

УДК 633.15:631.523/527
© 2012

*Тимчук С. М., кандидат біологічних наук,
Мартинюк М. М., пошукач,
Поздняков В. В., кандидат біологічних наук,
Тимчук В. М., кандидат сільськогосподарських наук,
Анциферова О. В., молодший науковий співробітник*
Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН

*Харченко Ю. В., кандидат сільськогосподарських наук,
Харченко Л. Я., науковий співробітник*
Устимівська дослідна станція рослинництва

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОСНОВНИХ ОЗНАК ЯКОСТІ ГРАНУЛЯРНОГО КРОХМАЛЮ У КУКУРУДЗИ НА ОСНОВІ МУТАЦІЇ SU_2

Рецензент – кандидат сільськогосподарських наук І. А. Панченко

Встановлено, що основні ознаки якості гранулярного крохмалю у кукурудзи на основі мутації SU_2 мають кількісну природу. Інбредні лінії на основі цієї мутації досить відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо діаметра крохмальних гранул, вмісту крохмалю в зерні та амілози в крохмалі. Діаметр крохмальних гранул і вміст крохмалю в зерні успадковувалися носіями мутації SU_2 за типом позитивного наддомінування, а вміст амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим внеском до дисперсії адитивних ефектів.

Ключові слова: кукурудза, мутанти SU_2 , якість гранулярного крохмалю, генетичний аналіз.

Постановка проблеми. Кукурудза є провідним джерелом зернового крохмалю, що широко використовується в харчовій, фармацевтичній і технічних галузях промисловості [11]. Однак якість крохмалю кукурудзи традиційного типу, зазвичай, не задовольняє специфічних вимог промислових виробництв і потребує поліпшення, найбільш результативним і економічно вигідним методом якого вважається використання біохімічного ефекту ендоспермових мутацій [14].

Аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. На даний час у кукурудзі ідентифіковано серію моногенних мутацій, що викликають утворення крохмалів із високими частками амілози або амілопектину [5]. Крім того встановлено, що цей ефект супроводжується суттєвими змінами морфології крохмальних гранул і технологічних властивостей крохмалю [12, 13]. З іншого боку, відомо, що основні ознаки якості гранулярного крохмалю можуть контролюватися й полігенни-

ми комплексами, здатними викликати власну дисперсію за цими ознаками, а можливо, і підсилювати ефекти моногенних мутацій [10, 15].

Серед відомих крохмаль-модифікуючих мутацій кукурудзи на практичну увагу заслуговує, зокрема, мутація SU_2 , яка викликає значне зниження активності розчинної крохмаль-синтази [16], пригнічує синтез амілопектину і викликає утворення крохмалів із підвищеним вмістом амілози [9].

Крохмалі такого типу вирізняються скороченою тривалістю клейстеризації, високими структурно-механічними властивостями гелів, підвищеною атакованістю амілолітичними ферментами і тому можуть знайти широке промислове застосування [6, 8].

До останнього часу створення гібридів кукурудзи на основі мутації SU_2 в Україні не здійснювалося; його необхідною умовою є наявність надійного вихідного матеріалу для селекції. Протягом останніх 15-ти років в Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН було створено перші національні інбредні лінії кукурудзи – носії мутації SU_2 , однак їх практичне використання стримується відсутністю відомостей про донорські властивості цих ліній за основними ознаками якості гранулярного крохмалю.

Вищезначене й стало підставою для проведення наших досліджень.

Мета і завдання досліджень. Метою досліджень був генетичний аналіз основних ознак якості гранулярного крохмалю в системі діалельних схрещувань ліній – носіїв мутації SU_2 .

Конкретні завдання досліджень передбачали:

- встановлення відмінностей за основними ознаками якості гранулярного крохмалю між лініями та гібридами кукурудзи традиційного типу

і лініями та гібридами, створеними на основі мутації SU₂;

- аналіз характеру успадкування основних ознак якості гранулярного крохмалю і генетичних компонентів дисперсії у кукурудзи на основі мутації SU₂;

- визначення ефектів комбінаційної здатності ліній-носіїв мутації SU₂ за основними ознаками якості гранулярного крохмалю і виділення кращих ліній та гібридів для подальшого використання в селекції.

Матеріал і методи досліджень. Матеріалом для досліджень стала серія неспоріднених за походженням інбредних ліній – носіїв мутації SU₂. Створення простих гібридів для проведення генетичного аналізу проводили в системі діалельних схрещувань другого методу Гріфінга за участі шести ліній-носіїв мутації SU₂, відібраних внаслідок попереднього вивчення за сукупністю основних господарськи цінних ознак.

Лінії і гібриди кукурудзи вирощували в 2009 році на Устимівській дослідній станції рослинництва, розташованій у зоні південного лісостепу України та в дослідному господарстві «Елітне», яке розташоване в зоні східного лісостепу України. Польові досліді проводили згідно з загальноприйнятою методикою польового експерименту [1] з урахуванням зональних особливостей вирощування кукурудзи. Для аналізу використовували матеріал виключно від контрольного запилення.

Визначення розмірів крохмальних гранул здійснювали на мікроскопі «Биолам-15» із комп'ютерною мікроскопічною відеокамерою DCM-300 за допомогою програми цифрового аналізу зображення Scope Photo.

Вміст крохмалю в зерні визначали поляриметричним методом Еверса [4], а вміст амілози в крохмалі – колориметричним методом В. О. Juliano [7]. 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, кореляційного та діалельного аналізу з використанням алгоритму Хеймана [2, 3].

Результати досліджень. Отримані результати показали, що за середнім діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні лінії та гібриди-носії мутації SU₂ поступаються лініям і гібридам традиційного типу, а за вмістом амілози в крохмалі перевищують їх. Гібриди обох типів відрізнялися від відповідних інбредних ліній більшим середнім діаметром крохмальних гранул і більш високим середнім вмістом крохмалю в зерні, тоді як відмінності між лініями та гібридами як звичайної кукурудзи, так і кукурудзи на основі мутації SU₂ були несуттєвими. До того ж лінії і гібриди обох типів проявляли кількісну мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю (табл. 1, 2).

1. Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у ліній кукурудзи звичайного типу і ліній-носіїв мутації SU₂ (середнє за результатами випробувань у 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 |
| Звичайні | 9,6–10,8 | 10,1 | 63,9–66,3 | 64,7 | 26,3–27,2 | 26,8 |
| Носії мутації SU ₂ | 7,5–8,0 | 7,7 | 56,6–58,3 | 57,5 | 40,5–42,3 | 41,2 |
| НІР _{0,95} | 0,3 | 0,5 | 0,8 | 0,9 | 0,5 | 1,0 |

2. Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у гібридів кукурудзи звичайного типу і гібридів-носіїв мутації SU₂ (середнє за результатами випробувань у 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 |
| Звичайні | 9,8–11,3 | 10,4 | 68,5–72,3 | 70,4 | 26,1–27,0 | 26,6 |
| Носії мутації su ₂ | 7,9–8,5 | 8,2 | 61,5–63,2 | 62,5 | 40,7–42,1 | 41,2 |
| НІР _{0,95} | 0,3 | 0,2 | 0,8 | 0,7 | 0,4 | 0,3 |

3. Результати дисперсійного аналізу комбінаційної здатності ліній кукурудзи – носіїв мутації SU_2 за основними ознаками якості гранулярного крохмалю, розрахунковий критерій F (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань у двох екологічних зонах, 2009 р.)

| Ознаки | Ефекти ЗКЗ | Ефекти СКЗ |
|----------------------------|------------|------------|
| Діаметр крохмальних гранул | 10,7 | 20,7 |
| Вміст крохмалю в зерні | 7,1 | 94,1 |
| Вміст амілози в крохмалі | 23,2 | 0,7 |
| $F_{0,95}$ табл. | 2,7 | 2,2 |

4. Комбінаційна здатність ліній кукурудзи – носіїв мутації SU_2 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, мкм | | Вміст крохмалю в зерні, % до а.с.р. | | Вміст амілози в крохмалі, % | |
|-------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------------|--------------|-----------------------------|--------------|
| | ефекти ЗКЗ | варіанси СКЗ | ефекти ЗКЗ | варіанси СКЗ | ефекти ЗКЗ | варіанси СКЗ |
| АС-52 | -0,02 | 0,03 | -0,20 | 2,38 | 0,08 | -0,02 |
| АС-32 | 0,11 | 0,02 | 0,29 | 2,00 | -0,32 | -0,02 |
| АС-16 | -0,06 | 0,03 | -0,15 | 1,23 | -0,14 | 0,00 |
| АС-13 | 0,08 | 0,03 | 0,37 | 2,12 | -0,15 | -0,03 |
| АС-28 | -0,07 | 0,04 | -0,08 | 2,42 | -0,07 | -0,01 |
| АС-37 | -0,05 | 0,06 | -0,24 | 3,12 | 0,60 | 0,02 |
| $HP_{0,95}$ | 0,03 | | 0,29 | | 0,20 | |
| Н1/D | 9,85 | | 44,37 | | 0,15 | |
| A | -0,02 | | -1,67 | | 0,08 | |
| B | 0,54 | | 0,40 | | 0,84 | |

Встановлено наявність суттєвих відмінностей між різними лініями-носіями мутації SU_2 за ефектами комбінаційної здатності щодо діаметра крохмальних гранул, а також вмісту крохмалю в зерні й амілози в крохмалі. Переважний внесок до дисперсії за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні вносили ефекти специфічної (СКЗ), а за вмістом амілози в крохмалі суттєвими були тільки ефекти загальної (ЗКЗ) комбінаційної здатності (табл. 3).

Найбільш високими ефектами ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні вирізнялися лінії АС-32 та АС-13, а за вмістом амілози в крохмалі – лінія АС-37 (табл. 4).

Усі варіанси СКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом амілози в крохмалі в проаналізованому експериментальному комплексі були низькими і маловідмінними. Навпаки, відмінності різних ліній за варіансами СКЗ щодо вмісту крохмалю в зерні було виражено у значно більшому ступені. Найбільші варіанси СКЗ за вмістом крохмалю в зерні зареєстровано у ліній АС-37, АС-28 та АС-52.

Окремим лініям було властиве поєднання високої комбінаційної здатності за кількома ознаками якості гранулярного крохмалю. Зокрема,

лінії АС-32 та АС-13 поєднували високі ефекти ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні, а лінія АС-37 – високий ефект ЗКЗ за вмістом амілози в крохмалі з широкою варіансою СКЗ за вмістом крохмалю в зерні.

Загальна оцінка генетичних компонентів дисперсії свідчить, що системи генетичної регуляції діаметра крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні у носіїв мутації SU_2 не цілком адекватні аддитивно-домінантній моделі Хеймана, тоді як система генетичної регуляції вмісту амілози в крохмалі наближається до неї.

Отримані результати показали також, що успадкування діаметра крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні здійснюється за типом позитивного наддомінування, а успадкування вмісту амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим внеском до дисперсії аддитивних ефектів.

Результати кореляційного аналізу свідчать: у ліній і у гібридів на основі мутації SU_2 діаметр крохмальних гранул позитивно корелює зі вмістом крохмалю в зерні ($r = 0,65-0,70$). У ліній-носіїв цієї мутації вміст амілози в крохмалі негативно корелював і з діаметром крохмальних гранул ($r = -0,76$), і зі вмістом крохмалю в зерні

($r = -0,79$), тоді як у гібридів обидві ці кореляції були несуттєвими. Це може розглядатись як свідчення того, що внаслідок схрещувань між собою неспоріднених за походженням ліній-носіїв мутації SU_2 виникає можливість поєднання у гібридів підвищеного вмісту амілози в крохмалі з підвищеним діаметром крохмальних гранул та вмістом крохмалю в зерні. В проаналізованому нами експериментальному комплексі достатньо високі рівні всіх цих ознак поєднували, зокрема, гібриди АС-32 × АС-37 та АС-28 × АС-37.

У цілому результати проведених досліджень підтверджують висновки інших авторів [6, 7] про суттєву роль полігенних комплексів у р свідчать, що використання ефектів взаємодій

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. – М. : Агропромиздат, 1985. – 351 с.
2. Лакін Г. Ф. Биометрия. – М. : Высшая школа, 1973. – 343 с.
3. Литун П. П., Проскурнин Н. В. Генетика количественных признаков. Генетические скрещивания и генетический анализ. – К. : УМК ВО, 1992. – 96 с.
4. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. – Л. : Агропромиздат, 1987. – 430 с.
5. Coe E., Polacco M. Maize gene list and working maps // Maize Genet. Newslett. – 1994. – V. 68. – P. 156–191.
6. Gerard C., Colonna P., Buleon A., Planchot V. Amylolysis of maize mutant starches // J. Sci. Food. Agr. – 2001. – V. 81. – P. 1281–1287.
7. Juliano B. O. A simplified assay for milled-rice amylose // Cereal Sci. Today. – 1971. – V. 16. – P. 334–340.
8. Li J. C., Corke H. Physicochemical properties of maize starches expressing dull and sugary-2 mutants in different genetic background // J. Agr. Food Chem. – 1999. – V. 47. – P. 4939–4943.
9. Nelson O. E., Pan D. Starch synthesis in maize endosperm // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1995. – V. 46. – P. 475–496.
10. Sene M., Causse M., Damerval C. [et al.]. Quantitative trait loci affecting amylose, amylopectin and starch content in maize recombinant inbred lines //

ген: генотип може розглядатись як результативний метод поліпшення цих ознак у кукурудзи на основі мутації SU_2 .

Висновки. Основні ознаки якості гранулярного крохмалю у кукурудзи на основі мутації SU_2 мають кількісну природу. Інбредні лінії-носії цієї мутації досить відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо діаметра крохмальних гранул, вмісту крохмалю в зерні й амілози в крохмалі. Діаметр крохмальних гранул і вміст крохмалю в зерні успадковувалися носіями мутації SU_2 за типом позитивного наддомінування, а вміст амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим внеском до дисперсії адитивних ефектів.

- Plant Physiol. Biochem. – 2000. – V. 38. – P. 459–472.
11. 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.
12. Wang Y. J., White P., Pollak L. Thermal and gelling properties of maize mutants from the OH-43 inbred line // Cereal Chem. – 1992. – V. 69. – P. 328–334.
13. Wang Y. J., White P., Pollack L., Jane J.-L. Characterization of starch structures of 17 maize endosperm mutant genotypes with Oh43 inbred line background // Cereal Chem. – 1993. – V. 70. – P. 171–179.
14. White P. Properties of corn starch // Specialty corns, 2nd ed.; A.R. Hallauer Ed. – Boca Raton – London – New York – Washington, D.C.: CRC Press, 2001. – P. 41–70.
15. Wilson L. M., Whitt S. R., Ibanyez A. M. [et al.]. Dissection of maize kernel composition and starch production by candidate gene association // Plant Cell. – 2004. – V. 16. – P. 2719–2733.
16. Zhang X., Colleoni C., Ratushna V. [et al.]. Molecular characterization demonstrates that the Zea mays gene sugary-2 codes the starch synthase isoform SSIIa // Plant Mol. Biol. – 2004. – V. 54. – P. 865–879.