.126517><sup>1</sup>Украинский институт экспертизы сортов растений, ул. Генерала Родимцева, 15, г. Киев, 03041, Украина,

\*e-mail: prysiazhniuk\_l@ukr.net

<sup>2</sup>ГУ Институт зерновых культур НААН Украины, ул. В. Вернадского, 14, г. Днепро, 49600, Украина**Цель.** Оценить электрофоретические спектры зеинов линий кукурузы для создания панели паспортизации.**Методы.** Электрофорез запасных белков, кластерный анализ. **Результаты.** Приведены результаты исследований 31 линии кукурузы по запасным белками семян с использованием электрофоретического разделения компонентов зеина. На основе определения относительной электрофоретической подвижности зеинов установлено, что исследуемые линии кукурузы однородны и имеют различия по компонентному составу зеина, что позволяет их идентифицировать. Установлено, что наиболее похожими оказались линии 'ДК744' и 'ДК298', 'ДК3070' и 'ДК633/325', 'PLS61' и 'Chi31', в которых выявлено большее количество спектров с одинаковой относительной электрофоретической подвижностью. Определены уникальные компоненты зеина 96, 32 и 41 в исследуемых линиях 'ДК267', 'ДК129-4' и 'ДК236'. Кластерный анализ позволил определить, что линии 'ДК315', 'ДК267' и 'ДК276' находятся на наибольшем расстоянии отвсех исследуемых линий. Согласно генетическим дистанциям достаточный уровень сходства (300–400) по спектрам зеина отмечен между линиями зародышевой плазмы Айодент и Ланкастер. **Выводы.** Для оценки генофонда кукурузы целесообразно применять метод электрофореза запасных белков, поскольку он позволяет оценить их однородность и определить степень генетического родства. Определено, что наиболее удаленными из исследуемых линий являются 'ДК315', 'ДК267' и 'ДК276'. Установлено, что общеизвестные эталонные линии 'PLS61' и 'Chi31' сформировали отдельный кластер. Таким образом, применение метода электрофореза запасных белков позволило выделить наиболее отдаленные линии, которые относятся к одному типу зародышевой плазмы, и определить подобные компоненты зеина у линий разных геноплазм.**Ключевые слова:** полиморфизм запасных белков, электрофорез в ПААГ, генетические дистанции, относительная электрофоретическая подвижность, кукуруза, зеин.

UDC 633.15.543.545.2.577.112

Prysiashniuk, L. M.<sup>1\*</sup>, Satarova, T. M.<sup>1</sup>, Tkachyk, S. O.<sup>1</sup>, Shytikova, Yu. V.<sup>1</sup>, Dzyubetskyi, B. V.<sup>2</sup>, & Cherchel, V. Yu.<sup>2</sup>(2018). Analysis of electrophoretic spectra of zeins for the evaluation of the genetic diversity of maize lines (*Zea mays* (L.) Merr.). *Plant Varieties Studying and Protection*, 14(1), 89–96.<https://doi.org/10.21498/2518-1017.14.1.2018.126517><sup>1</sup>Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymytseva Str., Kyiv, 03041, Ukraine, \*e-mail: prysiazhniuk\_l@ukr.net<sup>2</sup>Institute of Grain Crops, NAAS of Ukraine, 14 V. Vernadskoho Str., Dnipro, 49600, Ukraine**Purpose.** To evaluate zein electrophoretic spectra of maize lines in order to create the panel for certification.**Methods.** Electrophoresis of reserve proteins, cluster analysis. **Results.** Findings of investigations of maize line 31 on reserve proteins in seeds using electrophoretic separation of zein components are presented. Based on the determination of the relative electrophoretic mobility of zeins, it was found that the studied maize lines are homogeneous and have differences in zeins component composition, which allows to identify them. It was defined that the most similar lines were 'ДК744' and 'ДК298', 'ДК3070' and 'ДК633/325', 'PLS61' and 'Chi31' in which more spectra with the same relative electrophoretic mobility were revealed. The unique components of zein 96, 32 and 41 are determined in the studied lines 'ДК267', 'ДК129-4' and 'ДК236'. Cluster analysis allowed to define that the lines 'ДК315', 'ДК267' and 'ДК276' were at the greatest distance from all the studiedlines. According to genetic distances, a sufficient level of similarity (300–400) for zein spectra is noted between lines of Iodent and Lancaster germplasm. **Conclusions.** For evaluation of maize gene pool, it is advisable to use the method of electrophoresis of reserve proteins, because it allows to evaluate their homogeneity and define the level of genetic kinship. It is defined that the most distant lines among the studied ones are 'ДК315', 'ДК267' and 'ДК276'. It has been established that the well-known reference lines 'PLS61' and 'Chi31' formed a separate cluster. Thus, the use of the method of electrophoresis of reserve proteins allowed to define the most distant lines with common type of germplasm and identify similar components of zein in lines of different genoplasm.**Keywords:** polymorphism of reserve proteins, PAGE electrophoresis, genetic distances, relative electrophoretic mobility, maize, zein.

Надійшла / Received 23.11.2017

Погоджено до друку / Accepted 11.01.2018