

УДК 633.15:631.523/527

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>, Л.Я. Харченко<sup>2</sup>, Ю.В. Харченко<sup>2</sup>

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

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

## ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОСНОВНИХ ОЗНАК ЯКОСТІ ГРАНУЛЯРНОГО КРОХМАЛЮ У МУТАНТІВ КУКУРУДЗИ $SH_1$ ТА $SH_2$

**Вступ.** Кукурудзяний крохмаль є одним з найбільш розповсюджених видів рослинної біосировини і широко використовується в численних промислових виробництвах [1]. Однак якість кукурудзяного крохмалю далеко не завжди задовольняє вимоги цих виробництв і тому потребує поліпшення, найбільш результативним методом якого вважається використання біохімічного ефекту ендоспермових мутацій [2].

На даний час у кукурудзи ідентифіковано серію моногенних мутацій, які викликають утворення крохмалів з високими частками амілози або амілопектину [3]. Встановлено, що цей ефект супроводжується суттєвими змінами технологічних властивостей крохмалю [4].

З іншого боку, показано, 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 [5].

Серед ендоспермових мутацій кукурудзи на увагу заслуговують, зокрема, мутації  $sh_1$  та  $sh_2$ , які значно знижують активність двох ключових ферментів утворення крохмалю-цукрозо-синтази та АДФ-люкозо-пірофосфорилази [6]. Це дає підстави для припущення про можливий вплив мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  на якість гранулярного крохмалю, яка залежить від його фракційного складу і розмірів крохмальних гранул [7].

До цього часу ефект мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  і характер їх взаємодій з полігенними комплексами за основними ознаками якості гранулярного крохмалю не встановлено, що і стало підставою для виконання наших досліджень.

**Мета і завдання досліджень.** Метою досліджень був генетичний аналіз основних ознак якості гранулярного крохмалю в системі діалельних схрещувань ліній-носіїв мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$ .

Конкретні завдання досліджень передбачали:

- встановлення ефектів ендоспермових мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  за основними ознаками якості гранулярного крохмалю;
- аналіз характеру успадкування основних ознак якості гранулярного крохмалю і генетичних компонентів дисперсії за ними у кукурудзи на основі мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$ ;
- визначення ефектів комбінаційної здатності ліній-носіїв мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  за основними ознаками якості гранулярного крохмалю і виділення кращих ліній і гібридів для подальшого використання в селекції.

**Матеріал і методи досліджень.** Матеріалом для досліджень послуговувала серія неспоріднених за походженням інбредних ліній-носіїв мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$ . Прості гібриди для генетичного аналізу отримували у двох системах діалельних схрещувань другого методу Гріфінга. Батьківськими формами першої з них були 6 ліній-носіїв мутації  $sh_1$ , а другої – 6 ліній-носіїв мутації  $sh_2$ .

Лінії і гібриди кукурудзи вирощували в 2009 р. на Устимівській дослідній станції рослинництва, яка розташована в зоні Південного Лісостепу України та в дослідному господарстві “Елітне” в зоні Східного Лісостепу України. Польові досліді проводили згідно з загальноприйнятою методикою польового експерименту [8] з урахуванням зональних особливостей вирощування кукурудзи. Для аналізу використовували матеріал виключно від контрольованого запилення.

Розміри крохмальних гранул визначали на мікроскопі "Біолам-15" з комп'ютерною мікроскопічною відеокамерою DCM-300 за допомогою програми цифрового аналізу зображення Scope Photo.

Уміст крохмалю в зерні обчислювали поляриметричним методом Еверса, у відсотках до абсолютно сухої речовини (а.с.р.), а вміст амілози в крохмалі – колориметричним методом В.О. Juliano [9] у відсотках до абсолютно сухої речовини (а.с.р.). Отримані результати піддавали статистичній обробці методами дисперсійного та діалельного аналізу з використанням алгоритму Хеймана [10, 11].

**Результати і їх обговорення.** Отримані результати показали, що за середнім діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні лінії та гібриди – носії мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  поступаються лініям та гібридам традиційного типу, а за вмістом амілози в крохмалі перевищують їх. У носіїв мутації  $sh_2$  ці ефекти були виражені у більшому ступені, ніж у носіїв мутації  $sh_1$ .

Гібриди – носії мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  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 кукурудзи на основі мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  були несуттєвими. При цьому і 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 мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  (середнє за результатами випробувань у двох екологічних зонах, 2009 р.)**

Типи ліній	Діаметр крохмальних гранул, мкм		Уміст крохмалю в зерні, % до а.с.р.		Уміст 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 $sh_1$	8,2 – 8,7	8,4	57,4 – 59,1	58,2	27,1 – 28,5	27,8
Носії мутації $sh_2$	5,7 – 6,2	5,9	39,2 – 40,8	39,9	29,7 – 31,5	30,7
НІР <sub>0,95</sub>	0,3	0,4	0,7	0,9	0,4	0,8

**2. Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у ліній кукурудзи звичайного типу і ліній-носіїв мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  (середнє за результатами випробувань у двох екологічних зонах, 2009 р.)**

Типи гібридів	Діаметр крохмальних гранул, мкм		Уміст крохмалю в зерні, % до а.с.р.		Уміст 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 $sh_1$	8,4 – 9,2	8,9	59,2 – 62,6	61,3	27,2 – 28,2	27,7
Носії мутації $sh_2$	5,8 – 6,6	6,2	40,0 – 42,5	41,1	30,0 – 31,3	30,7
НІР <sub>0,95</sub>	0,2	0,2	0,7	0,7	0,4	0,3

У досліджах було встановлено наявність суттєвих відмінностей між різними лініями-носіями мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  за ефектами комбінаційної здатності щодо діаметра крохмальних гранул, а також умісту крохмалю в зерні і амілози в крохмалі. Переважний вклад до дисперсії майже за всіма проаналізованими ознаками вносили ефекти загальної (ЗКЗ) комбінаційної здатності (ЗКЗ) і тільки за вмістом крохмалю в зерні носіїв мутації  $sh_1$  зареєстровано більш суттєвий вклад ефектів специфічної (СКЗ) комбінаційної здатності (табл. 3).

**3. Результати дисперсійного аналізу комбінаційної здатності ліній кукурудзи – носіїв мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  за основними ознаками якості гранулярного крохмалю, розрахунковий критерій F (середнє за результатами випробувань ліній і гібридів діалельної схеми схрещувань у двох екологічних зонах, 2009 р.)**

Ознаки	Носії мутації $sh_1$		Носії мутації $sh_2$	
	ефекти ЗКЗ	ефекти СКЗ	ефекти ЗКЗ	ефекти СКЗ
Діаметр крохмальних гранул	73,8	36,0	112,2	22,2
Уміст крохмалю в зерні	177,1	219,7	139,8	52,2
Уміст амілози в крохмалі	37,1	6,6	79,2	8,1
$F_{0,95\text{табл.}}$	2,7	2,2	2,7	2,2

Серед ліній–носіїв мутації  $sh_1$  найбільш високими ефектами ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні вирізнялися CS-21 та CS-22, а за вмістом амілози в крохмалі – лінії CS-3 та CS-10 (табл. 4).

**4. Комбінаційна здатність ліній кукурудзи – носіїв мутацій  $sh_1$  і генетичні компоненти дисперсії за основними ознаками якості гранулярного крохмалю (середнє за результатами випробувань ліній і гібридів діалельної схеми схрещувань у двох екологічних зонах, 2009 р.)**

Лінії	Діаметр крохмальних гранул		Уміст крохмалю в зерні		Уміст амілози в крохмалі	
	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ
CS-16	-0,11	0,01	-0,33	0,73	0,07	0,01
CS-3	-0,11	0,05	-0,45	1,11	0,22	0,08
CS-22	0,18	0,04	0,67	1,17	-0,29	-0,01
CS-7	-0,03	0,02	-0,05	0,59	-0,09	0,08
CS-21	0,20	0,06	0,67	1,45	-0,10	0,00
CS-10	-0,12	0,03	-0,51	0,79	0,18	0,02
$HP_{0,95}$	0,05		0,12		0,09	
H1/D	8,72		19,08		0,85	
a	-0,03		-1,37		0,05	
b	0,70		0,80		0,49	

Серед ліній-носіїв мутації  $sh_2$  найбільш високі ефекти ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні зареєстровано у ліній SS-566 та SS-387, а за вмістом амілози в крохмалі – у ліній SS-390 та SS-389 (табл. 5).

**5. Комбінаційна здатність ліній кукурудзи –носіїв мутацій  $sh_2$  і генетичні компоненти дисперсії за основними ознаками якості гранулярного крохмалю (середнє за результатами випробувань ліній і гібридів діалельної схеми схрещувань у двох екологічних зонах, 2009 р.)**

Лінії	Діаметр крохмальних гранул		Уміст крохмалю в зерні		Уміст амілози в крохмалі	
	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ
SS-566	0,27	0,04	0,84	0,45	-0,44	0,13
SS-387	0,10	0,01	0,14	0,30	-0,22	0,08
SS-385	-0,01	0,00	-0,06	0,13	-0,17	0,04
SS-389	-0,10	0,03	-0,14	0,33	0,31	0,12
SS-386	-0,15	0,01	-0,46	0,09	0,03	0,06
SS-390	-0,12	0,01	-0,31	0,17	0,49	0,08
HIP <sub>0,95</sub>	0,05		0,11		0,12	
H1/D	2,43		5,41		0,83	
a	-0,01		-0,24		0,03	
b	0,82		0,77		0,93	

Варіанси СКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом амілози в крохмалі у ліній–носіїв обох проаналізованих мутацій були низькими і маловідмінними. Навпаки, відмінності різних ліній за варіантами СКЗ щодо вмісту крохмалю в зерні було виражено у значно більшому ступені. Серед носіїв мутації  $sh_1$  найбільш широкі варіанси СКЗ за вмістом крохмалю мали лінії CS-21, CS-22 та CS-3, а серед носіїв мутації  $sh_2$  – лінії SS-566, SS-389 та SS-387 (табл. 4, 5).

Для окремих ліній було властиве поєднання високої комбінаційної здатності за кількома ознаками якості гранулярного крохмалю. Зокрема, лінії CS-21, CS-22, SS-566 та SS-387 поєднували високі ефекти ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні, а лінії CS-3 та SS-566 – достатньо широкі варіанси СКЗ за вмістом крохмалю в зерні і амілози в крохмалі.

Загальна оцінка генетичних компонентів дисперсії свідчить, що ефект системи генетичної регуляції основних ознак якості, як правило, наближався до аддитивно – домінантної моделі Хеймана і тільки вміст амілози в крохмалі носіїв мутації  $sh_1$  – ухилявся від цієї моделі.

Отримані результати показали, 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 вкладом до дисперсії аддитивних ефектів.

Загалом, результати проведених досліджень підтверджують висновки інших авторів [8, 9] про суттєву роль полігенних комплексів в регуляції ознак якості гранулярного крохмалю і свідчать, що використання ефектів взаємодій ген : генотип може розглядатися як можливий метод поліпшення цих ознак у кукурудзи на основі мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$ .

**Висновки.** Лінії та гібриди кукурудзи – носії мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  відрізняються від кукурудзи традиційного типу зниженими діаметром крохмальних гранул та вмістом крохмалю в зерні і збільшеним вмістом амілози в крохмалі. Лінії–носії мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  суттєво різняться між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо основних ознак якості гранулярного крохмалю. Діаметр крохмальних гранул і вміст крохмалю в зерні успадковуються носіями мутацій  $sh_1$  та  $sh_2$  за типом позитивного наддомінування, а вміст амілози в крохмалі – за типом неповного домінування із суттєвим вкладом до дисперсії аддитивних ефектів.

**Бібліографічний список:** 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. White P.J. Properties of corn starch / P.J. White // Specialty Corns; A.R. Hallauer Ed. – Boca Raton, Fl.: CRC Press, 2001. – P. 41–70. 3. 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. – V. 99. – P. 12959–12962. 4. 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. 5. Dissection of maize kernel composition and starch production by candidate gene association / L.M. Wilson, S.R. Whitt, A.M. Ibanyez [et al.] // Plant Cell. – 2004. – V. 16. – P. 2719–2733. 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. Starch chemistry and technology / 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. 8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с. 9. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с. 10. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высша шк., 1973. – 343 с. 11. Литун П.П. Генетика количественных признаков. Генетические скрещивания и генетический анализ / П.П. Литун, Н.В. Проскурнин. – К.: УМК ВО, 1992. – 96 с.