

УДК: 633.15:575.224:581.19

НАКОПИЧЕННЯ БІЛКА, ОЛІЇ ТА КРОХМАЛЮ В ДОСТИГАЮЧОМУ НАСІННІ ЕНДОСПЕРМАЛЬНИХ МУТАНТІВ КУКУРУДЗИ

І.А.Ніколенко, С.М.Тимчук

*Інститут рослинництва імені В.Я.Юр'єва УААН (Харків, Україна)
ppi@kharkov.ukrtel.net*

Визначено мінливість вмісту сухої речовини, вмісту білка, крохмалю і олії в досягаючому насінні ендоспермальних мутантів кукурудзи. Встановлено, що мутантний ген sh_2 і, в меншому ступені, su_1 , su_2 та sh_1 викликають значну репресію утворення крохмалю і підвищення вмісту білка та олії. Лінії з тотожним алельним станом генів структури ендосперму суттєво відрізняються між собою за характером накопичення і кінцевим рівнем вмісту цих сполук, тому в межах носіїв кожної мутації можлива результативна селекція на вміст білка, крохмалю та олії.

Ключові слова: *кукурудза, ендоспермальні мутації, суха речовина, вміст білка, крохмалю та олії, досягання насіння.*

Вступ

В практиці сучасних селекційно-генетичних досліджень для поліпшення якості зерна кукурудзи активно використовується біохімічний ефект мутантних генів структури ендосперму (Палий, 1989).

Переваги цього підходу полягають у тому, що моногенні природні мутації забезпечують генетичну безпеку продуктів харчування, які отримують із мутантних гібридів. По-друге, моногенні мутації успадковуються за типом менделювання, що значно спрощує цілеспрямований добір селекційно цінних генотипів. По-третє, всі ендоспермальні мутації мають надійні фенотипічні маркери алельного стану. І, нарешті, по-четверте, ефект цих генетичних факторів з успіхом може використовуватися для поліпшення тих ознак якості продукції, де використання ефекту полігенних комплексів малорезультативне. На даний час ідентифіковано і картовано більше 40 мутантних генів структури ендосперму (Сое, Поласко, 1994). Однак, суттєвий біохімічний ефект викликає лише частина з них. Відомо, наприклад, що мутанти o_2 та fl_2 відрізняються депресією утворення біологічно малоцінної фракції білка – зеїну і збільшують вміст в білку незамінних амінокислот (Wang, Larkins, 2001). Мутантні гени su_1 , sh_2 , bt_1 , bt_2 , se частково репресують утворення крохмалю і значно збільшують вміст цукрів або водорозчинних поліцукридів в зерні технічної стиглості (Whitt et al., 2002). Мутантні гени su_2 , ae та їх викликають перерозподіл співвідношення структурних сополімерів крохмалю, і їх ефект з успіхом використовується для створення кукурудзи з крохмаллями амілозного та амілопектинового типів (Ferguson, 1994). Однак, до цього часу біохімічний ефект встановлено не для всіх мутацій структури ендосперму, і не визначено експресивність цих генетичних факторів протягом розвитку насіння і в умовах різних генотипів. Ці міркування і склали передумови для виконання наших досліджень. Їх метою було визначення характеру мінливості найбільш принципових ознак якості зерна кукурудзи – вмісту білка, олії і крохмалю в досягаючому насінні носіїв різних ендоспермальних мутацій.

Методика

В якості матеріалу для досліджень було обрано по 1–3 оригінальних лінії – носії ендоспермальних мутацій o_1 , fl_1 , o_2 , su_1 , su_2 , sh_1 , sh_2 , wx та ae , які створено в Інституті рослинництва ім. В.Я.Юр'єва УААН. Контролями служили 3 лінії кукурудзи звичайного типу різного еколого-географічного походження (Т-22, А-619, Р-346). Контроль алельного стану мутантних генів структури ендосперму здійснювався за фенотипом насіння та шляхом проведення тестів на алельність з достовірними джерелами цих мутацій із генетичної колекції США. Досліди проводили протягом 2003–2004 років. Погодні умови вегетації кукурудзи за обидва роки досліджень характеризувалися підвищеною кількістю опадів порівняно із середньою багаторічною. Однак, за температурним режимом вегетації погодні умови 2004 року були більш сприятливими для вирощування кукурудзи, ніж умови 2003 року. Проби для біохімічного аналізу добиралися через кожні 10 днів, починаючи з 20-го дня після запилення. Вміст сухої речовини в насінні визначали гравіметричним методом, вміст білка в зерні – титрометричним методом К'ельдаля, олії – гравіметричним методом С.В.Рушковського після вичерпної екстракції гліцеридів петролейним ефіром, а вміст крохмалю в зерні – поляриметричним методом Еверса (Методы ..., 1987). Всі експериментальні результати обчислювали у відсотках до абсолютно сухої речовини. Експериментальні результати піддавали статистичній обробці шляхом

обчислення всіх параметрів варіаційних рядів, а також за допомогою дисперсійного аналізу з використанням пакету статистичних прикладних програм "OSGE".

Результати та обговорення

Отримані результати свідчать, що вміст сухої речовини в насінні всіх мутантів кукурудзи та звичайних ліній в ході досягання насіння постійно зростає. Однак, ефект кожного з мутантних генів був досить специфічний. Так, мутанти sh_2 та ae відрізнялися явно зниженим вмістом сухої речовини, починаючи з 30-го дня після запилення і аж до повної стиглості. Окрім того, темпи накопичення сухої речовини лініями з тотожним алельним станом генів структури ендосперму були досить суттєво відмінні між собою (табл. 1).

Таблиця 1.
Вміст сухої речовини в досягаючому насінні мутантних ліній кукурудзи, % (середнє за 2003–2004 рр.)

Назва ліній	Генотип	Днів після запилення			
		20	30	40	50
SS-41	sh_2	19,1	26,5	30,9	35,0
SS-42	sh_2	18,9	26,6	30,6	34,6
SS-47	sh_2	19,9	28,7	34,4	40,3
CS-18	sh_1	18,4	32,3	40,0	48,6
CS-19	sh_1	22,9	34,7	42,6	51,5
CS-22	sh_1	21,4	29,4	39,1	53,5
БЛ-40	o_2	18,3	35,2	48,5	53,5
БЛ-43	o_2	16,0	26,2	32,9	43,2
БЛ-44	o_2	17,5	31,9	45,3	51,0
МС-11	su_1	19,7	30,8	41,8	53,2
МС-401	su_1	18,8	33,9	40,2	52,0
МС-266	su_1	17,4	29,2	37,8	39,6
АС-11	su_2	17,4	33,6	41,6	52,2
АС-44	su_2	20,3	38,6	49,2	51,5
АС-70	su_2	18,3	36,9	42,4	51,4
ВК-13	wx	21,4	35,4	44,8	51,8
ВК-36	wx	21,9	38,0	47,5	54,5
ВК-37	wx	21,1	36,3	46,7	53,3
АЕ-392	ae	18,1	34,0	36,4	45,3
ГК-492	o_1	16,1	30,7	46,2	53,2
ГК-497	fl_1	20,2	30,5	41,8	50,3
Т-22	норма	17,7	33,7	43,7	52,7
А-619	норма	17,8	28,9	44,1	55,5
Р-346	норма	24,7	40,8	47,9	56,3
НІР ₀₅		0,3			

Вміст білка в зерні протягом розвитку насіння, навпаки, постійно знижувався, і на момент настання біологічної стиглості насіння найвищим рівнем ознаки характеризувалися всі джерела мутантного гена sh_2 , а також деякі лінії на основі мутантних генів sh_1 , su_2 та ae (табл. 2). Однак і характер накопичення білка, і його кінцевий рівень у лінії з тотожним алельним станом генів структури ендосперму суттєво коливався.

Це свідчить про вірогідну взаємодію мутантних генів з гіпотетичними полігенними комплексами і можливість виділення мутантних ліній з підвищеним вмістом білка в зерні.

Таблиця 2.

Вміст білка в досягаючому насінні мутантних ліній кукурудзи, % (середнє за 2003–2004 рр.)

Назва ліній	Генотип	Днів після запилення			
		20	30	40	50
SS-41	<i>sh</i> ₂	18,7	14,7	14,1	13,5
SS-42	<i>sh</i> ₂	17,3	14,6	13,9	13,1
SS-47	<i>sh</i> ₂	16,9	14,3	13,7	12,6
CS-18	<i>sh</i> ₁	15,1	12,1	11,3	10,1
CS-19	<i>sh</i> ₁	16,4	14,5	13,4	11,4
CS-22	<i>sh</i> ₁	15,1	11,7	11,0	9,7
БЛ-40	<i>o</i> ₂	14,6	12,4	11,5	10,5
БЛ-43	<i>o</i> ₂	13,5	12,3	11,1	10,4
БЛ-44	<i>o</i> ₂	13,8	12,2	11,1	10,3
МС-11	<i>su</i> ₁	15,0	13,7	11,6	10,3
МС-401	<i>su</i> ₁	16,1	13,0	12,2	11,1
МС-266	<i>su</i> ₁	15,0	12,7	12,2	11,4
АС-11	<i>su</i> ₂	14,0	12,7	11,5	10,6
АС-44	<i>su</i> ₂	14,9	13,4	12,6	12,2
АС-70	<i>su</i> ₂	14,2	11,4	10,7	9,9
ВК-13	<i>wx</i>	15,6	14,1	11,9	10,2
ВК-36	<i>wx</i>	14,4	13,5	12,6	10,8
ВК-37	<i>wx</i>	14,9	12,9	11,8	10,2
АЕ-392	<i>ae</i>	15,7	14,1	12,6	12,0
ГК-492	<i>o</i> ₁	14,7	13,0	11,8	10,6
ГК-497	<i>fl</i> ₁	14,4	13,6	12,0	10,9
Т-22	норма	15,4	12,1	10,2	10,2
А-619	норма	15,2	12,9	11,6	10,5
Р-346	норма	15,9	14,7	13,1	11,4
НІР ₀₅		0,4			

За вмістом олії в зерні в дослідях простежувалася тенденція до підвищення рівня ознаки протягом розвитку насіння. Однак, цей процес мав нелінійний характер, і основна частка олії накопичувалася в зерні вже на період до 40-го дня після запилення (табл. 3). Найбільш високим вмістом олії в зерні біологічної стиглості відрізнялися носії мутантних генів *sh*₂, *sh*₁, *su*₁, *wx*, *ae* та *fl*₁. Однак, отримані результати не дають підстав для висновку про плейотропний ефект мутації *wx* за вмістом олії, бо лінії восковидної кукурудзи піддавалися спеціальному генетичному поліпшенню даної ознаки. Навпаки, підвищений вміст олії в зерні носіїв мутантних генів *sh*₂, *sh*₁, *su*₁ і *ae*, вірогідніше за все, є наслідком плейотропного ефекту цих мутацій, бо викликана ними часткова репресія утворення крохмалю супроводжувалася зниженням питомої частки ендосперму і збільшенням питомої частки зародку, який містить більше 80% загального вмісту олії.

Таблиця 3.

Вміст олії в досягаючому насінні мутантних ліній кукурудзи, % (середнє за 2003–2004 рр.)

Назва ліній	Генотип	Днів після запилення			
		20	30	40	50
SS-41	<i>sh</i> ₂	6,5	9,0	11,7	12,5
SS-42	<i>sh</i> ₂	6,2	9,1	10,9	12,4
SS-47	<i>sh</i> ₂	4,9	8,2	8,8	10,1
CS-18	<i>sh</i> ₁	4,2	4,5	5,6	6,2
CS-19	<i>sh</i> ₁	5,4	6,5	7,6	8,7
CS-22	<i>sh</i> ₁	4,3	4,9	5,4	5,8
БЛ-40	<i>o</i> ₂	4,5	4,6	5,1	5,4
БЛ-43	<i>o</i> ₂	4,3	4,6	4,9	5,1
БЛ-44	<i>o</i> ₂	3,1	3,4	3,7	4,5

Продовження таблиці 3.

МС-11	su_1	4,3	6,6	7,2	7,7
МС-401	su_1	5,3	6,6	7,3	7,7
МС-266	su_1	5,0	5,4	5,6	6,7
АС-11	su_2	3,7	4,8	5,1	5,6
АС-44	su_2	4,0	4,2	5,0	5,3
АС-70	su_2	4,2	5,4	5,9	6,2
ВК-13	wx	4,6	5,0	5,3	5,6
ВК-36	wx	4,2	4,8	5,4	6,1
ВК-37	wx	4,2	4,6	5,8	6,2
АЕ-392	ae	4,6	4,9	5,7	6,0
ГК-492	o_1	4,5	4,8	5,1	5,4
ГК-497	fl_1	4,3	5,5	5,8	6,1
Т-22	норма	3,5	3,4	3,8	4,2
А-619	норма	3,6	4,2	4,7	5,0
Р-346	норма	3,3	3,9	4,6	4,8
НІР ₀₅		0,3			

Мутантний ген sh_2 викликав різку депресію утворення крохмалю, яка проявлялася вже починаючи з 30-го дня після запилення, і на момент його біологічної стиглості вміст крохмалю в насінні носіїв цієї мутації практично в 1,5 рази поступався звичайним лініям кукурудзи (табл. 4).

Таблиця 4.

Вміст крохмалю в досягаючому насінні мутантних ліній кукурудзи, % (середнє за 2003–2004 рр.)

Назва ліній	Генотип	Днів після запилення,			
		20	30	40	50
SS-41	sh_2	14,6	23,5	28,0	40,2
SS-42	sh_2	13,0	27,6	33,9	39,3
SS-47	sh_2	14,3	26,5	40,2	44,4
CS-18	sh_1	33,4	38,4	54,4	59,6
CS-19	sh_1	22,8	44,8	48,1	53,3
CS-22	sh_1	22,8	43,4	53,7	58,7
БЛ-40	o_2	43,3	56,5	61,8	65,1
БЛ-43	o_2	50,0	57,1	62,3	65,7
БЛ-44	o_2	41,6	51,2	60,9	63,8
МС-11	su_1	18,7	29,9	52,8	56,5
МС-401	su_1	18,4	29,8	49,6	55,9
МС-266	su_1	19,9	31,9	55,4	57,8
АС-11	su_2	36,6	48,7	51,0	61,5
АС-44	su_2	40,0	47,5	53,2	58,5
АС-70	su_2	44,1	53,0	56,4	59,7
ВК-13	wx	39,9	53,1	60,2	64,3
ВК-36	wx	43,7	51,4	57,3	62,9
ВК-37	wx	46,9	54,2	60,0	64,5
АЕ-392	ae	22,6	43,8	47,3	58,2
ГК-492	o_1	29,6	47,3	56,1	67,2
ГК-497	fl_1	34,4	51,7	61,4	64,9
Т-22	норма	37,4	53,0	63,3	66,5
А-619	норма	36,6	56,9	64,4	66,4
Р-346	норма	47,1	58,0	62,7	67,2
НІР ₀₅		1,4			

Дещо меншою депресією утворення крохмалю відрізнялися носії мутацій sh_1 , su_1 , su_2 , ae , o_1 , o_2 та fl_1 . Але якщо знижений вміст крохмалю в насінні мутацій o_1 , o_2 та fl_1 , скоріше всього, пов'язаний з утворенням розрідженої консистенції ендосперму, то у мутацій sh_2 , su_1 , su_2 та ae його можна розглядати як наслідок безпосереднього ефекту, що викликають ці мутантні гени.

Таким чином, вміст сухої речовини, білка, олії та крохмалю в достигаючому насінні ендоспермальних мутантів кукурудзи характеризується широкою мінливістю, пов'язаною з ефектом цих мутантних генів. В процесі досягання насіння у всіх мутантів та звичайних ліній кукурудзи спостерігалось підвищення вмісту сухої речовини та крохмалю і зниження вмісту білка.

Вміст олії в зерні теж підвищувався, але досягав максимуму вже на 40–45 день після запилення. Мутації sh_2 і, в меншому ступені, su_1 , sh_1 , su_2 викликали часткову депресію утворення крохмалю. Тому отримані результати підтверджують доцільність використання мутацій sh_2 та su_1 в селекції цукрової кукурудзи. Однак, якщо носії мутації sh_2 та su_1 повинні піддаватися селекції на знижений вміст крохмалю, то носії мутації su_2 – на підвищений. Існування взаємодій ген : генотип для цих мутацій підтверджує таку можливість.

Список літератури

Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И.Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430с.

Палий А.Ф. Генетические аспекты улучшения качества зерна кукурузы. – Кишинёв: Штиинца, 1989. – 175с.

Coe E., Polacco M. Gene list and working maps // Maize Genet. Newslett. – 1994. – Vol.68. – P.157–191.

Ferguson V.L. High amylose and waxy corns // Specialty corns. – A.R.Hallauer Ed. – CRC Press: Boca Raton, Fl., 1994. – P. 55–57.

Wang X., Larkins B.A. Genetic analysis of amino acid accumulation in opaque-2 maize endosperm // Plant Physiol. – 2001. – Vol.125. – P. 1766–1777.

Whitt S.R., Wilson L.M., Tenailon M.J. et al. Genetic diversity and selection in the maize starch pathway // PNAS. – 2002. – Vol.99, №20. – P. 12959–12962.

НАКОПЛЕНИЕ БЕЛКА, МАСЛА И КРАХМАЛА В СОЗРЕВАЮЩИХ СЕМЕНАХ ЭНДОСПЕРМАЛЬНЫХ МУТАНТОВ КУКУРУЗЫ И.А.Николенко, С.М.Тымчук

Определена изменчивость содержания сухого вещества, содержания белка, крахмала и масла в созревающих семенах эндоспермальных мутантов кукурузы. Установлено, что мутантный ген sh_2 и, в меньшей мере, su_1 , su_2 и sh_1 вызывают значительную репрессию образования крахмала и повышение содержания белка и масла. Линии с тождественным аллельным состоянием генов структуры эндосперма существенно отличаются между собой по характеру накопления и конечным уровнем содержания этих веществ, поэтому в пределах носителей каждой мутации возможна результативная селекция на содержание белка, крахмала и масла.

Ключевые слова: кукуруза, эндоспермальные мутации, сухое вещество, содержание белка, крахмала и масла.

ACCUMULATION OF PROTEIN, OIL AND STARCH IN THE DEVELOPING SEEDS OF MAIZE ENDOSPERMAL MUTANTS I.A.Nikolenko, S.M.Tymchuk

The variability of dry matter, protein, starch and oil content in the developing seeds of maize endospermal mutants has been determined. It was established, that the mutant gene sh_2 and in the smaller grade su_1 , su_2 and sh_1 provoked the significant depression of starch content and increasing the content of protein and oil. The inbreds with the equal allelic state of the genes of endosperm structure were differed for the character of accumulation and the final level of these compounds' content. Among the carriers of each mutation the possibility of effective increasing of protein, starch and oil content was showed.

Key words: maize, endospermal mutants, dry matter, protein, oil and starch content, seed development.

Представлено В.Н.Кравченком
Рекомендовано до друку Л.І.Воробйовою