

УДК 633.15 : 631.523 : 581.19

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ОЛІЇ У ВИСОКОАМІЛОЗНОЇ КУКУРУДЗИ НА ОСНОВІ МУТАЦІЇ *ae*

Тимчук С.М.¹, Супрун О.Г.¹, Потапенко Г.С.², Ларінцева Н.В.³, Тимчук Д.С.¹,
Харченко Л.Я.⁴

¹*Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН*

²*Харківський національний педагогічний університет ім. Г.С. Сковороди*

³*НТУ «Харківський політехнічний інститут»*

⁴*Устимівська дослідна станція рослинництва*

Встановлено, що інбредні лінії-носії мутації *ae* дуже відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо вмісту гліцеридів олеїнової та лінолевої кислот. Успадкування цих компонентів жирнокислотного складу олії проходить за типом неповного домінування із суттєвим внеском до дисперсії аддитивних ефектів. Визначено сприятливі можливості поліпшення жирнокислотного складу олії у високоамілозної кукурудзи і поєднання у її гібридів високої якості крохмалю та олії.

Ключові слова: кукурудза, мутанти *ae*, жирнокислотний склад олії, генетичний аналіз

Genetic analysis of the oil fatty acid composition of high – amylose corn based on the *ae* mutation. Tymchouk S.M., Suprun O.G., Potapenko G.S., Larintseva N.V., Tymchouk D.S., Kharchenko L.Ya. – It has been determined that the inbreds – carriers of the *ae* mutation are very different from each other according to the effects of combining ability for the content of glycerides of the oleic and linoleic acids. These components of oil fatty acid composition were inherited mainly by kind of incomplete dominance with a significant contribution of the additive effects to the dispersion. The favorable possibilities of oil fatty acid composition improvement of the high – amylose corn and the association of the high quality starch and oil in its hybrids were determined.

Key words: maize, *ae* mutants, oil fatty acid composition, genetic analysis

ВСТУП

Під час генетичного поліпшення вуглеводного складу зерна кукурудзи широко використовується біохімічний ефект мутантних генів структури ендосперму [12]. Ці гени регулюють активність окремих реакцій утворення крохмалю і викликають підвищення вмісту водорозчинних фракцій вуглеводів або перерозподіл співвідношень між амілозою та амілопектином [7].

Серед ендоспермових мутантів на особливу практичну увагу заслуговують носії мутантного гену *ae* (*amylose extender*), який суттєво знижує активність крохмаль-розгалужуючого ферменту і викликає утворення крохмалів з підвищеним до 60-65 % вмістом амілози [11].

Крохмалі такого типу мають дуже цінні технологічні властивості. Вони, зокрема, формують щільні стабільні гелі з високою механічною міцністю [18] і вирізняються високою резистентністю до амілолітичного оцукрювання [6]. Тому високоамілозна кукурудза на основі мутації *ae* вважається одним з провідних джерел високоякісної крохмаленосної біосировини [19].

Однак слід враховувати, що при виділенні крохмалю із зерна кукурудзи виникає можливість отримання й інших цінних со-продуктів промислової переробки, основним з яких є олія [16]. Тому при створенні гібридів високоамілозної кукурудзи є доцільним забезпечення і високої якості олії, що залежить насамперед від її жирнокислотного складу [17].

Генетичне різноманіття кукурудзи створює сприятливі можливості для вирішення цієї проблеми, однак конкретні оцінки систем генетичної регуляції жирнокислотного складу олії у кукурудзи досить суперечливі. З одного боку показано, що вміст окремих жирних кислот у кукурудзи контролюється за моногенним типом [15], тоді як результати інших авторів [5] свідчать про переважно полігенну регуляцію цієї ознаки. Окрім того, встановлено, що генетичні фактори, які регулюють вміст одних і тих же жирних кислот, локалізовано в різних хромосомах [8; 13; 14; 20]. Це може розглядатися як свідчення саме полігенного типу регуляції жирнокислотного складу олії, який на сьогодні отримав і експериментальне підтвердження [10].

Проте, незважаючи на проведені роботи, системи генетичної регуляції жирнокислотного складу олії у високоамілозної кукурудзи до цього часу не визначено і це створило передумови для проведення наших досліджень, метою яких був генетичний аналіз жирнокислотного складу олії у носіїв мутації *ae*.

Задачі досліджень передбачали:

- встановлення відмінностей жирнокислотного складу олії між лініями та гібридами кукурудзи традиційного типу і високоамілозної кукурудзи;
- аналіз характеру успадкування і генетичних компонентів дисперсії у кукурудзи на основі мутації *ae*;

– встановлення ефектів комбінаційної здатності ліній-носіїв мутації *ae* за жирнокислотним складом олії і виділення кращих ліній для подальшого практичного використання.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріалом для досліджень слугували 6 неспоріднених за походженням ліній кукурудзи – носіїв мутації *ae* і серія простих гібридів, отриманих внаслідок діалельних схрещувань цих ліній за другим методом Гріфінга.

Лінії та гібриди експериментальної сукупності вирощували в 2009 році у двох екологічних зонах – Південному (Устимівська дослідна станція рослинництва) та Східному Лісостепу України (Дослідне господарство Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва «Елітне»), згідно загальноприйнятої методики польового експерименту [1]. Для біохімічного аналізу використовували матеріал виключно від штучного запилення.

Контролями в експерименті були лінія кукурудзи традиційного типу Р-346 і гібрид кукурудзи традиційного типу ВІР-44 х Т-22.

Жирнокислотний склад олії аналізували методом газо-рідинної хроматографії метилових ефірів жирних кислот Пейскера [4]. У якості твердофазного носія використовували Chromosorb W-AW, а в якості рідкої фази – діетиленглікольсукцинат у кількості 10 % від маси твердофазного носія. Ідентифікацію компонентів жирнокислотного складу олії здійснювали за часом їх утримання, встановленим для достовірних стандартів. Вміст кожної жирної кислоти обчислювали у відсотках до суми жирних кислот.

Експериментальні результати піддавали статистичній обробці методами дисперсійного, кореляційного та діалельного аналізів із використанням алгоритму Хеймана [2; 3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати показали, що кількісно переважаючими компонентами жирнокислотного складу олії як звичайної, так і високоамілозної кукурудзи були пальмітинова, олеїнова та лінолева кислоти. При цьому і лінії, і гібриди-носії мутації *ae* відрізнялися від відповідних контролів більш високим середнім вмістом гліцеридів пальмітинової та олеїнової кислот і більш низьким вмістом гліцеридів лінолевої кислоти.

Поряд з цим, отримані в дослідях результати свідчать, що частки гліцеридів пальмітинової і, особливо, олеїнової та лінолевої кислот в оліях ліній та гібридів високоамілозної кукурудзи вирізняються кількісною мінливістю і варіюють у досить широких межах (табл.1, 2).

Таблиця 1

Вміст гліцеридів пальмітинової, олеїнової та лінолевої кислот в оліях ліній кукурудзи традиційного типу і ліній-носіїв мутації *ae* (середнє за результатами випробувань у двох екологічних зонах, 2009 р.)

Типи ліній	Вміст гліцеридів жирних кислот, % до суми					
	пальмітинової		олеїнової		лінолевої	
	мін.-макс.	середнє ($\bar{x} \pm s_x$)	мін.-макс.	середнє ($\bar{x} \pm s_x$)	мін.-макс.	середнє ($\bar{x} \pm s_x$)
Традиційний		11,2		26,2		58,3
Мутанти <i>ae</i>	11,5–13,6	12,6	24,6- 40,9	29,9	41,2- 58,7	52,8
НІР _{0,95}	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,5

Таблиця 2

Вміст гліцеридів пальмітинової, олеїнової та лінолевої кислот в оліях гібридів кукурудзи традиційного типу і гібридів- носіїв мутації *ae* (середнє за результатами випробувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Типи гібридів	Вміст гліцеридів жирних кислот, % до суми					
	пальмітинової		олеїнової		лінолевої	
	мін.-макс.	середнє	мін.-макс.	середнє	мін.-макс.	середнє
Традиційний		11,3		27,0		57,6
Мутанти <i>ae</i>	11,3- 13,5	12,6	24,4- 39,3	30,3	44,5- 58,0	52,5
НІР _{0,95}	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2

В умовах Південного Лісостепу України у високоамілозної кукурудзи зареєстровано більш високі середні рівні вмісту гліцеридів пальмітинової та лінолевої кислот (відповідно 12,8 % та 52,7 %) і більш низький середній вміст гліцеридів олеїнової (29,9 %), ніж в умовах Східного Лісостепу України (відповідно 12,4 %, 52,5 % та 30,5 %). Однак загальна оцінка впливу ґрунтово-кліматичних умов вирощування на жирнокислотний склад олії свідчить, що цей фактор викликає значно меншу мінливість ознаки, ніж генотипові відмінності.

Середній рівень вмісту пальмітату у ліній та гібридів-носіїв мутації *ae* був рівним. У той же час гібриди-носії мутації *ae* відрізнялися від ліній цього типу дещо вищим вмістом олеату і дещо зниженим вмістом лінолеату.

Результати дисперсійного аналізу свідчать про наявність суттєвих відмінностей між різними лініями-носіями мутації *ae* за ефектами комбінаційної здатності щодо часток в оліях пальмітату, олеату та лінолеату (табл. 3).

Таблиця 3

Результати дисперсійного аналізу комбінаційної здатності ліній кукурудзи-носіїв мутації *ae* за вмістом в оліях гліцеридів пальмітинової, олеїнової та лінолевої кислот (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Ознаки	Ефекти ЗКЗ	Ефекти СКЗ
Вміст гліцеридів пальмітинової кислоти	11,01	3,59
Вміст гліцеридів олеїнової кислоти	38,20	4,37
Вміст гліцеридів лінолевої кислоти	50,13	5,65
$F_{0,95\text{табл.}}$	2,37	1,84

Ефекти загальної комбінаційної здатності (ЗКЗ) за цими ознаками були значно вищими, ніж ефекти специфічної комбінаційної здатності (СКЗ). Наведений факт може розглядатися як свідчення наявності в системах генетичної регуляції вмісту пальмітату, олеату та лінолеату аддитивних ефектів, що створюють сприятливі можливості для поліпшення цих ознак.

Отримані результати показали також, що неспоріднені за походженням інбредні лінії-носії мутації *ae* дуже відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо вмісту гліцеридів пальмітинової, олеїнової та лінолевої кислот.

Найбільш високі ефекти ЗКЗ за вмістом пальмітату в проаналізованому експериментальному комплексі виявила лінія АЕ-746, олеату – лінія АЕ-460, лінолеату – лінія АЕ-458, а найбільш широкі варіанси СКЗ за вмістом всіх трьох кислот зареєстровано у лінії АЕ-456 (табл. 4).

Окрім лінії експериментального комплексу поєднували достатньо високі ефекти ЗКЗ із достатньо широкими варіантами СКЗ. За вмістом пальмітату до ліній такого типу можна віднести АЕ-460 та АЕ-392, за вмістом олеату – АЕ-460, а за вмістом лінолеату – АЕ-458, АЕ-456 та АЕ-392. Такі лінії становлять практичну цінність, оскільки можуть бути компонентами як синтетиків, так і простих гібридів.

Точно визначити характер успадкування вмісту пальмітату в проаналізованому експериментальному комплексі не вдалося. За формальними оцінками генетичних компонентів дисперсії його слід кваліфікувати як наддомінування, однак у однієї групи гібридів воно було позитивним, у іншій – негативним, а третя група гібридів взагалі виявила проміжний тип успадкування ознаки. Окрім того, вільний член рівняння лінійної регресії для вмісту пальмітату був хоча і негативним, але дуже невеликим, а досить низьке значення коефіцієнту лінійної регресії свідчить про відхилення системи регуляції ознаки від аддитивно-домінантної моделі Хеймана.

Таблиця 4

Комбінаційна здатність ліній кукурудзи-носіїв мутації *ae* і генетичні компоненти дисперсії за вмістом в оліях гліцеридів пальмітинової, олеїнової та лінолевої кислот (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Лінії	Вміст гліцеридів пальмітинової кислоти		Вміст гліцеридів олеїнової кислоти		Вміст гліцеридів лінолевої кислоти	
	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ
AE-458	-0,04	0,15	-1,74	3,33	2,07	4,14
AE-456	-0,58	0,23	-1,57	8,52	1,89	9,21
AE-460	0,12	0,07	5,51	6,77	-5,40	6,07
AE-464	0,03	0,16	-0,50	2,77	0,40	4,45
AE-392	0,11	0,08	-1,73	4,31	1,52	3,50
AE-746	0,35	0,05	0,03	5,66	-0,48	6,69
НІР _{0,95}	0,27		1,28		1,12	
Н1/D	2,06		0,88		0,75	
a	-0,01		3,13		4,34	
b	0,67		0,82		0,84	

Системи генетичної регуляції вмісту олеату та лінолеату у значно більшому ступені були адекватні аддитивно-домінантній моделі і типи успадкування цих ознак можна кваліфікувати як неповне домінування із суттєвим внеском до дисперсії аддитивних ефектів.

Гібриди високоамілозної кукурудзи не вирізнялися дуже широкою мінливістю за вмістом пальмітату (11,3-13,5 %) і максимальний середній вміст цього компоненту жирнокислотного складу у них був невисокий. Вміст олеату та лінолеату у проаналізованих гібридів варіював у значно більших межах (відповідно 24,4 %-39,3 % та 44,5 %-58,0 %), причому гібриди з дуже високим вмістом олеату мали досить низький вміст лінолеату і навпаки.

Кореляційні взаємозв'язки між вмістом у високоамілозних гібридів пальмітату з одного боку і олеату та лінолеату з іншого виявилися несуттєвими, тоді як між вмістом олеату та лінолеату існувала високосуттєва негативна кореляція ($r_{0,05\text{факт.}} = -0,99$ при $r_{0,05\text{табл.}} = -0,51$).

Ці результати цілком пояснюються тим, що олеїнова та лінолева кислоти при утворенні безпосередньо не пов'язані з пальмітиновою. Навпаки, олеїнова кислота є безпосереднім метаболічним попередником лінолевої, остання ж утворюється внаслідок реакції перетворення насиченого зв'язку між 12 та 13 атомами вуглецю олеїнової кислоти на подвійний [9].

Отримані результати не свідчать про суттєві зміни вмісту пальмітату у носіїв мутації *ae*, і навпаки, у носіїв цієї мутації існували лінії та гібриди з

високим або низьким вмістом олеату та лінолеату.

Однак, враховуючи специфіку біохімічного ефекту мутації *ae* [7], важко припустити можливість безпосередньої регуляції нею вмісту олеату та лінолеату. Тому найбільш вірогідною причиною існування високоамілозних форм з високим вмістом олеату або лінолеату слід визнати випадкове накопичення алелів полігенних комплексів з корисним ефектом за цими компонентами жирнокислотного складу в процесі інцухту та добору.

Окрім того, отримані результати свідчать, що генетичне різноманіття високоамілозної кукурудзи за жирнокислотним складом створює сприятливі можливості для його поліпшення і поєднання у цього типу кукурудзи високої якості крохмалю та олії.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що інбредні лінії-носії мутації *ae* дуже відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо вмісту гліцеридів олеїнової та лінолевої кислот. Успадкування цих компонентів жирнокислотного складу олії проходить за типом неповного домінування із суттєвим внеском до дисперсії аддитивних ефектів. Визначено сприятливі можливості поліпшення жирнокислотного складу олії у високоамілозної кукурудзи і поєднання у її гібридів високої якості крохмалю та олії.

Література

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М. : Агропромиздат, 1985. – 351 с.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1973. – 343 с.
3. Литун П.П. Генетика количественных признаков: генетические скрещивания и генетический анализ / П.П. Литун, Н.В. Проскурнин. – К. : УМВО, 1992. – 96 с.
4. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований / М.И. Прохорова. – Л. : Химия, 1982. – 202 с.
5. Alferai R. Quantitative trait locus analysis of fatty acid concentrations in maize / R. Alferai, T.G. Berke, T.R. Rocheford // *Genome*. – 1995. – V. 38. – P. 894-901.
6. Amylolysis of maize mutant starches / [C.Gerard, P.Colonna, A.Buleon, V. Planchot] // *J. Sci. Food. Agr.* – 2001. – V. 81. – P. 1281-1287.
7. Boyer C. D. Kernel mutants of corn / C. D. Boyer, L. C. Hannah // *Specialty Corns*; A. Hallauer Ed. – Boca Raton, Fl. : CRC Press, 1994. – P. 1-28.
8. Coe E. Maize gene list and working maps / E. Coe, M. Polacco // *Maize Genet. Newslett.* – 1994. – V. 68. – P. 156-191.
9. Harwood J.L. Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids // J.L.Harwood / *Biochim. Biophys. Acta.* – 1996. – V. 1031. – P. 7-56.
10. Major and minor QLT and epistasis contribute to fatty acid composition and oil concentration in high – oil maize / X. Yang, Y. Guo, J. Jan [et al.] // *Theoret.*

Appl. Genet. – 2010. – V. 120. – P. 665-678.

11. 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.

12. Pollak L. M. Breeding for grain quality traits / L. M. Pollak, M. P. Scott // Maydica. – 1995. – V. 50. – P. 247-257.

13. Shadley J.D. Identification of a factor in maize that increases embryo fatty acid unsaturation by trisomic and B-A translocational analysis / J.D.Shadley, D.F.Weber // Canad. J. Genet. Cytol. – 1980. – V. 22. – P. 11-19.

14. Shadley J.D. Location of chromosomal regions controlling fatty acid composition of embryo oil in *Zea mays* L / J.D. Shadley, D.F. Weber // Canad. J. Genet. Cytol. – 1986. – V. 28. – P. 260-265.

15. Surlan-Momirovich G. Inheritance of saturated fatty acid composition in maize kernel / G. Surlan-Momirovich // Poljopriv. znanst. smotr. – 1988. – V. 53. – P. 173 -182.

16. 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.

17. Vles R.O. Nutritional characteristics and food uses of vegetable oils / R.O. Vles, J.J.Gottenbos // Oil crops in the world, G.Robbelen, R.K.Downey, A.Ashri Eds. – McGraw-Hill Publ. Co., 1989. – P. 63-86.

18. Wang Y.-J. Thermal and gelling properties of maize mutants from the Oh43 inbred line / Y.-J.Wang, P.White, L.Pollak // Cereal Chem. – 1992. – V. 69. – P. 328-334.

19. White P. Properties of corn starch / P.White // Specialty corns, 2nd ed.; A.R.Hallauer Ed. - Boca Raton - London - New York - Washington, D.C.: CRC Press, 2001. – P. 41-70.

20. Widsrom N.W. Chromosomal location of genes controlling oleic and linoleic acid composition in the germ oil of two maize inbreds / N.W. Widstrom, M.D. Jellum // Crop Sci. – 1984. – V. 24. – P. 1113-1115.

Генетический анализ жирнокислотного состава масла у высокоамилозной кукурузы на основе мутации *ae*. Тимчук С.М., Супрун О.Г., Потапенко Г.С., Ларинцева Н.В., Тимчук Д.С., Харченко Л.Я. – Установлено, что инбредные линии-носители мутации *ae* очень различаются между собой по эффектам комбинационной способности относительно содержания глицеридов олеиновой и линолевой кислот. Наследование этих компонентнов жирнокислотного состава масла проходит по типу неполного доминирования с существенным вкладом в дисперсию аддитивных эффектов. Показаны благоприятные возможности улучшения жирнокислотного состава масла у высокоамилозной кукурузы и сочетания у ее гибридов высокого качества крахмала и масла.

Ключевые слова: кукуруза, мутанты *ae*, жирнокислотный состав масла, генетический анализ.