

УДК 633.15:547.979.8:535.361.2

ДОБІР СЕЛЕКЦІЙНИХ ФОРМ КУКУРУДЗИ ЗА ВМІСТОМ КАРОТИНОЇДІВ У ЗЕРНІ

В.С. ФЕДЕНКО¹, С.А. ШЕМЕТ¹, Е.М. ФЕДОРЕНКО²

¹Науково-дослідний інститут біології Дніпропетровського національного
університету імені Олеся Гончара
49010 Дніпропетровськ, просп. Гагаріна, 72
e-mail: opticlub@ukr.net

²Інститут сільського господарства степової зони Національної академії аграрних
наук України
49600 Дніпропетровськ, вул. Дзержинського, 14

Досліджено вміст каротиноїдів і параметри відбиття насіння селекційних форм кукурудзи. Встановлено можливість селекційного експрес-добору за параметрами кривих розподілу спектральних характеристик зернівок.

Ключові слова: *Zea mays* L., каротиноїди, параметри відбиття зернівок.

Створення нових селекційних форм із підвищеним вмістом каротиноїдів у зерні — один із сучасних напрямів поліпшення біологічної цінності злакових культур [15, 19]. У зв'язку з цим привертає увагу кукурудза, яка вирізняється високим рівнем накопичення каротиноїдних пігментів і найвищим антиоксидантним потенціалом порівняно з іншими злаковими культурами [13, 21]. Такі властивості цінні для розробки функціональних харчових продуктів із комплексом біологічно активних речовин, у тім числі з підвищеним рівнем провітаміну А [16].

У цьому аспекті цікавою є кукурудза з поліпшеною якістю білка (QPM — quality protein maize) й підвищеним вмістом незамінних амінокислот — лізину та триптофану [17]. QPM створена на основі мутації опейк-2 (o2) з використанням генів-модифікаторів, що дало змогу поряд із поліпшенням якості білкового комплексу зберегти властивості звичайних аналогів. Створення QPM є істотним внеском у вирішення продовольчої проблеми у світі [18]. Разом з тим особливості накопичення каротиноїдів у зерні QPM не з'ясовані. На нашу думку, для дослідження цього показника якості зерна доцільно застосувати метод селекційної експрес-діагностики за спектральними параметрами насіння, які корелятивно пов'язані з вмістом каротиноїдів [8, 12], а також аналіз кривих розподілу показників [5].

Метою роботи було встановлення спектральних характеристик для добору селекційних форм кукурудзи з поліпшеною біологічною цінністю за накопиченням каротиноїдів у зернінках.

Методика

Об'єктом дослідження обрано насіння самозапилених родин S_2 , S_3 , S_4 ($n = 48$), отриманих із двох високолізинових синтетиків другого циклу

добору (*Synt 1*, *Synt 2*) (Інститут сільського господарства степової зони НААН України). Форми, які добирали упродовж трьох років, характеризувались підвищеним вмістом лізину й каротиноїдів, оптимальною врожайністю зерна, стійкістю до хвороб.

Вміст каротиноїдів у розмелених зернівках визначали фотометричним методом [4]. Ефективність добору в послідовних генераціях самозапилення родин синтетиків кукурудзи за рівнем накопичення каротиноїдів характеризували селекційним диференціалом та інтенсивністю добору [1].

Оптичну густину дифузного відбиття насіння вимірювали денситометром ДО-1М (Україна) з використанням синього світлофільтра з пропусканням у діапазоні 425—454 нм [8]. Для оцінювання пігментації алейронового шару з урахуванням оптичної прозорості перикарпію жовтозерної кукурудзи [9] визначали оптичну густину суцільних зернівок ($A_{\text{зерн}}$). Для діагностики рівня накопичення пігментів в ендоспермі після видалення алейронового шару вимірювали оптичну густину зрізу зернівок ($A_{\text{зр}}$). Зв'язок між змінами пігментації алейронового шару та ендосперму визначали за співвідношенням $A_{\text{зерн}}/A_{\text{зр}}$.

Порівняльний аналіз емпіричних кривих розподілу показників якості зерна синтетиків кукурудзи проводили згідно із запропонованими нами модифікаціями [11]. Обчислювали такі статистичні параметри: середнє значення вибірки (\bar{x}), середньоквадратичне відхилення (σ), коефіцієнт варіації (CV), похибку середнього (m_x), медіану (Me), моду (Mo), коефіцієнти асиметрії (As) та ексцесу (Ex). Гіпотезу щодо відповідності розподілу нормальному закону перевіряли за тестом Шапіро—Уїлка (W). Варіанти досліду порівнювали між собою за допомогою критерію Стьюдента (t). У разі вірогідного відхилення від нормального закону розподілу для порівняння застосовували непараметричний критерій χ^2 , при цьому відмінності вважали вірогідними за умови перевищення стандартного значення $\chi^2_{\text{ст}}$, яке для обраного числа класів ($k = 6$) і рівня значущості $p = 0,05$ становило 12,59 [2].

Експериментальні дані оброблено статистично за 5 %-го рівня значущості, похибка вимірювань не перевищувала 5 %.

Результати та обговорення

Встановлено, що самозапилені родини S_2 , S_3 , S_4 вірогідно не відрізнялись за вмістом каротиноїдів. Однак полімодальний характер розподілів синтетиків S_2 , S_3 , S_4 за цим показником у зерні свідчив про неоднорідність селекційного матеріалу за вказаною ознакою (табл. 1). При цьому поліпшення родин S_3 , S_4 за ознакою добору підтверджувалось зміщенням максимуму в бік зростання кількості селекційних форм із підвищеним рівнем каротиноїдів (рис. 1). Такі зміни для родини S_4 відносно родини S_2 супроводжувались зменшенням від'ємного значення коефіцієнта ексцесу. Ефективність добору в послідовних генераціях самозапилення S_3 і S_4 відносно вихідної генерації S_2 схарактеризована селекційним диференціалом, інтенсивністю добору та відносним числом висококаротиноїдних форм із вмістом пігментів на рівні або вищим від середнього показника для жовтозерної кукурудзи (згідно з рекомендаціями праці [20] — 22 мг/кг сухої речовини) (табл. 2). При цьому встановлено, що відносний вміст висококаротиноїдних форм у родинах S_3 , S_4 підвищувався, що відповідало статистичним параметрам кривих розподілу (див. табл. 1).

ОТБОР СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ КУКУРУЗЫ

ТАБЛИЦЯ 1. Параметри кривих розподілу форм кукурудзи різних генерацій самозапилення за вмістом каротиноїдів у зерні та оптичною густиною відбиття зернівок ($n = 48$)

Генерація самозапилення	$\bar{x} \pm m_x$	Me	Mo	CV, %	As	Ex	W(p)
Вміст каротиноїдів, мг/кг							
S_2	15,79±0,61	15,3	14,0; 23,2	26,7	0,44*	-0,94	0,938 (<0,014)
S_3	16,81±0,75	16,8	13,5; 22,8	30,5	0,32*	-0,83*	0,961 (<0,115)
S_4	16,91±0,74	15,3	14,3; 20,1; 25,9	30,5	0,41*	-1,01	0,942 (<0,020)
$A_{\text{зерн}}$							
S_2	0,89±0,02	0,87	0,84; 1,07	16,8	0,17*	-0,72*	0,977 (<0,474)
S_3	0,98±0,02	0,95	0,92; 1,40	17,0	0,56	0,01*	0,968 (<0,215)
S_4	0,92±0,05	0,92	0,29; 0,89; 1,29	35,0	-0,19	-0,52*	0,976 (<0,426)
$A_{\text{зр}}$							
S_2	0,34±0,01	0,33	0,33	25,9	0,44*	0,45*	0,978 (<0,509)
S_3	0,49±0,02	0,45	0,45	30,3	1,80	4,74	0,839 (<0,001)
S_4	0,42±0,02	0,41	0,36	31,2	1,40	3,47	0,909 (<0,001)
$A_{\text{зерн}} / A_{\text{зр}}$							
S_2	2,72±0,08	2,66	2,77; 4,06	20,3	0,73	1,31	0,953 (<0,050)
S_3	2,10±0,07	2,02	1,89; 2,73	23,6	0,79	1,31	0,957 (<0,080)
S_4	2,26±0,11	2,27	2,11; 3,17	32,6	-0,20*	0,05*	0,985 (<0,775)

*Коефіцієнт незначущий за $p = 0,05$.

ТАБЛИЦЯ 2. Показники ефективності добору за вмістом каротиноїдів у зерні селекційних форм кукурудзи різних генерацій самозапилення

Генерація самозапилення	Селекційний диференціал, мг/кг	Інтенсивність добору	Кількість висококаротиноїдних форм, % (≥ 22 мг/кг сухої речовини [20])
S_2	—	—	14,58
S_3	1,02	0,20	21,28
S_4	1,12	0,22	20,83

З урахуванням позитивного характеру асиметрії кривих розподілу синтетиків за вмістом каротиноїдів і зміщення Me відносно Mo в бік генерацій S_3 , S_4 ефективнішим прийомом для селекційного процесу, згідно з даними праці [3], слід вважати індивідуальний добір, за якого одиницею скринінгу є індивідуальна зернівка. Для проведення такого добору

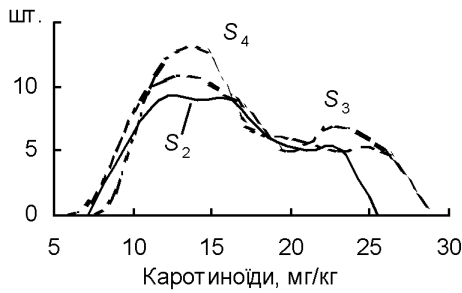


Рис. 1. Криві розподілу форм кукурудзи різних генерацій самозапилення за вмістом каротиноїдів у зерні

із вмістом каротиноїдів ($r = 0,50...0,55$, $p = 0,05$) [8]. Необхідність проведення паралельних вимірювань спектральних характеристик оболонки зернівки й ендосперму пов'язана з можливістю змін накопичення каротиноїдів у цих анатомічних частинах насіння в разі мутацій такого типу [7].

Полімодальні криві розподілу родин за оптичною густиною відбиття суцільних зернівок ($A_{\text{зерн}}$) вірогідно розрізнялися між собою (рис. 2). Більші значення Me , зміщення максимумів у бік зростання кількості селекційних форм із вищими значеннями $A_{\text{зерн}}$ для родин S_3 , S_4 порівняно з S_2 свідчили про поліпшення цих варіаційних рядів за ознакою добору (див. табл. 1). При цьому коефіцієнт As для розподілу S_3 був додатним, а для S_4 — від'ємним, що пов'язано з появою додаткового оптимуму ($Mo = 0,29$) у діапазоні зі зменшеними значеннями $A_{\text{зерн}}$. Такі зміни параметрів варіювання зумовлені підвищенням гетерогенності родини S_4 , що узгоджувалось із вищим коефіцієнтом варіації (35,0 %) для цього розподілу (див. табл. 1).

Тенденція поліпшення генерації самозапилення S_3 , S_4 порівняно з S_2 підтверджена також і при дослідженні оптичної густини зрізу зернівок ($A_{\text{зр}}$): збільшення параметрів \bar{x} , Me , Mo супроводжувалось значним підвищенням позитивної асиметрії й ексцесу кривої розподілу (див. табл. 1). Криві розподілу родин за показником $A_{\text{зр}}$ вірогідно відрізнялися між собою (рис. 3).

Для співвідношення $A_{\text{зерн}}/A_{\text{зр}}$ у разі родин S_3 , S_4 порівняно з S_2 криві розподілу зміщувались у бік менших значень показника x^- разом зі зменшенням Me та Mo (рис. 4, табл. 1). Для кривих S_2 , S_3 характерні додатні коефіцієнти As і Ex , для розподілу S_4 — максимальний ступінь варіабельності показника $A_{\text{зерн}}/A_{\text{зр}}$ ($CV = 32,6\%$). Встановлено вірогідну відмінність варіаційних кривих для S_3 і S_4 порівняно з вихідною генерацією S_2 (див. рис. 4). Показник $A_{\text{зерн}}/A_{\text{зр}}$ для генерацій S_2 , S_3 , S_4 знаходився в інтервалах відповідно 1,47—4,28, 1,03—3,72, 0,50—3,91.

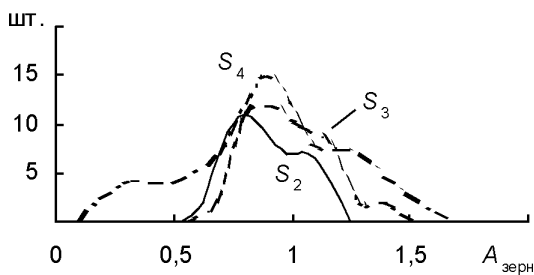


Рис. 2. Криві розподілу форм кукурудзи різних генерацій самозапилення за оптичною густиною дифузного відбиття суцільних зернівок. Вірогідність відмінностей між розподілами S_2 і S_3 : $t = -2,757$, $p = 0,007$; S_2 і S_4 : $\chi^2 = 22,46$, $p \leq 0,05$; S_3 і S_4 : $\chi^2 = 16,26$, $p \leq 0,05$

необхідні методи скринінгу накопичення каротиноїдів індивідуальними зернівками. Оскільки пігментація жовтозерної кукурудзи обумовлена виключно каротиноїдами [9], тенденції змін їх накопичення можна встановити за інтенсивністю відбиття насіння у видимому діапазоні спектра. Тому накопичення пігментів оцінено за оптичною густиною відбиття суцільної зернівки або зрізу, так як для цих показників ми раніше встановили корелятивний зв'язок

При цьому кількість форм зі значеннями $A_{\text{зерн}}/A_{\text{зр}}$ в інтервалі 1,12—1,59, який встановлено нами раніше для оцінювання збалансованості накопичення каротиноїдів у алейроновому шарі й ендоспермі для звичайних аналогів [8], для родин S_2 , S_3 , S_4 становила відповідно 2,08; 2,13; 10,42 % загальної кількості селекційних форм. Отримані результати підтвердили можливість зниження негативного ефекту мутації $o2$ на процес відносного накопичення каротиноїдних пігментів у поверхневому шарі та ендоспермі застосуванням селекційних прийомів.

Поєднання методу експрес-діагностики за спектральними параметрами індивідуальних зернівок зі статистичним аналізом кривих розподілу показників дає змогу досліджувати ефективність мутаційної мінливості кукурудзи, встановлювати закономірності накопичення каротиноїдів QRМ. Отримані результати розширюють арсенал методів аналізу каротиноїдних пігментів при створенні сортів кукурудзи з підвищеною біологічною цінністю [14], а також перспективні для розробки експрес-методів оцінювання якості зерна, встановлення механізмів формування корисних ознак рослин із поліпшеним складом біохімічних сполук [6, 10].

Отже, параметри кривих розподілу спектральних характеристик зернівок можна використовувати для селекційного добору форм кукурудзи за рівнем накопичення каротиноїдів.

1. Гужов Ю.Л., Фукс А., Валичек П. Селекция и семеноводство культурных растений. — М.: Агропромиздат, 1991. — 463 с.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
3. Луцишина Е.Г., Бебякин В.М. Возможность применения ЯМР-отбора высококачественных зерновок пшеницы в селекционном процессе // Физиология и биохимия культ. растений. — 1986. — 18, № 4. — С. 373—378.
4. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 430 с.
5. Орлов В.В. Взаимосвязь кривой распределения показателей качества семян с их биологическими характеристиками // Биометрический анализ в биологии. — М.: Наука, 1982. — С. 62—66.
6. Рыбалка А.И., Моргунов В.В., Починков В.М. Генетические основы селекции сортов пшеницы по специализации их технологического использования // Физиология и биохимия культ. растений. — 2012. — 44, № 2. — С. 95—124.

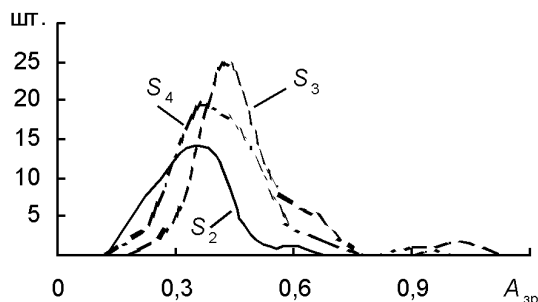


Рис. 3. Криві розподілу форм кукурудзи різних генерацій самозапилення за оптичною густиною дифузного відбиття зрізу зернівок. Вірогідність відмінностей між розподілами S_2 і S_3 : $\chi^2 = 34,79$, $p \leq 0,05$; $t = -6,009$, $p = 0,001$; S_2 і S_4 : $t = -3,456$, $p = 0,001$; S_3 і S_4 : $t = 2,496$, $p = 0,014$

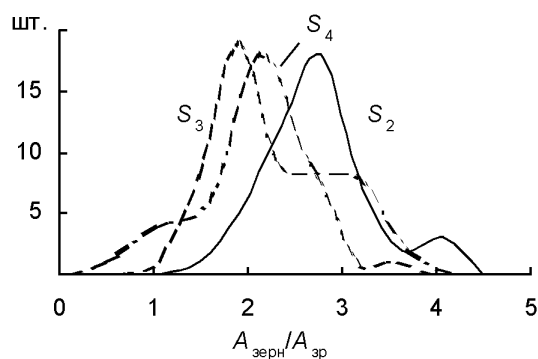


Рис. 4. Криві розподілу форм кукурудзи різних генерацій самозапилення за співвідношенням оптичних густин дифузного відбиття суцільної зернівки та її зрізу. Вірогідність відмінностей між розподілами S_2 і S_3 : $\chi^2 = 26,47$, $p \leq 0,05$, $t = 5,742$, $p = 0,001$; S_2 і S_4 : $t = 3,485$, $p = 0,001$

7. Рядчиков В.Г. Улучшение зерновых белков и их оценка. — М.: Колос, 1978. — 256 с.
8. Феденко В.С., Стружко В.С. Вариабельность параметров отражения зерновых мутантов кукурузы по эндосперму // Физиология и биохимия культ. растений. — 1994. — **26**, № 1. — С. 72—77.
9. Феденко В.С., Стружко В.С. Спектральные параметры и окраска семян кукурузы // Там же. — 1999. — **31**, № 4. — С. 254—260.
10. Чеченева Т.Н. Изменчивость злаков в культуре *in vitro* и в процессе регенерации растений // Там же. — 2006. — **38**, № 2. — С. 163—175.
11. Шемет С.А., Феденко В.С. Біотестування рослин при дії токсикантів по варіаційних кривих показників росту // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. — 2002. — **2**, Вип. 10. — С. 75—80.
12. Пат. № 2005352 Российская Федерация, МКИ⁵ А 01 Н 1 1/04. Способ определения специфичности эндоспермовых мутантов кукурузы к накоплению каротиноидов / В.С. Феденко, В.С. Стружко, В.В. Глушко. — Оpubл. 15.01.94, Бюл. № 1.
13. Fardet A., Rock E., Remesy C. Is the *in vitro* antioxidant potential of whole grain cereals and cereal products well reflected *in vivo*? // J. Cereal Sci. — 2008. — **48**, N 2. — P. 258—276.
14. Howe J.A., Tanumihardjo S.A. Evaluation of analytical methods for carotenoid extraction from biofortified maize (*Zea mays* sp.) // J. Agr. Food Chem. — 2006. — **54**, N 21. — P. 7992—7997.
15. Liu R.H. Whole grain phytochemicals and health // J. Cereal Sci. — 2007. — **46**, N 3. — P. 207—219.
16. Nestel P., Bouis H.E., Meenakshi J.V., Pfeiffer W. Biofortification of staple food crops // J. Nutr. — 2006. — **136**, N 4. — P. 1064—1067.
17. Prasanna B.M., Vasal S.K., Kassahun B., Singh N.N. Quality protein maize // Curr. Sci. — 2001. — **81**, N 10. — P. 1308—1319.
18. Vietmeyer N.D. A drama in three long acts: the story behind the story of the development of quality-protein maize // Diversity. — 2000. — **16**, N 3. — P. 29—32.
19. Ward J.L., Poutanen K., Gebruers K. et al. The HEALTHGRAIN cereal diversity screen: concept, results, and prospects // J. Agr. Food Chem. — 2008. — **56**, N 21. — P. 9699—9709.
20. Wright K.N. Nutritional properties and feeding value of corn and its byproducts // Corn: Chemistry and Technology. — St. Paul: AACCC, 1987. — P. 452—453.
21. Wurtzel E.T. Genomics, genetics, and biochemistry of maize carotenoid biosynthesis // Secondary Metabolism in Model Systems: Recent Advances in Phytochemistry. — 2004. — **38**. — P. 85—110.

Отримано 30.07.2012

ОТБОР СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ КУКУРУЗЫ ПО СОДЕРЖАНИЮ КАРОТИНОИДОВ В ЗЕРНЕ

В.С. Феденко¹, С.А. Шемет¹, Э.Н. Федоренко²

¹Научно-исследовательский институт биологии Днепропетровского национального университета имени Олеся Гончара, Днепропетровск

²Институт сельского хозяйства степной зоны Национальной академии аграрных наук Украины, Днепропетровск

Исследовано содержание каротиноидов и параметры отражения семян селекционных форм кукурузы. Установлена возможность селекционного экспресс-отбора по параметрам кривых распределения спектральных характеристик зерновок.

BREEDING MAIZE FORMS SCREENING BY CAROTENOID CONTENT IN GRAIN

V.S. Fedenko¹, S.A. Shemet¹, E.M. Fedorenko²

¹Biology Scientific Research Institute of Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University
72 Gagarin Av., Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine

²Institute of Agriculture of Steppe Zone, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
14 Dzerzhinsky St., Dnipropetrovsk, 49600, Ukraine

Carotenoid content and reflectance parameters of grains of breeding maize forms were investigated. Possibility of selective express-screening by parameters of distribution curves of grain spectral characteristics was established.

Key words: *Zea mays* L., carotenoids, parameters of grain reflection.