

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЗЕРНА ТЕТРАПЛОИДНОЙ КУКУРУЗЫ

Хатефов Э. Б.^{1,2}, Хорева В. И.¹, Керв Ю. А.¹,
Шеленга Т. В.¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, 190000, Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42–44

² Научно-исследовательский институт сельского хозяйства КБНЦ РАН, 360004, Кабардино-Балкарская республика, г. Нальчик, ул. Кирова, 224.

e-mail: haed1967@rambler.ru

BIOCHEMICAL PROPERTIES OF TETRAPLOID MAIZE GRAIN

Khatefov E. B.^{1,2}, Horeva V. I.¹, Kerv Yu. A.¹,
Shelenga T. V.¹

¹ N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) 42–44 Bolshaya Morskaya St., St. Petersburg 190000, Russia

² Research Institute of Agriculture, Kabardino-Balkar Scientific Center of the RAS, 224 Kirova St., Nalchik, Kabardino-Balkar Republic 360004, Russia

e-mail: haed1967@rambler.ru

Тетраплоидная кукуруза привлекает селекционеров крупными размерами зерна и початка, повышенным содержанием питательных веществ, высоким урожаем зеленой массы в сравнении с диплоидной, поэтому исследование ее биохимического состава и пищевой ценности для создания исходного селекционного материала актуально. Основной задачей работы являлось выявление различий между образцами тетраплоидной кукурузы из коллекции ВИР на уровне спектров метаболитов. Сравнение значений содержания общего сахара в зерновках, гомозиготных по гену *su2*, не выявило существенных различий между диплоидными и тетраплоидными генотипами, тогда как по фракциям сахаров обнаружены некоторые различия. Исследования показали, что в диплоидных зерновках отклонения от значения стандарта по содержанию общих сахаров составляют –8,2 мг/100 г, а в тетраплоидных –2,9 мг/100 г, хотя общее соотношение доминантных и рецессивных аллелей (1АА : 2аа) сохраняется одинаковым у обоих генотипов. Тетраплоидная сахарная кукуруза в сравнении с диплоидной показала большую вариабельность (CV) по содержанию в зерне белка (CV = 6,80%), крахмала (CV = 8,27%) и масла (CV = 13,3%). Выделены потенциальные доноры высокого содержания белка, крахмала и масла в зерне тетраплоидной сахарной кукурузы. Создан новый сорт тетраплоидной сахарной кукурузы Баксанская сахарная с урожайностью до 16 т/га товарных початков молочной спелости, преимущественно двухпочаткового типа. Сорт характеризуется высокими вкусовыми качествами за счет того, что его зерно содержит 16,3% белка, 63,2% крахмала и 7,5% масла. Сорт отличается устойчивостью к биотическим факторам среды. Геном тетраплоидов за счет большей, чем у диплоидов, генетической емкости обеспечивает большую вариабельность биохимического состава зерна и других селекционно ценных признаков. Создание новых, высокоурожайных гибридов сахарной кукурузы на основе тетраплоидных образцов коллекции ВИР позволит селекционерам существенно расширить генетический полиморфизм и сортимент современных селекционных достижений кукурузы, будет способствовать обеспечению качественным сырьем для пищевой и консервной промышленности.

Ключевые слова: кукуруза, тетраплоид, биохимический состав, мутация, селекция.

Tetraploid maize attracts breeders because of its large kernel and cob sizes, high nutrient content, and higher yield of herbage mass than diploid maize. Hence, it is important to study its biochemical composition and nutritional value in order to develop original source material for breeding. Accessions of tetraploid sweet corn from VIR's genebank were used to analyze biochemical composition of the grain. The main task of the work was to identify differences among the accessions at the level of the metabolite spectra. A comparison of the values in the content of total sugars in kernels homozygous for the *su2* gene did not reveal significant differences between diploid and tetraploid genotypes, while the fractions of sugars revealed some differences. Studies have shown that in diploid grains deviations from the reference for the total sugars content are –8.2 mg/100g, and in tetraploid ones, –2.9 mg/100g, although the overall ratio of dominant and recessive alleles (1AA:2AA) remains the same in both genotypes. Tetraploid sweet corn showed greater variability of the coefficient of variation (CV) in the grain protein content (CV = 6.80%), starch (CV = 8.27%) and oil (CV = 13.3%) compared with the diploid one. Potential donors of high protein, starch and oil contents in the kernel of tetraploid sweet corn were identified. A new cultivar of tetraploid sweet corn, 'Baksanskaya Sakharnaya', was developed, with a yield up to 16 t/ha of cobs in a marketable milky ripeness state and representing predominantly the double-cob type. This cultivar has high flavor qualities due to the fact that its kernels contain 16.3% of protein, 63.2% of starch, and 7.5% of oil. Moreover, the cultivar is resistant to biotic environmental factors. The tetraploid genome provides greater variability of the kernel's biochemical composition and other economically valuable traits due to its greater genetic capacity, compared with the diploid genome. Development of new high-yielding hybrids of sweet corn based on VIR's holdings will allow breeders to significantly broaden the genetic polymorphism and assortment of modern breeding achievements, and contribute to providing high-quality raw materials for food and canning industry.

Keywords: maize, tetraploid, biochemical composition, mutation, breeding.

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Конфликт интересов отсутствует.

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания ВИР (№ 0662-2019-0006).

Хатефов Э. Б., Хорева В. И., Керв Ю. А., Шеленга Т. В.
Особенности биохимического состава зерна тетраплоидной кукурузы. Биотехнология и селекция растений. 2019; 2(1): 32-41.
DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-32-41

Khatefov E. B., Horeva V. I., Kerv Yu. A., Shelenga T. V.
Biochemical properties of tetraploid maize grain. Plant Biotechnology and Breeding. 2019; 2(1): 32-41.
DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-32-41

Хатефов Э. Б. orcid.org/0000-0001-5713-2328
Шеленга Т. В. orcid.org/0000-0003-3992-5353
Хорева В. И. orcid.org/0000-0003-2762-2777

УДК: 633.15: 631.52

Поступила в редакцию: 12.10.2018

Принята к публикации: 15.01.2019

Введение

Кукуруза (*Zea mays* L.) – это одна из важнейших зерновых культур в мире, и ее удельный вес в мировом зерновом балансе составляет более 30% (Shpaar, 2008). В 2017 году мировой рынок кукурузы составил 1112 млн т (www.ab-centre.ru). На протяжении последних трех лет в России наблюдается как спад, так и подъем производства кукурузы на зерно. В 2017 году в России было произведено 13 235,7 тыс. т кукурузы на зерно, что на 13,5% ниже объема производства предыдущего года (<http://alto-group.ru>).

Показатели биохимического состава зерна кукурузы занимают важное место в селекционной работе, поэтому тетраплоидная кукуруза остается привлекательным объектом для исследований за счет повышенного содержания в зерне белка наравне с высокой урожайностью листостебельной массы и товарных початков. Селекционеры уделяют особое внимание содержанию в зерне сахарной кукурузы белка, поскольку от этого показателя зависят и вкусовые качества, и потребительский спрос товарной продукции (Pavlov, 1968). Особую ценность имеют генотипы, созданные на основе мутаций, несущих аллели генов, контролирующих аминокислотный состав белков и жирнокислотный состав содержащегося в зародыше масла. При этом селекционеры сталкиваются с проблемой расщепления признаков в последующих поколениях вследствие совмещения в исходном генотипе большого числа ценных генов. В случае селекции сахарной и других пищевых подвидов кукурузы на тетраплоидном уровне число хромосом возрастает в два раза, что позволяет селекционерам объединить в одном гибридном генотипе больше ценных аллелей генов, влияющих на химический состав зерна (Khatefov et al., 2018a, b). Следовательно, селекция пищевой кукурузы существенно увеличивает изменчивость изучаемых признаков путем введения в ее генотип нужных сочетаний и числа аллелей генов, контролирующих питательные и вкусовые свойства зерна.

Целью проведенных исследований было определение особенностей биохимического состава зерна кукурузы при взаимодействии аллелей генов *sugary endosperm* (*su2*) в гомозиготном и гетерозиготном состояниях в генотипах тетраплоидной и диплоидной кукурузы, изучение перспектив их селекции.

Материалы и методы исследований

Объектом для исследований являлись сорта и линии диплоидной и тетраплоидной сахарной кукурузы. Линии тетраплоидной сахарной кукурузы получены в результате инцукта потомства зерновок, несущих ген *su2* в гомозиготном состоянии, выделенных из популяции зубовидной тетраплоидной кукурузы МРПП-20 селекции КБНИИСХ, с последующим длительным позитивным отбором по селекционно ценным признакам. Сорт тетраплоидной сахарной кукурузы Баксанская сахарная создан на осно-

ве линий сахарной кукурузы, полученных из потомства зерновок с геном *su2*, выделенных из популяции МРПП-20. В качестве диплоидного стандарта использовали сорта сахарной кукурузы Ника-353 селекции КБНИИСХ и Ранняя лакомка селекции ООО ИПА «ОТБОР», а для определения биохимических особенностей зерна тетраплоидной сахарной кукурузы в качестве тетраплоидного стандарта – образец С-430 из генетической коллекции ВИР. Все образцы тетраплоидной сахарной кукурузы, использованные в опыте, переданы в коллекцию ВИР в 2018 г. Исследования проводили в период с 2008 по 2018 г. на территории Кабардино-Балкарии ОПХ «Нартан» при ИСХ КБНЦ РАН. Селекционный участок расположен в пределах предгорной зоны Северного Кавказа, на водоразделе рек Урвань – Нальчик. В основном, почвы представлены луговыми черноземами. Содержание гумуса в пахотном слое не превышает 2,64%, реакция почвенного раствора по всему почвенному профилю среднещелочная (рН = 8,1), со средней емкостью поглощения в пахотном слое (32 мг/экв на 100 г почвы), которая уменьшается постепенно с увеличением глубины. Значения содержания карбонатов в пахотном слое варьируют от среднего (6,7%) на поверхности до высокого (14,7%) на глубине. Обеспеченность почвы подвижным фосфором очень низкая (0,4 мг/100 г почвы), а обменным калием – очень высокая (8 г/100 г) (Grigoriev, 1948).

Климат зоны характеризуется как умеренно жаркий при сумме активных температур 3000–3200°C и умеренном увлажнении (коэффициент увлажнения 0,5–0,9), гидроtermический коэффициент варьирует в пределах 0,9–1,2. В целом за период исследований рост и развитие кукурузы проходили при избытке тепла и дефиците влаги.

Опыты по изучению диплоидных и тетраплоидных генотипов кукурузы, фенологические наблюдения проводили по методикам ВАСХНИЛ и ВИР (Shmaraev, Matveeva, 1985), методическим указаниям по производству гибридных и сортовых семян кукурузы ВАСХНИЛ и ВНИИ кукурузы (Sokolov et al., 1975). Испытание образцов кукурузы проводили в двукратной повторности. Делянки двухрядковые, площадью 4,9 м². Ширина междурядий 0,7 м, густота стояния 60 тыс. растений на 1 га. Измерения и учеты проводились на 10 растениях и 10 початках в двукратной повторности. Изучение фенотипических признаков линий осуществляли в соответствии с Методическими указаниями по селекции кукурузы ВАСХНИЛ и ВНИИ кукурузы (Filev et al., 1980), а биометрические показатели и их описания даны согласно «Широкому унифицированному классификатору СЭВ и международному классификатору СЭВ видов *Zea mays* L.» (1977). Устойчивость к холоду и засухе определяли согласно методике «Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям» ВИР (Chumakov, 1974). Содержание в зерновках белка, крахмала, масла определяли методом инфракрасной спектроскопии на приборе Infracat 1241 Grain Analyzer (Швеция), содержание сахаров – по

А. И. Ермакову (Ermakov, 1972). Анализ метаболитов в зерне проводили с помощью газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ГЖХ МС) на хроматографе Agilent 6850 с квадрупольным масс-селективным детектором Agilent 5975B VL MSD фирмы Agilent Technologies Inc. (США). Полученные результаты обрабатывались с помощью программы UniChrom (Shelenga et al., 2014). Экспериментальные данные анализировали различными методами биометрической статистики (Dospikhov, 1972). Для проведения цитогенетического анализа использовали методику окрашивания хроматина мейоцитов ацетокармином по (Pausheva, 1970). Окрашивание и подсчет чисел хромосом в соматических клетках проводили по Фельгену с фуксинсернистой кислотой (Pausheva, 1970). Для мацерации фиксированного материала использовали пектиназу от *Aspergillus niger* и целлюлазу от *Trichoderma viride* фирмы SERVA. Анализ мультивалентных ассоциаций хромосом проводили по С. Д. Дарлингтону (Darlington, 1937).

Результаты и их обсуждение

Открытие генов *sugary endosperm (su)*, *waxy endosperm (wx)*, *amylase extender (ae)*, *dull endosperm (du)*, *shrunk endosperm (sh)*, *opaque-2 (o₂)*, *floury-2 (fl₂)* и других, несущих мутации эндосперма у кукурузы, значительно ускорило исследования, направленные на улучшение качественного (биохимического) состава зерна (Wilson, Alexander, 1967; Lebedev et al., 1979; Мик, 1981; Палий, 1989). Отечественными и зарубежными селекционерами были созданы сорта и гибриды, которые несут отдельные эндоспермовые мутации, положительно влияющие на качество зерна (Ugenheimer, 1979; Khadzhinov, 1975; Galeyev et al., 1971; Gurev, Kozubenko, 1976; Sotchenko, Novoselov, 1995). До настоящего времени все исследования таких мутаций проводились на диплоидной кукурузе, и лишь отдельные авторы сравнивали биохимический состав форм кукурузы различной пloidности (Paliy, 1989). На пищевых подвидах кукурузы и, в частности, тетраплоидной сахарной кукурузе, подобные вопросы и вовсе не изучались. В селекции пищевой сахарной кукурузы нашли широкое применение гены *sugary endosperm (su)* и *shrunk endosperm (sh)*, которые за счет эффекта, нарушающего процесс перехода сахаров в крахмал, характеризуются способностью к накоплению сахаров в зерновке (Paliy, 1989).

Коллекция тетраплоидной сахарной кукурузы ВИР

(300 образцов) создана на основе тетраплоидной популяции зубовидной кукурузы МРПП-20. Источник для получения популяции МРПП-20 создан в Краснодарском НИИСХ им. П. П. Лукьяненко В. С. Щербак на основе тетраплоидной популяции Синтетик В (США) с участием сорта Кубанская сахарная и 1/16 генома многолетнего тетраплоидного теосинте *Zea perennis* Hitchc. ($2n = 40$) (Khatfov, Shcherbak, 2002). В этой популяции проведено несколько циклов позитивного отбора на высокую семенную продуктивность початка по признакам предпочтительной бивалентной конъюгации хромосом в мейоцитах в стадии диакинеза (рис. 1, 2), а также минимального различия между фактической и ожидаемой семенной продуктивностью (озерненностью) початка. Отбор проводили в направлении накопления высоких значений частоты бивалентной конъюгации хромосом в мейозе против квадринагентной с последующим переопылением выделенных отдельных генотипов растений и последующим размножением полученного гибридного потомства. После размножения проводили анализ на семенную продуктивность початка. Для этого подсчитывали число зерен в початке, которое обозначали как фактическую семенную продуктивность початка. Затем обрушенный стержень початка обжигали на газовой горелке и после удаления цветковых чешуй подсчитывали число семенных гнезд, заложенных на початке. Удвоенную сумму числа семенных гнезд принимали за ожидаемую (потенциальную) семенную продуктивность початка. Для последующего участия в очередном цикле отбора отбирали репродукцию семян с початков, показавших минимальное значение разности между ожидаемой и фактической семенной продуктивностью початка.

В следующем году цикл отбора повторялся и выделенные генотипы снова переопыляли. С каждым циклом отбора в селектируемой популяции наблюдался рост значения «диплоидизации» тетраплоидного генома и семенной продуктивности початка со смещением мультивалентных ассоциаций хромосом в мейоцитах от квадринагентных к бивалентным (Khatfov, Shcherbak, 2002). В конце 10 цикла отбора была создана популяция МРПП-20, которая и послужила исходным материалом для выделения линий тетраплоидной сахарной кукурузы (рис. 3). В процессе селекционного улучшения проводился отбор и по другим селекционно ценным признакам, как раннеспелость, многорядность, скорость влагоотдачи, склонность к многопочатковости, устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды.

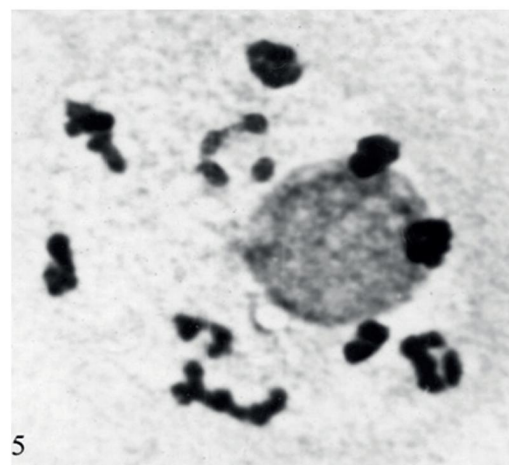
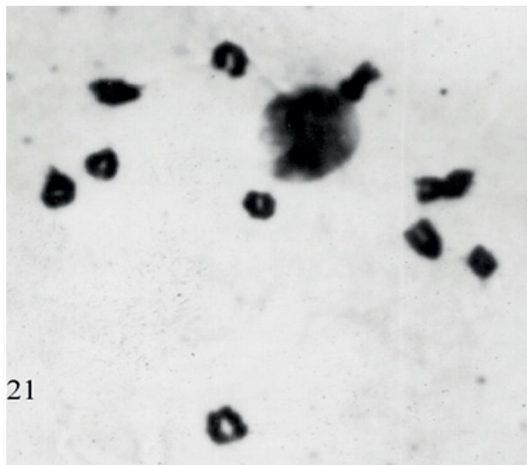


Рис. 1. Бивалентная конъюгация хромосом в мейозе диплоидной кукурузы (слева) и квадриллентная в мейозе тетраплоидной кукурузы, не прошедшей селекционный отбор

Fig. 1. Bivalent conjugation of chromosomes in the meiosis of diploid corn (left) and quadrivalent conjugation in the meiosis of non-selected tetraploid corn

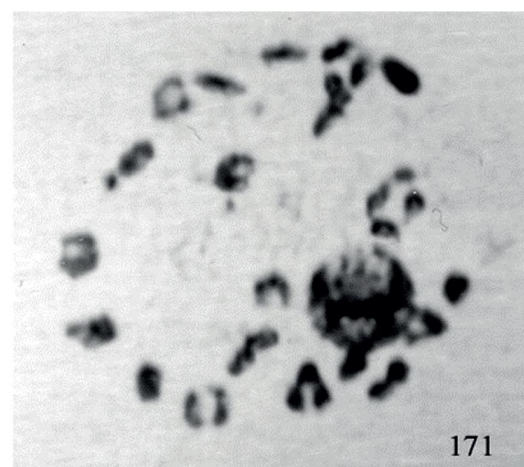
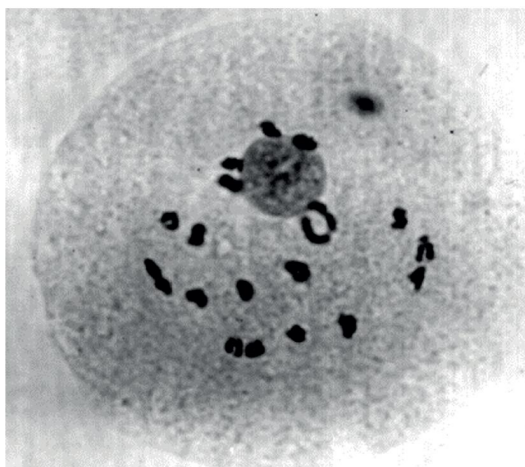


Рис. 2. Мейоциты тетраплоидной кукурузы с предпочтительной бивалентной конъюгацией хромосом, прошедшей селекционный отбор

Fig. 2. Meiocytes of tetraploid maize with preferred bivalent conjugation of chromosomes after selection

Включение в родословную популяции МРПП-20 сорта Кубанская сахарная способствовало высокой частоте обнаружения на початках отдельных зерновок с сахарным эндоспермом, предположительно гомозиготных по гену *su2* (*sugary endosperm*). Выделившийся материал был размножен и подвергнут многократному инкухту для повышения частоты гомозигот аллелей и в том числе гена *su2*, кодирующих один из основных фенотипических признаков сахарной кукурузы. На основе лучших линий тетраплоидной сахарной кукурузы, выделенных по признаку семенной продуктивности початка, методом полигибридных скрещиваний был создан сорт тетраплоидной сахарной кукурузы пищевого назначения Баксанская сахарная, который был внесен в Госреестр селекционных достижений РФ в 2011г. (рис. 4) (Khatfov, Shcherbak, 2012). Сорт тетраплоидной кукурузы Баксанская сахарная имеет ряд

преимуществ перед диплоидным стандартом за счет более крупного, многорядного початка с хорошей зерновой продуктивностью и более длинных и крупных зерновок на початке (табл. 1; рис. 4, 5).

В настоящее время в генетической коллекции тетраплоидной сахарной кукурузы ВИР насчитывается более 300 образцов, сочетающих с геном *su2* ряд других генов, кодирующих селекционно важные признаки.

Нами изучены эффекты аллелей гена *su2* в гомозиготном и гетерозиготном состояниях в эндосперме диплоидной (2n) сахарной кукурузы сорта Ника 353 и тетраплоидной сахарной кукурузы (4n) сорта Баксанская сахарная. Гетерозиготные сочетания доминантных и рецессивных аллелей гена *su2* были получены в результате гибридизации сахарной кукурузы с подвидом кремнистой кукурузы.

Таблица 1. Характеристика сорта тетраплоидной кукурузы Баксанская сахарная (2010, 2011 гг., НСР_{0,5} = 3,08 ц/га)Table 1. Characteristics of tetraploid corn variety Baksanskaya Sakharnaya (2010, 2011 years, LSD_{0,5} = 3.08 c/ha)

№	Признаки	Ника 353 (St)	Баксанская сахарная	Отклонения от стандарта
1	Урожай початков молочной спелости, ц/га	82,0	146,6	+64,6
2	Выход товарного зерна с початка, %	64,0	85,5	+21,5
3	Содержание общих сахаров, мг/100г муки	47,1	47,7	+0,6
4	Содержание протеина, %	10,06	12,75	+2,69
5	Содержание масла, %	4,55	2,9	-1,65
6	Число рядов зерен на початке	12,7	22,4	+9,7
7	Число зерен в ряду на початке	29,3	35,5	+6,2
8	Высота зерновки, мм	7,0	11,0	+0,4



Рис. 3. Початки исходной тетраплоидной популяции МРПП-20 до начала отбора (слева) и после отбора на повышенную озерненность (справа)

Fig. 3. Cobs of the initial tetraploid population of MRPP-20 before the beginning of the selection (left) and after the selection for increased fertility (right)

Результаты биохимического анализа зерновок гомозиготных и гетерозиготных генотипов тетраплоидной и диплоидной сахарной кукурузы показали, что содержание общих, водорастворимых и гидролизуемых сахаров не имеет существенных различий (табл. 2). Сравнение значений содержания общего сахара в гомозиготных по гену *su2* генотипах не выявило существенных различий между зерновками диплоидной и тетраплоидной сахарной кукурузы. Несмотря на увеличение числа аллелей *su2* в тетраплоидном эндосперме в два раза, содержание

общего сахара осталось на уровне значений диплоидного эндосперма. Введение доминантного аллеля *Su2* (♂) в гомозиготный по рецессивному аллелю *su2* (♀) генотип эндосперма способствует снижению содержания общих сахаров в зерновках как диплоидной, так и тетраплоидной кукурузы. В диплоидных зерновках кукурузы отклонения от значения стандарта по содержанию общих сахаров составляют -8,2 мг/100 г, а в тетраплоидных – только -2,9 мг/100 г.

Таблица 2. Содержание сахаров в эндосперме диплоидной и тетраплоидной кукурузы в зависимости от аллельного состояния гена *su2* (мг/100 г навески)
Table 2. Sugar content in the endosperm of diploid and tetraploid corn kernels depending on the allelic state of the *su2* gene (mg/100 g weighed weight)

Варианты ♂ : ♀	n	Содержание сахаров		
		Гидролизруемые	Водорастворимые	Общий
<i>su2:su2su2</i> (St)	2n	34,4	12,7	47,1
<i>Su2:su2su2</i>	2n	36,7	2,2	38,9
Отклонения от St	2n	+2,3	–10,5	–8,2
<i>su2su2:su2su2su2su2</i> (St)	4n	36,1	11,6	47,7
<i>Su2Su2:su2su2su2su2</i>	4n	41,7	3,1	44,8
Отклонения от St	4n	+5,6	8,5	–2,9
HCP ₀₅ =				0,11



Рис. 4. Початки сорта тетраплоидной кукурузы Баксанская сахарная в фазе молочной (слева) и полной (справа) спелости

Fig. 4. Cobs of the tetraploid corn variety Baksanskaya Sakharnaya in the phase of milky (left) and full (right) ripeness

У тетраплоидных образцов кукурузы значения коэффициента вариации могут изменяться в более широких пределах, чем у диплоидных. Это вызвано тем, что у тетраплоидов в фенотипическом проявлении признака принимает участие большее число хромосом, чем у диплоидов. Но это не всегда приводит только к повышению или только к снижению значений фенотипических признаков, и в том числе, биохимических. В процессе селекции тетраплоидной сахарной кукурузы были выделены отдельные линии, которые значительно отличались от диплоидных

стандартов высокими и низкими значениями содержания белка, масла и крахмала в зерне. Следовательно, можно предположить, что наличие в геноме тетраплоидной кукурузы большего числа аллелей способствует изменчивости биохимического состава зерновки в более широких пределах. Анализ значений коэффициента вариации (CV) и их разности (CV_{4n} – CV_{2n}) у диплоидных и тетраплоидных генотипов по содержанию белка, крахмала и масла в зерновке подтверждает это предположение (табл. 3).

Проведенные исследования содержания сахаров в

гомозиготных и гетерозиготных по гену *su2* зерновках диплоидной и тетраплоидной кукурузы показали, что количественные значения могут изменяться в широких пределах либо оставаться неизменными в зависимости от состояния и числа аллелей. Кроме того, взаимодействия гена *su2* могут изменять значения содержания различных фракций сахаров в зависимости от соотношения доминантных и рецессивных аллелей в локусе как у диплоидных, так и у тетраплоидных генотипов кукурузы. Поэтому изучение новых сочетаний эндоспермовых мутаций

тетраплоидной кукурузы, влияющих на содержание белка и его аминокислотный состав, содержание крахмала и его различных фракций, содержание масла и его жирнокислотный состав, позволит не только получить новые знания о взаимодействиях этих генов, но и изменять в более широких пределах состав химических компонентов зерновки. Возможно, количественное содержание химических компонентов в зерне тетраплоидной кукурузы окажется выше в связи с большим размером зерновки и зародыша (рис. 5).



Рис. 5. Сравнение размера зерновки и зародыша сахарной кукурузы: (слева) тетраплоидной, (справа) диплоидной

Fig. 5. Comparison of kernel and germ size of tetraploid (left) and diploid (right) sweet corn

Таблица 3. Содержание белка, крахмала и масла в зерновке диплоидной и тетраплоидной кукурузы
Table 3. Protein, starch and oil content in the diploid and tetraploid corn kernel

№	Варианты	n	Белок, %	Крахмал, %	Масло, %
1	Ника 353	2	10,06	64,70	4,55
2	Ранняя лакомка	2	13,10	64,40	6,10
3	Баксанская сахарная	4	16,30	63,20	7,50
4	Линия 1160-8	4	11,30	66,70	6,10
5	Линия 1169-10	4	17,90	63,20	6,40
6	Линия 1150-1	4	15,60	59,40	10,00
7	Линия 1142-8	4	13,50	67,30	4,80
8	Линия 1150-7	4	15,60	59,40	10,00
9	Линия 1142-8	4	13,50	67,30	4,80
10	CV, %	2	11,60	0,23	12,70
		4	18,40	8,50	26,00
11	$CV_{4n} - CV_{2n}$		+6,80	+8,27	+13,30
12	HCP_{05}		0,11	0,31	0,20

Таблица 4. Содержание различных органических веществ в зерновках тетраплоидной кукурузы, гомозиготных по генам *su2* и *wx* (мг/100 г)

Table 4. The values of the content of various organic substances in the kernels of tetraploid corn homozygous for the *su2* and *wx* genes (mg/100 g)

№	Сумма органических веществ	Номер образца ВИР		Разность
		C1576 (<i>su2</i>)	C430 (<i>wx</i>)	C1576 – C430
1	Органические кислоты	61,76	29,74	+32,02
2	Многоатомные спирты	60,35	40,70	+19,65
3	Свободные аминокислоты	114,72	29,79	+84,93
4	Жирные кислоты	867,85	440,64	+427,21
5	Пентозы	5,77	4,23	+1,54
6	Гексозы	515,73	329,87	+185,86
7	Моносахара	1,23	4,11	-2,88
8	Дисахара	20467,47	18671,54	+1795,93
9	Трисахариды	1203,59	1645,10	-441,51
10	Фитостеролы	120,10	243,89	-123,79
11	Моноацилглицеролы	24,90	7,90	+17,0

Метаболические процессы, происходящие при взаимодействии аллелей генов в генотипе тетраплоидного растения, несомненно, представляют научный интерес, поскольку оно является результатом совокупной реакции на воздействие окружающей среды в виде низкомолекулярных метаболитов. Следовательно, особенности течения и накопления различных биохимических веществ в клетке и тканях зерновки кукурузы могут служить дополнительным критерием фенотипической оценки различных генотипов кукурузы. Поэтому определение биохимических продуктов обмена веществ в клетке, ткани, органе стало эффективным инструментом анализа генофонда коллекций, в том числе для селекции (Smolikova et al., 2015; Shelenga et al., 2014).

Анализ значений разности сумм органических веществ между тетраплоидными генотипами сахарной (C1576) и восковидной (C430) кукурузы показывает высокий полиморфизм изменчивости по их содержанию, а также эффекты гена *su2* на процесс полимеризации сахаров в крахмал при созревании зерновки (табл. 4). Сравнение значений и их отклонений по суммам 11-ти органических веществ между образцами C1576 и C430 показало, что в исследованных линиях сахарной кукурузы выше содержание восьми (органические кислоты, многоатомные спирты, свободные аминокислоты, жирные кислоты, пентозы, гексозы, дисахара, моноа-

цилглицеролы) и ниже-трех веществ (моносахариды, трисахариды, фитостеролы), чем в образце восковидной кукурузы.

Различие говорит о более сложных процессах, чем обычное накопление сахаров в зерновке, у диплоидных и, особенно, тетраплоидных генотипов в результате аллельных и не аллельных взаимодействий генов. Сравнение накопления органических веществ в зерне тетраплоидных генотипов, гомозиготных по генам *su2* и *wx*, показывает зависимость биохимических процессов от этих мутаций, которые оказывают влияние на работу генов, регулируют процесс перехода сахаров в крахмал. Вероятно, в результате влияния эффекта гена *su2* в зерне сахарной кукурузы идет накопление не только сахаров, но и множества других биохимических компонентов, задействованных в процессе синтеза крахмала и не нашедших дальнейших биохимических трансформаций внутри клетки.

Заключение

Коллекция тетраплоидной сахарной кукурузы ВИР, созданная на основе высокопродуктивной тетраплоидной популяции МРПП-20, показала эффективность отбора зерновок с сахарным генотипом. Проведение отбора на предпочтительную бивалентную конъюгацию хромосом

в мейоцитах в исходной популяции МРПП-20 способствовало созданию высокоплодовитых, селекционно ценных линий тетраплоидной сахарной кукурузы. Лучшие линии составили генетическую основу сорта тетраплоидной сахарной кукурузы Баксанская сахарная, характеризующейся двухпочатковостью, высокой озерненностью початка, а также отличными вкусовыми и питательными свойствами за счет повышенного содержанием белка и масла в зерне. Анализ значений содержания общего сахара не выявило существенных различий между диплоидными и тетраплоидными генотипами, гомозиготными по гену *su2*. Несмотря на увеличение числа аллелей *su2* в два раза в эндосперме тетраплоидной зерновки, содержание общего сахара осталось на уровне значений диплоидного эндосперма. Введение доминантного аллеля *Su2* (♂) в генотип, гомозиготный по гену *su2* (♀), способствует снижению содержания общих сахаров в зерновках как у диплоидного, так и тетраплоидного генотипов. Исследования показали, что в зерновках диплоидных генотипов отклонения от значения стандарта по содержанию общих сахаров составляют –8,2 мг/100 г, а в тетраплоидных – только –2,9 мг/100 г, хотя общее соотношение доминантных и рецессивных аллелей (1АА: 2аа) сохраняется одинаковым у обоих генотипов. Тетраплоидная сахарная кукуруза в сравнении с диплоидной показала

большую вариабельность значений таких биохимических компонентов, как содержание в зерне белка (CV = 6,80%), крахмала (CV = 8,27%) и масла (CV = 13,3%). При сравнении отклонений 11 значений сумм органических веществ между образцами сахарной тетраплоидной кукурузы С1576 и восковидной тетраплоидной кукурузы С-430 видно, что в исследованных генотипах сахарной кукурузы выше содержание восьми и ниже – трех органических веществ, что свидетельствует о сложном механизме эффекта гена *su2* на работу генов, контролирующих полимеризацию сахаров. Особенность тетраплоидной сахарной кукурузы по сравнению с диплоидной состоит в том, что в зерновках тетраплоидной кукурузы значения признаков и их изменчивость, в том числе и биохимического состава зерна, происходит в более широких пределах за счет участия большего числа генов и их комбинаций, чем у диплоидной. Накопление либо снижение определенных биохимических компонентов, участвующих в процессе полимеризации сахаров в крахмал, происходит за счет эффекта и большего числа генов *su2* в зерне тетраплоидной сахарной кукурузы. Поэтому селекция тетраплоидной сахарной кукурузы имеет существенные преимущества по ряду селекционно ценных признаков в сравнении с диплоидными аналогами.

References/Литература

- Balmer D, Flors V, Glauser G, Mauch-Mani B. (2013) Metabolomics of cereals under biotic stress: current knowledge and techniques. *Frontiers in Plant Science*, 4: 82. DOI: 10.3389/fpls.2013.00082
- Chumakov AE. (1974) The main methods of phytopathological research (Osnovnyye metody fitopatologicheskikh issledovaniy). Moscow. Kolos: 192 [in Russian] (Чумаков А. Е. Основные методы фитопатологических исследований. М.: Колос, 1974. 192 с.).
- Darlington CD. (1937) Recent advances in cytology. J&A Churchill LTD, London: 671 p.
- Dospekhov BA (1985) *Field experience (Metodika polevogo opyta)*. Moscow. Agropromizdat: 112–146. [in Russian] (Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. С. 112–146).
- Ermakov AI (1972) (Ed.) Methods of biochemical studies of plants. (Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy) Ed. 2nd, revised and enlarged — Izd. 2-ye, pererab. i dop. Leningrad: Kolos, 456 [in Russian] (Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений. Изд. 2-е, перераб. и доп. Ленинград: Колос. Ленингр. отд-ние, 1972. 456 с.).
- Galeyev GS, Kissel NI, Taova IA, Syritsa AK (1971) Selection of high-lysine corn (Seleksiya vysokolizinovoy kukuruzy). *Vestn. s.-kh. nauk – Bulletin of agricultural science*, 12: 59–64 [in Russian] (Галеев Г. С., Киссель Н. И., Таова А., Сырица А. К. Селекция высоколизиновой кукурузы // Вестн. с.-х. науки. 1971. Вып. 12. С. 59–64).
- Grigoriev ON (1948) Modern methods of studying the physicochemical properties of soils (Sovremennyye metody issledovaniya fiziko-khimicheskikh svoystv pochv) Ed. Academy of Sciences of the USSR — Izd. AN SSSR3: 185 [in Russian] (Григорьев О. Н. Современные методы исследования физико-химических свойств почв. Вып. 3. Изд. АН СССР. 1948. 185 с.).
- Gurev BP, Kozubenko AB (1976) The results of research on the creation of early ripe corn hybrids with improved grain quality (Rezultaty issledovaniy po sozdaniyu rannespelykh gibridov kukuruzy s uluchshennym kachestvom zerna). Collection of scientific papers — Sb. nauch. tr. KNIISKh, Krasnodar, issue II: 72–81 [in Russian] (Гурев Б. П., Козубенко А. В. Результаты исследований по созданию раннеспелых гибридов кукурузы с улучшенным качеством зерна // Сб. науч. тр. КНИИСКХ, Краснодар, выпуск II: 72–81).
- с улучшенным качеством зерна // Сб. науч. тр. КНИИСКХ, Краснодар. 1976. Вып. 2. С. 72–81).
- Filev D. S., Tsikov V. S., Zolotov V. I. et al. (1980) Methodical guidelines for conducting field experiments with corn (Metodicheskiye rekomendatsii po provedeniyu polevykh opytov s kukuruzoy). Dnepropetrovsk. All-Union Scientific Research Institute of Corn–Dnepropetrovsk VNII kukuruzy. 1980: 54 p. [in Russian] (Филев Д. С., Циков В. С., Золотов В. И. и др. Методические рекомендации по проведению полевых опытов с кукурузой. Днепропетровск: ВНИИ кукурузы, 1980. 54 с.).
- Khadzhinov MI, Ryadchikov VG, Zima KI, Lebedev AB (1975) Issues of selection of high lysine corn. (Voprosy selektsii vysokolizinovoy kukuruzy). In: Vegetable proteins and their biosynthesis — Rastitel'nyye belki i ikh biosintez. Moscow. Nauka: 20–30 [in Russian] (Хаджинов М. И., Рядчиков В. Г., Зима К. И., Лебедев А. В. Вопросы селекции высоколизиновой кукурузы // В кн.: Растительные белки и их биосинтез. М.: Наука. 1975. С. 20–30).
- Khatetov EB, Appaev SP, Shomakhov BR (2018a) The breeding value of redloid lines isolated from tetraploid maize populations (Seleksionnaya tsennost' rediploidnykh liniy vydelennykh iz tetraploidnykh populyatsiy kukuruzy). *Corn and sorghum — Kukuruz i sorgo*, 1: 27–35 [in Russian] (Хатефов Э. Б., Аппаев С. П., Шомахов Б. Р. Селекционная ценность редиплоидных линий выделенных из тетраплоидных популяций кукурузы // Кукуруза и сорго. 2018а. № 1. С. 27–35).
- Khatetov EB, Khachidogov AV, Kagermazov AM, Shomakhov BR, Kushkhova RS. (2018b) Creation and study of the breeding value of restored maize lines from tetraploid populations in the conditions of Kabardino-Balkaria (Sozdaniye i izucheniye selektsionnoy tsennosti vosstanovlennykh liniy kukuruzy iz tetraploidnykh populyatsiy v usloviyakh Kabardino-Balkarii). *Innovation and food security–Innovatsii i prodovol'stvennaya bezopasnost'*. Novosibirsk; 2(20): 104–116 [in Russian] (Хатефов Э. Б., Хачидогов А. В., Кагермазов А. М., Шомахов Б. Р., Кушхова Р. С. Создание и изучение селекционной ценности восстановленных линий кукурузы из тетраплоидных популяций в условиях Кабардино-Балкарии).

- Инновации и продовольственная безопасность. Новосибирск, 2018. № 2(20). С. 104–116).
- Khatefov EB, Shcherbak VS** (2012) The copyright certificate № 53859 Corn sugar variety "Baksan sugar" (patent number 6335 from 01.02.2012) (Avtorskoye svidetel'stvo № 53859 Kukuruzna sakharnaya sort «Baksanskaya sakharnaya») [in Russian] *Хатефов Э. Б., Щербак В. С.* Авторское свидетельство № 53859 Кукуруза сахарная сорт «Баксанская сахарная» (патент № 6335 от 01.02.2012).
- Khatefov EB, Shcherbak VS** (2002) Cytogenetic studies of tetraploid maize. (Tsitogeneticheskie issledovaniya tetraploidnoi kukuruzy). *Bulletin of KBSU — Vestnik KBGU. A series of biological sciences — Seriya biologicheskoye nauki*; 5: 161–169 [in Russian] (*Хатефов Э. Б., Щербак В. С.* Цитогенетические исследования тетраплоидной кукурузы // Вестник КБГУ. Серия биологические науки. 2002. Вып. 5. С. 161–169).
- Kukekov VG** (1977) The wide unified classifier of the CMEA and the international classifier of the CMEA of the species *Zea mays* L. (Shirokiy unifikirovanny klassifikator SEV i mezhdunarodny klassifikator SEV vidov *Zea mays* L.). Leningrad. VIR1977: 82 p. [in Russian] (*Кукеков В. Г.* Широкий унифицированный классификатор СЭВ и международный классификатор СЭВ видов *Zea mays* L. Л.: ВПР, 1977. 82 с.).
- Lebedev AB, Zima VG, Filipas TE** (1979) Amino acid and fractional composition of proteins of endosperm mutants and high-protein maize lines (Aminokislotoy i fraktsionnyy sostav belkov endospermovyykh mutantov i vysokobelkovyykh liniy kukuruzy). Collection of scientific works — Sbornik. nauchnyh trudov Krasnodar. KNIISKH. 19: 34–43 [in Russian] (*Лебедев А. Б., Зима В. Г., Филипас Т. Е.* Аминокислотный и фракционный состав белков эндоспермовых мутантов и высокобелковых линий кукурузы // Сб. науч. тр. Краснодар: КНИИСХ, 1979. Вып. 19. С. 34–43).
- Miku VE** (1981) Genetic studies of corn (Geneticheskiye issledovaniya kukuruzy). *Chisinau. Shtiintsa*: 231 p. [in Russian] (*Мик В. Е.* Генетические исследования кукурузы. Кишинев: Штиинца, 1981. 231 с.).
- Palii AF** (1989) Genetic aspects of improving the quality of corn grain. (Geneticheskiye aspekty uluchsheniya kachestva zerna kukuruzy). Chisinau: Shtiintsa: 174 p. [in Russian] (*Палий А. Ф.* Генетические аспекты улучшения качества зерна кукурузы. Кишинев: Штиинца, 1989. 174 с.).
- Shmarayev GE, Matveeva GV** (1985) Methodical guidelines for studying and maintaining accessions of the corn collection (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu i podderzhaniiy obraztsov kollektzii kukuruzy). Leningrad, VIR: 50 p. [in Russian] (*Шмаряев Г. Е., Матвеева Г. В.* Методические указания по изучению и поддержанию образцов коллекции кукурузы. Л.: ВПР, 1985. 50 с.).
- Pausheva ZP** (1970) Workshop on cytology (Praktikum po tsitologii). Moscow. Kolos: 255 p. [in Russian] (*Паушева З. П.* Практикум по цитологии. М.: Колос, 1970. 255 с.).
- Pavlov NP** (1968) The accumulation of protein in the grain of wheat and corn. (Nakopleniye belka v zerne pshenitsy i kukuruzy). Moscow: 136 p. [in Russian] (*Павлов Н. П.* Накопление белка в зерне пшеницы и кукурузы. М., 1968. 136 с.).
- Shelenga TV, Solovyova AE, Shevard AL, Konarev AV** (2014) The study of the metabolom of crops of the VIR collection (Issledovaniye metaboloma kul'tur kollektzii VIR im. N. I. Vavilova.). Plant genetic resources are the basis of food security and improving the quality of life. Abstracts of the international scientific conference dedicated to the 120th anniversary of VIR— «Geneticheskiye resursy rasteniy — osnova prodovol'stennoy bezopasnosti i povysheniya kachestva zhizni». Tезисы докладов mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 120- letiyu VIR: 98 p. [in Russian] (*Шеленга Т. В., Соловьева А. Е., Шеварда А. Л., Конарев А. В.* Исследование метаболома культур коллекции ВИР им. Н. И. Вавилова // В кн.: Генетические ресурсы растений — основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни. Тезисы докладов международной научной конференции, посвященной 120-летию ВИР. СПб.: ВПР, 2014. С. 98).
- Shpaar D** (2008) Cereals (Cultivation, cleaning, refinement and use) (Zemovyye kul'tury (Vyrashchivaniye, uborka, dorabotka i ispol'zovaniye). Moscow. Publishing House LLC DLV AGRODELO. M.: ID OOO «DLV AGRODELO: 656 p. [in Russian] (*Шпаар Д.* и др. Зерновые культуры (Выращивание, уборка, доработка и использование). М.: ИД ООО «DLV АГРОДЕЛО», 2008. 656 с.).
- Smolikova GN, Shavarda AL, Alekseychuk IV, Chantseva VV, Medvedev SS** (2015) Metabolomic approach to the assessment of varietal specificity of seeds of *Brassica napus* L. (Metabolomnyy podkhod k otsenke sortovoy spetsifichnosti semyan *Brassica napus* L.). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*; 19(1): 121–127 [in Russian] (*Смоликова Г. Н., Шаварда А. Л., Алексейчук И. В., Чанцева В. В., Медведев С. С.* Метаболомный подход к оценке сортовой специфичности семян *Brassica napus* L. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015. Т. 19, № 1. С. 121–127).
- Sokolov BP et al.** (1975) Methodical guidelines for the production of hybrid and varietal seeds of corn (Metodicheskiye ukazaniya po proizvodstvu gibridnykh i sortovykh semyan kukuruzy). All-Union Scientific Research Institute of Corn—Vsesoyuz. nauch.-issled. in-t kukuruzy. Moscow, Selkhozgiz: 206 p. [in Russian] (*Методические указания по производству гибридных и сортовых семян кукурузы / соавт.: Б. П. Соколов и др.; ВНИИ кукурузы. М.: Сельхозгиз, 1975. 206 с.).*
- Sotchenko VS, Novoselov SN** (1995) Application of modified recurrent reciprocal selection in selection of sweet corn (Primeneniye modifitsirovannogo rekurrentnogo retsiproknogo otbora v selektsii sakharnoy kukuruzy). *Corn and sorghum — Kukuruz i sorgo*; 4: 2–5 [in Russian] (*Сотченко В. С., Новоселов С. Н.* Применение модифицированного рекуррентного реципрокного отбора в селекции сахарной кукурузы // Кукуруза и сорго. 1995. № 4. С. 2–5).
- Udovenko GV** (1988) Diagnostics of plant resistance to stress: a methodological guide (Diagnostika ustoychivosti rasteniy k stressovym vozdeystviyam: metodicheskoye rukovodstvo). L. VIR: 227 p. [in Russian] (*Удовенко Г. В.* Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методическое руководство. Л.: ВПР, 1988. 227 с.).
- Ugenheimer RU** (1979) Corn: improvement of varieties, seed production and use (Uluchsheniye sortov, proizvodstvo semyan, ispol'zovaniye). Moscow, Kolos: 519 p. [in Russian] (*Югенхеймер Р. У.* Кукуруза: Улучшение сортов, производство семян, использование. М.: Колос, 1979. 519 с.).
- Wilson CM, Alexander DE** (1967) Ribonuclease activity in normal an Opaque-2 mutant endosperm of maize. *Science*; 155(3769): 1575–1576. DOI: 10.1126/science.155.3769.1575
www.ab-centre.ru
http://alto-group.ru