

УДК 633.15:631.527.581

СОДЕРЖАНИЕ И ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МАСЛА В СЕМЕНАХ КРАХМАЛ-МОДИФИЦИРУЮЩИХ МУТАНТОВ КУКУРУЗЫ

Диденко С.Ю., Николенко И. А., Мовчан Т.Д., Тымчук С.М.

Введение

Использование биохимического эффекта генов, контролирующих структуру эндосперма, зарекомендовало себя как экономически выгодный и экологически безопасный способ улучшения качества кукурузного крахмала [1].

Однако при создании гибридов с улучшенным качеством крахмала следует учитывать и их пригодность для получения сопутствующих продуктов промышленной переработки кукурузы, важнейшим из которых является масло. Современные гибриды кукурузы не отличаются его достаточно высоким содержанием, а само масло хотя и обладает хорошей F – и E – витаминной активностью, недостаточно устойчиво к перекисному окислению [2]. Поэтому возникает необходимость генетического улучшения крахмалоносного сырья и по его липидному комплексу.

Задачи наших трехлетних исследований предусматривали установление плейотропного эффекта крахмалмодифицирующих мутантов кукурузы по содержанию и жирнокислотному составу масла.

Материалы и методы

Материалом для исследований послужила серия инбредных линий кукурузы трехлетней репродукции, полученных на основе мутаций wx, ae, su1 и su2. Известно, что мутантный ген wx контролирует образование пассивной изоформы крахмал – синтазы, а мутантные гены ae, su1, su2 – пассивных изоформ крахмал-разветвляющего фермента [3]. Поэтому крахмал носителей рецессивных гомозигот wx полностью состоит из амилопектина, тогда как крахмалы носителей мутантных генов ae, su1, su2 отличаются существенно повышенной долей амилозы [4].

Контроль аллельного состояния указанных генетических факторов осуществляли по фенотипу семян и путем определения фракционного состава крахмала.

Установление характера наследования содержания и жирнокислотного состава масла осуществлялось на серии гибридов диаллельной схемы скрещиваний линий-носителей мутации *su1*. В соответствии с номенклатурой Национального центра генетических ресурсов растений Украины, линии такого типа имеют общий индекс МС и соответствующий индивидуальный номер.

Определение доли зародыша в семени и содержания масла проводили гравиметрическими методами [5]. Жирнокислотный состав масла анализировали методом газо-жидкостной хроматографии [6]. Полученные результаты подвергали статистической обработке методами дисперсионного и ковариационного анализа [7].

Интерпретацию результатов диаллельного анализа содержания и жирнокислотного состава масла проводили в соответствии с алгоритмом Хеймана [8]. В его ходе определяли общую (ОКС) и специфическую (СКС) комбинационную способность каждой линии. Эти параметры выражают, соответственно среднюю степень передачи ею анализируемого признака гибридам с участием других линий экспериментального комплекса и размах изменчивости признака в пределах серии гибридов с участием данной линии. При анализе генетических компонентов дисперсии устанавливали относительный вклад в нее эффектов доминирования и аддитивных эффектов ($H1/D$), концентрацию доминантных и рецессивных аллелей полигенов (F), а также коэффициент (b) и свободный член (a) уравнения линейной регрессии: родители – потомки.

Обсуждение результатов

Общая оценка экспериментальной выборки свидетельствует, что масличность зерна кукурузы следует рассматривать как результирующий признак, определяемый совокупностью двух факториальных элементов – доли зародыша в семени и содержания масла в зародыше. Коррелятивные взаимосвязи каждого из факториальных признаков с результирующим оказались существенными и высокими по силе (r соответственно 0,84 и 0,87 при r крит. = 0,35). Как доля зародыша в семени, так и масличность зародыша испытывали широкие вариации, а сочетание их высокого уровня в пределах одного генотипа обеспечивало и наиболее высокое содержание масла в зерне кукурузы.

Имеются данные о независимом характере генетической регуляции доли и масличности зародыша [9]. Однако в наших опытах между этими признаками установлена значительная положительная корреляция ($r = 0,77$), не исключающая возможности сцепления систем их генетического контроля.

Установлено, что образование амилопектиновых крахмалов мутацией *wx* не сопровождается плейотропным эффектом относительно содержания масла в семенах и факториальных элементов этого признака (табл. 1).

Напротив, мутации *ae*, *su2* и *su1*, вызывающие повышение содержания амилозы в крахмале, отличались увеличенной долей зародыша и масличностью семян. Для мутаций *su2* и, особенно, *su1* в опытах было установлено повышение

Таблица 1

Элементы структуры признака “содержание масла в семенах” у крахмал-модифицирующих мутантов кукурузы (2000 – 2002 гг)

Мутанты	Содержание масла в семени, %	Доля зародыша в семени, %	Содержание масла в зародыше, %
<i>wx</i>	4,3 – 5,1	11,8 – 14,4	36,7 – 39,4
<i>ae</i>	5,1 – 5,8	13,9 – 15,6	34,2 – 38,9
<i>su2</i>	5,4 – 6,2	12,7 – 15,2	39,5 – 44,1
<i>su1</i>	7,8 – 10,4	15,1 – 19,3	44,6 – 51,3
Обычный тип	3,2 – 5,4	9,4 – 13,6	35,0 – 39,7
НСР 05	0,83	1,15	2,69

содержания масла в зародыше. И если увеличение доли зародыша в семенах мутантов этого типа вполне можно объяснить вызываемой ими депрессией синтеза крахмала, то повышение масличности зародыша, скорее всего, связано с пространственным сцеплением контролирующих его генетических факторов с высокоамилозными мутациями.

Качественный состав масла у обычных и мутантных форм кукурузы был тождественным и представленным, в основном, глицеридами пяти жирных кислот – С16 : 0, С18 : 0, С18 : 1, С18 : 2, С18 : 3. При этом содержание глицеридов стеариновой и линоленовой кислоты оказалось очень стабильным, а между содержанием пальмитата и аллельным состоянием крахмал-модифицирующих локусов не было выявлено определенной зависимости (табл. 2).

Наиболее существенные различия между экспериментальными вариантами опыта были установлены по содержанию глицеридов олеиновой и линолевой кислот, связанными между собой сильной, практически линейной отрицательной корреляцией ($r = - 0,99$). С учетом данных других исследователей [10], есть основания предполагать, что олеиновая кислота является непосредственным предшественником линолевой, а регуляция конверсии олеата в линолеат связана с образованием активной или пассивной формы специфической десатуразы.

Увеличение содержания глицеридов олеиновой кислоты в масле зерна кукурузы повышает его устойчивость к перекисному окислению и поэтому имеет безусловное практическое значение. Однако если сам факт наличия

Таблица 2
Жирнокислотный состав масла крахмал-модифицирующих мутантов кукурузы
(2000 – 2002 гг.)

Мутанты	Содержание глицеридов жирных кислот, % к сумме				
	C16 : 0	C18 : 0	C18 : 1	C18 : 2	C18 : 3
wx	7,9 – 9,0	1,6 – 1,9	21,1 – 28,4	59,7 – 68,0	1,0 – 1,5
ae	8,5 – 10,1	1,2 – 1,4	33,2 – 35,7	51,4 – 55,8	1,2 – 1,4
su2	7,1 – 9,3	1,5 – 1,7	33,8 – 35,1	53,6 – 55,4	0,9 – 1,6
su1	9,4 – 12,1	0,5 – 1,6	39,2 – 47,4	39,0 – 48,6	1,0 – 1,3
Обычный тип	6,4 – 9,4	1,1 – 1,6	21,9 – 27,6	60,9 – 69,2	0,9 – 1,1
НСР 0,5	1,51	0,47	1,74	2,66	0,32

генетических детерминантов количественного соотношения олеат : линолеат сомнений не вызывает [11], то конкретные оценки их хромосомной локализации очень противоречивы.

Проведенные нами исследования не выявили достоверных отличий носителей мутации wx по жирнокислотному составу масла от обычной кукурузы, в то время как для высокоамилозных мутантов было характерно повышенное содержание глицеридов олеиновой кислоты. Этот эффект в наших опытах был наиболее выражен у носителей мутации su1. Однако, полученные результаты дают основания объяснить перераспределение жирнокислотного состава масла скорее не плейотропным эффектом крахмал-модифицирующих мутантных генов, а их пространственным сцеплением с локусами, непосредственно контролирующими образование жирных кислот.

В ходе проведения наших опытов в длинном плече четвертой хромосомы был идентифицирован генетический фактор, который контролирует высокое содержание олеата и подвержен кроссоверному распределению с локусом su1. Полученные результаты указывают также на наличие генов с аналогичным эффектом в пятой и шестой хромосомах.

Экспрессия моногенных факторов, контролирующих конверсию олеата в линолеат, в наших опытах не была фиксированной. Содержание олеата у неродственных линий с тождественным аллельным состоянием маркерных генов четвертой, пятой и шестой хромосом (соответственно su1, ae и su2) существенно различалось и имело количественную природу наследования.

Для генетического анализа этих признаков была реализована диаллельная схема скрещиваний с участием 10 неродственных линий на основе мутации su1, которая вызывала наибольший эффект в отношении содержания и жирнокислотного состава масла. В опытах было установлено, что линии с тождественным аллельным состоянием этого гена существенно различались

по эффектам общей и специфической комбинационной способности по содержанию масла и глицеридов олеиновой кислоты в нем (табл. 3).

Таблица 3.

Комбинационная способность и генетические компоненты дисперсии линий кукурузы на основе мутации *su1* по содержанию масла и глицеридов олеиновой кислоты (2001 г)

Линии	Содержание масла			Содержание глицеридов олеиновой кислоты		
	ОКС	СКС	F	ОКС	СКС	F
МС – 224	0,28	0,08	0,27	1,41	0,67	- 1,94
МС – 230	- 0,11	0,04	1,04	- 0,22	0,65	- 7,35
МС – 233	- 0,18	0,01	0,92	- 1,35	0,77	2,21
МС – 242	- 0,02	0,04	0,84	- 1,11	0,39	- 1,17
МС – 245	- 0,27	0,03	0,86	- 1,70	0,38	1,80
МС – 248	- 0,19	0,02	0,86	- 0,77	0,30	- 0,20
МС – 251	0,22	0,04	0,89	1,54	0,23	- 1,27
МС – 254	- 0,20	0,01	0,71	- 0,12	0,50	2,00
МС – 257	0,47	0,08	0,09	2,07	0,08	- 1,17
МС – 263	0,01	0,02	0,36	0,25	0,08	- 0,18
НСР 05	0,11	-	-	0,26	-	-
H ₁ / D		0,66			0,54	
a		0,09			0,99	
b		0,73			0,85	

Тип наследования этих признаков мог быть квалифицирован как неполное доминирование с существенным вкладом аддитивных эффектов. Направленного доминирования со стороны доминантных или рецессивных аллелей гипотетических полигенных комплексов в опытах зарегистрировано не было.

Характерно, что наиболее высокомасличные линии (МС – 224, МС – 251, МС – 257) с содержанием масла в зерне выше 9 % имели и наибольшие эффекты ОКС по этому признаку. Кроме того, эти линии отличались и наибольшим содержанием глицеридов олеиновой кислоты в масле и наиболее высокими эффектами ОКС по содержанию олеата.

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют, что непосредственный эффект олеат-кодирующих локусов модифицируется полигенными комплексами и за счет подбора рекуррентных родительских форм он может быть усилен. С другой стороны, экспериментальные результаты не исключают возможности

пространственного сцепления генетических факторов, контролирующих содержание масла и олеата, по крайней мере у носителей мутации *su1*.

Список литературы

1. Ferguson V. High amylose and waxy corns // *Specially corns*. Ed. A.R.Hallauer – Boca Raton: CRC Press (USA), 1994. – P. 55 – 77.
2. Vles R.O., Gottenbos J.J. Nutritional characteristics and food uses of vegetable oils // *Oil Crops of the world*. Eds. G. Robbelen, R.K. Downey, A. Ashri. - McGraw-Hill Publ. Co. (UK). – 1989. – P. 63 – 86.
3. Whitt S., Wilson L.M., Tenaillon M.Z., Gaut B.S., Buckler E.S. Genetic diversity and selection in the maize pathway // *PNAS*. – V. 99. – № 20. – P. 12959 – 12962.
4. Coe E., Polacco M. Maize Gene List and working Maps // *Maize Genet. Newsletter*. – 1994. – V. 68. – P. 156 – 191.
5. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В.В. Арасимович, Н.П. Ярош и др. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
6. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Химия, 1982. – 272 с.
7. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: Высшая школа, 1978. – 448 с.
8. Литун П.П., Проскурнин Н.В. Генетика количественных признаков. Генетические скрещивания и генетический анализ: Учебное пособие. – Харьков: Харьк. гос. аграр. ун-т им. В.В. Докучаева, 1992. – 97 с.
9. Plewa M.J., Weber D.F. The use of monosomics to detect genes conditioning lipid content in *Zea mays* L. embryos // *Canad. J. Genet. Cytol.* – 1973. – V. 15, № 2. – P. 313 – 320.
10. Somerville C.R., Browse J. Plant Lipids: metabolism, mutants and membranes // *Science*. – 1991. – V. 252. – № 1. – P. 80 – 87.
11. Ohlrogge J.B., Browse J., Somerville C.R. The genetics of plant lipids // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1991. – V. 1082. – № 1. – P. 1 – 26.

Поступила в редакцию 03.03.2003 г.