

ФІЗІОЛОГО – ГЕНЕТИЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 633.15 : 631.523/527

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОСНОВНИХ ОЗНАК ЯКОСТІ ГРАНУЛЯРНОГО КРОХМАЛЮ У ЗУБОВИДНОЇ ТА ВОСКОВИДНОЇ КУКУРУДЗИ

С. М. Тимчук¹, М. М. Мартинюк¹, В. В. Поздняков¹, В. М. Тимчук¹,
О. В. Анциферова¹, Ю. В. Харченко², Л. Я. Харченко²

¹Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН

²Устимівська дослідна станція рослинництва

Встановлено, що діаметр крохмальних гранул і вміст крохмалю в зерні зубовидної та восковидної кукурудзи успадковуються за типом позитивного наддомінування, а вміст амілози в крохмалі зубовидної кукурудзи – за типом неповного домінування із суттєвим вкладом до дисперсії адитивних ефектів. Взаємодії ген : генотип за вмістом амілози в крохмалі восковидної кукурудзи були несуттєвими. Ідентифіковано лінії зубовидної та восковидної кукурудзи з високими ефектами комбінаційної здатності за основними ознаками якості гранулярного крохмалю.

Кукурудза, якість гранулярного крохмалю, генетичний аналіз

Кукурудза є провідним джерелом зернового крохмалю, який широко використовується в харчовій, фармацевтичній і технічних галузях промисловості [1]. Однак якість крохмалю кукурудзи традиційного типу, як правило, не задовольняє специфічних вимог промислових виробництв і потребує поліпшення, найбільш результативним і економічно вигідним методом якого вважається генетичне поліпшення [2].

Відомо, що технологічні властивості крохмалю значною мірою залежать від його фракційного складу, а також розмірів та структури крохмальних гранул [3]. На даний час у кукурудзи ідентифіковано серію моногенних мутацій, які викликають утворення крохмалів з високими частками амілози або амілопектину [4] і встановлено, що цей ефект супроводжується суттєвими зміненнями морфології крохмальних гранул і технологічних властивостей крохмалю [5, 6]. З іншого боку, відомо, що основні ознаки якості гранулярного крохмалю можуть контролюватися і полігенними комплексами, здатними викликати власну дисперсію за цими ознаками, а, можливо, і підсилювати ефекти моногенних мутацій [7].

© С.М. Тимчук, М.М. Мартинюк, В.В. Поздняков, В.М. Тимчук,
О.В. Анциферова, Ю.В. Харченко, Л.Я. Харченко, 2012.
ISSN 0582-5075. Селекція і насінництво. 2012. Випуск 101.

Серед відомих крохмаль – модифікуючих мутацій кукурудзи на особливу увагу заслуговує мутація *ix*, яка викликає значне зниження активності грануло–зв’язаної крохмаль синтази, пригнічує синтез амілози і викликає утворення крохмалів, які майже повністю складаються з амілопектину [8].

Крохмалі такого типу вирізняються підвищеною атакованістю амілолітичними ферментами, досить низькими температурами початку та закінчення клейстеризації і формують високов’язкі прозорі і стабільні клейстери, стійкі до ретроградації [9, 10].

Протягом останніх 10 - 15 років в Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр’єва НААН було створено перші національні інбредні лінії восковидної кукурудзи, однак їх практичне використання в селекції стримується відсутністю відомостей про донорські властивості цих ліній за основними ознаками якості гранулярного крохмалю.

Наведені розуміння і склали підстави для проведення наших досліджень.

Метою досліджень був порівняльний генетичний аналіз основних ознак якості гранулярного крохмалю в системах регулярних схрещувань ліній кукурудзи традиційного типу і ліній - носіїв носіїв мутації *ix*.

Конкретні завдання досліджень передбачали:

- встановлення відмінностей за основними ознаками якості гранулярного крохмалю між лініями та гібридами кукурудзи традиційного типу і лініями та гібридами на основі мутації *ix*;
- аналіз характеру успадкування основних ознак якості гранулярного крохмалю і генетичних компонентів дисперсії за ними у гібридів кукурудзи традиційного типу і гібридів на основі мутації *ix*;
- визначення ефектів комбінаційної здатності ліній кукурудзи традиційного типу і ліній – носіїв мутації *ix* за основними ознаками якості гранулярного крохмалю і виділення кращих ліній та гібридів для подальшого використання в селекції.

Матеріалом для досліджень слугувала серія неспоріднених за походженням інбредних ліній кукурудзи традиційного типу і ліній – носіїв мутації *ix*. Отримання простих гібридів для проведення генетичного аналізу проводили в двох повних діалельних схемах схрещувань другого методу Гріфінга. Батьківськими формами першої схеми були 6 ліній кукурудзи традиційного типу, а другої – 6 ліній восковидної кукурудзи.

Лінії і гібриди кукурудзи вирощували в 2009 році на Устимівській дослідній станції рослинництва, яка розташована в Глобинському районі Полтавської області і належить до зони Південного Лісостепу України та в Державному підприємстві «Дослідне господарство Елітне», яке розташоване в Харківському районі Харківської області і належить до зони Східного Лісостепу України.

Польові досліді проводили згідно загальноприйнятої методики польового експерименту [11] з урахуванням зональних особливостей вирощування кукурудзи. Контроль алельного стану гену структури ендосперму *wx* здійснювали за фенотипом зерна [12].

Для визначення розмірів крохмальних гранул використовувався цифровий аналіз мікрофотографій. Для їх отримання зерно фіксувалося протягом 72 годин в суміші спирт : гліцерин : вода в співвідношенні 1:1:1 з додаванням в якості антисептику 0,01% азиду натрію, а потім розтиралось в фарфоровій ступці. Фотографування препаратів гранул виконувалося на мікроскопі "Биолам-15" (об'єктив × 40) з використанням комп'ютерної цифрової мікроскопічної відеокамери DCM-300. Розміри гранул визначали за допомогою програми цифрового аналізу зображення Score Photo. В кожному експериментальному зразку аналізували по 1500 гранул.

Вміст крохмалю в зерні визначали поляриметричним методом Еверса [13], а вміст амілози в крохмалі - колориметричним методом Juliano [14]. Вміст крохмалю в зерні обчислювали у відсотках до абсолютно сухої речовини (а.с.р.), а вміст амілози в крохмалі – у відсотках.

Отримані результати піддавали статистичній обробці методами дисперсійного та діалельного аналізу з використанням алгоритму Хеймана [15, 16].

Отримані результати показали, що за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні лінії восковидної кукурудзи наближаються до ліній традиційного типу і основною відмінністю ліній – носіїв мутації *wx* був специфічний фракційний склад крохмалю. Якщо крохмаль ліній традиційного типу містив 26-27% амілози, то у ліній восковидної кукурудзи він складав 0,7 - 0,8% (табл. 1).

Таблиця 1

Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у ліній кукурудзи на основі різних крохмаль-модифікуючих мутацій, середнє за результатами випробувань в двох екологічних зонах, 2009 р.

Типи ліній	Діаметр крохмальних гранул, мкм		Вміст крохмалю в зерні, % до а.с.р.		Вміст амілози в крохмалі, %	
	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній
Звичайний	9,6 - 10,8	10,1	63,9-66,3	64,7	26,3-27,2	26,8
Мутанти <i>wx</i>	9,2 - 10,2	9,6	63,2-65,3	64,3	0,7-0,8	0,8
НІР _{0,95}	0,3	0,5	0,9	1,1	0,6	1,1

І якщо діаметр крохмальних гранул і вміст крохмалю в зерні у неспоріднених за походженням ліній обох типів, а також вміст амілози в крохмалі різних ліній традиційного типу був досить відмінним, то різні лінії восковидної кукурудзи практично не відрізнялися між собою за вмістом амілози в крохмалі.

Отримані результати показали, що гібриди обох типів відрізняються від відповідних інбредних ліній більшим середнім діаметром крохмальних гранул і більш високим середнім вмістом крохмалю в зерні, тоді як відмінності за середнім вмістом амілози в крохмалі між лініями і гібридами кукурудзи як традиційного типу, так і восковидної кукурудзи, знаходилися на рівні похибки експерименту (табл. 2).

Таблиця 2

Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у гібридів кукурудзи на основі різних крохмаль-модифікуючих мутацій, середнє за результатами випробувань в двох екологічних зонах, 2009 р.

Типи ліній	Діаметр крохмальних гранул, мкм		Вміст крохмалю в зерні, % до а.с.р.		Вміст амілози в крохмалі, %	
	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній
Звичайний	9,8-11,3	10,4	68,5-72,3	70,4	26,1-27,0	26,6
Мутанти <i>их</i>	9,7-10,6	10,4	67,2-69,5	68,1	0,7-0,8	0,8
НІР _{0,95}	0,3	0,2	0,8	0,7	0,4	0,4

Гібриди кожного з проаналізованих типів, як і інбредні лінії, були суттєво відмінні між собою за діаметром крохмальних гранул та вмістом крохмалю в зерні, а гібриди традиційного типу – і за вмістом амілози в крохмалі. Достовірних відмінностей між різними гібридами восковидної кукурудзи за вмістом амілози в крохмалі в дослідах зареєстровано не було.

Результати дисперсійного аналізу свідчать про наявність суттєвих відмінностей між різними лініями кукурудзи обох типів за ефектами комбінаційної здатності щодо діаметру крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні. Лінії кукурудзи традиційного типу були відмінні між собою і за ефектами комбінаційної здатності щодо вмісту амілози в крохмалі.

Основний вклад до дисперсії за діаметром крохмальних гранул у обох проаналізованих типів кукурудзи вносили ефекти загальної комбінаційної здатності (ЗКЗ), а за вмістом крохмалю в зерні – ефекти специфічної комбінаційної здатності (СКЗ). У кукурудзи традиційного типу основний вклад до дисперсії за вмістом амілози в крохмалі вносили ефекти ЗКЗ (табл. 3, 4).

Таблиця 3

Результати дисперсійного аналізу комбінаційної здатності ліній кукурудзи традиційного типу за основними ознаками якості гранулярного крохмалю, розрахунковий критерій $F_{0,95}$ (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Ознаки	Джерела дисперсії		
	варіанти	ефекти ЗКЗ	ефекти СКЗ
Діаметр крохмальних гранул	9,41	26,45	3,73
Вміст крохмалю в зерні	88,78	36,56	106,19
Вміст амілози в крохмалі	4,18	14,31	0,80
$F_{0,95\text{табл.}}$	2,10	2,68	2,18

Таблиця 4

Результати дисперсійного аналізу комбінаційної здатності ліній кукурудзи - носіїв мутації *ix* за основними ознаками якості гранулярного крохмалю, розрахунковий критерій $F_{0,95}$ (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Ознаки	Джерела дисперсії		
	варіанти	ефекти ЗКЗ	ефекти СКЗ
Діаметр крохмальних гранул	42,13	62,94	35,20
Вміст крохмалю в зерні	59,30	24,85	70,78
Вміст амілози в крохмалі	1,84	2,55	1,61
$F_{0,95\text{табл.}}$	2,10	2,68	2,18

Серед ліній кукурудзи традиційного типу найбільш високими ефектами ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул в наших дослідях вирізнялися лінії А-619 та Т-22, а найбільш широкими варіансами СКЗ – лінії А-619 та В-37. Найбільш високі ефекти ЗКЗ і найбільш широкі варіанси СКЗ за вмістом крохмалю в зерні проявили лінії А-619 та Т-22. Найбільш високі ефекти ЗКЗ за вмістом амілози в крохмалі були властиві лініям В-37 та Т-22, тоді як варіанси СКЗ за цією ознакою у ліній традиційного типу були дуже низькими і мало відмінними (табл. 5).

Загальна оцінка генетичних компонентів дисперсії свідчить, що успадкування діаметру крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні гібридами традиційного типу здійснюється за типом позитивного наддомінування, а успадкування вмісту амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим вкладом до дисперсії аддитивних ефектів.

Таблиця 5

Комбінаційна здатність ліній кукурудзи традиційного типу і генетичні компоненти дисперсії за основними ознаками якості гранулярного крохмалю, середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.

Лінії	Діаметр крохмальних гранул		Вміст крохмалю в зерні		Вміст амілози в крохмалі	
	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ
P-165	-0,24	0,04	-0,34	1,70	-0,22	-0,01
P-346	-0,30	0,02	-0,52	2,47	0,09	-0,01
ВИР-44	-0,12	0,02	-0,27	1,77	0,00	-0,01
B-37	-0,01	0,06	-0,31	3,44	0,24	-0,01
T-22	0,19	0,02	0,21	4,25	0,15	-0,01
A-619	0,49	0,07	1,24	4,09	-0,27	0,00
НІР _{0,95}	0,17		0,32		0,16	
H1/D	1,47		34,73		0,14	
a	-0,01		-2,53		0,03	
b	0,87		0,46		0,95	

Серед ліній восковидної кукурудзи найбільш високими ефектами ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул вирізнялися лінії ВК-64 та ВК-13, а найбільш широкими варіантами СКЗ – лінії ВК-69, ВК-11 та ВК-64. Найбільш високі ефекти ЗКЗ за вмістом крохмалю в зерні проявили лінії ВК-64, ВК-69 та ВК-13, а найбільш широкі варіанси СКЗ – лінії ВК-64 та ВК-69.

Основним типом успадкування діаметру крохмальних гранул та вмісту крохмалю в зерні гібридами восковидної кукурудзи було позитивне наддомінування, тоді як за вмістом амілози в крохмалі всі гібриди цього типу були мало відмінними між собою і практично не відрізнялися від батьківських ліній (табл. 6).

Загалом, отримані в досліді результати свідчать, що у кукурудзи традиційного типу основний вклад до дисперсії за діаметром крохмальних гранул, вмістом крохмалю в зерні і амілози в крохмалі вносять ефекти полігенних комплексів. Навпаки, у восковидної кукурудзи ефекти взаємодій ген : генотип суттєві тільки за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні, а за вмістом амілози в крохмалі ефект мутації їх може бути визнано практично фіксованим.

Таблиця 6

Комбінаційна здатність ліній кукурудзи – носіїв мутації *wx* і генетичні компоненти дисперсії за основними ознаками якості гранулярного крохмалю, середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.

Лінії	Діаметр крохмальних гранул		Вміст крохмалю в зерні		Вміст амілози в крохмалі	
	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ
ВК-36	-0,26	0,07	-0,58	1,19	-0,01	-0,01
ВК-69	-0,10	0,12	0,36	1,24	-0,02	0,00
ВК-19	-0,09	0,07	-0,44	1,13	0,02	0,00
ВК-11	-0,12	0,11	-0,08	1,18	0,01	0,00
ВК-13	0,25	0,06	0,31	1,02	0,00	0,00
ВК-64	0,31	0,10	0,43	1,93	-0,01	0,00
НІР _{0,95}	0,08		0,26		0,03	
Н1/D	3,28		16,51		3,62	
a	-0,07		-1,52		-0,01	
b	0,81		0,66		0,72	

Висновки. Успадкування діаметру крохмальних гранул та вмісту крохмалю в зерні кукурудзи градиційного типу і восковидної кукурудзи здійснюється за типом позитивного наддомінування. Вміст амілози в крохмалі кукурудзи традиційного типу успадковується за типом неповного домінування із суттєвим вкладом до дисперсії адидивних ефектів. Взаємодії ген : генотип за вмістом амілози в крохмалі восковидної кукурудзи несуттєві. Ідентифіковано лінії кукурудзи традиційного типу та восковидної кукурудзи з високими ефектами комбінаційної здатності за основними ознаками якості гранулярного крохмалю.

Список використаних джерел

1. *Watson S.A. Corn marketing, processing, and utilization / S.A. Watson // Corn and Corn improvement, 3rd ed.; G.F. Sprague, J.W. Dudley Eds. - Madison, WI: American Society of Agronomy. - 1988. - P. 881-940.*
2. *Starch chemistry and technology, 3rd ed. / J.Be Miller, R.Whistler Eds. - Amsterdam – Boston – Heidelberg – London - New York – Oxford – Paris – San –Diego – San Francisco – Singapore : Acad. Press, Elsevier Publ. - 2009 - 900 p.*

3. *Андреев Н.Р.* Основы производства нативных крахмалов (научные аспекты) / Н.Р.Андреев. - М.: Пищепромиздат, 2001. - 289 с.
4. *Coe E., Polacco M.* Maize gene list and working maps / E. Coe, M. Polacco // *Maize Genet. Newslett.* - 1994. - V.68. - P. 156-191.
5. *Wang Y. J.* Thermal and gelling properties of maize mutants from the Oh43 inbred line / Y. J. Wang, P. White, L. Pollak // *Cereal Chem.* – 1992. - V. 69. – P. 328-334.
6. Characterization of starch structures of 17 maize endosperm mutant genotypes with Oh43 inbred line background / [Y. J. Wang, P. White, L. Pollack, J.-L. Jane] // *Cereal Chem.* – 1993. – V. 70. – P. 171-179.
7. Quantitative trait loci affecting amylose, amylopectin and starch content in maize recombinant inbred lines / M. Sene, M.Causse, C. Damerval [et al.] // *Plant Physiol.Biochem.* – 2000. – V. 38. – P. 459-472.
8. *Nelson O. E.* Starch synthesis in maize endosperm / O. E. Nelson, D. Pan // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1995. – V. 46. – P. 475-496.
9. *Fuwa H.* Comparative susceptibility to amylases of starches from different plant species and several single endosperm mutants and their double-mutant combinations with opaque-2 inbred Oh43 maize / H. Fuwa, M. Nakajima, A. Hamada // *Cereal Chem.* – 1977. - V. 54. - P. 230-237.
10. *Shi Y. C.* The structure of four waxy starches related to gelatinization and retrogradation / Y. C. Shi, P. Seib // *Carbohydr. Res.* - 1992. - v. 227. - P. 131-145.
11. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. – М. : Агропромиздат, 1985. – 351 с.
12. *Neuffer M. G.* Mutants of maize / M. G. Neuffer, E. H. Coe, S. R. Wessler. – Cold Spring Harbor, NY : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. – 468 p.
13. Методы биохимического исследования растений/ под ред. А. И.Ермакова. – Л. :Агропромиздат, 1987. – 430 с.
14. *Juliano B. O.* A simplified assay for milled-rice amylase / B. O. Juliano // *Cereal Sci. Today.* – 1971. – V. 16. – P. 334-340.
15. *Лакин Г. Ф.* Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М : Высшая школа, 1973. – 343 с.
16. *Литун П. П.* Генетика количественных признаков. Генетические скрещивания и генетический анализ / П. П. Литун, Н. В. Проскурнин. - Киев: УМК ВО, 1992. - 96 с.

Установлено, что диаметр крахмальных гранул и содержание крахмала в зерне зубовидной и восковидной кукурузы наследуются по типу положительного сверхдоминирования, а содержание амилозы в

крахмале зубовидной кукурузы – по типу неполного доминирования с существенным вкладом в дисперсию аддитивных эффектов. Взаимодействия ген : генотип по содержанию амилозы в крахмале восковидной кукурузы были несущественными. Идентифицированы линии зубовидной и восковидной кукурузы с высокими эффектами комбинационной способности по основным признакам качества гранулярного крахмала.

It have been established that the starch granules's diameter and starch content in the grain of dent and waxy maize were inherited as the type of positive over-dominance, whereas the content of amylose in the starch of dent maize – as the type of incomplete dominance with the significant contribution of additive effects to the variance. The interactions gene : genotype for the amylose content in the starch of waxy maize were insignificant. The in-breds of dent and waxy maize with the high effects of combining ability for the general characters of granular starch quality were identified.