

ТИМЧУК Д. С.

ПВНЗ «Харківський міжнародний медичний університет»,

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

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ВМІСТУ ГЛІЦЕРИДІВ ПАЛЬМІТИНОВОЇ КИСЛОТИ У НОСІЇВ МУТАЦІЇ КУКУРУДЗИ *SHRUNKEN-1*

Мета. Встановлення впливу мутації кукурудзи *shrunkен-1* (*sh₁*) на вміст пальмітату в олії кукурудзи та генетичний аналіз цієї ознаки.

Методи. Ефекти мутації *sh₁* за вмістом пальмітату визначали шляхом порівняння інбредних ліній-носіїв цієї мутації з лініями звичайного типу, а також в топ-кросній схемі схрещувань ліній кукурудзи звичайного типу з мутантними лініями. Генетичні компоненти дисперсії за вмістом пальмітату аналізували в діалельній схемі схрещувань мутантних ліній за другим методом Гріфінга. Визначення жирнокислотного складу олії здійснювали газохроматографічним методом Пейскера. **Результати.** Встановлено, що лінії кукурудзи – носії мутації *sh₁* перевищують за вмістом пальмітату лінії звичайного типу в середньому на 29,2 %. Рівень ознаки у ліній на основі мутації *sh₁* вирізнявся кількісною мінливістю і варіював в межах 12,2-15,6 %. Вміст пальмітату у носіїв мутації *sh₁* успадковувався за типом неповного домінування з переважним внеском до дисперсії адитивних ефектів. Вищий рівень ознаки контролювався рецесивними алелями полігенів. **Висновки.** Отримані результати дозволяють припускати можливість просторового зчеплення мутантного гена *sh₁* з пальмітат-кодуючим локусом, ефект якого модифікується полігенним комплексом. Підтверджено, що носії мутації *sh₁* розширюють генетичне різноманіття кукурудзи за вмістом пальмітату.

Ключові слова: *Zea mays* L., мутація *sh₁*, вміст пальмітату, генетичний аналіз.

Кукурудзяна олія вирізняється високими споживчими властивостями і позитивним впливом на здоров'я людини завдяки поєднанню в її складі високого вмісту ненасичених жирних кислот, насамперед лінолевої, і жиророзчинних вітамінів, насамперед, вітаміну Е [1].

Однак переважання в складі кукурудзяної олії ненасичених жирних кислот може викликати та небажані фізіологічні ефекти, пов'язані із

підвищеною схильністю цих компонентів жирнокислотного складу олії до перекисного окиснення [2].

Показано, що проміжні продукти перекисного окиснення ненасичених жирних кислот суттєво підвищують ризик виникнення ряду небезпечних патологічних станів людини [3]. Тому виникає потреба у створенні промислових джерел кукурудзяної олії зі збільшеними частками мононенасичених та насичених жирних кислот, оскільки ці компоненти жирнокислотного складу вирізняються значно більшою стійкістю до окиснення, ніж ненасичені кислоти [4].

Селекційно-генетичні технології підвищення вмісту в оліях гліцеридів олеїнової кислоти, яка є основною мононенасиченою кислотою в складі рослинних олій, відпрацьовано дуже добре [5]. Розроблено також ефективні технології підвищення вмісту олеату, специфічні для окремих культур, зокрема, кукурудзи [6].

На даний час високого вмісту олеату вдалося досягти у понад 20 видів культурних рослин і кукурудзи в тому числі [7].

Генетичне різноманіття кукурудзи створює можливості поліпшення культури й за вмістом насичених кислот, основною з яких є пальмітинова. При цьому і підвищення, і зниження вмісту пальмітату вважаються незалежними та практично значущими напрямками селекційно-генетичного поліпшення [8].

Показано, що вміст пальмітату у кукурудзи має полігенну природу і регулюється принаймні вісьмома локусами, найбільш експресивний з яких локалізовано у дев'ятій хромосомі [9]. З іншого боку відомо, що в цій же хромосомі розташований і ген структури ендосперму кукурудзи *sh₁*, рецесивні алелі якого викликають утворення візуально діагностованого зморшкуватого фенотипу зерна [10].

Це дає підстави для припущення, що носії мутації *sh₁* є потенційними джерелами підвищеного або зниженого вмісту пальмітату у кукурудзи, які мають фенотипові маркери, принаймні,

© ТИМЧУК Д. С.

одного пальмітат-кодууючого локусу. Однак це припущення потребує експериментального підтвердження впливу мутації sh_1 на вміст пальмітату і проведення генетичного аналізу вмісту пальмітату у джерел мутації sh_1 . Вони й склали задачі даного дослідження.

Матеріали і методи

Для визначення мінливості вмісту пальмітату у звичайної кукурудзи й носіїв мутації sh_1 використовували десять неспоріднених за походженням інбредних ліній кукурудзи – носіїв мутації sh_1 і десять інбредних ліній звичайного типу. Ефекти мутації sh_1 за вмістом пальмітату аналізували шляхом порівняння рівнів ознаки у зерна із звичайним та мутантним фенотипами, виділених з одного качана гібридів F_2 від топ-кросних схрещувань чотирьох ліній звичайного типу з двома лініями-носіями мутації sh_1 .

Генетичний аналіз вмісту пальмітату і визначення ефектів комбінаційної здатності за цією ознакою здійснювали в діалельній схемі схрещувань шести неспоріднених ліній-носіїв мутації sh_1 за другим методом Гріфінга. Всі експерименти здійснювали протягом двох років.

Вирощування ліній та гібридів проводили на дослідній селекційній станції «НАСКО», розташованій в зоні Степу України згідно з загальноприйнятою методикою польового експерименту [11]. Для біохімічного аналізу використовували матеріал виключно від контрольованого запилення.

Аналіз жирнокислотного складу олії проводили газохроматографічним методом Пейскера [12]. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали методами дисперсійного та діалельного аналізу, який виконувався із застосуванням алгоритму Хеймана [13, 14].

Результати та обговорення

В ході виконання дослідів було встановлено, що лінії кукурудзи – носії мутації sh_1 перевищують за вмістом пальмітату лінії звичайного типу в середньому на 29,6 %. Водночас у неспоріднених ліній обох зазначених типів кукурудзи спостерігався досить широкий розмах мінливості за вмістом пальмітату (табл. 1).

Порівняльний аналіз фракцій зерна F_2 зі звичайним та зморшкуватим фенотипами, виділених з одного качана гібридів від топ-кросних схрещувань ліній звичайного типу з лініями-носіями мутації sh_1 , теж свідчить про вищий вміст пальмітату у зерна з мутантним фенотипом. У різних гібридів фракції зерна F_2 з фенотипом мутантного гена sh_1 перевищували за вмістом пальмітату фракції зерна із звичайним фенотипом на 22,5-28,8 %, однак, більш високий вміст пальмітату в присутності мутантного гену sh_1 спостерігався у всіх проаналізованих в досліді гібридів незалежно від їх гібридних комбінацій (табл. 2).

Отже, результати аналізу цієї схеми схрещувань показали наявність взаємозв'язку між алельним станом локуса кукурудзи sh_1 і вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти в олії.

Однак підвищений вміст пальмітату у носіїв рецесивної мутації sh_1 навряд чи може бути пов'язаний з безпосереднім або плейотропним ефектом мутантного гена sh_1 . Відомо, що біохімічний ефект цього мутантного гена полягає у суттєвому зниженні активності сахарозсинтази, яке викликає підвищення рівня вмісту вільних цукрів і зниження вмісту крохмалю в зерні [10]. Функціональний взаємозв'язок між цим процесом і процесом утворення і взаємоперетворення жирних кислот відсутній, принаймні, експериментальних доказів його існування до цього часу не отримано.

Таблиця 1. Вміст гліцеридів пальмітинової кислоти в оліях зерна інбредних ліній кукурудзи звичайного типу і ліній-носіїв мутації sh_1 , % (результати дворічних оцінок десяти 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 ± 0,3	9,9-12,1	7,0 ± 1,6
Носії мутації sh_1	14,0 ± 0,4	12,2-15,6	7,6 ± 1,7
НІР _{0,95}	0,9		

Таблиця 2. Вміст гліцеридів пальмітинової кислоти в оліях зерна з різними фенотипами у гібридів F_2 , отриманих при схрещуваннях інбредних ліній звичайного типу з лініями-носіями мутації sh_1 , % (результати дворічних оцінок)

Гібридні комбінації	Фенотипи зерна		Рівень ознаки у зморшкуватого зерна порівняно із звичайним, %
	Звичайний (генотипи Sh_1Sh_1 та Sh_1sh_1)	Зморшкуватий (генотипи sh_1sh_1)	
T-22 звич. х CS-14 sh_1	10,1	12,7	125,7
T-22 звич. х CS-21 sh_1	10,3	13,2	128,2
P-346 звич. х CS-14 sh_1	10,2	12,5	122,5
P-346 звич. х CS-21 sh_1	10,0	12,3	123,0
P-523 звич. х CS-14 sh_1	10,6	13,2	124,5
P-523 звич. х CS-21 sh_1	10,4	12,9	124,0
F-115 звич. х CS-14 sh_1	10,7	13,4	125,2
F-115 звич. х CS-21 sh_1	11,1	14,3	128,8
Середні групові	10,4	13,1	125,3
НІР _{0,95}	0,4		

Більш вірогідною причиною підвищення вмісту пальмітату у носіїв мутантного гена sh_1 уявляється просторове зчеплення цього гену з пальмітат-кодуєчим локусом у дев'ятій хромосомі. Переважна більшість інбредних ліній з типовими для мутації sh_1 зморшкуватими фенотипами зерна вирізнялися вищим вмістом пальмітату порівняно з кукурудзою звичайного типу.

Водночас в дослідях було ідентифіковано окремі лінії-носії мутації sh_1 з вмістом пальмітату близьким до звичайної кукурудзи (10-11 %) і лінії кукурудзи звичайного типу з вмістом пальмітату подібним до носіїв мутації sh_1 (13-14 %).

Наявність таких ліній можна пояснити або ефектом кросоверного розподілу локусу sh_1 та пальмітат-кодуєчого локусу з однієї групи зчеплення, або тим, що вміст пальмітату у них забезпечується генетичними факторами, локалізованими не тільки в дев'ятій хромосомі.

Отримані результати показали, що вміст пальмітату у різних ліній-носіїв мутації sh_1 і розщеплених гібридів за участю цих ліній вирізняється кількісною мінливістю, яка свідчить про полігенну природу ознаки.

Результати аналізу вмісту пальмітату в системі діалельних схрещувань ліній-носіїв мутації sh_1 показали, 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.

В проаналізованому експериментальному комплексі було зареєстроване спрямоване домінування, при якому високий вміст пальмітату контролювався переважно рецесивними алелями полігенів.

Батьківські лінії діалельної схеми схрещувань були суттєво відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності стосовно вмісту пальмітату, причому варіанса загальної комбінаційної здатності (ЗКЗ) за цією ознакою значно перевищувала варіансу специфічної комбінаційної здатності (СКЗ).

Результати генетичного аналізу вмісту пальмітату у носіїв мутації sh_1 наведено у таблиці 3.

У цілому, результати генетичного аналізу свідчать що ефект пальмітат-кодуєчого локусу дев'ятої хромосоми може суттєво модифікуватися полігенними комплексами.

Вірогідність існування такої системи регуляції вмісту пальмітату підтверджується результатами раніших досліджень інших авторів [9]. У них було показано, що пальмітат-кодуєчі локуси кукурудзи знаходяться у вісьмох хромосомах, але найбільш експресивним серед них є локус дев'ятої хромосоми. Водночас результати наших дослідів дозволяють припустити що, в ході створення використаних нами інбредних ліній-носіїв мутації sh_1 , мало місце вільне неконтрольоване комбінування полігенів локалізованих в інших хромосомах. Воно, скоріше за все, і викликало кількісну мінливість вмісту пальмітату та модифікацію ефекту зчепленого з мутантним геном sh_1 пальмітат-кодуєчого локусу.

Таблиця 3. Комбінаційна здатність ліній кукурудзи – носіїв мутації *sh₁* 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)
CS-08 <i>sh₁</i>	12,2	-1,02	0,12	0,52
CS-14 <i>sh₁</i>	13,1	-0,47	0,01	0,17
CS-15 <i>sh₁</i>	14,0	0,00	-0,03	-0,47
CS-18 <i>sh₁</i>	14,2	-0,01	0,14	-2,62
CS-21 <i>sh₁</i>	15,6	0,84	0,01	-1,66
CS-22 <i>sh₁</i>	14,9	0,66	-0,02	0,03
HP _{0,95}	1,4	0,16		
H1/D		0,30		
a		0,29		
b		0,84		

Маються окремі дані, що в системі генетичної регуляції вмісту пальмітату у кукурудзи ефекти домінування суттєвіші, ніж адитивні ефекти, у зв'язку з чим вміст пальмітату успадковується за типом повного домінування або позитивного наддомінування [15]. Розбіжності цих даних з результатами наших досліджень ми схильні пояснювати генетичною специфікою ліній, залучених до діалельних схрещувань, бо в дослідях цих авторів аналізувалися лінії звичайної кукурудзи, а наших дослідях – носії мутації *sh₁*.

У цілому результати проведених нами досліджень показали, що тип генетичної регуляції вмісту пальмітату у кукурудзи на основі ендоспермової мутації *sh₁* створює сприятливі можливості генетичного поліпшення ознаки внаслідок використання вірогідного просторового зчеплення пальмітат-кодуючого локусу дев'ятої

хромосоми з мутантним геном *sh₁* і посилення ефекту цього локусу полігенними комплексами.

Висновки

Носії мутації *sh₁* відрізняються від кукурудзи звичайного типу вищим вмістом гліцеридів пальмітинової кислоти в оліях. Рівень цієї ознаки в інбредних ліній на основі мутації *sh₁* вирізнявся кількісною мінливістю і варіював в межах 12,2-15,6 %. Вміст пальмітату у носіїв мутації *sh₁* успадковувався за типом неповного домінування з переважним внеском до дисперсії адитивних ефектів. Отримані результати дозволяють припускати можливість просторового зчеплення мутантного гена *sh₁* з пальмітат-кодуючим локусом, ефект якого модифікується полігенним комплексом. Підтверджено, що носії мутації *sh₁* розширюють генетичне різноманіття кукурудзи за вмістом пальмітату.

References

1. Wang T., White P. Lipids of the kernel. *Corn chemistry and technology* : monograph/ S.O.Serna – Saldivar Ed., Cambridge – Duxford – Oxford : Elsevier Publ. – Woodhead Publ. 3rd Ed. 2019. Chpt. 13. P. 337–368. doi: 10.1016/B978-0-12-811971-6-00013-9.
2. Soukup J., Kourimska L. The effect of fatty acid profile on the stability of non- traditional and traditional plant oils. *Slovak J. Food Sci.* 2019. Vol. 13 (1). P. 744–750. doi: 105219/ 1064.
3. Ramana K. V., Srivastava S., Singhal S. S. Lipid peroxidation products in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2019. Vol. 2019. Article ID 714235. doi: 10.1155/2019/71472235.
4. Grotveld M., Percival B. C., Leenders J., Wilso P. B. Potential adverse public health effects afforded by the ingestion of dietary lipid oxidation product toxins : significance of fried food sources. *Nutrients.* 2020. Vol. 12. Article 974. doi: 10390/nu12040974.
5. Murphy D. J. Using modern plant breeding to improve the nutritional and technological qualities of oil crops. *Oilseeds & Fats Crops and Lipids.* 2014. Vol. 21 (6). Article D607. doi: 10.1051/ocl/2014038.
6. Duvick S. A., Pollak L. M., Edwards J. W., White P. J. Altering the fatty acid composition of corn belt corn through *Tripsacum* introgression. *Maydica.* 2006. Vol. 51 (2). P. 409–416.
7. List G. R. Minor high – oleic oils. *High oleic oils : development, properties and uses* : monograph : F. Flider Ed. Cambridge – London – Oxford – San – Diego : AOCS Press – Acad. Press, 2021. Chpt. 6. P. 125–142. doi: 10.1016/B978-0-12-822912-5.00010-1.
8. White P., Pollak L. M., Duvick S. Improving the fatty acid composition of corn oil by using germplasm introgression. *Lipid Technol.* 2007. Vol. 19 (2). P. 35–38. doi: 10.1002/lite.200600009.

9. 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 (3). P. 665–678. doi: 10.1007/s00122-009-1184-1.
10. Zhang K., Guo L., Cheng W., Liu B., Li W., Wang F., Xu C., Zhao X., Ding Z., Zhang K., Li K. Sh1-dependent maize seed development and starch synthesis via modulating carbohydrate flow and osmotic potential balance. *BMC Plant Biology.* 2020. Vol. 20 (1). Article 264. doi: 10.1186/s12870-020-02478-1.
11. Katyal V., Gangwar B. Statistical methods for agricultural field experiments. New Dehli : New India Publ. Agency, 2011. 160 p.
12. Tymchuk D. S., Sadovnichenko I., Tymchuk N., Potapenko H., Torianyk I. Oleic acid glycerides content in the oils of maize endospermic mutants and its dependence on temperature during ripening. *Proc. Latvian Acad. Sci. Section B.* 2021. Vol. 75, № 5 (734). P. 403–410. doi: 10.2478/prolas-2021-0059.
13. Hrytsyuk P. M., Ostapchuk O. P. Data analysis: study guide. Rivne : NUVMMN, 2008. 218 p. [in Ukrainian]
14. Litun P. P., Proskurnin N. V. Genetics of quantitative traits. Genetic crossings and genetic analysis : study guide. Kyiv : UMVO, 1992. 96 p. [in Russian]
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, Molochna str., 38*

GENETIC ANALYSIS OF THE CONTENT OF PALMITIC ACID GLYCERIDES IN THE CARRIERS OF MAIZE MUTATION *SHRUNKEN-1*

Aim. The influence of corn *shrunken-1* (*sh₁*) mutation on the content of palmitate in corn oil establishing and genetic analysis of this trait. **Methods.** The effects of the *sh₁* mutation on the content of palmitate were determined by comparing the inbreds – carriers of this mutation with inbreds of the common type, as well as in the top-crosses of common type inbreds with the mutant inbreds. The genetic components of the variance in terms of the content of palmitate were analyzed in the diallel crosses of mutant inbreds according to the second Griffing method. The determination of oil fatty acid composition was carried out by the Peisker gas chromatographic method. **Results.** It has been established that the corn inbreds – carriers of *sh₁* mutation exceed the common type inbreds by an average of 29.2 % in terms of palmitate content. The level of the trait in the inbreds based on the *sh₁* mutation was notable as having the quantitative variability and varied within 12.2-15.6 %. The content of palmitate in the carriers of *sh₁* mutation was inherited as incomplete dominance with a predominant contribution of additive effects to the variance. A higher level of the trait was controlled by recessive alleles of polygenes. **Conclusions.** The obtained results suggests the possibility of spatial linkage of the *sh₁* mutant gene with palmitate-coding locus, the effect of which is modified by the polygenic complex. It has been confirmed, that the carriers of *sh₁* mutation expands the genetic diversity of corn in terms of palmitate content.

Keywords: *Zea mays* L., *sh₁* mutation, palmitate content, genetic analysis.