

## ВУГЛЕВОДНИЙ СКЛАД СТИГЛОГО ЗЕРНА ЛІНІЙ КУКУРУДЗИ НА ОСНОВІ РІЗНИХ ЕНДОСПЕРМАЛЬНИХ МУТАЦІЙ

Тимчук Д.С.<sup>1</sup>, Потапенко Г.С.<sup>2</sup>, Тимчук С.М.<sup>3</sup>, Поздняков В.В.<sup>3</sup>,  
Мартинюк М.М.<sup>4</sup>, Мужилко В.В.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

<sup>2</sup>Харківський національний педагогічний університет  
імені Г.С. Сковороди

<sup>3</sup>Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України

<sup>4</sup>НТУ "Харківський політехнічний інститут"

<sup>5</sup>Дослідна селекційна станція "НАСКО"

Встановлено суттєвий ефект ендоспермальних мутацій кукурудзи за вуглеводним складом стиглого зерна. Усі ендоспермальні мутації за винятком  $o_2$  та  $wx$  викликали значне зниження вмісту крохмалю і підвищення вмісту вільних цукрів. Найнижчим вмістом крохмалю і найвищим вмістом вільних цукрів відрізнялися мутанти  $sh_2$ ,  $su_1$  та  $se$ , а мутантам  $su_1$  та  $se$ , окрім того, був властивий і високий вміст водорозчинних полісахаридів. Підтверджено наявність у кукурудзи мінливості за вмістом основних вуглеводних сполук, незалежної від ефекту ендоспермальних мутацій.

**Ключові слова:** кукурудза, ендоспермальні мутанти, зерно, вуглеводний склад.

**Carbohydrate composition of mature grain for the maize inbreds on the basis of different endospermic mutations.** Tymchouk D.S., Potapenko G.S., Tymchouk S.M., Pozdnyakov V.V., Martynuk N.M., Mujilko V.V. — The significant effect of maize endospermic mutations for the mature grain' carbohydrate composition was established. All endospermic mutations except  $o_2$  and  $wx$  caused the decrease of starch content and increase the content of free sugars. The mutants  $sh_2$ ,  $su_1$  and  $se$  had the lowest starch content and the highest content of free sugars and the mutants  $su_1$  and  $se$  besides that were notable as having the high content of water-soluble polysaccharides. The presence of the variability for the content of general carbohydrate compounds independent under the effect of maize endospermic mutations was confirmed.

**Key words:** maize, endospermic mutants, grain, carbohydrate composition.

### ВСТУП

Серед культурних рослин кукурудза відрізняється найбільш широким генетичним різноманіттям за вуглеводним складом зерна [23]. На даний час ідентифіковано і локалізовано біля 20 мутантних генів

структури ендосперму, які викликають корисні зміни вуглеводного складу зерна кукурудзи [9], їх ефект активно використовується у практичній селекції [18].

Біохімічний ефект мутантних генів структури ендосперму кукурудзи проаналізовано досить глибоко і детально [8; 15; 16; 20], однак його не можна вважати повністю встановленим.

Зокрема, недостатньо вивчено ефекти мутантних генів структури ендосперму за вуглеводним складом стиглого зерна, хоча є відомості, що саме він значною мірою визначає і сферу промислового використання мутантів кукурудзи [1; 19], і посівні властивості їх насіння [24]. Окрім того, дуже обмежені і суперечливі відомості про наявність у різних носіїв тотожних ендоспермальних мутацій ефектів взаємодії генів: генотип за вуглеводним складом насіння, хоча результати окремих досліджень [6; 17; 21; 25] свідчать про таку можливість.

Це і створило передумови для виконання даної роботи, задачами якої були:

- оцінка ефектів різних ендоспермальних мутацій за вуглеводним складом стиглого зерна кукурудзи;
- визначення мінливості вуглеводного складу зерна у ліній з тотожним аельним станом генів структури ендосперму;
- встановлення сполученості між вмістом різних вуглеводних сполук у зерні ліній кукурудзи – носіїв ендоспермальних мутацій.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріалом для досліджень була серія інбредних ліній кукурудзи на основі мутацій структури ендосперму  $o_2$ ,  $sh_1$ ,  $sh_2$ ,  $su_1$ ,  $se$ ,  $su_2$ ,  $ae$  та  $ix$ . Для виконання роботи було використано по 5 неспоріднених за походженням ліній на основі кожної мутації. У якості контролю послужили 5 неспоріднених за походженням ліній зубовидної та 5 ліній кременистої кукурудзи, які не є носіями жодної з відомих ендоспермальних мутацій.

Вирощування ліній проводили на дослідній селекційній станції "НАСКО" (Херсонська область, Ново-Каховський район) в умовах зрошення протягом 2005–2007 років. Польові досліди виконували згідно загальноприйнятої методики польового експерименту [2].

Для біохімічного аналізу використовували насіння біологічної стиглості, отримане виключно від контрольованого запилення. Фракціонування вуглеводів проводили 82% етанолом та дистильованою водою за схемою А.Р.Кизеля [5]. Визначення вмісту моносахарів

ридів, цукрози та водорозчинних полісахаридів (ВРП) здійснювали ферроціанідним методом А.С. Швецова та Е.Х. Лук'яненко, а вмісту крохмалю – поляриметричним методом Еверса [4]. Результати всіх біохімічних аналізів обчислювали у відсотках до абсолютно сухої речовини (а.с.р.).

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили методом дисперсійного аналізу [3].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дисперсійного аналізу експериментального комплексу свідчать про наявність суттєвих відмінностей між лініями кукурудзи за вмістом моносахаридів, цукрози, ВРП і крохмалю в зерні (табл. 1).

Таблиця 1

**Результати дисперсійного аналізу вмісту основних фракцій вуглеводів у зерні ліній кукурудзи - носіїв різних ендоспермальних мутацій, 2005-2007 рр.**

Джерела дисперсії	Розрахункові значення критерію F				F <sub>0,05 табл.</sub>
	Вміст моносахаридів	Вміст цукрози	Вміст водорозчинних полісахаридів	Вміст крохмалю	
Варіанти	182,80	359,41	1903,11	1172,50	1,61
Мутанти	584,48	1151,20	6130,47	3775,15	1,96
Погодні умови вирощування	12,99	23,54	3,13	9,58	3,07
Взаємодії мутанти: погодні умови	0,82	0,83	0,53	0,39	1,75

Основним джерелом дисперсії за всіма цими ознаками були ефекти мутантних генів структури ендосперму. Ефекти погодних умов вирощування виявилися значно меншими, а ефекти взаємодій мутанти: погодні умови вирощування – несуттєвими.

Найнижчим вмістом вільних цукрів у проаналізованій експериментальній сукупності відрізнялися лінії зубовидної, кременистої кукурудзи і лінії – носії мутацій  $o_2$  та  $ix$  (табл. 2).

Інші ендоспермальні мутанти кукурудзи мали суттєво вищі рівні вмісту вільних цукрів у зерні, однак ефекти кожної ендоспермальної мутації у кількісному відношенні були нетотожні. Лінії на основі мутацій  $sh_1$  та  $su_2$  за вмістом моносахаридів перевищували лінії зубовидної та кременистої кукурудзи на 40-60%, за вмістом цукрози

– на 20-30%, а лінії на основі мутації *ae*- відповідно на 70-100% та 40-50%. Але найбільш високі рівні вмісту вільних цукрів зареєстровано у носіїв мутацій *sh*<sub>2</sub>, *su*<sub>1</sub> та *se*, які перевищували лінії зубовидної та кременистої кукурудзи за вмістом моносахаридів у 2,5-2,8 рази, а за вмістом цукрози – в 2,1-2,6 рази.

Таблиця 2

**Вміст вільних цукрів у стиглому зерні ліній зубовидної, кременистої кукурудзи і ліній-носіїв ендоспермальних мутацій (середнє за оцінками 5 ліній кожного типу за 2005-2007 рр.), % до а.с.р.**

Групи ліній	Вміст моносахаридів		Вміст цукрози	
	розмах мінливості (мін.-макс.)	середня групова	розмах мінливості (мін.-макс.)	середня групова
Зубовидні	0,5 - 0,7	0,6	1,7 - 2,1	1,9
Кременисті	0,6 - 0,8	0,7	1,8 - 2,2	2,0
Носії мутації <i>o</i> <sub>2</sub>	0,6 - 0,8	0,7	1,8 - 2,1	2,0
Носії мутації <i>sh</i> <sub>1</sub>	0,9 - 1,1	1,0	2,2 - 2,7	2,4
Носії мутації <i>sh</i> <sub>2</sub>	1,6 - 1,8	1,7	4,5 - 5,4	4,9
Носії мутації <i>su</i> <sub>1</sub>	1,3 - 1,6	1,5	3,8 - 4,3	4,0
Носії мутації <i>se</i>	1,5 - 1,7	1,6	4,4 - 5,1	4,7
Носії мутації <i>su</i> <sub>2</sub>	0,9 - 1,2	1,0	2,3 - 2,7	2,5
Носії мутації <i>ae</i>	1,0 - 1,3	1,2	2,6 - 3,1	2,9
Носії мутації <i>wx</i>	0,6 - 0,8	0,7	1,7 - 2,1	1,9
НІР <sub>0,05</sub>	0,1	0,1	0,2	0,1

Вміст водорозчинних полісахаридів у ліній зубовидної, кременистої кукурудзи і ліній-носіїв більшості її ендоспермальних мутацій був дуже близький і тільки три мутації – *wx*, *se* та *su*<sub>1</sub> викликали суттєве підвищення рівня цієї ознаки (табл. 3). Однак, якщо вміст ВРП у носіїв мутації *wx* становив 2,3-2,6%, то у носіїв мутацій *se* та *su*<sub>1</sub> він досягав 22-23%.

Найбільш високий вміст крохмалю в зерні зареєстровано у ліній зубовидної та кременистої кукурудзи, причому за цією ознакою ліній зубовидної кукурудзи дещо переважали лінії кременистої. Мутанти *o*<sub>2</sub> та *wx* за вмістом крохмалю наближалися до них, тоді як решта мутантів відрізнялася суттєво нижчими рівнями ознаки. Однак ефекти різних ендоспермальних мутацій за вмістом крохмалю в зерні були дуже відмінними.

Мутація  $sh_1$  знижувала вміст крохмалю в зерні порівняно із зубовидною кукурудзою в середньому на 10,3%, мутація  $su_2$  – на 11,2%, мутація  $ae$  – на 16,6%, мутація  $sh_2$  – на 37,8%, мутація  $su_1$  – на 41,6%, а мутація  $se$  – на 43,6%.

Таблиця 3

**Вміст полісахаридів у стиглому зерні ліній зубовидної, кременистої кукурудзи і ліній-носіїв різних ендоспермальних мутацій (середнє за оцінками 5 ліній кожного типу за 2005-2007 рр.), % до а.с.р.**

Групи ліній	Вміст ВРП		Вміст крохмалю	
	розмах мінливості (мін.-макс.)	середня групова	розмах мінливості (мін.-макс.)	середня групова
Зубовидні	1,0 - 1,2	1,1	64,1 - 66,2	65,1
Кременисті	1,0 - 1,3	1,1	62,2 - 63,7	63,0
Носії мутації $o_2$	1,0 - 1,2	1,1	63,0 - 65,4	64,1
Носії мутації $sh_1$	1,1 - 1,3	1,2	56,8 - 59,4	58,4
Носії мутації $sh_2$	0,7 - 0,9	0,8	39,0 - 42,2	40,5
Носії мутації $su_1$	19,8 - 23,1	21,5	37,0 - 39,3	38,0
Носії мутації $se$	19,5 - 22,4	20,9	35,4 - 37,9	36,7
Носії мутації $su_2$	1,0 - 1,3	1,2	56,6 - 59,2	57,8
Носії мутації $ae$	1,1 - 1,3	1,2	53,0 - 55,7	54,3
Носії мутації $wx$	2,3 - 2,6	2,4	62,7 - 64,4	63,7
НІР <sub>0,05</sub>	0,5	0,3	0,9	0,5

Найбільш високий середній вміст водорозчинних фракцій вуглеводів зареєстровано в погодних умовах 2006 року, а найбільш низький – в умовах 2007 року. Навпаки, найбільш високий середній вміст крохмалю спостерігався в умовах 2007 року, а найбільш низький – в умовах 2006 року.

Отримані в дослідах результати показали наявність суттєвих відмінностей за вмістом основних вуглеводних сполук не тільки між різними ендоспермальними мутантами, але й між неспорідненими за походженням лініями з тотожним алейним станом генів структури ендосперму. Найбільш широким розмахом мінливості за вмістом моносахаридів відрізнялися лінії на основі мутацій  $su_1$  та  $ae$ , за вмістом цукрози – лінії-носії мутацій  $sh_2$  та  $se$ , за вмістом ВРП – лінії на основі мутацій  $su_1$  та  $se$ , а за вмістом крохмалю – лінії-носії мутацій  $sh_1$  та  $ae$ .

Однак, в цілому вміст вуглеводних сполук у зерні ліній експериментальної вибірки значно більше залежав від алельного стану генів структури ендосперму, ніж від індивідуальних особливостей мутантних ліній.

Отримані результати свідчать, що носії мутації  $o_2$  за вмістом основних вуглеводних сполук у зерні майже не відрізняються від ліній зубовидної та кременистої кукурудзи, і нема ніяких підстав припускати участь мутантного гену  $o_2$  в регуляції процесу утворення крохмалю. Схожі висновки було зроблено раніше й іншими авторами [14].

Усі інші проаналізовані мутації викликали суттєві зміни вуглеводного складу зерна, які проявлялися у зниженні вмісту крохмалю і підвищенні вмісту вільних цукрів, насамперед цукрози або ВРП. Але, якщо підвищення вмісту цукрози скоріше всього пов'язане з депресією утворення крохмалю на рівні його розчинних попередників [11], то зростання вмісту ВРП є вірогідним наслідком часткового блокування реакцій утворення амілопектину з розгалужених водорозчинних глюканів [7].

Отримані результати показали також, що ефекти ендоспермальних мутацій за вуглеводним складом зерна не є фіксованими, оскільки у неспоріднених за походженням ліній-носіїв кожної мутації вміст вуглеводних сполук піддано досить широкій мінливості.

Пояснити цей факт можна двома вірогідними причинами. Першою з них є ефекти полігенних комплексів, здатних викликати власну дисперсію за вмістом вуглеводних сполук і модифікувати ефекти ендоспермальних мутацій [6; 17; 21; 25].

Другою причиною є наявність множинного алелізму в локусах, що контролюють структуру ендосперму. Його достовірно встановлено принаймні в трьох локусах-  $su_1$ ,  $wx$  та  $ae$  [10; 12; 22]. Однак значущість множинного алелізму в детермінації мінливості вуглеводного складу зерна у ліній на основі цих мутацій скоріше за все нерівнозначна. Усі лінії на основі мутації  $su_1$ , які використовувалися при проведенні наших досліджень, були носіями гомозигот лише за одним мутантним алелем, і нема підстав пов'язувати їх мінливість саме з ефектом множинного алелізму. Навпаки, у носіїв мутацій  $wx$  та  $ae$  множинний алелізм цілком міг бути причиною мінливості ліній за вуглеводним складом зерна, що для мутації  $ae$  вже знайшло експериментальне підтвердження [13].

## ВИСНОВКИ

Встановлено суттєвий і специфічний ефект ендоспермальних мутацій кукурудзи за вуглеводним складом стиглого зерна. Визначено, що всі ендоспермальні мутації, за винятком  $o_2$  та  $wx$ , викликають

значне зниження вмісту крохмалю і підвищення вмісту вільних цукрів. Найнижчим вмістом крохмалю та найвищим вмістом вільних цукрів відрізнялися мутанти  $sh_2$ ,  $su_1$  та  $se$ , а мутантам  $su_1$  та  $se$ , окрім того, був властивий і дуже високий вміст водорозчинних полісахаридів. Встановлено наявність суттєвих відмінностей за вмістом основних вуглеводних сполук не тільки між різними ендоспермальними мутантами, але й між неспорідненими за походженням лініями з тотожним алейним станом генів структури ендосперму.

#### Література

1. Андреев Н.Р. Основы производства нативных крахмалов (научные аспекты). – М.: Пищепромиздат, 2001. – 289 с.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агрпроимиздат, 1985. – 351 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
4. Методы биохимического исследования растений/ под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агрпроимиздат, 1987. – 430 с.
5. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1976. – 255 с.
6. Azanza F., Tadmor Y., Klien B.P., Rocheford T.R., Juvic J.A. Quantitative trait loci influencing chemical and sensory characteristics of eating quality in sweet corn// Genome. – 1996. – V. 39. – P. 40-50.
7. Ball S., Guan H.-P., James M., Myers A., Keeling P., Mouille G., Buleon A., Colonna P., Preiss J. From glycogen to amylopectin: a model for the biogenesis of the plant starch granule// Cell. – 1996. – V. 86. – P. 349-352.
8. Boyer C.D. Biochemical genetics of carbohydrate metabolism in source and sink tissues// Photoassimilate Distribution in Plants and Crops; E.Zamski, A.A.Shaffer Eds. – New York:Marcell Dekker Publ., 1996. – P.63- 96.
9. Coe E., Polacco M. Maize gene list and working maps // Maize Genet. Newslett. – 1994. – V. 68. – P. 156-191.
10. Dinges J.R., Colleoni C., Myers A.M., James M.G. Molecular structure of three mutations at the maize sugary-1 locus and their allele- specific phenotypic effects // Plant Physiol. – 2001. – V. 125. – P. 1406-1418.
11. Emes M.J., Bowsher C.G., Hedley C., Burrell M.M., Scrase- Field E.S.F., Tetlow I.J. Starch synthesis and carbon partitioning in developing endosperm// J.Exp.Bot. – 2003. – V. 54. – P. 569-575.
12. Fisher D.K., Gao M., Kim K., Boyer C.D., Guiltinan M. Allelic analysis of the maize amylose- extender locus suggests that independent genes encode starch-branching enzymes IIa and IIb// Plant Physiol. – 1996. – V.110. – P.611-619.
13. Fuwa H. Structural and physicochemical properties of endosperm starches possessing different alleles at the amylose- extender and waxy locus in maize ( Zea mays L.)// Starch/ Staerke. – 1999. – V. 51. – P. 147-151.
14. Gibbon B.C., Wang X., Larkins B.A. Altered starch structure is associated with endosperm modification in quality protein maize // Proc.New-York Acad. Sci. – 2003. – V. 100. – P. 15329-15334.

15. Hannah L.C. Starch synthesis in the maize endosperm// *Advances in Cellular and Molecular Biology of Plants*; B.A.Larkins, I.K.Vasil Eds.- Dordrecht: Kluwer Acad.Publ., 1997.- P.375-405.
16. Nelson O.E., Pan D. Starch synthesis in maize endosperm// *Ann.Rev. Plant Physiol.Plant Mol.Biol.*- 1995.- V.46.- P.475-496.
17. Sene M., Causse M., Damerval C., Thevenot C., Prioul J.P. Quantitative trait loci affecting amylose, amylopectin and starch content in maize recombinant inbred lines// *Plant Physiol.Biochem.*- 2000.- V.38.- P.459-472.
18. Specialty corns/ A. R. Hallauer Ed.—Boca Raton, Fl.: CRC Press,2001.— 479 p.
19. Starch: from starch containing sources to isolation of starches and their application/ V.P.Yuryev, P.Tomasik, H.Ruck Eds.- New-York: Nova Sci. Publ. Inc, 2004- 246 p.
20. Tetlow I.J., Morell M.K., Emes M.J. Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants// *J.Exp.Bot.*-2004.- V.55.- P. 2131-2145.
21. Thevenot C., Simond-Cote E., Reyss A., Manicacci D., Trouverie J., Le Guilloux M., Ginhoux V., Sidicina F., Prioul J.P. QTLs for enzyme activities and soluble carbohydrates involved in starch accumulation during grain filling in maize// *J.Exp.Bot.*- 2005.- V.56.- P. 945-958.
22. Wessler S.R., Varagona M.J. Molecular basis of mutations at the waxy locus of maize: Correlation with the fine structure genetic map// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*- 1985.- V.82.- P. 4177-4181.
23. Whitt S.R., Wilson L.M., Tenailon M.I., Gaut B.S., Buckler E.S. Genetic diversity and selection in the maize pathway// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* - 2002.- V.99.- P.12959-12962.
24. Young T.E., Jovic J.A., De Mason D.A. Changes in carbohydrate composition and  $\alpha$ -amylase expression during germination and seedling growth of starch- deficient endosperm mutants of maize// *Plant Sci.*- 1997.- V.129.- P.175-189.
25. Yousef G.G., Jovic J.A. Comparison of phenotypic and marker-assisted selection for quantitative traits in sweet corn// *Crop Sci.*- 2001- V.41.- P.645-655.

**Углеводный состав зрелого зерна линий кукурузы на основе различных эндоспермальных мутаций.** Тымчук Д.С., Потапенко Г.С., Тымчук С.М., Поздняков В.В., Маргынюк Н.М., Мужилко В.В. — Установлен существенный эффект эндоспермальных мутаций кукурузы по углеводному составу зрелого зерна. Все эндоспермальные мутации за исключением  $o_2$  и их вызывали значительное снижение содержания крахмала и повышение содержания свободных сахаров. Самым низким содержанием крахмала и самым высоким содержанием свободных сахаров отличались мутанты  $sh_2$ ,  $su_1$  та  $se$ , а мутантам  $su_1$  и  $se$ , кроме того, было свойственно и высокое содержание водорастворимых полисахаридов. Подтверждено наличие у кукурузы изменчивости по содержанию основных углеводных соединений, независимой от эффекта эндоспермальных мутаций.

**Ключевые слова:** Кукуруза, эндоспермальные мутанты, зерно, углеводный состав.