

ТИМЧУК Д.С.

ПВНЗ «Харківський міжнародний медичний університет»,

Україна, 61001, м. Харків, вул. Молочна, 38, ORCID: 0000-0002-4198-8372, e-mail: tym1952@ukr.net, (095) 188-22-63, (057) 702-08-71

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ВМІСТУ ПАЛЬМІТИНОВОЇ КИСЛОТИ В ОЛІЇ КУКУРУДЗИ НА ОСНОВІ МУТАЦІЇ *WAXU*

Мета. Визначення ефекту мутації *wx* за вмістом пальмітату і генетичний аналіз цієї ознаки у восковидної кукурудзи. **Методи.** В дворічних дослідках аналізувалися 10 неспоріднених ліній кукурудзи звичайного типу та 10 ліній – носіїв мутації *wx*. Генетичний аналіз вмісту пальмітату проводили в діалельній схемі схрещувань 6 ліній – носіїв мутації *wx* за другим методом Гріфінга. Вміст пальмітату визначали газо-хроматографічним методом Пейскера. **Результати.** Носії мутації кукурудзи *wx* суттєво перевищували кукурудзу звичайного типу за вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти в оліях. Вміст пальмітату у неспоріднених за походженням ліній – носіїв мутації *wx* – був піддаваний кількісній мінливості і варіював у межах 13,3–16,4. Успадкування вмісту пальмітату у восковидної кукурудзи здійснювалося за типом неповного домінування з переважним внеском до дисперсії адитивних ефектів, і більш високий рівень ознаки контролювався рецесивними алелями полігенів. **Висновки.** Отримані результати дозволяють припустити наявність в 9 хромосомі просторового зчеплення мутантного гена *wx* з пальмітат-кодуючим локусом, ефект якого модифікується полігенним комплексом.

Ключові слова: *Zea mays* L., мутація *wx*, вміст пальмітату, генетичний аналіз.

Пальмітинова кислота є кількісно переважаючим насиченим компонентом жирнокислотного складу гліцеридів кукурудзяної олії [1]. Цей компонент олії за фізіологічною активністю значно поступається ненасиченим жирним кислотам, однак саме він є тим вихідним компонентом, з якого синтезуються інші насичені і ненасичені жирні кислоти з довжиною вуглецевого ланцюга 16 і більше [2].

Рослинні олії і з високим, і з низьким вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти мають очевидне практичне значення. Олії з низьким вмістом пальмітату стримують або навіть запобігають розвитку багатьох серцево-судинних та

онкологічних захворювань [3], а олії з високим вмістом пальмітату можуть розглядатися як цікава альтернатива гідрогенізованним жирам, отримання яких пов'язане з утворенням трансізомерів жирних кислот [4].

Кукурудза як промислове джерело олій із низьким або високим вмістом пальмітату менш приваблива, ніж інші олійні культури, через значно нижчий вміст олії в зерні. Однак кукурудза має і свої переваги як об'єкт поліпшення рослинних олій за вмістом пальмітату. Серед культурних рослин вона найбільш повно картована за ознаками якості продукції [5].

Відомо, що вміст пальмітату в оліях кукурудзи варіює у досить широких межах [6], і це створює передумови для його генетичного поліпшення, результативність якого залежить від ідентифікації генетичних детермінантів ознаки і встановлення закономірностей її успадкування.

З'ясовано, що вміст пальмітату в кукурудзи має полігенну природу і контролюється принаймні 8 локусами, розташованими у 6 хромосомах (найбільш експресивний локус цієї системи знаходиться у 9 хромосомі) [7]. Згідно із сучасними уявленнями [8], в цій же хромосомі розташований і мутантний ген кукурудзи *waxu* (*wx*), що має візуально діагностований маркер алельного стану, яким є воскоподібний фенотип зерна.

Наведені дані свідчать про те, що носії мутантного гена *wx* є потенційними джерелами підвищеного вмісту пальмітату і можуть розширювати корисне генетичне різноманіття культури за цим компонентом жирнокислотного складу. Однак практичне використання носіїв мутації *wx* у цій якості потребує експериментального підтвердження ефекту мутації *wx* за вмістом пальмітату і встановлення характеру успадкування ознаки за гібридизації між собою її різних джерел. Ці питання і визначили задачі наших досліджень.

© ТИМЧУК Д.С.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень послуговували 10 неспоріднених за походженням ліній кукурудзи – носіїв мутації *wx* – і 10 неспоріднених ліній звичайного типу. Ефекти мутації *wx* за вмістом пальмітату визначали шляхом порівняння рівнів ознаки у зерна із звичайним та мутантним фенотипами виділених з одного качана гібридів F_2 від топ-кросних схрещувань ліній звичайного типу з лініями – носіями мутації *wx*.

Генетичний аналіз вмісту пальмітату проводили в діалельній схемі схрещувань 6 неспоріднених ліній – носіїв мутації *wx* – за другим методом Гріфінга. Всі експерименти здійснювали протягом двох років.

Вирощування ліній та гібридів проводили на дослідній селекційній станції «НАСКО», розташованій у зоні Степу України, згідно із загальноприйнятою методикою польового експерименту [9]. Для біохімічного аналізу використовували матеріал тільки від контрольованого запилення.

Аналіз жирнокислотного складу олії проводили газохроматографічним методом Пейскера [10]. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали методами дисперсійного та діалельного аналізу, який виконувався із за-

стосуванням алгоритму Хеймана [11;12].

Результати та обговорення

Отримані результати показали, що лінії кукурудзи – носії мутації *wx* – відрізняються від ліній звичайного типу більш високим вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти порівняно з лініями звичайного типу. В досліді встановлено, що лінії восковидної кукурудзи переважають лінії звичайного типу у середньому на 33,3 % (табл. 1).

Під час порівняння рівнів ознаки у зерна із звичайним та мутантним фенотипами, виділених з одного гібриду F_2 від топ-кросних схрещувань ліній звичайного типу з лініями – носіями мутації *wx*, – теж було зареєстровано більш високий вміст пальмітату в оліях зерна з воскоподібним фенотипом. Характерно, що цей ефект спостерігався у всіх восьми проаналізованих у досліді гібридах такого типу поза залежністю від їх гібридних комбінацій (табл. 2).

У ході реалізації цієї схеми схрещувань встановлено також, що у переважній більшості випадків вміст пальмітату у зерен як із звичайним, так із восковидним фенотипом був проміжним між батьківськими формами.

Таблиця 1. Вміст гліцеридів пальмітинової кислоти в оліях зерна інбредних ліній кукурудзи звичайного типу і ліній – носіїв мутації *wx*, – % (результати дворічних оцінок 10 неспоріднених за походженням ліній кожного типу)

Типи ліній	Середня групова ($\bar{x} \pm s_x$)	Розмах мінливості (мін. – макс.)	Коефіцієнт варіації ($V \pm s_v$)
Звичайні	10,8 ± 0,2	9,9 – 12,1	7,0 ± 1,6
Носії мутації <i>wx</i>	14,4 ± 0,3	13,3 – 16,4	7,5 ± 1,7
НІР _{0,95}	0,9		

Таблиця 2. Вміст гліцеридів пальмітинової кислоти в оліях зерна з різними фенотипами у гібридів F_2 , отриманих за схрещування інбредних ліній звичайного типу з лініями – носіями мутації *wx*, – % (результати дворічних оцінок)

Гібридні комбінації	Фенотипи зерна		Рівень ознаки у воскоподібного зерна порівняно із звичайним, %
	Звичайний (генотипи $WxWx$ та $Wxwx$)	Воскоподібний (генотипи $wxwx$)	
T-22 звич. х ВК-13 <i>wx</i>	10,3	13,1	127,2
T-22 звич. х ВК-69 <i>wx</i>	9,9	13,3	134,3
P-346 звич. х ВК-13 <i>wx</i>	10,2	13,2	129,4
P-346 звич. х ВК-69 <i>wx</i>	10,5	12,7	121,0
P-523 звич. х ВК-13 <i>wx</i>	11,1	13,9	125,2
P-523 звич. х ВК-69 <i>wx</i>	10,9	14,4	132,1
F-115 звич. х ВК-13 <i>wx</i>	11,3	14,9	131,9
F-115 звич. х ВК-69 <i>wx</i>	11,1	14,5	130,6
Середні групові	10,6	13,7	129,2
НІР _{0,95}		0,5	

При цьому кожна з фенотипових фракцій зерна гібридів F_2 за рівнем ознаки ухилилася до батьківських форм з аналогічними фенотипами зерна. Отримані результати показали, що більш високим вмістом пальмітату в зерні обох фенотипових фракцій F_2 вирізнялися ті гібридні комбінації, у яких і лінія звичайного типу, і лінія – носій мутації *wx* – мали більш високі рівні ознаки.

Зареєстрований у дослідях підвищений вміст пальмітату у носіїв мутації *wx* принципово може бути викликаний або самим мутантним геном *wx*, або ефектом його просторового зчеплення з пальмітат-кодуючим локусом у 9 хромосомі.

Припущення про існування плейотропного ефекту мутантного гена *wx* за вмістом пальмітату уявляється малоімовірним. Встановлено, що цей ген викликає різке зниження активності гранулозв'язаної крохмаль-синтази GBSSI, що контролює синтез амілози і викликає утворення крохмалів, які повністю складаються з амілопектину [13]. Метаболічного взаємозв'язку між цим процесом і процесом утворення жирних кислот до цього часу не встановлено.

Більш вірогідною причиною підвищення вмісту пальмітату у носіїв мутантного гена *wx* слід визнати просторове зчеплення цього гена з пальмітат-кодуючим локусом у 9 хромосомі. Інбредні лінії і фракції зерна гібридів F_2 з типовими для мутації *wx* воскоподібними фенотипами зерна вирізнялися підвищеним (порівняно з кукурудзою звичайного типу) вмістом пальмітату. Водночас у дослідях було ідентифіковано окремі лінії та сім'ї розщеплюваних гібридів – носії мутації *wx* – із зниженим вмістом пальмі-

тату, близьким до звичайної кукурудзи (10–11 %), і, навпаки, лінії та сім'ї кукурудзи звичайного типу з вмістом пальмітату, аналогічним до носіїв мутації *wx* (13–14 %). І наявність таких ліній та сімей цілком можна пояснити ефектом кросверного розподілу локусу *wx* та пальмітат-кодуючого локусу з однієї групи зчеплення.

Отримані результати показали, що вміст пальмітату у різних ліній – носіїв мутації *wx* – і восковидних сімей розщеплюваних гібридів вирізняється кількісною мінливістю, яка свідчить про полігенну природу ознаки і можливість її підвищення за рахунок використання ефектів полігенних комплексів.

У ході визначення характеру успадкування вмісту пальмітату у гібридів F_1 від топ-кросних схрещувань ліній звичайного типу з лініями – носіями мутації *wx* встановлено, що всі вони мають проміжний між батьківськими формами рівень – ознаки і ухилиються до гіршої батьківської форми. Такий тип успадкування цілком пояснюється тим, що у гібридів F_1 схожого типу у гетерозиготний стан переходить не тільки рецесивний ген *wx*, але й зчеплений із ним пальмітат-кодуючий ген.

У процесі генетичного аналізу вмісту пальмітату, проведеного в системі діалельних схрещувань 6 ліній – носіїв мутації *wx*, – було встановлено, що система генетичної регуляції ознаки наближається до адитивно-домінантної моделі, а успадкування ознаки здійснюється за типом неповного домінування з переважним внеском до дисперсії адитивних ефектів (табл. 3).

Таблиця 3. Комбінаційна здатність ліній кукурудзи – носіїв мутації *wx* – і основні генетичні компоненти дисперсії за вмістом пальмітинової кислоти в оліях (середні результати дворічних оцінок ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань)

Лінії	Вміст пальмітату в олії, %	Ефекти ЗКЗ	Варіанси СКЗ	Показник напрямку домінування (F)
ВК-14 <i>wx</i>	14,5	-0,14	0,08	-0,06
ВК-19 <i>wx</i>	16,4	0,79	0,07	-0,85
ВК-13 <i>wx</i>	16,2	0,63	0,16	-1,22
ВК-37 <i>wx</i>	14,5	-0,05	0,03	0,48
ВК-69 <i>wx</i>	13,8	-0,65	0,17	1,38
ВК-64 <i>wx</i>	13,6	-0,58	0,07	0,50
НІР _{0,95}	1,7	0,13		
Н1/D		0,32		
a		0,26		
b		0,90		

Результати аналізу експериментального комплексу свідчать про наявність у ньому спрямованого домінування, за якого високий вміст пальмітату контролювався переважно рецесивними алелями полігенів.

Батьківські лінії діалельної схеми схрещувань були суттєво відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо вмісту пальмітату. При цьому варіанса загальної комбінаційної здатності значно перевищувала варіансу специфічної комбінаційної здатності, що може розглядатися як додаткове свідчення переважання адитивних ефектів над ефектами домінування в системі генетичної регуляції вмісту пальмітату в олії восковидної кукурудзи.

Загалом результати генетичного аналізу показали, що ефект пальмітат-кодуючого локусу 9 хромосоми може модифікуватися полігенними комплексами, розташованими як в цій же, так і в інших хромосомах.

Вірогідність існування саме такої системи регуляції вмісту пальмітату підтверджується результатами досліджень, проведених раніше іншими авторами [7; 14]. Згідно з ними пальмітат-кодуючі локуси кукурудзи розташовані у 1, 2, 4, 6, 7, 9 та 10 хромосомах, але найбільший ефект за вмістом олеату серед них проявляє локус 9 хромосоми. Водночас у ході гібридизації, інцухту та добору, ймовірно, відбувається вільна комбінація пальмітат-кодуючих полігенів із неконтрольованим алельним станом, які локалізовані в інших хромосомах, викликають кількісну мінливість вмісту пальмітату і модифікують ефект пальмітат-кодуючого локусу 9 хромосоми.

Експериментальні дані інших авторів щодо успадкування вмісту пальмітату у кукурудзи вкрай обмежені, а щодо успадкування вмісту

пальмітату саме у восковидної кукурудзи – і зовсім відсутні. Результати проведених іншими авторами досліджень, як і отримані нами результати, свідчать про значний внесок адитивних ефектів до дисперсії за вмістом пальмітату [15]. Однак у дослідженнях інших авторів, на відміну від наших досліджень, вміст пальмітату успадковувався за типом наддомінування, а не за типом неповного домінування. Ці розбіжності, вірогідніше за все, пов'язані із генетичною специфікою ліній, залучених до діалельних схрещувань.

Загалом отримані в нашому дослідженні результати свідчать про те, що тип генетичної регуляції вмісту пальмітату в олії кукурудзи створює сприятливі можливості генетичного поліпшення ознаки і доцільність використання для цієї мети просторового зчеплення пальмітат-кодуючого локусу з мутантним геном *wx*.

Висновки

Встановлено, що носії ендоспермової мутації кукурудзи *wx* суттєво перевищують кукурудзу звичайного типу за вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти в оліях. Вміст пальмітату у неспоріднених за походженням ліній – носіїв мутації *wx* – був піддаваний кількісній мінливості і варіював у межах 13,3–16,4. Успадкування вмісту пальмітату у носіїв мутації *wx* здійснювалося за типом неповного домінування з переважним внеском до дисперсії адитивних ефектів. При цьому більш високий рівень ознаки контролювався рецесивними алелями полігенів. Отримані результати дозволяють припустити наявність у дев'ятій хромосомі просторового зчеплення мутантного гена *wx* з пальмітат-кодуючим локусом, ефект якого може модифікуватися полігенним комплексом.

References

1. Scrimgeour C. Chemistry of fatty acids. *Bailey's industrial oil and fat products* : monograph/ F.Shahidi Ed.-Hoboken, New Jersey : J. Wiley & Sons Inc. Publ., 2005. Vol. 1. Chpt. 1. P. 1–44. doi: 10.1002/047167849X.bio005.
2. Bates P.D., Stymme S., Ohlrogge J. Biochemical pathways in seed oil synthesis. *Curr.Opin.Plant Biol.* 2013. Vol. 16 (3). P. 358–364. doi: 10.1016/j.pbi.2013.02.015.
3. Fattore E., Fanelli R. Palm oil and palmitic acid : a review on cardiovascular effects and carcinogenicity. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2013. Vol. 64 (5). P. 648–659. doi: 10.3109/09637486.2013. 768213.
4. Dhaka V., Gulia N., Ahlawat K.S., Khatkar B.S. Trans fats – sources, health risks and alternative approach : a review. *J Food Sci. Technol.* 2011. Vol. 48 (5). P. 534–541. doi: 10.1007/s13197-010-0225-8.
5. Cook, J.P., McMullen, M.D., Holland, J.B., Tian, F., Bradbury, P., Ross-Ibarra, J., Buckler, E.S., Flint-Garcia, S.A. Genetic architecture of maize kernel composition in the nested association mapping and inbred association panels. *Plant Physiol.* 2012. Vol. 158 (2). P. 824–834. doi: 10.1104/pp.111.185033.
6. Sanjeev P., Chaudhary D.P., Sreevastava P., Saha S., Rajendran A., Sekhar J.C., Chikkappa G.K. Comparison of fatty acid profile of specialty maize to normal maize. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 2014. Vol. 91 (6). P. 1001–1005. doi: 10.1007/s11746-014-2429-y.

7. Yang X, Guo Y., Yan J., Zhang J., Song T., Rocheford T., Li J.-S. Major and minor QTL and epistasis contribute to fatty acid compositions and oil concentration in high-oil maize. *Theor. Appl. Genet.* 2010. Vol. 120. P. 665–678. doi: 10.1007/s00122-009-1184-1.
8. Coe E.H., Schaeffer M.L. Genetic, physical maps and database resources for maize. *Maydica.* 2005. Vol. 50 (3). P. 285–303.
9. Dospikhov B.A. Technics of field experiment (with the basics of statistical processing of research results). 6th Ed. Moscow : Alliance, 2011. 350 p. [in Russian]
10. Gutsol V.V., Zhuravel I.A., Guryeva I.G., Kislichenko, V.S. The study of fatty acids in the seeds of lettuce variety «Lollo Rosso». *Bull. Kazakh Med. Univ.* 2015. Vol. 4. P. 476–478. [in Russian]
11. Litun P.P., Proskurnin N.V. Genetics of quantitative traits : genetic crossings and genetic analysis. Kyiv : UMVO, 1992. 96 p. [in Russian]
12. Vukolov E.A. Foundations of statistical analysis. Workshop on statistical methods and operations research using the Statistica and Excel Packages : Tutorial. 2nd Ed. Moscow: Forum. 2008. 464 p. [in Russian]
13. Shannon J.C., Garwood D.L., Boyer C.D. Genetics and physiology of starch development. *Starch chemistry and technology* : monograph/ J.BeMiller, R.Whistler Eds.-New-York : Acad.Press. 3rd Ed. 2009. Cpt. 3. P. 23–82. doi: 10.1016/B978-0-12-746275-2-00003-3.
14. Wassom J.J., Mikkelineni V., Bohn M.O., Rocheford T.R. QTL for fatty acid composition of maize kernel oil in Illinois High Oil × B73 backcross-derived lines. *Crop Sci.* 2008. Vol. 48 (1). P. 69–78. doi: 10.2135/cropsci2007.04.0208.
15. Orhun G.E. Genetic control of oil and saturated fatty acids in maize (*Zea mays* L.) populations. *J. Agr. Fac. Gas. Univ.* 2018. Vol. 35 (3). P. 242–247. doi: 10.13002/jafag4388.

TYMCHUK D.S.

*PHEI «Kharkiv International Medical University»,
Ukraine, 61001, Kharkiv, Molochnaya str., 38*

GENETIC ANALYSIS OF PALMYTIC ACID CONTENT IN THE OIL OF MAIZE BASED ON WAXY MUTATION

Aim. Determination of the effect of *wx* mutation on the palmitate content and genetic analysis of this trait in waxy maize. **Methods.** In two-year experiments, 10 unrelated maize inbreds of the common type and 10 inbreds – carriers of the *wx* mutation were analyzed. Genetic analysis of palmitate content was carried out in the diallel crosses of 6 inbreds – carriers of the *wx* mutation by the second Griffing method. The palmitate content was determined by Peysker's gas chromatographic method. **Results.** Carriers of the *wx* mutation of maize exceeded the maize of common type in the content of glycerides of palmitic acid in oils. The content of palmitate in unrelated inbreds – carriers of the *wx* mutation was subjected to quantitative variability and ranged from 13.3 % to 16.4 %. Inheritance of palmitate content in the waxy corn was carried out by the type of incomplete dominance with a predominant contribution of additive effects to the variation. A higher level of trait was controlled by recessive alleles of polygens. **Conclusions.** The obtained results suggest the presence in chromosome 9 of spatial linkage of the mutant *wx* gene with palmitate - coding locus, the effect of which is modified by a polygenic complex.

Keywords: *Zea mays* L., *wx* mutation, palmitate content, genetic analysis.