

АГРОНОМИЯ

- 4.1.1. Общее земледелие и растениеводство  
4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология

Научная статья  
УДК 631.527:633.15  
doi: 10.28983/asj.y2024i12pp9-14

**Анализ содержания зеина и зеаксантина  
в зерне селекционных линий кукурузы**

**Анна Анатольевна Беляева, Юлия Александровна Кусмарцева,  
Егор Андреевич Кормилицин, Алексей Иванович Силаев**

Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова,  
г. Саратов, Россия  
e-mail: belyaevaanna29@yandex.ru

**Аннотация:** Селекция на качество зерна – важное направление создания высококачественных сортов и гибридов кукурузы. Кроме общего содержания белка в зерне, существенное значение имеет определение фракций зеинов, а также каротиноидов зеаксантина. Целью исследования являлось изучение гибридов и линий кукурузы по содержанию белка зеина и каротиноида зеаксантина для выявления ценных источников полезных признаков в селекции на качество зерна. Изучено 20 линий и гибридов кукурузы из коллекции ФГБОУ ВО «Вавиловский университет». Анализ содержания и электрофореза белков зеинов, изучение спектров поглощения зеаксантина у гибридов и линий кукурузы выявили значительное генетическое разнообразие. Определили образцы с высоким содержанием зеина (СГАУ 3М – 3,05 % и Актор – 3,18 %) и зеаксантина (Актор и Визави – более 15 мкг/1 г муки). Отмечено, что димерные формы зеинов, выявляемые методом электрофореза, характерны для линий с высоким содержанием белка. Выделенные линии и гибриды могут служить источниками ценных признаков в селекции кукурузы на качество зерна.

**Ключевые слова:** *Zea mays* L.; белок; электрофорез; каротиноиды; селекция

**Для цитирования:** Беляева А. А., Кусмарцева Ю. А., Кормилицин Е. А., Силаев А. И. Анализ содержания зеина и зеаксантина в зерне селекционных линий кукурузы // Аграрный научный журнал. 2024. № 12. С. 9–14. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp9-14>.

AGRONOMY

Original article

**Analysis of the content of zein and zeaxanthin  
in grain of maize breeding lines**

**Anna A. Belyaeva, Yulia A. Kusmartseva, Egor A. Kormilitsin, Alexey I. Silaev**

Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, Saratov, Russia  
e-mail: belyaevaanna29@yandex.ru

**Abstract:** Grain quality breeding is an important area for the creation of high-quality varieties and hybrids of maize. In addition to the total protein content in the grain, it is essential to determine the fractions of zeins, as well as the carotenoid zeaxanthin. The aim was to study maize hybrids and lines according to the content of the protein zein and the carotenoid zeaxanthin to identify valuable sources of useful traits in grain quality breeding. 20 lines and hybrids of maize from the collection of the Vavilov University were studied. The analysis of the content and electrophoresis of zein proteins, the study of the absorption spectrum of zeaxanthin in the studied maize hybrids and lines revealed significant genetic diversity. Samples with a high content of zein (SGAU 3M – 3.05 % and Actor – 3.18 %) and zeaxanthin (Actor and Visavi – more than 15 µg/1 g of flour) were identified. It is noted that the dimeric forms of zeins detected by electrophoresis are characteristic of lines with a high protein content. The selected lines and hybrids can serve as sources of valuable traits in maize breeding for grain quality.

**Keywords:** *Zea mays* L.; protein; electrophoresis; carotenoids; plant breeding

**For citation:** Belyaeva A. A., Kusmartseva Yu. A., Kormilitsin E. A., Silaev A. I. Analysis of the content of zein and zeaxanthin in grain of maize breeding lines. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal*. 2024;(12):9–14. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp9-14>.



**Введение.** Показатели качества зерна играют важную роль при оценке линий кукурузы. Эти показатели, такие как содержание белка, крахмала и масла, необходимы для определения питательной ценности и коммерческой перспективности кукурузы. Оценка различных линий кукурузы показала значительную вариабельность содержания белка, на которую могут влиять как генетические факторы, так и технология выращивания. Такие показатели качества зерна, как содержание белка, крахмалистость эндосперма и питательный состав, важны для оценки линий кукурузы. Они помогают определить пригодность гибридов инбредных линий с разным содержанием белка для конкретных сельскохозяйственных и пищевых целей [7].

К ключевым показателям качества зерна относится содержание белка. Исследования показывают, что содержание белка в кукурузе варьирует от 6,0 до 21,0 % в зависимости от генотипа и условий культивирования. В зародыше может содержаться около 14,0–26,0 %, в эндосперме – 7,0–12,0 % [2]. Определение фракции проламинов (для кукурузы зеина) в общем белке имеет важное значение, т.к. именно их относят к истинным запасным белкам [3]. Зеин является основным белком эндосперма кукурузы, составляя 45,0–50,0 % всех белков [9], и по его содержанию возможно в целом оценить общее количество белка.

Зеаксантин (желтый пигмент зерновок кукурузы) относится к группе ксантофиллов, которые являются кислородсодержащими каротиноидами. В последнее время внимание к этому пигменту усилилось на фоне сообщений о положительном влиянии на профилактику возрастной слепоты у людей [5]. Каротиноиды являются предшественниками витамина А и антиоксидантами, замедляющими процессы старения в организме и предотвращающими многие заболевания, в т.ч. онкологические. Содержание каротиноидов в кукурузе детерминировано генами PSI 1, LcyE, CrtRB 1 [1].

Повышение уровня содержания белков и витаминов в кукурузе может достигаться селекционным путем на основе оценки генетического разнообразия исходного материала.

Целью исследования являлось изучение гибридов и линий кукурузы по содержанию белка зеина и каротиноида зеаксантина для выявления ценных источников полезных признаков в селекции на качество зерна.

**Материалы и методы.** В работе использовали 16 самоопыленных линий и 4 гибрида кукурузы из рабочей коллекции ФГБОУ ВО «Вавиловский университет» (см. таблицу).

#### Изучаемый материал гибридов и линий кукурузы

#### The studied material of hybrids and maize lines

№	Гибрид/Линия
1	Орела М
2	СГАУ 23
3	Зарина С
4	СГАУ 3М
5	Х46
6	СГАУ 31
7	Актор
8	АД 36
9	Б293
10	СГАУ 74
11	Визави
12	СГАУ 30
13	СГАУ 206
14	Лиана М
15	СГАУ 354
16	СГАУ 7
17	СГАУ 3
18	СГАУ 218
19	СГАУ 11
20	СГАУ 24



Высушенные зерна кукурузы измельчали в течение 5 мин с помощью лабораторной мельницы. Для извлечения зеина использовали спиртовую экстракцию. Для этого измельченные образцы заливали этиловым спиртом (70 %) в соотношении 1:4 и экстрагировали при 50 °С в течение 18 ч. Затем образцы центрифугировали в течение 10 мин при 10000 мин<sup>-1</sup> [9]. После центрифугирования собирали надосадочную жидкость для дальнейшего анализа.

Концентрацию белка (зеина) в спиртовых экстрактах определяли методом Бредфорда [4]. Для построения калибровочного графика готовили стандартный ряд разведений бычьего сывороточного альбумина (БСА). Для этого к 1,5 мл раствора, содержащего от 6 до 50 мкг белка, добавляли 1,5 мл раствора красителя. Через 3–5 мин измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 595 нм (A595), помещая в кювету сравнения пробу со всеми компонентами, в которой раствор белка заменен эквивалентным объемом дистиллированной воды.

Спиртовые экстракты семян кукурузы разбавляли дистиллированной водой в соотношении 1:100 и проводили реакцию Бредфорда. Количество белка в спиртовых экстрактах определяли по значению A595, используя калибровочный график, построенный по результатам измерений A595 для растворов белка с известной концентрацией. Количество белка в сухом веществе (*m*) рассчитывали, принимая во внимание разбавление экстрактов и соотношение сухого вещества к экстрагенту. Процентное содержание зеина в зернах кукурузы разных линий рассчитывали по литературным данным, согласно которым при спиртовой экстракции при 50 °С экстрагируется 60,00 % зеина [9].

Спиртовые экстракты семян кукурузы разбавляли этиловым спиртом (70 %) 1:1, полученный раствор смешивали 1:1 с 3-кратным буфером для образцов, содержащих додецилсульфат натрия (ДСН) и 10 % меркаптоэтанола. Растворы инкубировали при 100 °С в течение 10 мин, после чего проводили электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ) (12,5 %) в течение 30 мин при напряжении постоянного тока 100 В и в течение 90 мин при напряжении тока 200 В. После чего гель помещали в красящий раствор. Окрашивание геля проводили в течение 30 мин, затем раствор краски заменяли раствором для обесцвечивания геля до появления контрастных полос, соответствующих индивидуальным белковым молекулам [8].

Определение содержания зеаксантина в кукурузе проводили методом [6]. Для получения экстракта каротиноидов (зеаксантина) образцы кукурузы подвергли экстракции растворителем с добавлением аскорбиновой кислоты (антиоксиданта). Экстракцию осуществляли раствором КОН (30 %) в этаноле в темноте, при комнатной температуре, в течение 16 ч. Затем реакционную смесь нейтрализовали водным раствором уксусной кислоты (10–30 %) и к этой реакционной смеси добавляли дистиллированную воду, при этом температуру повышали до 70 °С, непрерывно перемешивая в течение 15–30 мин. Смесь центрифугировали в течение 150 мин при 12500 мин<sup>-1</sup> в трубчатой центрифуге с непрерывным добавлением дистиллированной воды, 2–3 цикла, до получения прозрачной надосадочной жидкости. Осадок собрали и промыли теплой дистиллированной водой 2–3 раза для удаления примесей. Количественное определение общего зеаксантина (мкг/г) проводили спектрофотометрически, основываясь на уравнении

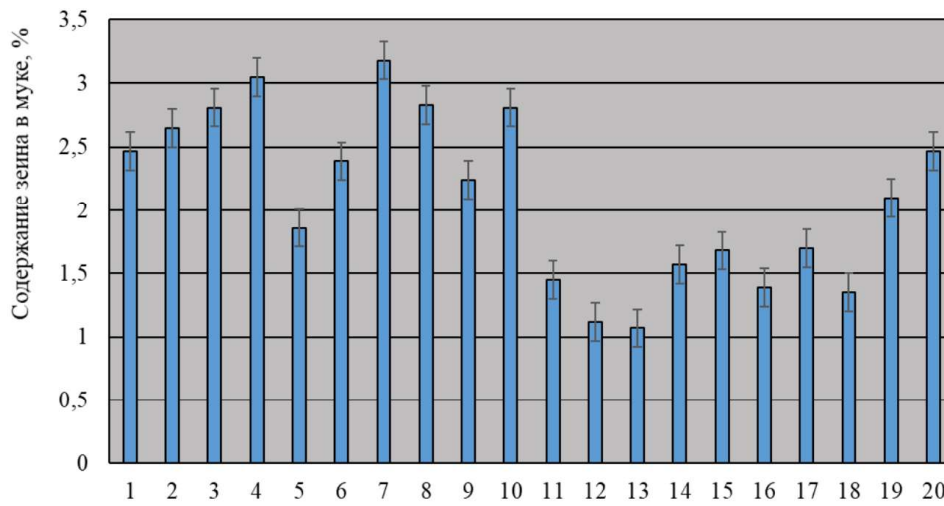
$$\text{Содержание зеаксантина} = A_{452} \cdot 10000 / (2540V/m), \quad (1)$$

где  $A_{452}$  – оптическая плотность поглощения раствора при 452 нм;  $V$  – общий объем экстракта, мл; 2540 – коэффициент экстинкции зеаксантина в растворителе;  $m$  – масса образца, г.

Результаты экспериментов подвергали статистическому анализу с использованием пакета программ Excel.

**Результаты исследования.** Результаты оценки гибридов и линий по содержанию белка зеина в размолотом зерне приведены на рисунке 1, где цифрами 1–20 обозначены номера гибридов и линий по нумерации в таблице. Наибольшее содержание зеина выявлено в зерне линии СГАУ 3М (3,05 %) и гибрида Актор (3,18 %). Остальные гибридообразцы кукурузы содержали менее 3,00 % зеина. Наименьшее процентное содержание зеина определено в зерне линий СГАУ 206 (1,07 %) и СГАУ 30 (1,12 %), что почти в 3 раза меньше, чем в высокобелковых образцах СГАУ 3М и Актор.

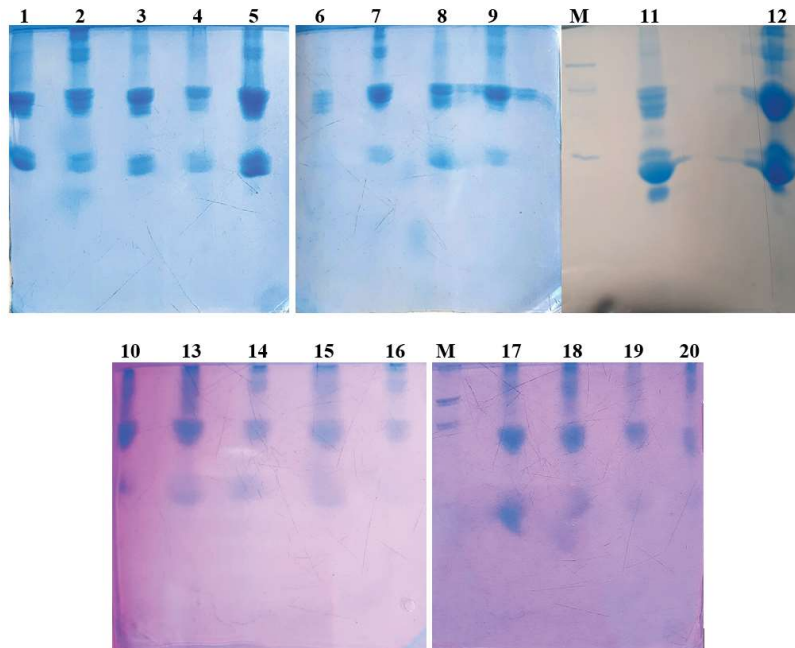




**Рисунок 1 – Содержание зеина в муке из зерна 20 исследованных гибридов и линий кукурузы**

**Figure 1 – Zein content in grain flour of 20 studied maize hybrids and lines**

Результаты электрофоретического разделения в ПААГ при денатурирующих условиях представлены на рисунке 2, где цифрами 1–20 обозначены номера гибридов и линий по нумерации в таблице 1. М на рисунке – треки с белками с известной молекулярной массой (полосы соответствуют молекулярной массе 25 кДа, 50 кДа и 100 кДа).



**Рисунок 2 – Результаты ДСН-ПААГ-электрофореза образцов спиртовых экстрактов семян кукурузы 20 исследованных гибридов и линий кукурузы**

**Figure 2 – Results of SDS-PAGE electrophoresis of samples of alcoholic extracts of maize seeds of 20 studied hybrids and maize lines**

На электрофореграммах нижние мажорные полосы соответствуют молекулам зеина с молекулярной массой 20 и 25 кДа, верхние мажорные полосы – димерным молекулам зеина с молекулярной массой 45–50 кДа.

Электрофоретический анализ спиртовых экстрактов семян кукурузы выявил для всех линий присутствие полос, характерных для зеина. Отмечается закономерность, что для образцов с большим содержанием белка (по методу Бредфорда) преобладают димерные формы зеинов, в то время как для линий с меньшим процентом белка в зернах на электрофореграммах более выражена мономерная форма зеинов (20–25 кДа).

На рисунке 3 приведены спектры поглощения зеаксантина изучаемых образцов кукурузы, указывающие на значительное разнообразие в содержании пигмента в зерне, где цифрами 1–20 обозначены номера гибридов и линий по нумерации в таблице 1.



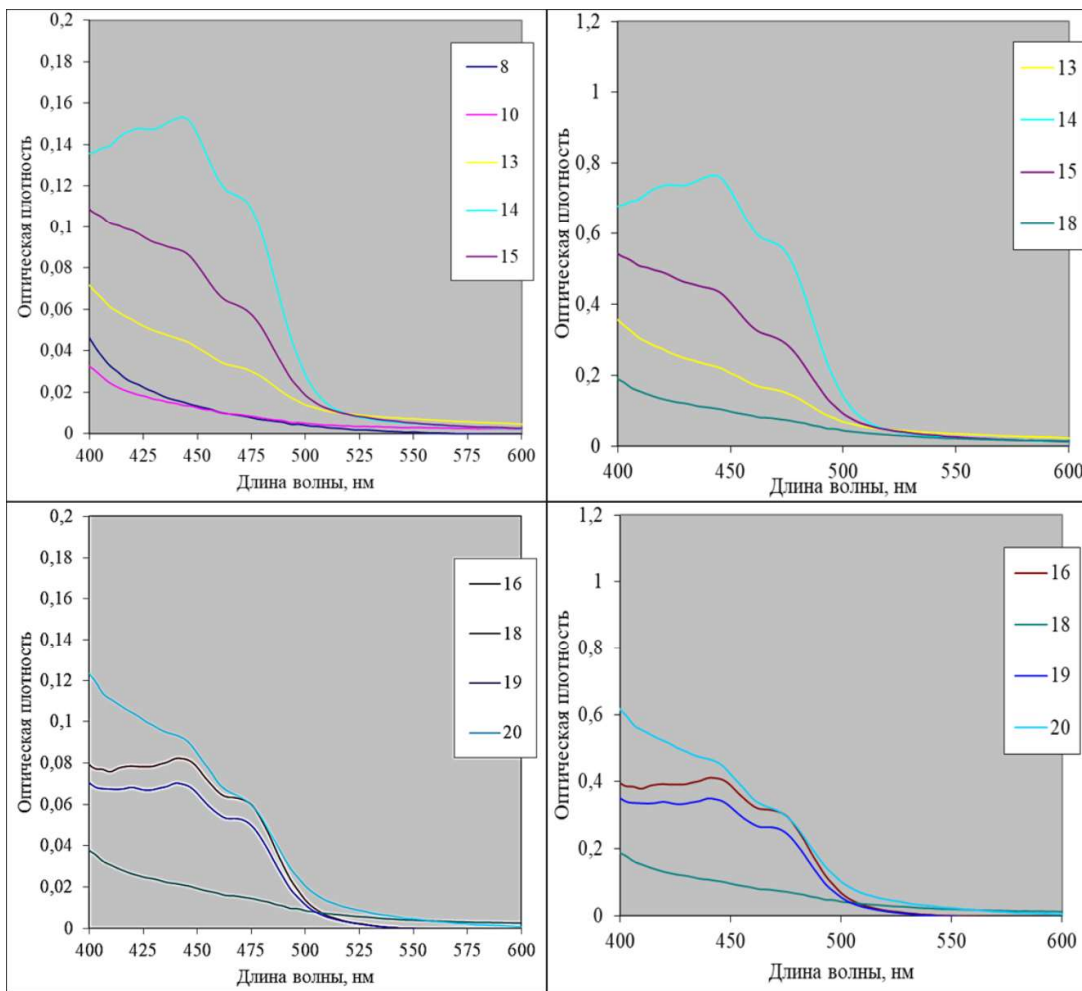


Рисунок 3 – Спектры поглощения зеаксантина в 20 исследованных гибридах и линиях кукурузы

Figure 3 – Absorption spectra of zeaxanthin in 20 studied maize hybrids and lines

Оценка количественного содержания зеаксантина, приведенная на рисунке 4, показывает, что максимальное его количество содержится в зерне гибридов Актор и Визави – более 15 мкг/1 г муки. Минимальное содержание отмечено у линий СГАУ 23, АД 36, СГАУ 74 и СГАУ 218 – менее 2 мкг/1 г муки, что более чем в 7 раз меньше, чем в зерне гибридов Актор и Визави. Цифрами 1–20 обозначены номера гибридов и линий по нумерации в таблице.

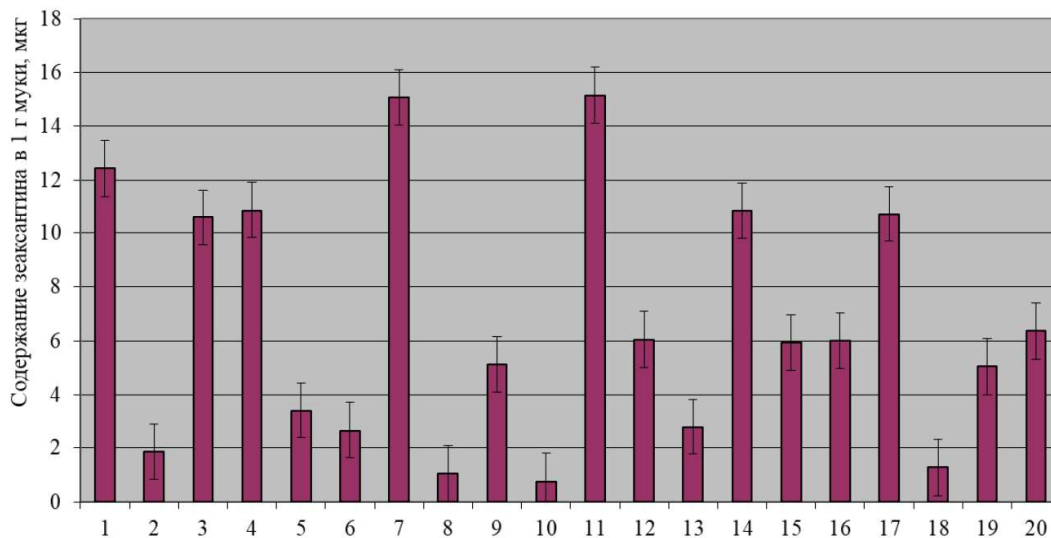


Рисунок 4 – Содержание зеаксантина в 1 г муки из зерна 20 исследованных гибридов и линий кукурузы

Figure 4 – Zeaxanthin content in 1 g of grain flour from 20 studied maize hybrids and lines





**Заключение.** Анализ изучаемых гибридов и линий кукурузы позволил выявить значительное генетическое разнообразие по признакам содержания в зерне белка зеина и каротиноидного пигмента зеаксантина. Выявлены образцы с высоким содержанием зеина (СГАУ ЗМ и Актор) и зеаксантина (Актор и Визави). Установлено, что новый перспективный гибрид Актор сочетает одновременно высокое содержание ценного запасного белка и каротиноидного пигмента. Отмечено, что димерные формы зеинов, выявляемые методом электрофореза, характерны для линий с высоким содержанием белка. Выделенные линии и гибриды могут служить источниками ценных признаков в селекции кукурузы на качество зерна.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ассоциация уровня общего содержания каротиноидов в зерне кукурузы (*Zea mays* L.) с аллельным полиморфизмом сайта INDEL1 гена PSY1 / О. А. Орловская [и др.] // Экологическая генетика. 2016. Т. XIV. № 3. С. 28–34.
2. Галговская Л. А., Теркина О. В., Романова А. Н. Анализ химического состава зерна белозерных гибридов кукурузы селекции ФГБНУ ВНИИ кукурузы // Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН. 2024. Т. 26. № 2. С. 64–71. DOI: 10.35330/1991-6639-2024-26-2-64-71.
3. Фракционный состав белка в зерне кукурузы / И. А. Сазонова и др. // АгроЭкоИнфо. 2022. № 2. DOI: <https://doi.org/10.51419/202122234>.
4. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical biochemistry. 1976. Vol. 72. No. 1–2. P. 248–254.
5. Consumption of lutein and zeaxanthin and its relation to the level of macular pigment optical density in Thai subjects / S.-L. Wipada et al. // Journal of Nutrition and Metabolism. 2022. No. 2. P. 1–8. Doi: 10.1155/2022/6321778.
6. Determination and quantification of maize zeaxanthin stability / M. Butnariu et al. // Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 2014. Vol. 9 No. 2. P. 745–755.
7. Grain quality and yield potential of hybrids from quality and non-quality protein maize inbred lines / I. Amegbor et al. // Journal of Cereal Science. 2022. No. 107. 103544. Doi: 10.1016/j.jcs.2022.103544
8. Mass spectrometric characterization of the zein protein composition in maize flour extracts upon protein separation by SDS-PAGE and 2D gel electrophoresis / P. A. Postu et al. // Electrophoresis. 2019. No. 40(20). P. 2747–2758.
9. Shukla R., Cheryan M. Zein: the industrial protein from corn // Industrial Crops and Products. 2001. No. 13(3). P. 171–192.

## REFERENCES

1. Association of total carotenoid level in maize grain (*Zea mays* L.) with polymorphic site INDEL1 in PSY1 gene / O. A. Orlovskaya, S. I. Vakula, L. V. Khotyleva, A. V. Kilchevsky. *Ecological Genetics*. 2016;14(3):28–34. (In Russ.).
2. Galgovskaya L. A., Terkina O. V., Romanova A. N. Analysis of the chemical composition of grain of white grain corn hybrids bred by the Federal State Budgetary Institution All-Russian Research Institute of Corn. *News of the Kabardino-Balkarian Scientific Center of RAS*. 2024;26(2):64–71. DOI: 10.35330/1991-6639-2024-26-2-64-71. (In Russ.).
3. Fractional composition of protein in corn grain / I. A. Sazonova, V. V. Bychkova, A. V. Erokhina, O. B. Kameneva. *AgroEcoInfo*. 2022;(2). DOI: <https://doi.org/10.51419/202122234>. (In Russ.).
4. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976;72(1–2):248–254.
5. Consumption of Lutein and Zeaxanthin and Its Relation to the Level of Macular Pigment Optical Density in Thai Subjects / S.-L. Wipada, W. Kansuda, T. Taweesak, S. Prapaisri. *Journal of Nutrition and Metabolism*. 2022;(2):1–8. Doi: 10.1155/2022/6321778.
6. Determination and quantification of maize zeaxanthin stability / M. Butnariu, S. Rodino, P. Petrache, C. Negoescu, M. Butu. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2014;9(2):745–755.
7. Grain quality and yield potential of hybrids from quality and non-quality protein maize inbred lines / I. K. Amegbor, A. van Biljon, N. G. Shargie, A. Tarekegne, M. T. Labuschagne. *Journal of Cereal Science*. 2022;107:103544. Doi: 10.1016/j.jcs.2022.103544.
8. Mass spectrometric characterization of the zein protein composition in maize flour extracts upon protein separation by SDS-PAGE and 2D gel electrophoresis / P. A. Postu, L. Ion, G. Drochioiu, B. A. Petre, M. O. Glocker. *Electrophoresis*. 2019;40(20):2747–2758.
9. Shukla R., Cheryan M. Zein: the industrial protein from corn. *Industrial Crops and Products*. 2001;13(3):171–192.

Статья поступила в редакцию 26.04.2024; одобрена после рецензирования 27.05.2024; принята к публикации 03.06.2024.  
The article was submitted 26.04.2024; approved after reviewing 27.05.2024; accepted for publication 03.06.2024.

