



Маркер-контролируемое выявление генотипов кукурузы с улучшенным качеством белка

О.А. Орловская, С.В. Кубрак, С.И. Вакула, Л.В. Хотылева, А.В. Кильчевский

Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь

В настоящее время более 70% кукурузы используется для производства пищевых продуктов и кормов, поэтому улучшение качественных показателей зерна может повысить пищевую и энергетическую ценность данной культуры. Дефицит двух незаменимых аминокислот, лизина и триптофана, существенно снижает питательное качество белка кукурузы. Однако мутанты кукурузы *opaque2* (*o2*) имеют увеличенное содержание лизина и триптофана в белке эндосперма по сравнению с традиционными сортами, что повышает биологическую ценность кукурузного белка. Цель исследования – выявление образцов с высоким качеством белка в коллекции кукурузы различного эколого-географического происхождения с использованием молекулярно-генетических методов для повышения эффективности селекции данной культуры. Создана коллекция из 54 генотипов кукурузы с различными качественными показателями зерна. С помощью трех специфических маркеров к гену *opaque-2* (ϕ 057, ϕ 112 и *umc* 1066) выявлены генотипы кукурузы, гомозиготные по рецессивному аллелю *o2*, который связан с улучшенными питательными свойствами белка. Электрофоретический анализ зеинов позволил отобрать образцы Quality Protein Maize (QPM), которые содержат наряду с мутантным аллелем *o2* генетические модификаторы, преобразующие крахмальный эндосперм *o2*-мутанта в твердый, стекловидный фенотип. Выделенные в результате исследования QPM-образцы представляют интерес для селекционных программ кукурузы, направленных на повышение качества зерна. Применение маркеров к гену *opaque-2* и генам-модификаторам позволяет сократить сроки создания QPM-гибридов кукурузы, а также значительно уменьшает трудоемкость и финансовые затраты на их создание.

Ключевые слова: кукуруза; QPM-генотип; SSR-маркеры; электрофоретический анализ зеинов.

Marker-assisted identification of maize genotypes with improved protein quality

O.A. Orlovskaya, S.V. Kubrak, S.I. Vakula, L.V. Khotyleva, A.V. Kilchevsky

Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Currently, more than 70% of maize is used for food and fodder; therefore, grain quality improvement can increase its nutritive and energy value. Deficiency of two essential amino acids (lysine and tryptophan) significantly reduces the nutritional quality of maize proteins. However, in comparison to conventional maize varieties, *opaque2* (*o2*) mutants have greater contents of lysine and tryptophan in their endosperm proteins and their bioavailability is better. The aim of the study was identification of maize accessions with high-quality protein. A collection of maize accessions of various ecogeographical origins was studied by molecular methods. This approach was expected to improve maize breeding efficiency. We collected 54 maize genotypes differing in grain quality performance. Amplification with three specific markers to the *opaque-2* gene (ϕ 057, ϕ 112 and *umc*1066) revealed homozygous recessive *o2* genotypes, associated with improved nutritional quality of the protein. UREA-PAGE electrophoresis of zein proteins was used for Quality Protein Maize (QPM) identification. In addition to the mutant *o2* allele, QPM contains genetic modifiers that convert starchy endosperm of *o2* mutant to the hard vitreous phenotype. The selected QPM accessions are of interest for maize breeding programs aimed at grain quality improvement. The use of the markers to *o2* and modifier genes accelerates the development of QPM varieties and significantly reduces the labor and financial costs of their production.

Key words: maize; QPM genotype; SSR markers; UREA-PAGE; zeins.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Орловская О.А., Кубрак С.В., Вакула С.И., Хотылева Л.В., Кильчевский А.В. Маркер-контролируемое выявление генотипов кукурузы с улучшенным качеством белка. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(3):333-338.

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Orlovskaya O.A., Kubrak S.V., Vakula S.I., Khotyleva L.V., Kilchevsky A.V. Marker-assisted identification of maize genotypes with improved protein quality. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(3):333-338.

УДК 577.21:631.524.6:633.15

Поступила в редакцию 16.04.2015 г.

Принята к публикации 28.05.2015 г.

© АВТОРЫ, 2015



e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

Кукуруза (*Zea mays* L.) является одной из ценных сельскохозяйственных культур по продуктивности и кормовым качествам. Она отличается хорошей отзывчивостью на интенсификацию производства, что способствует росту урожайности и увеличению ее посевных площадей во всем мире. Основные усилия специалистов в странах СНГ направлены на создание новых гибридов, обладающих высоким потенциалом продуктивности, холодостойкостью, устойчивостью к болезням, при этом не уделяется должного внимания целенаправленной селекции на качество зерна кукурузы (содержание белка, крахмала, масла, витаминов). С нашей точки зрения, это направление является очень перспективным, так как кукуруза – ценный пищевой продукт, концентрированный корм для всех видов сельскохозяйственных животных, и улучшение качественных показателей ее зерна значительно повысит пищевую и энергетическую ценность данной культуры. Таким образом, необходимость повышения эффективности селекционной работы по созданию отечественных гибридов кукурузы с высокими показателями качества зерна очевидна.

Известно, что основными запасными белками зерна кукурузы являются зеины, компоненты которых растворяются в спирте и характеризуются аминокислотным составом с высоким содержанием глутамина, пролина, аланина и лейцина и почти полностью лишены лизина и триптофана (Gibbon, Larkins, 2005). Дефицит двух незаменимых аминокислот (лизина и триптофана) и высокое соотношение лейцин – изолейцин существенно снижает питательное качество белка кукурузы. Однако описано несколько мутантов с измененными сроками и скоростью синтеза запасных белков, которые приводят к общему снижению накопления зеинов и увеличению содержания лизина и триптофана в зерне. Например, рецессивная мутация *opaque-2* (*o2*) индуцирует специфическое снижение накопления 22-kDa α -зеинов. Установлено, что *O2* кодирует главный транскрипционный регуляторный белок bZIP, который специфически экспрессируется в эндосперме, прямо или косвенно регулирует ряд генов, не связанных с запасанием белка, а также регулирует уровень лизин-кетоглютарат редуктазы и аспаргат киназы¹. Это позволяет предположить, что *O2* играет важную роль в развитии зерна как координатор экспрессии генов, контролирующих запасание белка, метаболизм азота и углерода (Motto et al., 2010).

Несмотря на то что усилия по получению *opaque* мутаций коммерчески выгодны, многочисленные недостатки, такие как мягкая текстура эндосперма, низкая урожайность, повышенная восприимчивость семян к патогенам и механическим повреждениям, ограничивают их использование (Vasal, 2000). Для преодоления этих недостатков были созданы формы Quality Protein Maize (QPM), содержащие генетические модификаторы, преобразующие крахмальный эндосперм *o2*-мутанта в твердый, стекловидный фенотип. Проведенные исследования выявили наличие как минимум двух генов-модификаторов. Один из них тесно сцеплен с последовательностью, кодирующей гамма-зеины, расположенной рядом с центромерой хромосомы 7, а другой находится в теломерном участке 7L (Babu, Prasanna, 2014).

Преобразование коммерческих линий кукурузы в QPM формы с помощью традиционных методов селекции – очень трудоемкий и длительный процесс. Применение молекулярных маркеров к гену *opaque-2* и генам-модификаторам позволяет проводить быстрый и надежный скрининг образцов кукурузы с высоким качеством белка на ранних стадиях выращивания, а также исключает необходимость рутинного биохимического анализа для определения уровня содержания лизина и триптофана в зерне на каждом этапе селекции, что значительно сокращает сроки и финансовые затраты на создание QPM-форм кукурузы. Цель этого исследования состояла в выявлении образцов с высоким качеством белка в коллекции кукурузы различного эколого-географического происхождения с использованием молекулярно-генетических методов.

Материалы и методы

Нами создана коллекция из 54 генотипов кукурузы различного эколого-географического происхождения, включающая 10 самоопыленных линий из ГНУ «Всероссийский НИИ кукурузы» (г. Пятигорск, Россия), 20 самоопыленных линий селекции РНДУП «Полесский институт растениеводства» (Гомельская область, Беларусь), 22 образца селекции России, Молдовы, Украины, Италии, Венгрии, США и других стран из коллекции ГНУ «Всероссийский институт растениеводства» (г. Санкт-Петербург, Россия), 2 образца из Maize Genetics Cooperation Stock Center (USA).

Для оценки аллельного состояния локуса *Opaque-2* у данных образцов кукурузы использовали кодоминантные SSR-маркеры *phi 057* и *umc 1066*, а также доминантный маркер *phi 112* (Danson et al., 2006). Выделение ДНК осуществляли из зерна при помощи набора реагентов Genomic DNA Purification Kit (Thermoscientific), согласно инструкции производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в реакционной смеси объемом 15 μ l, содержащей: 0,25 мМ каждого dNTP, 10 пМ каждого праймера, 2,5 мМ MgCl₂, 40 нг ДНК, 0,15 ед. Taq-полимеразы в 1 \times буфере. Температурный профиль ПЦР для *phi 057*, *umc 1066* и *phi 112* представлен в табл. 1.

Анализ флюоресцентно-меченных продуктов амплификации с маркерами *phi 057* и *umc 1066* проводился на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems Genetic Analyzer 3500, США. Размер продуктов амплификации определяли с применением размерного стандарта молекулярного веса S450 (Синтол). Полученные данные анализировали с помощью пакета прикладных программ GeneMapper Software Version 4.1. Продукты амплификации с маркером *phi 112* разделяли в 4 %-м агарозном геле в 1 \times TAE буфере и документировали в системе GelDoc (BioRad).

Электрофоретический анализ запасных белков эндосперма (зеинов) проводили согласно СТБ 1710-2006 (Семена кукурузы ..., 2006). Зеины экстрагировали 70 %-м этанолом из зерновок, предварительно очищенных от семенной кожуры и зародыша. Высушенные экстракты растворяли в буфере (48 %-я мочевины, 1,2 %-я уксусная кислота, 5 %-й 2-меркаптоэтанол), перед нанесением в гель прогревали 5 мин при 100 °С. Электрофорез проводили в кислом ацетат-глициновом буфере без охлаждения

Таблица 1. Температурный профиль ПЦР

ПЦР	phi 057	umc 1066	phi 112
Преденатурация	× 1 цикл 94 °С, 3 мин	× 1 цикл 94 °С, 2 мин	× 1 цикл 94 °С, 2 мин
Денатурация	94 °С, 1 мин	94 °С, 1 мин	94 °С, 2 мин
Отжиг	× 35 циклов 64 °С, 2 мин	× 40 циклов 60 °С, 2 мин	× 35 циклов 65 °С, 1 мин
Элонгация	72 °С, 2 мин 30 с	72 °С, 2 мин	72 °С, 1 мин
Заключительная элонгация	× 1 цикл 72 °С, 5 мин	× 1 цикл 72 °С, 2 мин	× 1 цикл 72 °С, 3 мин

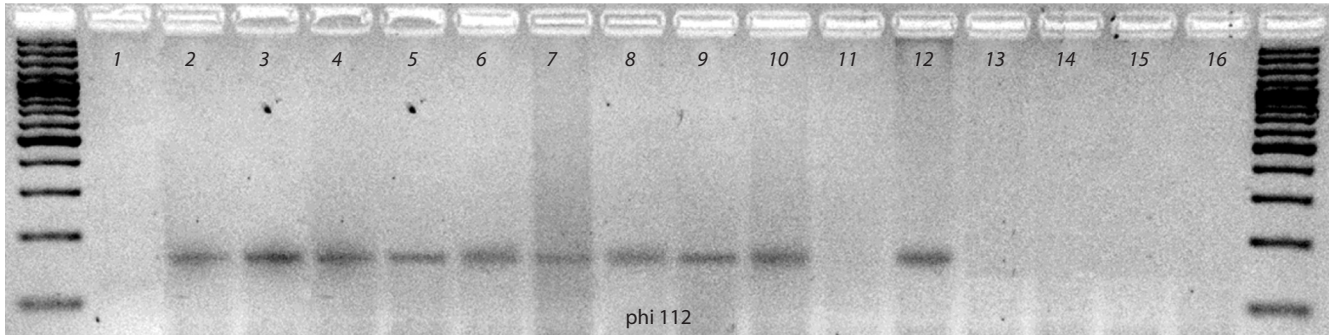


Рис. 1. Результаты амплификации ДНК образцов кукурузы с маркером phi 112.

1 – o2^A619 (стандарт); 2 – Cinqantino rouge; 3 – Natal 8 Row; 4 – W152Eo2; 5 – Од124ВЛ; 6 – Ку22L21-6; 7 – Ом275; 8 – Ку6301; 9 – Синтетик 802-3; 10 – Синтетик 6 а; 11 – Ку43Т45; 12 – Г. популяция 7-1LP; 13 – Ку12L19; 14 – Ку12L62; 15 – W629o2; 16 – Coroico Flor.

в течение 7 ч при напряжении 300 В. Гелевая пластина содержала 10 % акриламида и 8 М мочевины. Гели фиксировали и окрашивали в растворе кумасси G-250 (0,08 % кумасси G-250, 2N H2SO4, 10N KOH, 10,8 % ТХУ) в течение 2–3 ч и затем отмывали в проточной воде.

В качестве стандарта использовали образец o2^A619 из «Maize Genetics Cooperation Stock Center», USA, который является гомозиготой по o2 аллелю.

Результаты и обсуждение

Высокое качество белка кукурузы в первую очередь обусловлено наличием рецессивного аллеля гена *opaque-2*, кодирующего транскрипционный фактор синтеза зеинов (Schmidt et al., 1990). Мутация *opaque-2* существенно снижает уровень 22-кДа альфа-зеинов при увеличении содержания незееиновых белков, что положительно коррелирует с содержанием лизина в эндосперме (Habben et al., 1993). В работе использовали маркеры phi 112, phi 057 и umc 1066, которые, согласно литературным данным, являются наиболее эффективными для оценки аллельного состояния локуса *Opaque-2* (Yang et al., 2004).

Phi 112 – доминантный маркер, который не позволяет различить гетерозиготы и доминантные гомозиготы данного гена. У большинства проанализированных образцов при амплификации с праймерами к этому маркеру выявлены фрагменты размером 145 и 151 п. н., что свидетельствует о том, что они не являются рецессивными гомозиготами по гену *opaque-2*. Отсутствие продуктов амплификации, напротив, указывает на то, что данные генотипы – гомозиготы по рецессивному аллелю o2 (рис. 1). Количество таких образцов в исследованной коллекции было невелико – 8. Phi 057 и umc1066 являются кодоминантными маркерами и позволяют различать гомо- и гетерозиготы

гена *opaque-2*. У генотипов с рецессивным аллелем o2 размер ампликона phi 057 составляет 161 п. н. (рис. 2), а umc1066 – 143 п. н. Анализ продуктов амплификации с данными праймерами выявил наличие этих фрагментов у 22 из 54 исследованных образцов кукурузы. Однако у большинства генотипов аллели phi 057¹⁶¹ и umc1066¹⁴³ находились в гетерозиготном состоянии. Только 8 образцов кукурузы оказались рецессивными гомозиготами (o2o2). Как правило, такие образцы встречались в коллекции ВИР (7 из 8).

На следующем этапе исследований с помощью маркеров phi 057 и umc1066 проанализировано по 10 растений у выделенных нами 22 образцов с рецессивным аллелем o2. Установлено, что из 8 образцов, выделенных нами как рецессивные гомозиготы, 3 (Синтетик 802-3, Ку43Т45 и Г. популяция 7-1LP) расщеплялись по данному гену. Частота встречаемости аллелей phi 057¹⁶¹ и umc1066¹⁴³ у таких образцов варьировала от 60 до 85 % (табл. 2). Результаты анализа показали, что все изученные растения образцов коллекции ВИР Cinqantino rouge и Natal 8 Row, линии кукурузы Всероссийского НИИ кукурузы RDL-2, RDL-3 и линий белорусской селекции К 410, БКР 710, БЛ 22, были гетерозиготами по гену *opaque-2*. У остальных предполагаемых гетерозиготных генотипов частота встречаемости маркерных аллелей находилась в интервале 25–65 %, что говорит о расщеплении по данному гену. Можно отметить, что у образцов Синтетик 802-1 и o2^B45 наряду с гетерозиготными выявлено по 3 растения, гомозиготных по рецессивному аллелю o2 (табл. 2).

Таким образом, в результате SSR-анализа 54 образцов кукурузы различного эколого-географического происхождения выявлены генотипы, гомозиготные по o2-аллелю, который связан с улучшенными питательными свойствами

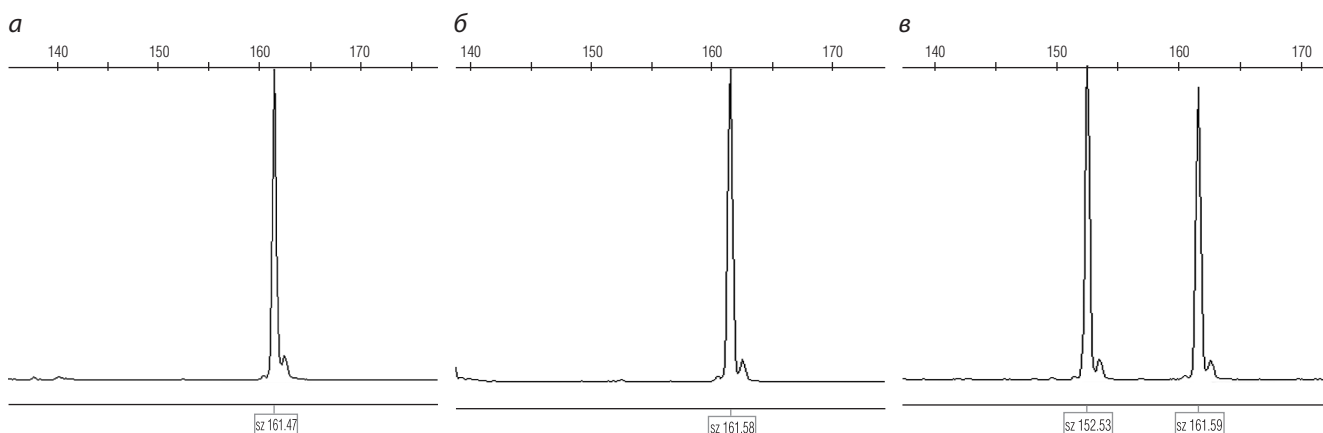


Рис. 2. Результаты фрагментного анализа образцов кукурузы с маркером phi 057.

a – гомозигота *o2* (стандарт *o2*^{A619}), *б* – гомозигота *o2* (Г. популяция 7-1LP, размер фрагмента 161 п. н.), *в* – гетерозигота *O2* (Синтетик 6 *al*, размер фрагмента 161 п. н. и 152 п. н.).

Таблица 2. Частота встречаемости аллелей phi 057¹⁶¹ и umc1066¹⁴³ в популяции образцов кукурузы

Генотип	Страна происхождения	% растений с генотипом <i>o2o2</i>	Частота аллелей, %
Cinquantino rouge	Италия	0	50
Natal 8 Row	Судан	0	50
W152Eo2	Чехия	0	25
Од124ВЛ,	Украина	0	35
Ку22L21-6	Россия	0	35
Ом275	Россия	0	30
Синтетик 802-1	Россия	30	60
Синтетик 802-3	Россия	40	60
Синтетик 6 <i>al</i>	Россия	0	25
Ку43Т45	Россия	70	85
Г. популяция 7-1LP	Россия	60	70
Ку12L19	Россия	100	100
Ку12L62	Россия	100	100
W629o2	Молдова	100	100
Coroico Flor	США	100	100
К 410	Беларусь	0	50
БКР 710	Беларусь	0	50
БЛ 22	Беларусь	0	50
RDL-2	Россия	0	50
RDL-3	Россия	0	50
<i>o2</i> ^{B45}	США	30	65
<i>o2</i> ^{A619}	США	100	100

ми белка. Однако QPM наряду с *o2*-мутацией содержат гены-модификаторы, преобразующие крахмальный эндосперм *o2*-мутанта в твердый, стекловидный фенотип. Мутантное зерно, как правило, имеет крахмалистую текстуру эндосперма и низкую плотность. По сравнению со стекловидным и прозрачным зерном традиционных сортов кукурузы этот вид эндосперма не пропускает свет.

Селекционеры отбирают QPM зерна, просвечивая их на специальных установках и классифицируя на классы от 1 до 5. Класс 1 – это полностью твердые, стекловидные зерна, а класс 5 – опаловые и мягкие семена. Все зерна 2-го–5-го классов – это *o2* гомозиготы, но зерна только 2-го–3-го классов имеют достаточно модифицированный твердый эндосперм для отбора на QPM.

В связи с этим нами проведен фенотипический отбор на модификацию зерна 5 образцов кукурузы, гомозиготных по *o2*-аллелю, в проходящем свете. Известно, что *o2*^{A619}, который использовался нами в качестве стандарта, не содержит гены-модификаторы и имеет опаловые семена (5-й класс), что было подтверждено нами при просвечивании зерен (рис. 3). Образец *Ky12L19* из коллекции ВИР также характеризовался 100 %-й опаловостью семян, что указывает на отсутствие генов-модификаторов в данном генотипе. Для *Ky12L62* и *Coroico Flog* обнаружены частично модифицированные зерна более чем с 50 % опаловости. Скрининг семян образца кукурузы *W629o2* в просвечивающем свете выявил зерна с разной долей опаловости: 25 % (рис. 4) и 25–50 %. Необходимо отметить, что такие зерна имеют достаточно твердый эндосперм (2–3-й класс модификации зерна) и представляют интерес для отбора на QPM.

Так как QPM-формы выглядят как традиционные сорта и могут быть выявлены только с использованием лабораторных тестов, то необходим быстрый и надежный метод скрининга образцов с улучшенным качеством белка на ранних стадиях выращивания, вместо того чтобы ждать результатов просвечивания после уборки урожая. Установлено, что степень стекловидности QPM эндосперма тесно коррелирует с уровнем 27-кДа γ -зеина (Holding, 2014). В QPM-эндосперме накапливается большее количество мелких γ -зеин-обогащенных белковых телец, которые, вероятно, способствуют формированию жесткого стекловидного матрикса, сходного по текстуре со зрелым эндоспермом зерна дикого типа. Таким образом, γ -зеины необходимы для модификации эндосперма в QPM (Wu et al., 2010), хотя степень этой потребности еще не выяснена.

В результате анализа электрофоретических спектров запасного белка семян кукурузы, зеина, американские ученые установили, что QPM-линии содержат в 2,0–2,5 раза больше 27-кДа γ -зеина, чем традиционные и мутантные *opaque-2* линии (Geetha et al., 1991). В связи с этим у отобранных нами рецессивных гомозигот по гену *opaque-2* был проведен электрофо-

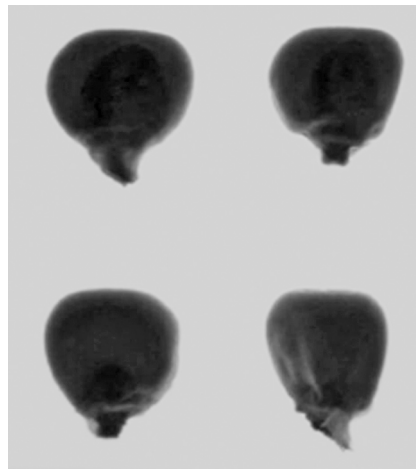


Рис. 3. Полностью опаловые зерна кукурузы образца *o2*^{A619} (5-й класс модификации зерна).

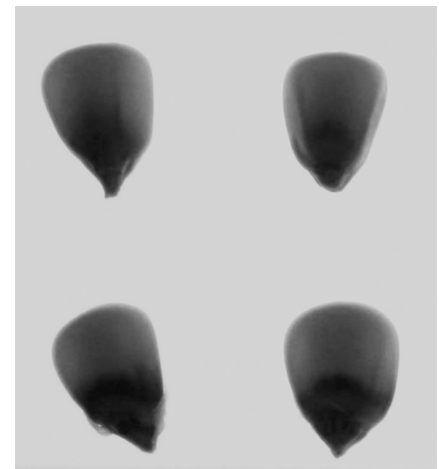


Рис. 4. Менее 25 % опаловости зерна образца кукурузы *W629o2* (2-й класс модификации зерна).

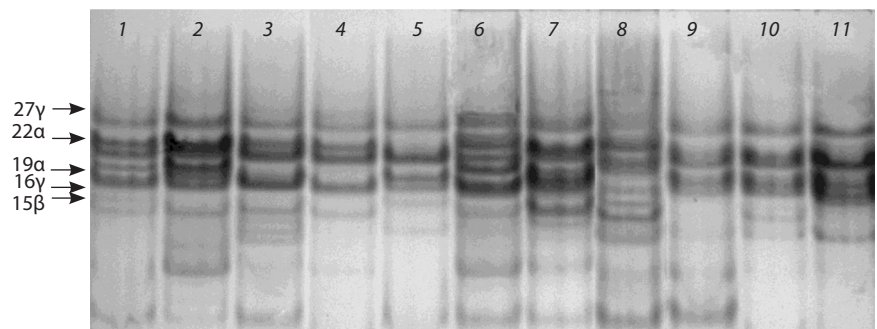


Рис. 5. Электрофоретический спектр зеинов образцов кукурузы.

1 – *Ky43T45*; 2 – *Ky32T48*; 3 – Г. популяция 7-1LP; 4 – *Ky12L62*; 5 – *W629o2*; 6 – *Ky12L19*; 7 – *Coroico Flog*; 8 – *o2*^{A619}; 9 – *o2*^{B45}; 10 – ДК 276; 11 – *Co 124-1*.

ретический анализ зеинов с целью выявления QPM-образцов. В качестве традиционных генотипов кукурузы в анализ включены две линии селекции РНДУП «Полесский институт растениеводства»: ДК 276, *Co 124-1*.

При разделении в полиакриламидном геле α -, β -, γ - и δ -классы зеинов распадаются на субфракции, различающиеся по электрофоретической подвижности и молекулярной массе (Esen, 1987). Полиморфизм электрофоретических спектров зеинов связан как с отсутствием одного или нескольких компонентов спектра, так и с вариабельностью в интенсивности окрашивания фракций в геле. В белковом профиле эндосперма линии *Co 124-1* (№ 11 на рис. 5), имеющей генотип *O2O2*, отмечена высокая интенсивность компонентов, соответствующих 19-кДа, 22-кДа α -зеинам и 27-кДа γ -зеинам. По литературным данным, размер и форма белковых гранул эндосперма главным образом определяются соотношением γ - и α -зеинов (Holding et al., 2007). Вероятно, близкое к эквивалентному соотношение 19-кДа, 22-кДа α -зеинов и 27-кДа γ -зеинов способствует формированию твердой стекловидной структуры эндосперма дикого типа. В зерне мутанта *opaque-2* (№ 8 на рис. 5) снижено накопление α -зеинов, что в электрофоретическом спектре проявляется как в общем снижении интенсивности окраски, так и в сокращении числа компонентов спектра. Также для мутантного генотипа отмечается отсутствие компонента 27-кДа γ -зеинов. Сравнение полученных белковых спектров позволяет отнести образцы *Ky12L62*, *W629o2*, *Coroico Flog* к QPM формам, так как разделение α -зеинов в целом соответствует особенностям, отмеченным для мутантов *opaque-2*

(низкая интенсивность, малокомпонентность спектра). Кроме того, компонент 27-кДа γ -зеинов характеризовался достаточно высокой интенсивностью, что является наиболее известной биохимической особенностью QPM эндосперма (рис. 5). Следует отметить, что эти генотипы, по данным скрининга семян в проходящем свете, обладают разной долей опаловости зерна.

Таким образом, анализ зеинов подтвердил результаты, полученные при просвечивании зерен кукурузы, что позволяет рекомендовать использование электрофоретического анализа зеинов для выявления QPM-образцов кукурузы.

Толчком к исследованию опаловых мутантов являлась перспектива создания кукурузы с высоким качеством белка, для того чтобы улучшить пищевой рацион населения развивающихся стран, где данная культура является основным источником белка. Например, по оценкам ФАО, в 12 странах Африки кукуруза составляет от 17 до 60 % от общего объема ежедневного потребления белка. В связи с этим большое количество созданных QPM-образцов кукурузы адаптированы к условиям субтропической Африки. Хотя кукуруза с высоким качеством белка выращивается во многих развивающихся странах, в нашем регионе ее потенциал не реализован. Вероятно, QPM-образцы получат более широкое признание, если наряду с высокими пищевыми качествами они будут обладать высокой урожайностью и рядом других хозяйственно полезных признаков (раннеспелость, устойчивость к неблагоприятным факторам). Для этого необходимо разработать селекционные программы по созданию QPM-гибридов, адаптированных к регионам умеренного климата. Использование молекулярно-генетических подходов при преобразовании коммерческих линий в QPM-гибриды будет способствовать повышению эффективности данного процесса.

В результате проведенного исследования с помощью трех специфических маркеров к гену *opaque-2* выявлены генотипы кукурузы, гомозиготные по рецессивному аллелю *o2*, который связан с улучшенными питательными свойствами белка. Электрофоретический анализ зеинов позволил отобрать QPM-образцы, содержащие наряду с мутантным аллелем *o2* генетические модификаторы, преобразующие крахмальный эндосперм *o2*-мутанта в твердый, стекловидный фенотип. Выделенные QPM-образцы представляют интерес для селекционных программ кукурузы, направленных на повышение качества зерна. Применение маркеров к гену *opaque-2* и генам-модификаторам позволяет сократить сроки создания QPM-гибридов кукурузы, а также значительно уменьшает трудоемкость и финансовые затраты на их создание.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Семена кукурузы. Метод определения уровня гибридности семян первого поколения, оценка типичности и маркирование инбредных линий: СТБ 1710–2006. утв. и введ. в действие Постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 30 декабря 2006 г. № 66. Минск, 2006.
- Babu R., Prasanna B.M. Molecular breeding for Quality Protein Maize (QPM). *Genom. Plant Genetic Res.* 2014;2:489-505. DOI: 10.1007/978-94-007-7575-6_21
- Danson J.W., Mbogori M., Kimani M., Lagat M., Kuria A., Diallo A. Marker assisted introgression of *opaque2* gene into herbicide resistant elite maize inbred lines. *African J. Biotechnol.* 2006;5(24):2417-2422. DOI: 10.5897/AJB06.499
- Esen A. A proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins(zeins) of maize (*Zea mays* L.). *J. Cereal Sci.* 1987;5(2):117-128. DOI: 10.1016/S0733-5210(87)80015-2
- Geetha K.B., Lending G.R., Lopes M.A., Wallace J.C., Larkins B.A. *opaque-2* modifiers increase γ -zein synthesis and alter its spatial distribution in maize endosperm. *Plant Cell.* 1991;3(11):1207-1219. DOI: <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.3.11.1207>
- Gibbon B.C., Larkins B.A. Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *Trends Genet.* 2005;21(4):227-233. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2005.02.009>
- Habben J.E., Kirleis A.W., Larkins B.A. The origin of lysine-containing proteins in opaque-2 maize endosperm. *Plant Mol. Biol.* 1993;23(4):825-838. DOI: 10.1007/BF00021537
- Holding D.R. Recent advances in the study of prolamin storage protein organization and function. *Front Plant Sci.* 2014;5:276. DOI: 10.3389/fpls.2014.00276
- Holding D.R., Otegui M.S., Li B.L., Meeley R.B., Dam T., Hunter B.G., Jung R., Larkins B.A. The maize *floury1* gene encodes a novel endoplasmic reticulum protein involved in zein protein body formation. *Plant Cell.* 2007;19(8):2569-2582. DOI: 10.1105/tpc.107/053538
- Motto M., Balconi C., Hartings H., Rossi V. Gene discovery for improvement of kernel quality-related traits in maize. *Genetika.* 2010;42(1):23-56. DOI:10.2298/GENSR1001023M
- Schmidt R.J., Burr F.A., Aukerman M.J., Burr B. Maize regulatory gene *opaque2* encodes protein with a «leucine zipper» motif that binds to zein DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990;87(1):46-50.
- Vasal S.K. The quality protein maize story. *Food Nutr. Bull.* 2000;21:445-450.
- Wu Y., Holding D.R., Messing J. Gamma-zein is essential for endosperm modification in quality protein maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010;107(29):12810-12815. DOI: 10.1104/pp.113.230961
- Yang W., Zheng Y., Ni S., Wu J. Recessive allelic variations of three microsatellite sites within the *O2* gene in maize. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2004;22(4):361-374. DOI: 10.1007/BF02772679