

ТИМЧУК Д.С.^{1✉}, МУЖИЛКО В.В.², ТИМЧУК С.М.³

¹ Харківська державна зооветеринарна академія,

Україна, 62341, смт. Мала Данилівка, Дергачівський район, Харківська область, вул. Академічна, 1,
e-mail: biotech@zoovet.kh.ua

² Науково-дослідна селекційна станція «НАСКО»,

Україна, 74900, м. Нова Каховка, Херсонська область, вул. Горького, 40,

e-mail: agrosvitfarm@gmail.com

³ Інженерна академія України,

Україна, 61046, м. Харків, вул. Дм. Пожарського, 2/10, e-mail: eai.7788982@gmail.com

✉ dstymchuk@yahoo.com, (095) 188-22-63, (057) 702-08-71

ЕФЕКТИ ВЗАЄМОДІЙ НЕАЛЕЛЬНИХ ГЕНІВ СТРУКТУРИ ЕНДОСПЕРМУ КУКУРУДЗИ ЗА ЖИРНОКИСЛОТНИМ СКЛАДОМ ОЛІЇ

Мутантні гени структури ендосперму кукурудзи (*Zea mays* L.) викликають корисний ефект за вмістом та складом запасних білків та вуглеводів, який широко використовується для поліпшення якості зерна [1–3]. Поряд із цим є відомості, що деякі ендоспермові мутації кукурудзи поліпшують і жирнокислотний склад олії [4], який вважається одним із провідних показників її технологічних властивостей [5].

Тому використання ендоспермових мутантів кукурудзи може розглядатися як засіб розширення корисного генетичного різноманіття культури, наявність якого є необхідною передумовою успішної селекції на якість олії [6–8]. Її найбільш поширеними напрямками є підвищення вмісту в оліях гліцеридів олеїнової, а в деяких випадках – і насичених жирних кислот, які вирізняються підвищеною термостабільністю і стійкістю до перекисного окислювання [9–12].

Додаткові перспективи поширення корисного генетичного різноманіття кукурудзи за якістю зерна може надати і використання неалельних взаємодій між різними генами структури ендосперму. Цей метод цілком виправдав себе при генетичному поліпшенні якості білка та крохмалю в зерні кукурудзи [13, 14], але можливості його використання для поліпшення жирнокислотного складу олії лишаються невизначеними. Ці розуміння і склали передумови для виконання наших досліджень, метою яких було встановлення ефектів неалельних взаємодій між різними генами структури ендосперму кукурудзи і виділення носіїв комбінацій мутантних генів із найкращим жирнокислотним складом олії.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень послугувала представна вибірка інбредних ліній кукурудзи – носіїв мутантних генів *o₂*, *sh₁*, *sh₂*, *su₁*, *su₂*, *ae* та *wx* і їх парних комбінацій. Отримання комбінацій між генами структури ендосперму здійснювали відповідно до методики, заснованої на існуванні епістатичних взаємодій між цими генами за фенотипом зерна [15].

Вирощування ліній проводили на науково-дослідній селекційній станції «НАСКО», розташованій у зоні Степу України в умовах зрошення, згідно загальноприйнятої методики польового експерименту [16]. Для біохімічного аналізу використовували матеріал лише від контрольованого запилення. Ідентифікацію алельного стану генів структури ендосперму здійснювали за фенотипом зерна [17]. Аналіз жирнокислотного складу олії проводили модифікованим газо- хроматографічним методом Пейскера [18]. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали методом дисперсійного аналізу [19].

Результати та обговорення

Жирнокислотний склад олії як моногенних ендоспермових мутантів кукурудзи, так і носіїв парних комбінацій неалельних мутантних генів було представлено 8 компонентами. Однак сумарні частки гліцеридів пальміт-олеїнової, арахінової та бегенової кислот в оліях всіх проаналізованих ліній не перевищували 2,5 % і суттєвого значення для забезпечення якості олії ці компоненти не мали.

Другою особливістю проаналізованих ліній кукурудзи була низька частка в оліях гліце-

ридів стеаринової і ліноленої кислот. Частка стеарату в оліях була нижчою 3 %, а частка ліноленату – меншою 1,5 %.

Таким чином, кількісно переважаючими компонентами жирнокислотного складу олій у ліній – носіїв ендоспермових мутацій та їх ком-

бінацій були – пальмітинова, олеїнова та лінолева кислоти. За всіма цими компонентами в дослідях було зареєстровано суттєві відмінності між носіями різних моногенних мутацій (табл. 1).

Таблиця 1. Жирнокислотний склад зернових олій у моногенних ендоспермових мутантів кукурудзи, середнє за оцінками 5 неспоріднених за походженням ліній на основі кожної мутації в 2014–2015 рр.

Мутанти	Вміст гліцеридів жирних кислот, % до суми				
	пальмітинової	стеаринової	олеїнової	лінолевої	ліноленої
<i>Звичайний тип</i>	11,9	2,1	23,2	59,7	0,7
<i>o₂</i>	12,1	1,6	24,9	58,1	0,6
<i>sh₁</i>	12,7	1,9	26,3	56,8	0,5
<i>sh₂</i>	15,1	2,3	36,5	42,6	0,9
<i>su₁</i>	11,6	1,5	41,4	42,2	0,7
<i>su₂</i>	12,2	1,5	27,5	56,3	1,0
<i>ae</i>	11,4	2,0	28,4	55,8	0,8
<i>wx</i>	13,2	1,7	24,1	58,6	0,7
НІР _{0,95}	1,1	0,2	1,4	1,8	0,1

При порівнянні середніх оцінок різних ліній на основі кожної мутації було встановлено, що всі ендоспермові моногенні мутації знижують вміст лінолевої кислоти і підвищують вміст олеїнової порівняно з кукурудзою звичайного типу. При цьому найбільш високим вмістом лінолеату серед них вирізнялися носії мутацій *o₂* та *wx*, а найбільш високим вмістом олеату – *su₁* і, в меншій мірі, *sh₂*. Однак мутація *sh₂* серед усіх проаналізованих ендоспермових мутацій викликала найбільш значне зростання вмісту пальмітату, тоді як носії мутації *su₁* за цією ознакою не відрізнялися від звичайної кукурудзи. Суттєво підвищеним порівняно із звичайною кукурудзою вмістом пальмітату вирізнялися і носії мутації *wx*, однак цей ефект у них не супроводжувався зростанням частки в оліях гліцеридів олеїнової кислоти.

Таким чином, з урахуванням сучасних напрямків поліпшення жирнокислотного складу олій кукурудзи на найбільшу практичну увагу як генетичні джерела підвищеного вмісту олеату заслуговують носії мутації *su₁*, а як джерела підвищеного вмісту пальмітату, які поєднують його з підвищеним вмістом олеату, – носії мутації *sh₂*.

Обидві ці мутації можуть розглядатися і як найбільш перспективні компоненти комбінацій з іншими мутантними генами структури

ендосперму, які принципово можуть розширювати генетичну основу селекції кукурудзи на якість олії. Підстави для цього складає припущення, що в комбінаціях ендоспермових генів принаймні один із їх партнерів викликатиме суттєвий корисний ефект за жирнокислотним складом олії.

Результати аналізу ефектів неалельних взаємодій між різними мутантними генами структури ендосперму підтвердили це припущення.

Встановлено, що неалельні взаємодії такого типу у всіх випадках здійснюються за трьома типами. При першому з них має місце проміжний рівень компонентів жирнокислотного складу олії між мутантами, які є партнерами комбінації. Другий тип неалельних взаємодій між генами структури ендосперму полягає в епістатичному ухиленні рівня компонентів жирнокислотного складу в бік одного з моногенних партнерів комбінації. При третьому типі неалельних взаємодій спостерігається синергічне підвищення або зниження вмісту компонентів жирнокислотного складу порівняно з обома партнерами комбінації.

У ході виконання дослідів було визначено, що відмінності комбінацій мутантних генів *su₁* та *sh₂* з іншими мутантними генами структури ендосперму від інших комбінацій подібного

типу полягають у більш високих рівнях вмісту насичених і олеїнової кислот.

Носії комбінацій мутантного гена *su₁* з іншими мутантними генами структури ендосперму за вмістом і олеїнової, і насичених кислот, як правило, переважали не тільки звичайну кукурудзу, але й деякі носії моногенних мутацій (табл. 2).

Найбільш високим вмістом олеату серед них вирізнялися носії комбінацій *su₁sh₁* та *su₁sh₂*. Однак, якщо неалельні взаємодії мутантних генів *su₁* та *sh₁* за цією ознакою здійснювалися за типом епістазу з боку гена *su₁* і не супроводжувалися суттєвим зростанням вмісту пальмітату, то комбінація *su₁sh₂* забезпечувала синергічне підвищення вмісту і олеату, і пальмітату порівняно з обома партнерами комбінації. Синергічне підвищення вмісту пальмітату спостерігалось також у носіїв комбінацій *su₁o₂*, *su₁ae* та *su₁wx*, однак воно було менш значущим, ніж у носіїв комбінації *su₁sh₂*, і не супроводжувалося синергічним підвищенням вмісту олеату.

Носіям комбінацій гена *sh₂* з іншими ге-

нами структури ендосперму, порівняно з подібними комбінаціями за участю гена *su₁*, був властивий більш низький рівень вмісту олеату і більш високий вміст пальмітату. Однак схожі закономірності неалельних взаємодій між генами структури ендосперму спостерігалися і в цьому випадку.

Найбільш високим вмістом олеату серед носіїв комбінацій за участю гена *sh₂* вирізнялися комбінації *sh₂o₂* та *sh₂sh₁* (табл. 3). Але, якщо в комбінації *sh₂o₂* і за вмістом олеату, і за вмістом пальмітату спостерігався епістаз із боку мутантного гена *sh₂*, то носії комбінації *sh₂sh₁* проявили синергічне підвищення вмісту олеату порівняно з обома генами-партнерами комбінації і проміжний між ними рівень вмісту пальмітату. Найвищий вміст пальмітату серед носіїв комбінацій за участю гена *sh₂* проявили носії комбінацій *sh₂su₂* та *sh₂ae*, і в обох випадках він був наслідком неалельних взаємодій між партнерами комбінацій за синергічним типом. Навпаки, вміст олеату в цих комбінаціях поступався обом їх партнерам.

Таблиця 2. Жирнокислотний склад зернових олій у ліній кукурудзи – носіїв комбінацій мутантного гена *su₁* з іншими мутантними генами структури ендосперму, середнє за оцінками 3 неспоріднених за походженням ліній – носіїв кожної комбінації в 2014–2015 рр.

Комбінації генів	Вміст гліцеридів жирних кислот, % до суми				
	пальмітинової	стеаринової	олеїнової	лінолевої	ліноленової
<i>su₁o₂</i>	13,2	2,3	36,6	45,1	0,4
<i>su₁sh₁</i>	12,5	2,8	42,1	40,4	0,7
<i>su₁sh₂</i>	17,1	2,6	43,2	34,8	0,4
<i>su₁su₂</i>	11,9	1,6	37,5	46,1	0,7
<i>su₁ae</i>	13,3	2,0	39,3	42,5	0,5
<i>su₁wx</i>	14,2	2,2	36,9	44,8	0,6
НІР _{0,95}	1,1	0,2	1,4	1,8	0,1

Таблиця 3. Жирнокислотний склад зернових олій у ліній кукурудзи – носіїв комбінацій мутантного гена *sh₂* з іншими мутантними генами структури ендосперму, середнє за оцінками 3 неспоріднених за походженням ліній – носіїв кожної комбінації в 2014–2015 рр.

Комбінації генів	Вміст гліцеридів жирних кислот, % до суми				
	пальмітинової	стеаринової	олеїнової	лінолевої	ліноленової
<i>sh₂o₂</i>	15,9	2,3	37,6	41,9	0,3
<i>sh₂sh₁</i>	13,8	1,9	39,1	42,0	0,5
<i>sh₂su₂</i>	21,6	2,0	26,6	46,3	0,7
<i>sh₂ae</i>	17,9	2,5	31,2	45,6	0,6
<i>sh₂wx</i>	15,8	1,9	34,3	45,1	0,8
НІР _{0,95}	1,1	0,2	1,4	1,8	0,1

Загалом, згідно з отриманими результатами, неалельні взаємодії мутантного гена *sh₂* з іншими генами структури ендосперму частіше можуть забезпечувати значне зростання вмісту пальмітату, ніж синергічне підвищення вмісту гліцеридів олеїнової кислоти порівняно з обома партнерами комбінації неалельних генів.

Загалом отримані результати свідчать, що серед комбінацій неалельних генів структури ендосперму трапляються такі, що забезпечують синергічне підвищення вмісту пальмітату та олеату або обох цих ознак порівняно не тільки із звичайною кукурудзою, але й із носіями моногенних ендоспермових мутацій. Найбільш перспективними в цьому відношенні є комбінації за участю мутантних генів *su₁* та *sh₂*.

Отримані в наших дослідках результати з урахуванням сучасних уявлень про механізми біохімічного ефекту ендоспермових мутацій [1] не дають підстав пояснювати відмінності між ними за вмістом в оліях гліцеридів пальмітинової та олеїнової кислот плейотропною дією різних генів структури ендосперму. Тому, швидше за все, вміст в оліях ендоспермових мутантів цих компонентів жирнокислотного складу є наслідком просторового зчеплення пальмітат-та олеат- кодуючих локусів із локусами, які контролюють структуру ендосперму.

Показано, що вміст олеату в олії є ознакою з полігенним контролем [20], і найбільш поширеним поглядом на системи генетичної регуляції цієї ознаки є те, що основні локуси, які регулюють вміст олеату, знаходяться в 1, 2, 4 та 5 хромосомах [21]. Отримані нами результати свідчать, про те, що локалізований в 4 хромосомі і зчеплений з геном *su₁* локус проявляє достатньо високу експресивність, оскільки всі носії мутації *su₁* вирізняються суттєво

підвищеним вмістом олеату. Наявність у 4 хромосомі експресивного олеат-кодуючого локусу знайшла підтвердження і в оцінках інших авторів [22]. Результати наших дослідів свідчать також про вірогідність існування в 3 хромосомі зчепеного з геном *sh₂* пальмітат-кодуючого локусу, оскільки всі носії цієї ендоспермової мутації вирізняються високим вмістом в оліях пальмітату.

Отримані в дослідках результати показали також, що неалельні взаємодії мутантних генів *su₁* та *sh₂* з іншими генами структури ендосперму в деяких випадках викликають синергічне підвищення вмісту в оліях пальмітату та олеату і розширюють корисне генетичне різноманіття кукурудзи за якістю олії.

Висновки

Найбільш високим вмістом олеату в оліях кукурудзи вирізняються носії ендоспермової мутації *su₁*, а найбільш високим вмістом пальмітату – носії мутації *sh₂*. Неалельні взаємодії генів структури ендосперму за жирнокислотним складом олії здійснюються за трьома типами. При першому з них має місце проміжний рівень компонентів жирнокислотного складу олії між мутантами, які є партнерами комбінації. Другий тип полягає в епістатичному ухиленні рівня компонентів жирнокислотного складу в бік одного з моногенних партнерів комбінації. При третьому типі неалельних взаємодій спостерігається синергічне підвищення або зниження вмісту компонентів жирнокислотного складу порівняно з обома партнерами комбінації. Найбільш суттєві корисні ефекти неалельних взаємодій синергічного типу за жирнокислотним складом олії забезпечують комбінації ендоспермових мутацій за участю генів *su₁* та *sh₂*.

Література

1. Boyer C.D., Hannah L.C. Kernel mutants of corn // Specialty Corns; A.R. Hallauer Ed. – Boca Raton – London – New-York – Washington, D.C.: CRC Press, 2001. – P. 10–40.
2. Pajic Z. Breeding of maize types with specific traits at the Maize Research Institute, Zemun polje // Genetika. – 2007. – V. 39. – P. 169–180.
3. Balconi C., Hartings H., Lauria M., Pirona R., Rossi V., Motto M. Gene discovery to improve maize grain quality traits // Maydica. – 2007. – V. 52. – P. 357–373.
4. Flora L.F., Wiley R.C. Effect of various endosperm mutants on oil content and fatty acid composition of whole kernel corn (*Zea mays* L.) // J. Amer. Soc. Hortic. Sci. – 1972. – V. 97. – P. 604–607.
5. Moreau R.A. Corn oil // Bailey's industrial oil and fat products; F. Shahidi Ed. – 6th ed. – Hoboken, New Jersey: Wiley – Intersci. Publ, 2005. – V. 2. – P. 149–172.
6. Lambert R.J. High-oil corn hybrids // Specialty Corns; A.R. Hallauer Ed. – Boca Raton – London – New York – Washington, D.C.: CRC Press, 2001. – P. 137–161.
7. White P.J., Pollak L.M., Duvick S. Improving the fatty acid composition of corn oil by using germplasm introgression // Lipid Technol. – 2007. – V. 19. – P. 35–38.

8. Lee E.A. Maize for oil // Oil crops; J. Vollmann, I. Raican Eds. – Dordrecht – Heidelberg – London – New-York: Springer Sci., 2009. – p. 493–506.
9. White P.J., Weber E.J. Lipids of the kernel // Corn: Chemistry and Technology, 2nd Ed.; P.J. White, L.A. Johnson Eds. – 2nd ed. – St. Paul, MN: Amer. Assoc. Cereal Chem. – 2003. – P. 355–395.
10. Scrimgeour C. Chemistry of fatty acids // Bailey's industrial oil and fat products; F. Shahidi Ed. – 6th ed. – Hoboken, New Jersey: Wiley – Intersci. Publ, 2005. – V. 1. – P. 1–43.
11. Moreau R.A. Corn oil // Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses; F.D. Gunstone Ed. – 2nd ed. – Chichester: Wiley & Blackwell, 2011. – P. 273–289.
12. Vanhercke T., Wood C.C., Stymne S., Singh S.P., Green A.G. Metabolic engineering of plant oils and waxes for use as industrial feedstocks // Plant Biotechnol. J. – 2013. – V. 11 – P. 197–210.
13. Vasal S.K. The quality protein maize story // Food and Nutr. Bull. – 2000. – V. 21. – P. 445–450.
14. Dang N.C., Munsch M., Aulinger I., Renlai W., Le-Huy H., Jampaton S., Stamp P. Composition of starch and protein in the endosperm of newly generated double recessive waxy and opaque-2 maize (*Zea mays* L.) genotypes // J. Agr. Sci. Technol. – 2011. – V. 1. – P. 631–637.
15. Тимчук С.М., Ніколенко І.А. Спосіб одержання ендоспермових рекомбінантів кукурудзи. Патент України на корисну модель № 20433 від 15.01.2007. Бюл. № 1.
16. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
17. Neuffer M.G., Coe E.H., Wessler S.R. Mutants of maize. – Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. – 468 p.
18. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Химия, 1982. – 272 с.
19. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
20. Alrefai R., Berke T.G., Rocheford T.R. Quantitative trait locus analysis of fatty acid concentrations in maize // Genome. – 1995. – V. 38. – P. 894–901.
21. Motto M., Balconi C., Hartings H., Rossi V. Gene discovery for improvement of kernel quality-related traits in maize // Genetika. – 2010. – V. 42. – P. 23–56.
22. Belo A., Zheng P., Luck S., Shen B., Meyer D.J., Li B., Tingey S., Rafalski A. Whole genome scan detects an allelic variant of *fad2* associated with increased oleic acid levels in maize // Mol. Genet. Genom. – 2008. – V. 279. – P. 1–10.

TYMCHUK D.S.¹, MUJILKO V.V.², TYMCHUK S.M.³

¹ Kharkiv State Veterinary Academy,

Ukraine, 62341, uts. Malaya danilovka, Dergachi area, Kharkiv region, Academichna str., 1, e-mail: biotech@zoovet.kh.ua

² Scientific Research Breeding Station «NASCO»,

Ukraine, 74900, Nova Kachovka, Kherson region, Gorky str., 40, e-mail: agrosvitfarm@gmail.com

³ Engineering Academy of Ukraine,

Ukraine, 61046, Kharkiv, Dm. Pozharsky str., 2/10, e-mail: eau.7788982@gmail.com

EFFECTS OF NON – ALLELIC INTERACTIONS OF MAIZE ENDOSPERM STRUCTURE GENES ON THE OIL FATTY ACID COMPOSITION

Aim. Determination of effects of the non-allelic interactions between the different genes of maize endosperm structure and identification the carriers of combinations of mutant genes with the best oil fatty acid compositions. **Methods.** The representative complex of maize inbreds – carriers of mutant genes *o₂*, *sh₁*, *sh₂*, *su₁*, *su₂*, *ae* and *wx* and their paired combination was used as the material for research. Oil fatty acid composition was analysed by the modified gas – chromatographic Peysker method. Statistical analysis of the results was performed by the method of variance analysis. **Results.** The carriers of endospermic mutation *su₁* were notable as having the most high content of oleate in oil and the carriers of mutation *sh₂* – as having the most high palmitate content. The non – allelic interactions of endosperm structure genes for the oil fatty acid composition were realized by three types. The first of them took place immediate level of components of the oil fatty acid composition between the mutants who were partners of the combination. The second type was characterized by the presence of epistatic deviation of some components of the fatty acid composition in the direction of one the monogenic partners of combination. In the third type it has been observed the synergistic increase or reduction of the components of the fatty acid composition compared with both partners of combination. **Conclusions.** Use of non – allelic interactions between the mutant genes of maize endosperm structure can be observed as an effective method of the extension of useful genetic diversity while improving the oil quality. The most significant beneficial effects of non – allelic interactions of the synergistic type were provided by the combinations involving the mutant genes *su₁* and *sh₂*.

Keywords: maize, endospermic mutants, non-allelic interactions, oil fatty acid composition.