

## МАРКЕР-АСОЦІЙОВАНИЙ ВІДБІР ЗА ГЕНОМ *Sh1* ПРИ СТВОРЕННІ ЛІНІЇ ЦУКРОВОЇ КУКУРУДЗИ З АНТОЦІАНОВИМ ЗАБАРВЛЕННЯМ ЗЕРНА

**А. О. Псьолова, К. В. Денисюк, Т. М. Сатарова**

Державна установа Інститут зернових культур НААН, вул. Володимира Вернадського, 14, м. Дніпро, 49027, Україна

З метою одержання лінії кукурудзи цукрової з антоціановим забарвленням зерна проведено схрещування лінії кукурудзи цукрової SE401 з жовтим зерном і популяції зубовидної кукурудзи Чорностеблова з антоціановим забарвленням зерна. В поколіннях від самозапилення гібрида SE401х-Чорностеблова, в фазі повної стиглості зерна здійснено відбір за характерною для цукрової кукурудзи ознакою зморшкуватості зернівки, і антоціановим забарвленням зерна. В F<sub>4</sub> одержано рослини, які продукують виключно зморшкувате зерно антоціанового забарвлення. За результатами полімеразної ланцюгової реакції встановлено, що у лінії SE401 молекулярний маркер *phi033* гена *Sh1* представлений алелями 236 або/та 310 п. н., а в популяції Чорностеблова – 264 п. н. Серед рослин F<sub>4</sub> ідентифіковано гомозиготні рослини за молекулярним маркером *phi033* гена *Sh1* з наявністю алелі 236 п. н., характерної для лінії кукурудзи цукрової SE 401.

**Ключові слова:** кукурудза, полімеразна ланцюгова реакція, ген *Sh1*, *phi033*, антоціанове забарвлення зерна.

Кукурудза (*Zea mays* L.) є однією з трьох основних зернових культур, зерно якої широко використовують у світовому господарстві для різних потреб [1]. Селекціонерами постійно ведеться робота зі створення генотипів кукурудзи із заданими ознаками, поза увагою не залишається і кукурудза цукрова [2]. В Україні цілеспрямована селекційна багаторічна робота із кукурудзою цукровою увінчалася створенням синтетичного сорту Делікатесна та гібридів Внесок СВ, Дебют, Спокуса, Конкурент, Сюрприз, Людмила СВ, Кліментіна, Марічка, Медунка й інші, які відрізняються високою врожайністю кондиційних качанів у фазі технічної стиглості зерна, стабільним одержанням ранньої продукції та відмінними смаковими якостями [3–5].

Останнім часом селекція тісно співпрацює з біотехнологією та спирається на методи останньої для поліпшення вихідного рос-

линного матеріалу. Оскільки якість зерна кукурудзи є однією з головних складових сталого врожаю, контроль за наявністю бажаних генів, що відповідають за біохімічний склад зерна, є актуальним.

На сьогодні у світі простежується певна тенденція щодо створення нових генотипів кукурудзи з контрольованим вмістом антоціанів, каротиноїдів, білків та вуглеводів у зерні і використання їх як функціональної їжі. Актуальним є ведення селекції зі створення нових гібридів кукурудзи цукрової з антиоксидантними властивостями завдяки антоціанам – пігментам червоного, пурпурного та синього кольорів [6–7].

На території України високим вмістом антоціанів характеризуються деякі сорти та гібриди кукурудзи зубовидного, розлусного та кременистого підвидів, проте кукурудза цукрова з антоціановим забарвленням зерна поширення ще не набула [8].

### Інформація про авторів:

**Псьолова Анна Олексіївна**, молодший науковий співробітник лаб. біотехнології,  
e-mail: annapselova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5533-8672>

**Денисюк Катерина Вікторівна**, кандидат біологічних наук, науковий співробітник лаб. біотехнології,  
e-mail: kvderkach@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1871-9585>

**Сатарова Тетяна Миколаївна**, доктор біологічних наук, професор, завідувач лаб. біотехнології,  
e-mail: satarova2008@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0002-5571-1139>

Відомо шість генів, пов'язаних із синтезом крохмалю рослинами кукурудзи: *Ae1*, *Bt2*, *Sh1*, *Sh2*, *Su1* та *Wx1* [9]. Встановлено, що чим нижчий вміст крохмалю в зерні кукурудзи, тим вищий вміст цукрів [10]. Так, ген *Sh1* (*shrunk1*) кодує крохмальсинтазу 1, зумовлює пригнічення синтезу крохмалю та різке підвищення рівня вільних цукрів і водорозчинних сахаридів [11]. Ген *Sh1* локалізований в біні 1 на хромосомі 9 [9]. Для визначення поліморфізму гена *Sh1* використовується молекулярний маркер *phi033* [12]. Також з'ясована довжина ампліконів, вона становить 236 та 264 п. н. [13]. Однак в літературних джерелах не висвітлено, як саме алелі гена *Sh1* за маркером *phi033* пов'язані з підвищенням вмісту розчинних цукрів і смакових якостей кукурудзи цукрової.

Для створення кукурудзи цукрової з антоціановим забарвленням зерна доцільно провести схрещування кукурудзи цукрової з жовтим зерном з кукурудзою з антоціановим забарвленням зерна. Високоантоціанові форми належать зазвичай до зубовидного чи кременистого підтипу [8]. У популяціях від такого схрещування для створення ліній, що будуть стабільно успадковувати високі смакові якості кукурудзи цукрової та інтенсивне антоціанове забарвлення, необхідно провести добір за одночасним проявом останньої ознаки та високого вмісту цукру в період технічної стиглості качанів. Для швидкого та цілеспрямованого добору необхідних генотипів важливо застосовувати сучасні біотехнологічні методи відбору за молекулярно-генетичними маркерами.

**Мета дослідження** – створення лінії цукрової кукурудзи із антоціановим забарвленням зерна на основі одержання пізніх поколінь від схрещування жовтозерної цукрової кукурудзи із зубовидною з антоціановим забарвленням зерна для ідентифікації серед них рослин, гомозиготних за маркером *phi033* гена *Sh1*.

**Матеріали та методи дослідження.** Матеріалом для дослідження були такі генотипи кукурудзи: лінія кукурудзи цукрової SE401 з жовтим зерном, популяція Чорностеблова, яка являє собою зубовидну форму з антоціановим забарвленням зерна, гібрид F<sub>1</sub> (SE401xЧорностеблова) і покоління від са-

мозапилення гібрида F<sub>1</sub> (SE401xЧорностеблова).

Рослини кукурудзи вирощували польовим методом у селекційному розсаднику Державної установи Інститут зернових культур НААН, а також у зимовому розсаднику в Мексиці [14–16]. Для одержання насіння відповідного генотипу проводили штучну контрольовану гібридизацію або самозапилення. Починаючи із покоління F<sub>2</sub>, здійснювали аналіз зерен за структурою ендосперму і відбирали для сівби наступного року тільки зморшкувате насіння, характерне для цукрової кукурудзи, антоціанового кольору. Аналіз розщеплення за забарвленням і структурою ендосперму проводили візуально у фазі повної стиглості зерна.

Виявлення алельного стану гена *Sh1* у батьківських форм SE401 і Чорностеблова, їхнього гібрида F<sub>1</sub> і в поколіннях від самозапилення проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [17].

ДНК для проведення ПЛР одержували із листків 7-добових проростків за ЦТАБ-методом [17–18]. Для визначення алельного стану гена *Sh1* за маркером *phi033* виконували ампліфікацію в ампліфікаторі TC-5000 з використанням праймерів: прямого ATCGAAATGCAGGCGATGGTTCTC і зворотного ATCGAGATGTTCTACGCCCTGAAGT [13]. Для батьківських форм і рослин F<sub>4</sub> встановлювали алельний стан маркера *phi033* для суміші ДНК з 5 проростків, а для F<sub>1</sub> – для ДНК, виділеної з кожного проростка окремо. ПЛР проводили в двох повтореннях. Розподілення продуктів ампліфікації здійснювали шляхом горизонтального електрофорезу в 4 %-ному агарозному гелі із бромистим етидієм (0,5 мкг/мл) у трисборатній буферній системі за напруги в електромережі 60 В (6 В/см) протягом 210 хв.

Статистичний аналіз результатів дослідження виконано за відповідним методом  $\chi^2$  на рівні значущості 0,05 [19].

**Результати дослідження.** Форму зерна, його колір і структуру ендосперму батьківських форм SE401 та Чорностеблова і їхнього гібрида першого покоління та в поколіннях від самозапилення гібрида F<sub>1</sub> показано на рисунку 1.

Як видно з рисунку 1, у материнській



**Рис. 1.** Зерно батьківських форм SE401 (а) і Чорностеблова (б) у фазі повної стиглості, зерно їхнього гібрида F<sub>1</sub> (в) і в поколіннях від самозапилення F<sub>2</sub> (з), F<sub>3</sub> (д) і F<sub>4</sub> (е).

форми – лінії SE401 зерно жовте і зморшкувате, а в батьківській – популяції Чорностеблова зерно відзначається антоціановим забарвленням, структура ендосперму – як у зубовидного підвиду кукурудзи. У всіх досліджуваних рослин гібрида F<sub>1</sub> зерно було жовтим з напівзубовидною будовою зернівки (зі звичайним ендоспермом).

Розщеплення за структурою зерна в фазі повної стиглості в поколінні F<sub>2</sub> гібрида SE401xЧорностеблова (11 проаналізованих качанів) при загальній кількості одержаних зерен 3254 штук становило 2453 зернини із зубовидною ( гладенькою) та 801 зернина зі зморшкуватою структурою ендосперму, ха-

рактерною для цукрової кукурудзи. Дане співвідношення відповідає розщепленню 3 частини зубовидних : 1 частина зморшкуватих зерен згідно з методом  $\chi^2$  ( $\chi^2_{\text{факт.}} = 0,28$ ;  $\chi^2_{\text{табл. } 0,05} = 3,84$ ). Для сівби наступного року серед зерен F<sub>2</sub> відбирали лише зморшкуваті і з антоціановим забарвленням. Серед 110 проаналізованих качанів покоління F<sub>3</sub> 75 качанів (68,2 %) мали насіння із виключно зморшкуватим ендоспермом, а 35 (31,8 %) – одночасно як зморшкувате, так і гладеньке. Для одержання наступного покоління висівали насіння F<sub>3</sub> виключно зі зморшкуватим ендоспермом, одержані рослини самозапилювали. Насіння покоління F<sub>4</sub> (було проана-

лізовано 27 качанів) виявилось виключно зморшкуватим.

Розщеплення за кольором зерна у поколіннях F<sub>2</sub>–F<sub>4</sub> йшло складніше. Так, в F<sub>2</sub> 7 рослин, або 41,2 % (з 17 досліджених) мали зерно карамельного кольору з рожевою пігментацією, 9 (52,9 %) багряного – з жовтою верхівкою, 1 (5,9 %) помаранчевого з багряним зародком. Для вирощування у наступному поколінні відбирали насіння F<sub>3</sub> карамельного кольору з рожевою пігментацією (від 6 качанів) і багряного – з жовтою верхівкою (від 2 качанів). В F<sub>3</sub> з 97 досліджуваних рослин 62 (64 %) мали зерно стандарт-

ного забарвлення, а 35 (36 %) – антоціанове, але з різним відтінком. Для одержання наступного покоління відбирали лише зерно антоціанового забарвлення. В поколінні F<sub>4</sub> (зерно з 27 проаналізованих рослин) 11 рослин (40,7 %) вирізнялось антоціановим забарвленням зерна, але за відтінками воно різнилося, а 16 (59,3 %) – мали жовте зерно.

Результати електрофоретичного аналізу продуктів ПЛР за маркером *phi033* гена *Sh1* для рослин кукурудзи батьківських форм СЕ401, Чорностеблова і їхнього гібрида F<sub>1</sub> наведено в таблиці 1 і на рисунку 2.

Як видно з таблиці 1 і рисунку 2, у

### 1. Аallelний стан гена *Sh1* кукурудзи за маркером *phi033* у батьківських форм СЕ401 і Чорностеблова та їхнього гібрида F<sub>1</sub> за результатами ПЛР

№ доріжки	Генотип	№ рослини	Довжина амплікона, п. н.
1	Чорностеблова	1–5	264
2	Чорностеблова	6–10	264
3	СЕ401	1–5	236
4	СЕ401	6–10	236, 310
5	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	1	236, 264
6	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	1	236, 264
7	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	2	310, 264
8	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	2	310, 264
9	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	3	236, 264
10	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	3	236, 264
11	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	4	236, 264
12	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	4	236, 264
13	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	5	310, 264
14	F <sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	5	310, 264
15	Без ДНК	–	–

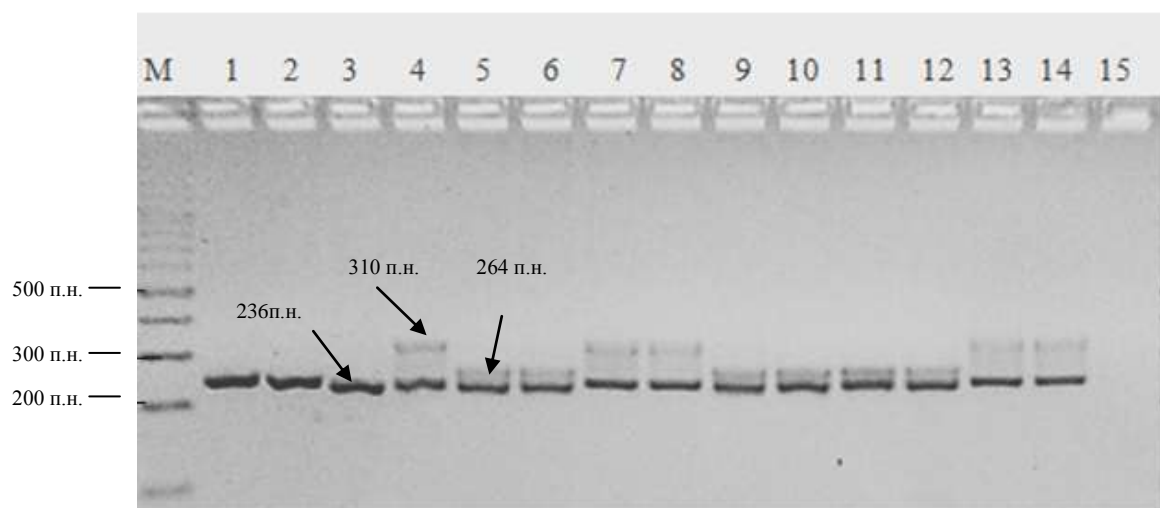
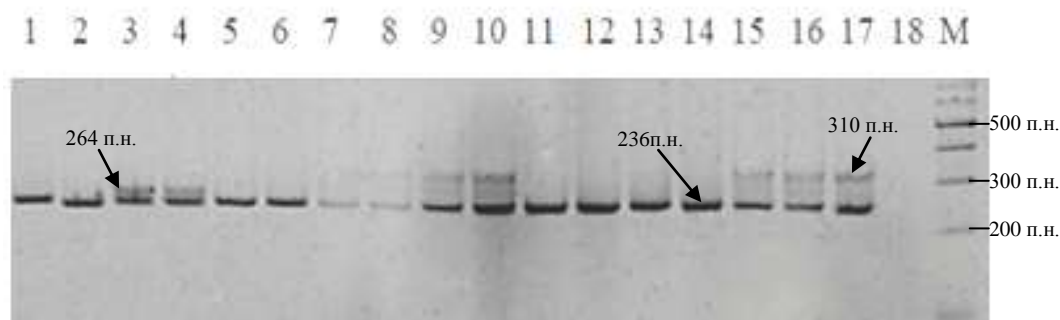


Рис. 2. Електрофоретичний аналіз продуктів ПЛР ДНК батьківських форм кукурудзи – СЕ401 і Чорностеблова та їхнього гібрида F<sub>1</sub> за аallelним станом маркера *phi033* гена *Sh1*. Доріжки: М – маркер молекулярної маси Thermo Scientific O'Gene Ruler Plus DNA Ladder із кроком 100 пар нуклеотидів (п. н.), 1, 2 – Чорностеблова, 3, 4 – СЕ401, 5–14 – гібрид F<sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова), 15 – контроль без ДНК.

батьківської форми Чорностеблова за маркером *phi033* гена *Sh1* присутній алель 264 п. н. У СЕ401 виявлено алель 236 п. н., а також інший, раніше не описаний алель 310 п. н., який може бути присутній в окремих рослин СЕ401 або міститися в гетерозиготі разом з 236 п. н. у генотипі однієї рослини. У гібрида F<sub>1</sub> (СЕ401хЧорностеблова) серед

п'яти окремо досліджених рослин зустрічаються 3 гетерозиготні рослини з одночасним набором алелей 236 і 264 п. н. та 2 гетерозиготні рослини – 310 і 264 п. н.

На рисунку 3 і в таблиці 2 висвітлені результати електрофоретичного аналізу покоління F<sub>4</sub> від самозапилення гібрида СЕ401хЧорностеблова за маркером *phi033* гена *Sh1*.



**Рис. 3.** Електрофоретичний аналіз продуктів ПЛР ДНК батьківських форм кукурудзи СЕ401 і Чорностеблова та покоління F<sub>4</sub> від самозапилення гібрида СЕ401хЧорностеблова за алельним станом маркера *phi033* гена *Sh1*. Доріжки: 1 – Чорностеблова, 2 – СЕ401, 3–16–F<sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова), 17 – СЕ401, 18 – контроль без ДНК, М – маркер молекулярної маси Thermo Scientific O'Gene Ruler Plus DNA Ladder із кроком 100 пар нуклеотидів.

**2. Алельний стан гена *Sh1* кукурудзи за молекулярним маркером *phi033* у батьківських форм СЕ401 і Чорностеблова і покоління F<sub>4</sub> від самозапилення гібрида СЕ401хЧорностеблова за результатами ПЛР**

№ доріжки	Генотип	№ рослини	Довжина амплікона, п. н.
1	Чорностеблова	1–5	264
2	СЕ401	1–5	236
3	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	1–5	236, 264
4	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	1–5	236, 264
5	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	6–10	236
6	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	6–10	236
7	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	11–15	236
8	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	11–15	236
9	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	16–20	236, 310, 264
10	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	16–20	236, 310, 264
11	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	21–25	236
12	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	21–25	236
13	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	26–30	264
14	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	26–30	264
15	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	31–35	310, 264
16	F <sub>4</sub> (СЕ401хЧорностеблова)	31–35	310, 264
17	СЕ401	6–10	236, 310
18	Без ДНК	–	–

Як видно з рисунку 3 і таблиці 2, в поколінні F<sub>4</sub> від самозапилення гібрида СЕ401хЧорностеблова для маркера *phi033* гена *Sh1* відмічено алелі батьківських форм та їхні різні поєднання. З 35 проаналізованих

рослин F<sub>4</sub> у п'ятнадцяти з них (№ 6–15, 21–25) відмічався лише алель материнської, цукрової форми 236 п. н., що свідчить про гомозиготність за даним маркером. У 5 рослин (№ 26–30) виявлено лише алель батьків-

ської, нецукрової форми – 264 п. н., що також свідчить про гомозиготність за маркером *phi033* гена *Sh1*. Серед сумішей у 5 рослин за № 1–5 ідентифіковано комбінації алелей 236 і 264 п. н., у 5 рослин за № 31–35 – комбінації алелей 310 і 264 п. н. і в 5 рослин за № 16–20 – материнські алелі – 236 і 310 п. н. та батьківський – 264 п. н. Різноманітність алелей маркера *phi033* гена *Sh1* в сумішах ДНК п'яти рослин може свідчити як про гетерозиготність всіх або частки цих рослин, так і про наявність серед п'яти рослин суміші гомозигот з різними алелями досліджуваного маркера. Разом з тим, зважаючи на проведений аналіз, для одержання наступного покоління гомозиготних рослин цукрової кукурудзи з антоціановим забарвленням зерна можна рекомендувати самозапилення і розмноження рослин  $F_4$  за № 6–15 і № 21–25.

### Висновки

Отже, в поколіннях від схрещування лінії кукурудзи цукрової SE401 з жовтим зерном з популяцією Чорностеблова з антоціановим забарвленням зерна і після відбору за ознакою кольору та структурою ендосперму одержали покоління  $F_4$  від самозапилення гібрида SE401xЧорностеблова з антоціановим забарвленням зерна і структурою зерна, характерною для кукурудзи цукрової, рекомендовано самозапилення та розмноження рослин  $F_4$  за № 6–15 та № 21–25.

новим забарвленням зерна та зморшкуватим типом ендосперму, характерним для кукурудзи цукрової. У лінії кукурудзи цукрової SE401 молекулярний маркер *phi033* гена *Sh1* представлено алелями 236 або/та 310 п. н. У популяції Чорностеблова з зубовидною структурою зерна молекулярний маркер *phi033* гена *Sh1* представлений алеллю 264 п. н. Серед рослин гібрида  $F_1$  (SE401xЧорностеблова) зустрічаються гетерозиготи за маркером *phi033* гена *Sh1* 236/264 та 310/264 п. н. Серед рослин  $F_4$  від самозапилення гібрида SE401x Чорностеблова зустрічаються гомозиготи із алеллю 236 п. н. від материнської, цукрової форми SE401 і гомозиготи з алеллю 264 п. н. від батьківської, не цукрової форми.

Для одержання наступного покоління гомозиготних рослин  $F_5$  із антоціановим забарвленням зерна і структурою зерна, характерною для кукурудзи цукрової, рекомендовано самозапилення та розмноження рослин  $F_4$  за № 6–15 та № 21–25.

Робота виконана згідно з ПНД 23 «Біотехнологія і генетика в рослинництві» (завдання 23.00.01.06.Ф) і за договором з МОН України № М/91 -2019 від 27.06.2019 р.

### Використана література

1. Циков В. С. Кукуруза: технологія, гібриди, семена. Днепропетровск: Зоря, 2003. 296 с.
2. Melchinger A. E., Schipprack W., Węrschum T., Chen S., Technow F. Rapid and accurate identification of in vivo-induced haploid seeds based in oil content in maize. *Scientific reports*. 2013. № 3 (2129). doi: 10.1038/srep02129.
3. Клімова О. Є. Тестування ліній різних біотипів цукрової кукурудзи за проявом кореляційних зв'язків ознак продуктивності і якості зерна. *Селекція і насінництво*. 2016. № 109. С. 29–39.
4. Черенков А. В., Черчель В. Ю., Шевченко М. С. та ін. Каталог сортів та гібридів ДУ Інститут зернових культур НААН України. Дніпро: ДУ Ін-т зерн. культур НААН України, 2018. 123 с.
5. Черчель В. Ю., Клімова О. Є. Нові гібриди цукрової кукурудзи. *Бюл. Ін-ту зерн. госп-ва*. 2007. № 31–32. С. 26–31.
6. Herrera-Sotero M. Y., Cruz-Hernández C. D., Trujillo-Carretero C., Rodríguez-Dorantes M., García-Galindo H. S., Chávez-Servia J. L., Oliart-Ros R. M., Guzmán-Gerynimo R. I. Antioxidant and antiproliferative activity of blue corn and tortilla from native maize. *Chemistry central journal*. 2017. № 11. P. 110. doi: 10.1186/s13065-017-0341-x.
7. Chatham L. A., West L., Berhow M. A., Vermillion K.E., Juvik J. A. Unique flavanol-anthocyanin condensed forms in apache red purple corn. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018. № 66 (41). P. 10844–10854. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04723.
8. Псьолова А. О., Деркач К. В., Беліков С. І., Сатарова Т. М. Вміст антоціанів в зерні кукурудзи різного кольору. *Зернові культури*. 2017. Т. 1. № 2. С. 242–246.
9. Sa K. J., Park J. Y., Park K. C., Lee J. K. Analysis of genetic mapping in a waxy/dent maize RIL population using SSR and SNP markers. *Genes & Genomics*. 2012. № 34 (2). С. 157–164.
10. Колтунов В. А., Коваль А. В. Хімічний склад зерна кукурудзи цукрової молочно-воскової стадії стиглості та його зміни в процесі дозрівання. *Товарознавчий вісн.* 2016. № 9. С. 122–129.
11. Волкова Н. Е. Молекулярно-генетичні дослідження ядерного геному кукурудзи. Одеса: Астропринт, 2015. 120 с.
12. Babic V., Nikolic A., Andjelkovic V., Kovacevic D., Filipovic M., Vasic V., Mladenovic-Drinic S. UPOV morphological versus molecular markers for maize inbreds lines variability determination. *Chilean journal of agricultural*. 2016. № 76 (4). P. 417–426. doi:10.4067/S0718-58392016000400004.
13. Maize Genetics and Genomics Database. URL: <http://www.maizegdb.org>.
14. Гур'єва І. А., Рябчун В. К., Літун П. П. Методич-

ні рекомендації для польового та лабораторного вивчення генетичних ресурсів кукурудзи. Харків: ІР, 2003. 43 с.

15. Методика проведення польових дослідів з кукурудзою / Лебідь Є. М. та ін. Дніпропетровськ: Ін-т зерн. гос-ва УААН, 2008. 27 с.
16. Филев Д. С., Циков В. С., Золотов В. И. Методические рекомендации по проведению полевых опытов с кукурузой. 1980. 54 с.
17. Сиволап Ю. М., Кожухова Н. Э., Календарь Р. Н. Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. Одесса: Астропринт,

2011. 335 с.

18. Сравнительный анализ методов экстракции общей геномной ДНК голубики высокорослой / Водчиц Н. В. и др., *Вест. Палесскага дзяржаўнага ўніверсітэта*. 2014. № 2. С. 25–30. (*Серыя «Прыродазнаўчы навукі»*).
19. Weaver K., Morales V., Dunn S., Godde K., Weaver P. An Introduction to statistical analysis in research: with applications in the biological and life. John Wiley & Sons, Inc. 2017. 594 p. doi: 10.1002/9781119454205.

## References

1. Tsykov, V. S. (2003). *Kukuruz: tehnologija, gibridy, semena* [Maize: technology, hybrids, seeds]. Dnepropetrovsk: Zorja. 296 p. [in Ukrainian]
2. Melchinger, A. E., Schipprack, W., Wьrschum, T., Chen, S., Technow F. (2013). Rapid and accurate identification of in vivo-induced haploid seeds based in oil content in maize. *Scientific reports*, 3 (2129). doi: 10.1038/srep02129.
3. Klimova, O. E. (2016). Testing line different biotips sugar corn on manifestation correlation relationships sign to productivity and quality grain. *Selekcija i nasinnictvo* [Breeding and seed production], 109, 29–39. [in Ukrainian]
4. Cherenkov, A. V., Cherchel, V. Yu., Shevchenko, M. S., Bodenko, N. A., Dzyubetsky, B. V., Tsykov, V. S., Klisha, A. I., Belikov, E. I., Aldoshin, A. V., Samoilenko, A. T., Ilchenko, L. A., Yalansky, O. V., Benda, R. V., Kulik, I. O. (2018). Katalog sortiv ta gibridiv DU Institut zernovih kul'tur NAAN Ukraїni [Catalog of varieties and hybrids of the Institute of Grain Crops of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine]. Dnipro: Institute of Grain Crops of the NAAS of Ukraine. 123 p. [in Ukrainian]
5. Cherchel, V. Yu., Klimova, O. E. (2007). New hybrids of sugar corn. *Byuletyn Institutu zernovogo gospodarstva* [Bulletin of the Institute of Grain Farming], 31–32, 26–31. [in Ukrainian]
6. Herrera-Sotero, M. Y., Cruz-Hernández, C. D., Trujillo-Carretero, C., Rodríguez-Dorantes, M., García-Galindo, H. S., Chávez-Servia, J. L., Oliart-Ros, R. M., Guzmán-Gerynimo, R. I. (2017). Antioxidant and an-tipro-liferative activity of blue corn and tortilla from native maize. *Chemistry Central Journal*, 11. doi: 10.1186/s13065-017-0341-x.
7. Chatham, L. A., West, L., Berhow, M. A., Vermillion, K. E., Juvik, J. A. Unique flavanol-anthocyanin condensed forms in apache red purple corn. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66 (41), 10844–10854. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04723.
8. Psolova, A. O., Derkach, K. V., Belikov, E. I., Satarova, T. M. (2017). Anthocyanins content in maize grain of different colors. *Zernovi kultury* [Graine crops], 1 (2), 242–246. [in Ukrainian]
9. Sa, K. J., Park, J. Y., Park, K. C., Lee, J. K. (2012). Analysis of genetic mapping in a waxy/dent maize RIL population using SSR and SNP markers. *Genes & Genomics*, 34 (2), 157–164.
10. Koltunov, V. A., Koval, A. V. (2016). Chemical composition of corn of sugar of milk-wax stage of ripeness and its changes in the process of ripening. *Tovaroznavchij visnik* [Merchandise Bulletin ], 9, 122–129. [in Ukrainian].
11. Volkova, N. E. (2015). Molekuljarno-genetichni doslidzhennja jadernogo genomu kukurudzi [Molecular genetic studies of the maize nuclear genome]. Odessa: Astroprint. 120 p. [in Ukrainian]
12. Babic, V., Nikolic, A., Andjelkovic, V., Kovacevic, D., Filipovic, M., Vasic, V., Mladenovic-Drinic, S. (2016). UPOV morphological versus molecular markers for maize inbreds lines variability determination. *Chilean journal of agricultural*, 76 (4), 417–426. doi:10.4067/S0718-58392016000400004.
13. Maize Genetics and Genomics Database. URL: <http://www.maizegdb.org>.
14. Guryeva, I. A., Ryabchun, V. K., Litun, P. P. (2003). Metodichni rekomendacii dlja pol'ovogo ta laboratornogo vivchennja genetichnih resursiv kukurudzi. [Guidelines for field and laboratory study of maize genetic resources]. Harkiv: IR. 43 p. [in Ukrainian]
15. Lebed, E. M., Tsykov, V. S., Pashchenko, Yu. M., Shevchenko, M. S., Kirpa, M. Ya., Pashchenko, N. O. (2008). *Metodika provedennja pol'ovih doslidiv z kukurudzoju* [Methods of conducting field experiments with maize]. Dnipropetrovsk: Institut zernovogo gospodarstva UAAH. 27 p. [in Ukrainian]
16. Filev, D. S., Tsykov, V. S., Zolotov, V. I. (1980). *Metodicheskie rekomendacii po provedeniju polevyh opytov s kukuruzoj* [Methodological recommendations for conducting field experiments with maize]. 54 p. [in Russian]
17. Sivolap, Yu. M., Kozhukhova, N. E., Calendar, R. N. (2011). Variability and specificity of genomes of agricultural plants. Odessa: Astroprint. 335 p. [in Russian]
18. Vodchits, N. V., Zaitseva, I. O., Kirikovich, I. G., Yurchenko, E. O., Volotovich, A. A. (2014). Comparative analysis of the methods of extraction of common genomic DNA of tall blueberry. *Vesnik paleskaga dzyarzhaynaga yuniversiteta* [Bulletin of Polesie State University], 2, 25–30. [in Russian]
19. Weaver, K., Morales, V., Dunn, S., Godde, K., Weaver, P. (2017). An Introduction to statistical analysis in research: with applications in the biological and life. John Wiley & Sons, Inc.. doi: 10.1002/9781119454205.

С целью получения линии сахарной кукурузы с антоциановой окраской зерна проведено скрещивание линии желтозерной сахарной кукурузы CE401 и популяции зубовидной кукурузы с антоциановой окраской зерна Черностебельная. В поколениях от самоопылений гибрида CE401xЧерностебельная в фазе полной спелости зерна выполнен отбор по признакам морщинистости зерновки, характерной для сахарной кукурузы, и антоциановой окраске зерна. В F<sub>4</sub> получены растения исключительно с морщинистым зерном антоциановой окраски. По результатам полимеразной цепной реакции установлено, что в линии CE401 молекулярный маркер *phi033* гена *Sh1* представлен аллелью 236 п. н. или/и аллелью 310 п. н., а у популяции Черностебельная – аллелью 264 п. н. Среди растений поколения F<sub>4</sub> идентифицированы образцы, гомозиготные по молекулярному маркеру *phi033* гена *Sh1* с аллелью 236 п.н., характерной для линии сахарной кукурузы CE 401.

**Ключевые слова:** кукуруза, полимеразная цепная реакция, ген *Sh1*, *phi033*, антоциановая окраска зерна.

Today, there is a trend in the world to create new maize genotypes with a controlled content of anthocyanins, carotenoids, proteins and carbohydrates in grains and use them as functional foods. A high content of anthocyanins is characterized by some maize varieties and hybrids of dental, scaly and flintly subspecies on the Ukraine territory, however, sugar maize with anthocyanin colored grains is not widespread.

The aim of our work was to obtaining the later generations of plants from the crossing of yellow grains sugar maize with anthocyanin colored grains maize and identification from them the homozygous plants for marker *phi033* of *Sh1* gene to create a inbred of sugar maize with anthocyanin colored grains.

The material of the study was the CE401 sugar maize inbred with yellow grains, the population Chornosteblova, which has a dental anthocyanin grains, the F<sub>1</sub> hybrid (CE401xChornosteblova) and the self-pollination hybrid generations F<sub>1</sub>(CE401xChornosteblova).

All grains of all F<sub>1</sub> hybrid studied plants had a yellow color and a semi-dental structure (not wrinkled endosperm). Splitting in the F<sub>2</sub>–F<sub>3</sub> generations had more compound display. Splitting by color and grain structure was observed. The anthocyanin colored grains with wrinkled endosperm typical for sugar maize were obtained in the F<sub>4</sub> generation from self-pollination of the CE401xChornosteblova hybrid.

Molecular genetic analysis was carried out in parallel. According to the results of the polymerase chain reaction, the molecular marker *phi033* of the *Sh1* gene is represented with the 236 bp allele or/and 310 bp allele in the CE maize sugar inbred. This marker is represented with the 264 bp allele in the Chornosteblova population with a dental structure of grains. Heterozygotes with the marker *phi033* of the *Sh1* gene with the 236 bp/264 bp and 310 bp/264 bp are occurred among plants of the F<sub>1</sub>(CE401xChornosteblova) hybrid. Alleles of parental forms and their various combinations are noted also in the self-pollination F<sub>4</sub> generation of the CE401xChornosteblova hybrid for the marker *phi033* of the *Sh1* gene. The allele of the only maternal sugar marker form with 236 bp was observed at 15 among 35 analyzed F<sub>4</sub> plants that indicating homozygosity for this marker. Self-pollination and reproduction of such plants is recommended for obtaining the sugar maize inbred with anthocyanin colored grains.

**Key words:** maize, polymerase chain reaction, gene *Sh1*, *phi033*, anthocyanin colored grains.