

УДК: 633.15:575:581.19

**Вміст крохмалю і амілози в зерні ліній кукурудзи – носіїв ендоспермальних мутацій
Д.С.Тимчук¹, В.В.Жмурко¹, С.М.Тимчук²**

¹Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)

²Інститут рослинництва імені В.Я.Юр'єва УААН (Харків, Україна)

Визначено специфічність ефекту різних ендоспермальних мутацій кукурудзи за вмістом та фракційним складом крохмалю. Носії мутацій o_1 , o_2 , fl_1 та fl_2 за цими ознаками практично не відрізнялися від звичайної кукурудзи. Мутації sh_1 , sh_2 , bt_1 , bt_2 , su_1 та se підвищували вміст амілози в крохмалі до 27–32 % і знижували вміст крохмалю до 32–59 %. Мутації du , su_2 та ae викликали підвищення вмісту амілози до 37–63 % і зниження вмісту крохмалю до 48–62 %. Ефект мутації ix складався в утворенні крохмалів з вмістом амілози 0,8–1,1 % і не супроводжувався суттєвим зниженням вмісту крохмалю. Встановлено наявність у кукурудзи мінливості за вмістом та фракційним складом крохмалю, незалежної від ефекту ендоспермальних мутацій. Обговорюється регуляція мутантними генами структури ендосперму ключових реакцій вуглеводного обміну.

Ключові слова: кукурудза, ендоспермальні мутанти, крохмаль, фракційний склад крохмалю.

Вступ

Метаболізм крохмалю і механізми його регуляції активно досліджуються у зв'язку з визначенням основних життєвих функцій рослин (Ching, 1972; Preiss, Levi, 1982; Guilbot, Mercier, 1985; Preiss, 1991; Wang, Hedley, 1993) і створенням нових біогенних джерел поліцукридів із спеціальними технологічними властивостями (Smith, Martin, 1993; Hannah et al., 1993; Ferguson, 1994). На даний час встановлено основні етапи процесу перетворення цукрів в структурні сополімери крохмалю (Robyt, 1984; Casey et al., 1993; Martin, Smith, 1995; Nelson, Pan, 1995; Preiss, Sivak, 1996; Emes et al., 2003; James et al., 2003; Tetlow et al., 2004), і результативним засобом визначення механізмів цього процесу вважається використання крохмаль-модифікуючих мутацій рослин (Shannon, Garwood, 1984; Wang et al., 1993; Boyer, 1996; Gao et al., 1996; Denyer et al., 2001; Whitt et al., 2002). Найбільше генетичне різноманіття крохмаль-модифікуючих мутацій зареєстроване у кукурудзи (Сое, Polacco, 1994). Якщо врахувати, що ця культура є ще й провідним промисловим джерелом крохмалю в світі (White, 1994), то саме кукурудзу слід визнати найкращим об'єктом для дослідження метаболізму крохмалю.

Однак механізм регуляції утворення структурних сополімерів крохмалю мутантними генами кукурудзи в оцінках різних авторів не співпадає і не може вважатися встановленим. Окрім того, в проведених до цього часу дослідженнях проаналізовано ефект не всіх крохмаль-модифікуючих мутацій кукурудзи і не визначено експресивність цих мутацій в генотипах ліній, адаптованих до вирощування в ґрунтово-кліматичних умовах України. Саме ці міркування склали передумови для виконання наших досліджень, метою яких було встановлення ефекту ендоспермальних мутацій кукурудзи за вмістом та фракційним складом крохмалю.

Конкретні задачі досліджень передбачали:

- експериментальну перевірку припущення про специфічність ефекту різних ендоспермальних мутацій кукурудзи за вмістом та фракційним складом крохмалю;
- визначення фенотипового прояву ендоспермальних мутацій в генотипах різних ліній української селекції;
- встановлення корелятивних взаємозв'язків між вмістом крохмалю і амілози в зерні та амілози в крохмалі у ліній кукурудзи традиційного типу та ліній-носіїв різних ендоспермальних мутацій.

Методика

Матеріалом для досліджень послужила серія неспоріднених за походженням інбредних ліній кукурудзи (*Zea mays* L.) на основі різних мутацій структури ендосперму з генетичних колекцій Інституту рослинництва імені В.Я.Юр'єва УААН та Національного центру генетичних ресурсів рослин України.

Для виконання роботи було залучено лінії-носії мутацій o_1 (1 зразок), o_2 (5 зразків), fl_1 (1 зразок), fl_2 (1 зразок), bt_1 (1 зразок), bt_2 (1 зразок), sh_1 (5 зразків), sh_2 (5 зразків), su_1 (5 зразків), se (5 зразків), su_2 (5 зразків), du (1 зразок), ae (5 зразків) та ix (5 зразків). В якості контролів у дослідах було використано по 5 ліній, що належать до найбільш розповсюджених підвидів кукурудзи – зубовидної (*ssp.indentata*) і кременистої (*ssp.indurata*). Загальний обсяг проаналізованої в дослідах експериментальної сукупності склав 56 ліній на звичайній та мутантній генетичній основі.

Досліди проводили протягом 2004–2005 років. Вирощування ліній здійснювали в умовах зрошення на дослідній селекційній станції «НАСКО» (Херсонська область, Ново-Каховський район). Польові досліди виконували згідно загальноприйнятої методики польового експерименту (Доспехов, 1985) та «Методичних рекомендацій польового та лабораторного вивчення генетичних ресурсів кукурудзи» (Методичні ..., 1993). Облікова площа ділянки кожного експериментального варіанту досліду становила 4,9 м² у дворазовій повторності. Отримання насіння ліній проводили шляхом примусового перезапилення 3–4 приймочок рослин кожної лінії сумішшю пилку з 5–6 волотей інших рослин в межах тієї ж ділянки.

Для біохімічного аналізу використовували насіння звичайних та мутантних ліній біологічної стиглості, отримане виключно від контрольованого запилення. Ідентифікацію аельного стану генів структури ендосперму здійснювали за фенотипом насіння (Neuffer et al., 1968).

Вміст крохмалю визначали титрометричним методом Х.Н.Починка, а вміст амілози – колориметричним методом В.О.Juliano (Методи ..., 1987). Оптичні густини розчинів продуктів йод-крохмальної реакції аналізували при 620 нм на фотоелектроколориметрі КФК-2. Обчислення вмісту амілози в зерні проводили за калібрувальним графіком, побудованим на сумішах чистих препаратів амілози та амілопектину (Sigma Chemicals Co.). Результати всіх біохімічних аналізів наводили у відсотках до абсолютно сухої маси.

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили методами варіаційного, дисперсійного та коваріаційного аналізів (Лакин, 1973; Доспехов, 1985) з використанням пакету статистичних прикладних програм "OSGE", розробленого у відділі генетики Інституту рослинництва імені В.Я.Юр'єва УААН. Всі статистичні параметри обчислювали на 95%-му рівні вірогідності.

Результати

Дисперсійний аналіз експериментального комплексу показав наявність високосуттєвих відмінностей між варіантами досліду за всіма проаналізованими ознаками (табл. 1).

Таблиця 1.

Результати дисперсійного аналізу вмісту крохмалю і амілози в зерні та амілози в крохмалі у ліній кукурудзи традиційного типу і ліній-носіїв ендоспермальних мутацій, 2004–2005 рр.

Джерела дисперсії	Розрахункові значення критерію F			Табличні значення критерію F
	Вміст крохмалю в зерні	Вміст амілози в зерні	Вміст амілози в крохмалі	
Варіанти	500,80	3298,17	1781,07	1,53
Генотип лінії	1008,45	6653,24	3591,78	1,59
Погодні умови вирощування	11,40	47,06	3,86	4,00
Взаємодії генотип лінії : погодні умови вирощування	2,04	2,22	2,66	1,59

Основним джерелом дисперсії за вмістом та фракційним складом крохмалю були ефекти генотипу. Ефекти погодних умов вирощування були значно меншими, а за вмістом амілози в крохмалі – і зовсім відсутніми. Ефекти взаємодій генотип : погодні умови вирощування виявилися хоча і суттєвими, але дуже низькими.

Найбільш високий вміст крохмалю зареєстровано у ліній кукурудзи традиційного типу, причому рівень ознаки у зубовидних ліній був в середньому на 3,4% вищим, ніж у ліній кременистої кукурудзи (табл. 2).

Мутанти o_1 та fl_1 відрізнялися високим вмістом крохмалю в зерні, а мутанти o_2 , fl_2 та wx за цією ознакою не відрізнялися від звичайної кукурудзи. Всі інші ендоспермальні мутації викликали зниження вмісту крохмалю в зерні, однак ефект різних мутацій був нетотожним.

Мутація du знижувала вміст крохмалю на 2,5–5,9 %, мутація sh_1 – на 6,5–9,7 %, мутація su_2 – на 9,8–12,8 %, а мутація ae – на 19,5–22,3 %. Ще значніше зниження вмісту крохмалю викликали мутації sh_2 (на 35,0–37,3 %), bt_2 (на 36,7–38,9 %) та bt_1 (на 37,8–39,9 %). Найбільша депресія утворення крохмалю в експериментальній вибірці була властива носіям мутацій su_1 та se , які поступалися лініям кременистої та зубовидної кукурудзи відповідно на 42,2–44,1 % та 47,5–49,3 %.

Отримані результати свідчать про існування відмінностей за вмістом крохмалю не тільки між різними ендоспермальними мутантами, але й між різними лініями-носіями однієї мутації. У ліній кременистої кукурудзи, а також ліній на основі мутацій o_2 , se та wx вміст крохмалю коливався у досить вузьких межах (0,8–1,5 %). У ліній зубовидної кукурудзи та ліній-носіїв мутацій sh_1 , sh_2 , su_1 та su_2 ці

коливання були більш значними (2,1–2,9 %), а у ліній на основі мутації *ae* вони досягали 4,4%. Однак, в цілому, вміст крохмалю в зерні ліній експериментальної вибірки значно більше залежав від алельного стану генів структури ендосперму, ніж від індивідуальних особливостей мутантних ліній.

Таблиця 2.

Вміст крохмалю і амілози в зерні та амілози в крохмалі (%) у ліній кукурудзи традиційного типу і ліній-носіїв різних ендоспермальних мутацій, середнє за 2004–2005 рр.

Типи ліній	Вміст крохмалю в зерні		Вміст амілози в зерні		Вміст амілози в крохмалі	
	Розмах мінливості (мін.–макс.)	Середня групова	Розмах мінливості (мін.–макс.)	Середня групова	Розмах мінливості (мін.–макс.)	Середня групова
Зубовидні	63,9–66,8	65,0±0,5	15,7–16,0	15,8±0,1	23,4–25,0	24,4±0,3
Кременисті	62,3–63,1	62,8±0,1	16,1–16,2	16,1±0,1	25,5–26,1	25,7±0,1
Носії мутації <i>o₂</i>	63,3–64,5	64,0±0,2	15,7–16,1	15,9±0,1	24,4–25,4	24,8±0,2
Носії мутації <i>sh₁</i>	57,5–60,0	58,7±0,5	16,2–16,5	16,3±0,1	27,1–28,6	27,8±0,3
Носії мутації <i>sh₂</i>	39,7–42,3	40,8±0,5	12,7–12,8	12,8±0,1	30,4–32,1	31,4±0,3
Носії мутації <i>su₁</i>	35,2–38,1	36,3±0,5	10,7–11,7	11,1±0,2	29,4–31,5	30,6±0,3
Носії мутації <i>se</i>	32,3–33,7	33,0±0,3	9,9–10,5	10,0±0,1	29,7–31,1	30,4±0,2
Носії мутації <i>su₂</i>	55,7–57,9	56,7±0,3	24,6–24,8	24,7±0,1	42,4–44,5	43,5±0,3
Носії мутації <i>ae</i>	48,5–52,9	50,5±0,8	30,1–31,0	30,6±0,2	58,6–62,1	60,5±0,6
Носії мутації <i>wx</i>	62,9–64,3	63,7±0,3	0,5–0,7	0,6±0,1	0,8–1,1	0,9±0,1
Мутант <i>o₁</i>		66,9		15,7		23,5
Мутант <i>fl₁</i>		66,0		15,6		23,7
Мутант <i>fl₂</i>		64,4		15,8		24,5
Мутант <i>bt₁</i>		39,1		12,4		31,8
Мутант <i>bt₂</i>		39,7		12,3		30,8
Мутант <i>du</i>		61,2		23,4		38,2
HIP _{0,05}	1,1		0,2		0,7	

Вміст амілози в зерні зубовидних ліній, а також мутантів *o₁*, *o₂*, *fl₁* та *fl₂* був практично однаковим. У ліній кременистої кукурудзи та ліній-носіїв мутації *sh₁* мало місце деяке зростання рівня ознаки, але воно ледь перевищувало 1%. Решта ендоспермальних мутацій за напрямком впливу на вміст амілози в зерні чітко розподілялася на дві групи. Мутації першої групи (*bt₁*, *bt₂*, *sh₂*, *su₁*, *se* та *wx*) суттєво знижували вміст амілози в зерні, тоді як мутації другої (*su₂*, *du* та *ae*) – підвищували його.

Однак кількісний ефект мутацій обох груп був різним. Мутації *sh₂*, *bt₁* та *bt₂* знижували вміст амілози в крохмалі відповідно на 19,2–20,7 %, 21,5–23,0 % та 22,6–24,1 %. Мутації *su₁* та *se* викликали ще значніше зниження рівня ознаки (відповідно на 29,7–31,0 % та 36,7–37,9 %), а мутація *wx* за цим ефектом взагалі була різко відмінною від інших мутацій, бо знижувала вміст амілози в зерні на 96,3%. Різний за силою ефект проявили і мутації, що підвищували вміст амілози в зерні. Мутація *du* підвищувала його на 45,0–47,7 %, мутація *su₂* – на 52,8–55,7 %, а мутація *ae* – на 89,4–93,0 %.

Індивідуальні особливості ліній з тотожним алельним станом генів структури ендосперму були незначними, і коливання вмісту амілози в зерні у носіїв кожної мутації не перевищували 1%.

Лінії кременистої кукурудзи відрізнялися від ліній зубовидної підвищеним в середньому на 5,5% вмістом амілози в крохмалі. Мутанти *fl₁* та *o₁* за цією ознакою незначно поступалися лініям традиційного типу (зубовидним лініям на 2,8–7,8 %, а кременистим – на 3,7–8,7 %). Мутанти *o₂* та *fl₂* практично не відрізнялися від ліній зубовидної кукурудзи і поступалися лініям кременистої відповідно на 3,5% та 4,7%.

Всі інші ендоспермальні мутації за типом регуляції фракційного складу крохмалю розподілялися на дві якісно відмінні групи. До першої з них можна віднести мутацію *wx*, яка утворювала крохмалі з майже повною відсутністю амілози. У носіїв цієї мутації вміст амілози в крохмалі порівняно із кукурудзою традиційних типів знижувався на 96,1–96,3 %.

До другої групи відносилися всі інші мутації, і їх ефект проявився у підвищенні вмісту амілози в крохмалі. Однак отримані результати показали, що цей ефект у різних високоамілозних мутацій у кількісному відношенні нетотожний. Носія мутації *sh₁* було властиве підвищення вмісту амілози в крохмалі на 8,3–14,3 %, мутації *se*, *su₁*, та *bt₂* підвищували рівень ознаки відповідно на 18,2–24,6 %, 19,3–25,8 % та 20,0–26,6 %, а мутації *sh₂* та *bt₁* – відповідно на 22,2–28,9 % та 23,8–30,6 %. Ще більше підвищення вмісту амілози в крохмалі викликали мутації *du* та *su₂* – відповідно на 48,7–56,8 % та 69,4–

78,7 %. Але найбільш високий рівень вмісту амілози в крохмалі зареєстровано у носіїв мутації *ae*, які перевищували контроль на 135,6–148,4 %.

Вміст амілози в крохмалі ліній експериментальної вибірки був досить суттєво залежний і від їх індивідуальних особливостей. Ця залежність в найменшій мірі простежувалася у ліній на основі мутації *ix*, у яких коливання вмісту амілози в крохмалі становило менше 0,3%. У ліній зубовидної, кременистої кукурудзи та кукурудзи на основі мутацій o_2 та sh_2 рівень цієї ознаки варіював в межах 0,6–1,6 %. У різних ліній на основі мутацій su_1 , *se* та sh_2 коливання вмісту амілози в крохмалі становило 1,4–2,1 %, а у носіїв мутацій з найбільш високим рівнем ознаки – su_2 та *ae* – воно досягало 2,0–3,5 %. Однак відмінності між лініями експериментальної сукупності за цією ознакою були детерміновані, головним чином, алельним станом генів структури ендосперму, а не індивідуальною специфічністю ліній на основі однієї мутації.

При узагальнених оцінках проаналізованих ліній встановлено, що вміст амілози в крохмалі позитивно корелює з вмістом амілози в зерні ($r=0,90$), негативно – з вмістом крохмалю ($r=-0,33$), а кореляція між вмістом амілози та крохмалю в зерні була несуттєвою ($r=0,11$). Однак корелятивні взаємозв'язки між цими ознаками в межах кожної групи ендоспермальних мутацій були дуже специфічними.

У звичайної кукурудзи та переважної більшості її ендоспермальних мутантів встановлено наявність високосуттєвої негативної кореляції між вмістом крохмалю та амілози в крохмалі, і тільки у трьох мутантів (*wx*, su_1 та *se*) ця кореляція була несуттєвою (табл. 3).

Таблиця 3.

Корелятивні взаємозв'язки між вмістом крохмалю та амілози в зерні і крохмалі у ліній кукурудзи традиційного типу і ліній-носіїв різних ендоспермальних мутацій (r), середнє за 2004–2005 рр.

Типи ліній	Пари ознак, що корелюють		
	Вміст крохмалю в зерні– Вміст амілози в зерні	Вміст крохмалю в зерні– Вміст амілози в крохмалі	Вміст амілози в зерні– Вміст амілози в крохмалі
Зубовидні	- 0,77	- 0,97	0,90
Кременисті	- 0,75	- 0,94	0,93
Носії мутації o_2	- 0,86	- 0,95	0,97
Носії мутації sh_1	- 0,74	- 0,98	0,85
Носії мутації sh_2	0,70	- 0,99	- 0,64
Носії мутації su_1	0,72	- 0,16	0,57
Носії мутації <i>se</i>	0,73	0,11	0,75
Носії мутації su_2	- 0,88	- 0,99	0,93
Носії мутації <i>ae</i>	0,96	- 0,99	- 0,90
Носії мутації <i>wx</i>	- 0,16	- 0,23	0,99
$r_{0,05}$ табл.		0,63	

У зубовидних, кременистих ліній та ліній на основі мутацій o_2 , sh_1 та su_2 вміст амілози в зерні негативно корелював з вмістом крохмалю і позитивно – з вмістом амілози в крохмалі. Навпаки, у ліній на основі мутацій sh_2 , su_1 , *se* та *ae* кореляція між вмістом крохмалю та амілози в зерні була позитивною, а у мутанта *wx* – несуттєвою. Кореляція між вмістом амілози в зерні та крохмалі у мутантів sh_2 та *ae* виявилася негативною, у мутантів *se* та *wx* – позитивною, а у мутанта su_1 – несуттєвою.

Обговорення

Отримані результати підтвердили основну робочу гіпотезу досліджень про наявність специфічного ефекту різних ендоспермальних мутацій кукурудзи за вмістом та фракційним складом крохмалю. Встановлено, що мутації o_1 , o_2 , fl_1 та fl_2 за цими ознаками мало відрізняються від звичайної кукурудзи, і нема ніяких підстав припускати участь цих мутацій в регуляції процесу утворення крохмалю.

Мутації sh_1 , sh_2 , bt_1 та bt_2 , вірогідніше всього, регулюють початкові реакції цього процесу – від розщеплення цукрози до утворення АДФ-глюкози. Це цілком підтверджує висновки інших авторів, згідно з якими мутація sh_1 контролює активність цукрозо-синтази (Whitt et al., 2002), а мутації bt_1 , bt_2 та sh_2 – активність АДФ-глюкозопірофосфорилази (Shannon et al., 1996; Bae et al., 1990; Bhave et al., 1990).

Навпаки, мутантні гени *ix* та *ae* регулюють реакції безпосереднього утворення амілози та амілопектину з АДФ-глюкози, каталізовані відповідно грануло-зв'язаною крохмаль-синтазою (Shure et al., 1983) та крохмаль-розгалуджуючим ферментом (Stinard et al., 1993). Високоамілозні мутації *du* та *su₂*, скоріше за все, теж регулюють утворення розгалуженого сополімеру крохмалю з АДФ-глюкози, але відмінними від мутації *ae* шляхами. Але, якщо факт регуляції мутацією *du* активності однієї з ізоформ розчинної крохмаль-синтази можна вважати встановленим (Gao et al., 1998), то механізм біохімічного ефекту мутації *su₂* до цього часу не з'ясовано.

За вмістом та фракційним складом крохмалю мутанти *su₁* та *se* були дуже схожі з мутантами *sh₂*, *bt₁* та *bt₂*, однак на відміну від останніх, мутанти *su₁* та *se* накопичують в зерні високі кількості водорозчинних поліцукридів (James et al., 1995; Azanza et al., 1996). Утворення цих рослинних гомологів глікогену, в рамках сучасних уявлень, є результатом часткового розщеплення амілопектину дерозгалуджуючими ферментами, активність яких регулюють саме мутації *su₁* та *se* (Inouchi et al., 1987; Doehlert, Knutson, 1991).

В ході виконання наших досліджень вперше було встановлено, що звичайні лінії та лінії з тотожним алельним станом кожного гена структури ендосперму відмінні між собою за вмістом та фракційним складом крохмалю. Хоча внутрігрупова мінливість була значно менш суттєвою, ніж ефект різних ендоспермальних мутацій, вже сам факт її існування свідчить про наявність систем регуляції вмісту та фракційного складу крохмалю, незалежних від генів структури ендосперму. Оскільки вміст крохмалю та амілози в крохмалі проявлялися як ознаки з безперервною мінливістю, є підстави пов'язувати їх мінливість з ефектом полігенних комплексів. Однак, в окремих випадках, наприклад для ліній на основі мутації *ae*, ця мінливість може виникати і внаслідок множинного алелізму в мутантному локусі (Fisher et al., 1996).

Отримані результати свідчать, що високоамілозні лінії кукурудзи мають достатньо широкий розмах мінливості за вмістом як крохмалю, так і амілози в крохмалі. Навпаки, фракційний склад крохмалю ліній на основі мутації *ix* був дуже стабільним, і ці лінії відрізнялися тільки за вмістом крохмалю. Таким чином, використання взаємодій ген : генотип створює можливості сполучення в межах однієї лінії підвищеного вмісту крохмалю та амілози в крохмалі або створення висококрохмалистих ліній восковидної кукурудзи.

Список літератури

- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343с.
- Методичні рекомендації польового та лабораторного вивчення генетичних ресурсів кукурудзи / І.А.Гур'єва, В.К.Рябчун, Л.В.Козубенко та ін. – Харків, 1993. – 29с.
- Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И.Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430с.
- Azanza F., Barzur A., Jovic J.A. Variation in sweet corn kernel characteristics associated with stand establishment and eating quality // *Euphytica*. – 1996. – Vol.87. – P. 7–18.
- Bae J.M., Giroux M., Hannah L. Cloning and characterization of the brittle-2 gene of maize // *Maydica*. – 1990. – Vol.35. – P. 317–322.
- Bhave M.R., Lawrence S., Barton C., Hannah L. Identification and molecular characterization of shrunken-2 cDNA clones of maize // *Plant Cell*. – 1990. – Vol.2. – P. 581–588.
- Boyer C.D. Biochemical genetics of carbohydrate metabolism in source and sink tissues // *Photoassimilate distribution in plants and crops* / E.Zamski, A.A.Shaffer Eds. – New York: Marcell Dekker Publ., 1996. – P. 63–96.
- Casey R., Domoney C., Smith A.M. Biochemistry and molecular biology of seed products // *Peas: genetics, molecular biology and biotechnology* / R.Casey, D.R.Davies Eds. – Cambridge: CAB Int., 1993. – P. 121–163.
- Ching T.M. Metabolism of germinating seeds // *Seed biology* / T.T.Kozlowski Ed. – Vol.II. Germinating control, metabolism and pathology. – New York–London: Acad.Press, 1972. – P. 161–218.
- Coe E., Polacco M. Maize gene list and working maps // *Maize Genet. Newslett.* – 1994. – Vol.68. – P. 156–191.
- Denyer K., Johnson P., Zeeman S., Smith A.M. The control of amylose synthesis // *J. Plant Physiol.* – 2001. – Vol.158. – P. 479–487.
- Doehlert D., Knutson C.A. Two classes of starch debranching enzymes from developing maize kernels // *J. Plant Physiol.* – 1991. – Vol.138. – P. 566–572.
- Emes M.J., Bowsher C.G., Hedley C. et al. Starch synthesis and carbon partitioning in developing endosperm // *J. Exp. Bot.* – 2003. – Vol.54. – P. 569–575.
- Ferguson V.L. High amylose and waxy corns // *Specialty corns* / A.R.Hallauer Ed. – Boca Raton, FL: CRC Press, 1994. – P. 55–779.

- Fisher D.K., Gao M., Kim K.-N. et al. Allelic analysis of the maize (*Zea mays* L.) amylose-extender locus suggests that independent genes encode starch branching enzymes IIa and IIb // *Plant Physiol.* – 1996. – Vol.110. – P. 611–619.
- Gao M.D., Fisher D.K., Kim K.-N. et al. Sequence conservation and expression of maize starch branching enzyme genes suggest enzymatic specialization during development // *Plant Mol. Biol.* – 1996. – Vol.30. – P. 1223–1232.
- Gao M., Wanat J., Stinard P. et al. Characterization of dull1, a maize gene coding for a novel starch synthase // *Plant Cell.* – 1998. – Vol.10. – P. 399–415.
- Guilbot A., Mercier C. Starch // *The polysaccharides* / G.O.Aspinall Ed. – London: Acad.Press, 1985. – P. 209–282.
- Hannah L.C., Giroux M., Boyer C.D. Biotechnological modification for sweet corn and maize improvement // *Sci. Hortic.* – 1993. – Vol.55. – P. 177–197.
- Inouchi N., Glover D.V., Fuwa H. Chain length distribution of amylopectins of several single mutants and the normal counterpart, and sugary-1 phytolectogen in maize // *Starch / Starke.* – 1987. – Vol.39. – P. 259–265.
- James M.G., Robertson D.S., Myers A.M. Characterization of the maize gene sugary-1, a determinant of starch composition in kernels // *Plant Cell.* – 1995. – Vol.7. – P. 417–429.
- James M.G., Denyer K., Myers A.M. Starch synthesis in the cereal endosperm // *Curr. Opin.* – 2003. – Vol.6. – P. 215–222.
- Martin C., Smith A.M. Starch biosynthesis // *Plant Cell.* – 1995. – Vol.7. – P. 971–985.
- Nelson O.E., Pan D. Starch synthesis in maize endosperm // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1995. – Vol.46. – P. 475–496.
- Neuffer M.G., Jones L., Zuber M.S. The mutants of maize. – Madison, WI: Crop Sci Soc. Agr., 1968. – 200p.
- Preiss J. Biology and molecular biology of starch synthesis and its regulation // *Oxf. Surv. Plant Mol. Cell Biol.* – 1991. – Vol.7. – P. 59–114.
- Preiss J., Levi C. Starch biosynthesis and degradation // *The biochemistry of plants* / J.Preiss Ed. – Vol.3. Carbohydrates: structure and function. – San-Diego: Acad. Press, 1982. – P. 371–423.
- Preiss J., Sivak M. Starch synthesis in sinks and sources // *Photoassimilate distribution in plants and crops* / E.Zamski, A.A.Shaffer Eds. – New York: Marcell Dekker Publ., 1996. – P. 63–96.
- Robyt J. Enzymes in the synthesis and hydrolysis of starch // *Starch: chemistry and technology* / R.L.Whistler, J.N.BeMiller, E.F.Paschall Eds. – Orlando, FL: Acad. Press, 1984. – P. 25–86.
- Shannon J.C., Garwood D.L. Genetics and physiology of starch development // *Starch: chemistry and technology* / R.L.Whistler, J.N.BeMiller, E.F.Paschall Eds. – Orlando, FL: Acad. Press, 1984. – P. 25–86.
- Shannon J.C., Pien F.M., Liu K.C. Nucleotides and nucleotide sugars in developing maize (*Zea mays* L.) endosperms: synthesis of ADP-glucose in brittle-1 // *Plant Physiol.* – 1996. – Vol.110. – P. 835–843.
- Shure M., Wessler S., Fedoroff N. Molecular identification and isolation of the waxy locus in maize // *Cell.* – 1983. – Vol.35. – P. 225–233.
- Smith A.M., Martin C. Starch biosynthesis and the potential for its manipulation // *Biosynthesis and manipulation of plant products. Plant biotechnology* / D.Grierson Ed. – Vol.3. – Glasgow: Blackie and Son Publ., 1993. – P. 1–54.
- Stinard P.S., Robertson D.S., Schnalbe P.S. Genetic isolation, cloning and analysis of a Mutator-induced dominant antimorph of maize amylose extender1 locus // *Plant Cell.* – 1993. – Vol.5. – P. 1555–1566.
- Tetlow I.J., Morell M.K., Emes M.J. Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants // *J. Exp. Bot.* – 2004. – Vol.55. – P. 2131–2145.
- Wang T.L., Hedley C.L. Genetic and developmental analysis of the seed // *Peas: genetics, molecular biology and biotechnology* / R.Casey, D.R.Davies Eds. – Cambridge: CAB Int., 1993. – P. 83–120.
- Wang Y.-J., White P., Pollak L., Jane J.L. Characterization of starch structures of 17 maize endosperm mutant genotypes with Oh43 inbred line background // *Cereal Chem.* – 1993. – Vol.70. – P. 171–179.
- White P. Properties of corn starch // *Specialty corns* / A.R.Hallauer Ed. – Boca Raton, FL: CRC Press, 1994. – P. 29–54.
- Whitt S.R., Wilson L.M., Tenailon M.I. et al. Genetic diversity and selection in the maize pathway // *PNAS.* – 2002. – Vol.99. – P. 12959–12962.

Содержание крахмала и амилозы в зерне линий кукурузы – носителей эндоспермальных мутаций

Д.С.Тимчук, В.В.Жмурко, С.М.Тимчук

Установлена специфичность эффекта различных эндоспермальных мутаций кукурузы по содержанию и фракционному составу крахмала. Носители мутаций o_1 , o_2 , fl_1 и fl_2 по этим признакам практически не отличались от обычной кукурузы. Мутации sh_1 , sh_2 , bt_1 , bt_2 , su_1 и se

повышали содержание амилозы в крахмале до 27–32 % и снижали содержание крахмала до 32–59 %. Мутации *du*, *su*₂ и *ae* вызывали повышение содержания амилозы соответственно до 37–63 % и снижение содержания крахмала до 48–62 %. Эффект мутации *wx* состоял в образовании крахмалов с содержанием амилозы 0,8–1,1 % и не сопровождался существенным снижением содержания крахмала. Установлено наличие у кукурузы изменчивости по содержанию и фракционному составу крахмала, независимой от эффекта эндоспермальных мутаций. Обсуждается регуляция мутантными генами структуры эндосперма ключевых реакций углеводного обмена.

Ключевые слова: *кукуруза, эндоспермальные мутанты, крахмал, фракционный состав крахмала.*

Starch and amylose content in the grain of the maize inbreds – carriers of endospermal mutations

D.S.Tymchouk, V.V.Zhmurko, S.M.Tymchouk

The specificity of different endospermal maize mutations effect for the starch content and its fractional composition was determined. The carriers of mutations *o*₁, *o*₂, *fl*₁ and *fl*₂ were similar to the usual maize for these traits. The mutations *sh*₁, *sh*₂, *bt*₁, *bt*₂, *su*₁ and *se* increased the amylose in the starch content up to 27–32 % and decreased the starch content down to 32–59 %. The mutant genes *du*, *su*₂ and *ae* encoded the increasing of amylose content up to 37–63 % and decreasing of starch content down to 48–62 %. The effect of mutant gene *wx* consisted in the formation of starches with the amylose content 0,8–1,1 % and this effect was no associated with the considerable lowering of starch content. The presence of the variability for the starch content and its fractional composition independent under the effect of endospermal mutations was determined. The regulation of key reactions of carbohydrates metabolism by the mutant genes of endosperm structure is discussed.

Key words: *maize, endospermal mutants, starch, starch fractional composition.*

**Представлено Л.М.Малоштаном
Рекомендовано до друку Л.О. Красильниковою**