

***ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОСНОВНИХ ОЗНАК ЯКОСТІ ГРАНУЛЯРНОГО КРОХМАЛЮ У КУКУРУДЗИ НА ОСНОВІ МУТАЦІЇ  $su_1$***

---

С. М. Тимчук<sup>1</sup>, М. М. Мартинюк<sup>1</sup>, В. В. Поздняков<sup>1</sup>, В. М. Тимчук<sup>1</sup>,  
О. В. Анциферова<sup>1</sup>, Ю. В. Харченко<sup>2</sup>, Л. Я. Харченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН

<sup>2</sup> Устимівська дослідна станція рослинництва

Встановлено, що основні ознаки якості гранулярного крохмалю у носіїв ендоспермової мутації кукурудзи  $su_1$  мають кількісну природу і суттєво залежать від взаємодій ген : генотип. Діаметр крохмальних гранул і вміст крохмалю в зерні носіїв мутації  $su_1$  успадковуються за типом позитивного наддомінування, а вміст амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим вкладом до дисперсії адитивних ефектів. Виділено лінії - носії мутації  $su_1$  з високими ефектами комбінаційної здатності за основними ознаками якості гранулярного крохмалю.

*Кукурудза, мутант  $su_1$ , якість гранулярного крохмалю, генетичний аналіз*

**Вступ.** Кукурудзяний крохмаль є одним з найбільш поширених видів рослинної біосировини і широко використовується в харчових, фармацевтичних та технічних виробництвах [1, 2]. Однак якість кукурудзяного крохмалю далеко не завжди задовольняє специфічні вимоги цих виробництв і потребує поліпшення, найбільш результативним і економічно вигідним методом якого вважається генетичне поліпшення [3].

Відомо, що кукурудза серед культурних рослин вирізняється найбільш широким генетичним різноманіттям за вуглеводним складом зерна, яке може бути з успіхом використане в селекції [4, 5]. На даний час у кукурудзи ідентифіковано серію моногенних мутацій, які викликають суттєвий ефект за вмістом та фракційним складом крохмалю [6, 7] і встановлено, що цей ефект супроводжується зміненням морфології крохмальних гранул і технологічних властивостей крохмалю [8, 9].

Серед відомих крохмаль – модифікуючих мутацій кукурудзи на практичну увагу заслуговує, зокрема, мутація  $su_1$ , яка значно знижує активність крохмаль – дерозгалужуючого ферменту, пригнічує утворення амілопектину і підвищує вміст водорозчинних полісахаридів і цукрози в зерні та амілози в крохмалі [10].

Однак, незважаючи на проведені до цього часу дослідження, характер успадкування основних ознак якості гранулярного крохмалю у носіїв мутації *su<sub>1</sub>* не встановлено і це обмежує оцінку перспектив їх використання при створенні джерел високоякісної крохмаленої сировини.

Наведені розуміння і склали підстави для проведення наших досліджень.

**Мета і завдання досліджень.** Метою досліджень був генетичний аналіз основних ознак якості гранулярного крохмалю в системах регулярних схрещувань ліній кукурудзи - носіїв мутації *su<sub>1</sub>*.

Конкретні завдання досліджень передбачали:

встановлення ефекту мутації *su<sub>1</sub>* за основними ознаками якості гранулярного крохмалю у ліній та гібридів кукурудзи;

аналіз характеру успадкування основних ознак якості гранулярного крохмалю і генетичних компонентів дисперсії у носіїв мутації *su<sub>1</sub>*;

визначення ефектів комбінаційної здатності ліній кукурудзи – носіїв мутації *su<sub>1</sub>* за основними ознаками якості гранулярного крохмалю і виділення кращих ліній для подальшого використання в селекції.

**Матеріал і методи досліджень.** Матеріалом для досліджень послугували шість неспоріднених за походженням інбредних ліній кукурудзи – носіїв мутації *su<sub>1</sub>* і серія простих гібридів, отриманих при їх діалельних схрещуваннях за другим методом Гріфінга. Контролями в експерименті були шість ліній та 15 простих гібридів кукурудзи традиційного типу.

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.

При визначенні 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, а вміст амілози в крохмалі - колориметричним методом В. О. Juliano [12]. 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 [13, 14].

**Результати та їх обговорення.** Отримані результати показали, що за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні ліній – носії мутації  $su_1$  значно поступаються лініям традиційного типу, а за вмістом амілози в крохмалі – переважають їх (табл. 1).

Таблиця 1

Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у ліній кукурудзи традиційного типу і ліній – носіїв мутації  $su_1$  (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
Традиційний	9,6 - 10,8	10,1	63,9-66,3	64,7	26,3-27,2	26,8
Мутанти $su_1$	4,8 – 5,4	5,2	36,7-39,0	37,7	31,9-33,6	32,7
НР $_{0,95}$	0,3	0,4	0,7	0,9	0,4	0,8

Схожі відмінності носіїв мутації  $su_1$  від кукурудзи традиційного типу зареєстровано і у гібридів.

Отримані результати свідчать, 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 кукурудзи на основі мутації  $su_1$  несуттєві.

В ході виконання дослідів було також встановлено, що основні ознаки якості гранулярного крохмалю і у ліній і у гібридів – носіїв мутації  $su_1$  мають кількісну природу і відрізняються досить широкою мінливістю. У неспоріднених за походженням ліній – носіїв мутації  $su_1$  коливання діаметру крохмальних гранул становило 0,6 %, вмісту крохмалю в зерні – 2,3 %, вмісту амілози в крохмалі – 1,7 %, а у гібридів – відповідно 0,8 %, 0,9 % та 1,3 % (табл. 2).

Таким чином, отримані результати показали, що гібриди – носії мутації  $su_1$  відрізняються від ліній на основі цієї мутації більш широкою мінливістю за діаметром крохмальних гранул та вмістом крохмалю в зерні і більш вузькою мінливістю за вмістом амілози в крохмалі.

Результати дисперсійного аналізу свідчать про наявність суттєвих відмінностей між різними лініями – носіями мутації  $su_1$  за ефектами комбінаційної здатності щодо основних ознак якості гранулярного крохмалю (табл. 3).

Таблиця 2

Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у гібридів кукурудзи традиційного типу і гібридів – носіїв мутації  $su_1$  (середнє за результатами випробувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Типи гібридів	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
Традиційний	9,8-11,3	10,4	68,5-72,3	70,4	26,1-27,0	26,6
Мутанти $su_1$	5,0-5,8	5,5	37,2-41,1	39,7	32,0-33,3	32,5
НР <sub>0,95</sub>	0,2	0,2	0,7	0,7	0,4	0,3

Основний вклад до дисперсії за цими ознаками вносили ефекти загальної комбінаційної здатності (ЗКЗ). Ефекти специфічної комбінаційної здатності (СКЗ) у ліній – носіїв мутації  $su_1$  були значно меншими, а за вмістом амілози в крохмалі – і взагалі несуттєвими.

Таблиця 3

Результати дисперсійного аналізу комбінаційної здатності ліній кукурудзи-носіїв мутації  $su_1$  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	
	ефекти ЗКЗ	ефекти СКЗ
Діаметр крохмальних гранул	73,16	15,64
Вміст крохмалю в зерні	72,58	30,43
Вміст амілози в крохмалі	25,79	2,00
$F_{0,95\text{табл.}}$	2,68	2,18

Серед проаналізованих в дослідах ліній – носіїв мутації  $su_1$  найбільш високі ефекти ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні показали лінії МС - 401 та МС - 266, а найбільш високі ефекти ЗКЗ за вмістом амілози в крохмалі – лінії МС - 11 та МС – 73 (табл. 4).

Варіанс СКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом амілози в крохмалі у всіх проаналізованих ліній були дуже низькими і мало відмінними між собою. Відмінності між варіансами СКЗ у різних ліній – носіїв мутації  $su_1$  за вмістом крохмалю в зерні були виражено у значно більшому ступені і найбільш широкі варіанси СКЗ за цією ознакою проявили лінії МС-11 та МС-266.

Загальна оцінка генетичних компонентів дисперсії свідчить, що успадкування діаметру крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні гібридами – носіями мутації  $su_1$  здійснюється за типом позитивного наддомінування, а успадкування вмісту амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим вкладом до дисперсії адитивних ефектів.

Таблиця 4

Комбінаційна здатність ліній кукурудзи – носіїв мутації  $su_1$  і генетичні компоненти дисперсії за основними ознаками якості гранулярного крохмалю (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань у 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
МС-11	-0,17	0,02	-0,58	1,17	0,31	0,07
МС-270	-0,04	0,00	-0,28	0,50	0,09	-0,02
МС-713	0,07	0,01	0,09	0,67	-0,12	-0,01
МС-401	0,16	0,02	0,94	0,91	-0,42	0,02
МС-266	0,15	0,02	0,74	1,02	-0,18	0,05
МС-73	-0,18	0,01	-0,92	0,30	0,31	-0,02
НІР <sub>0,95</sub>	0,05		0,25		0,17	
Н1/D	1,93		6,76		0,50	
a	-0,01		-0,57		0,01	
b	0,85		0,68		0,78	

Зареєстрована в дослідях кількісна мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у носіїв мутації  $su_1$  може бути викликана трьома можливими чинниками.

Першим з них є ґрунтово – кліматичні умови вирощування [15]. Як свідчать отримані результати, в більш сприятливих умовах вирощування, які склалися в 2009 році на Устимівській дослідній станції рослинництва, у переважної більшості ліній та гібридів – носіїв мутації  $su_1$  спостерігався більший діаметр крохмальних гранул, більш високий вміст крохмалю в зерні і більш низький вміст амілози в крохмалі, ніж у ліній та гібридів, які вирощувалися в Дослідному господарстві "Елітне".

Поряд з цим, отримані результати показали, що ефект ендоспермової мутації  $su_1$  за проаналізованими ознаками значно суттєвішим, ніж вплив ґрунтово – кліматичних умов вирощування.

Другим чинником, який викликає кількісну мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у носіїв мутації  $su_1$ , може бути множинний аелізм в цьому локусі [16]. Однак при оцінках значущості цього чиннику слід враховувати, що при створенні всіх використаних в наших дослідях ліній було застосовано лише один мутантний аелель  $su_1$ . Тому ми не вбачаємо можливості пояснення кількісної мінливості ознак якості гранулярного крохмалю саме ефектом множинного аелізму.

Нарешті, третім, найбільш вірогідним чинником кількісної мінливості ознак якості гранулярного крохмалю є ефекти полігенних комплексів,

суттєвість яких показано в регуляції як діаметру крохмальних гранул, так і вмісту крохмалю в зерні і амілози в крохмалі [17-18]. Результати проведених нами досліджень свідчать, що ці ефекти можуть викликати власну дисперсію за ознаками якості гранулярного крохмалю і модифікувати ефект моногенної ендоспермової мутації *su<sub>1</sub>*.

**Висновки.** Основні ознаки якості гранулярного крохмалю у носіїв ендоспермової мутації кукурудзи *su<sub>1</sub>* мають кількісну природу і суттєво залежать від взаємодій ген : генотип. Діаметр крохмальних гранул і вміст крохмалю в зерні носіїв мутації *su<sub>1</sub>* успадковуються за типом позитивного наддомінування, а вміст амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим вкладом до дисперсії адитивних ефектів. Виділено лінії - носії мутації *su<sub>1</sub>* з високими ефектами комбінаційної здатності за основними ознаками якості гранулярного крохмалю.

### Список використаних джерел

1. Roper H. Starch: present use and future utilization / H. Roper // Carbohydrates as organic raw material; H.Roper, F.Voragen Eds. – Wageningen : Carbohydr. Res. Assoc., 1996. – P. 17-35.
2. Starch chemistry and technology, 3<sup>rd</sup> 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. White P. J. Properties of corn starch / P. J. White // Specialty Corns; A. R. Hallauer Ed. – Boca Raton – London – New –York – Washington, D.C. : CRC Press, 2001. – P. 41-70.
4. Pollak L. M. Breeding for grain quality traits / L. M. Pollak, M. P. Scott // Maydica. - 1995. - Vol.50. - P. 247-257.
5. Genetic diversity and selection in the maize starch pathway / S. R. Whitt, L. M. Wilson, M. I. Tenailon [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99. – P. 12959-12962.
6. 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.
7. Boyer C. D. Kernel mutants of corn / C. D. Boyer, L. C. Hannah // Specialty Corns; A.R. Hallauer Ed. – Boca Raton – London – New-York – Washington, D.C. : CRC Press, 2001. – P. 10-40.
8. Wang Y. J. Thermal and gelling properties of maize mutants from the OH-43 inbred line / Y. J. Wang, P. White, L. Pollak // Cereal Chem. – 1992.- V.69. – P.328-334.
9. 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. – Vol. 70. – P. 171-179.
10. James M. G. Characterization of the maize gene sugary-1, a determinant of starch composition in kernels / M. G. James, D. S. Robertson, A. M. Myers // Plant Cell. - 1995. - Vol.7. - P. 417 – 429.

11. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. – М.: Агрпромиздат, 1985. – 351 с.
12. Методы биохимического исследования растений / [под ред. А. И. Ермакова]. – Л.: Агрпромиздат, 1987. – 430 с.
13. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
14. Литун П. П. Генетика количественных признаков. Генетические скрещивания и генетический анализ / П. П. Литун, Н. В. Проскурнин. - Киев: УМК ВО, 1992.- 96 с.
15. Maize starch fine structures affected by ear developmental temperature / [ T.-J. Lu, J.-L. Jane, P. L. Keeling, G. W. Singletary] // Carbohydr. Res. – 1996. – Vol.282. – P. 157 – 170.
16. Molecular structure of three mutations at the maize sugary-1 locus and their allele – specific phenotypic effects / [ J. R. Dinges, C. Colleoni, A. M. Myers, M. G. James] // Plant Physiol. – 2001. – Vol. 125. – P. 1406 – 1418.
17. 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. – Vol. 38. – P. 459-472.
18. Wilson J. A. Genetic effects of the soft starch (h) and background loci on volume of starch granules in five maize inbreds / J. A. Wilson, D. V. Glover, W. E. Nyquist // Plant Breed. - 2000.- Vol. 119. - P. 173-176.

Установлено, что основные признаки качества гранулярного крахмала у носителей эндоспермной мутации кукурузы  $su_1$  имеют количественную природу и существенно зависят от взаимодействий ген : генотип. Диаметр крахмальных гранул и содержание крахмала в зерне носителей мутации  $su_1$  наследуется по типу положительного сверхдоминирования, а содержание амилозы в крахмале – по типу неполного доминирования с существенным вкладом в дисперсию аддитивных эффектов. Выделены линии – носители мутации  $su_1$  с высокими эффектами комбинационной способности по основным признакам качества гранулярного крахмала.

It have been established that the general characters of granular starch quality in the carriers of maize endospermic mutation  $su_1$  were notable as having the quantitative nature an depended under the gene: genotype interactions. Starch granules's diameter and starch content in the grain of the carriers of mutation  $su_1$  were inherited as the type of positive over-dominance, whereas the content of amylose in the starch – as the type of incomplete dominance with the significant contribution of additive effects to the variance. The inbreds – carriers of mutation  $su_1$  with the high effects of combining ability for the general characters of granular starch quality were identified.