

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра генетики

**ПОДБОР ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ПУРПУРНОЙ
КУКУРУЗЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ САХАРОВ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 422 группы

Направления подготовки 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Подсевалова Сергея Дмитриевича

Научный руководитель

Зав. кафедрой генетики,

д. б. н., доцент

06.06.2016 г.



О.И. Юдакова

Зав. кафедрой генетики,

д. б. н., доцент

06.06.2016 г.



О.И. Юдакова

Саратов 2016

Введение. Кукуруза (*Zea mays* L.), наряду с пшеницей и рисом, является одной из самых важных сельскохозяйственных культур. Это наиболее распространенная зерновая злаковая культура, имеющая продовольственное, кормовое и агротехническое значение. Кроме того, кукуруза — классический объект генетических исследований, направленных на создание гетерозисных форм, отличающихся высокой урожайностью.

Кукуруза имеет высокую питательную ценность. В ее состав входит большое количество витаминов, особенно много в ней витаминов группы А, В, Е, Н. В кукурузе присутствует большое количество углеводов, легко растворимых сахаров, белков, пищевых волокон и крахмала. Много в ней и различных минералов: калия, фосфора, кальция, серы, натрия, хлора, железа и др. Селен, содержащийся в кукурузе, способен замедлять процессы старения и предупреждать развитие раковых опухолей. В этом неоценимая польза кукурузы для здоровья человека. И народная, и официальная медицина активно используют кукурузные рыльца для лечения различных заболеваний. Доказано, что они могут снижать уровень сахара крови, оказывать желчегонное и мочегонное действие, нормализовать работу желудка.

Большой ценностью обладают пурпурные (антоциановые) формы кукурузы, которые наряду со всеми выше перечисленными полезными веществами также содержат целый комплекс биологически активных веществ с положительным фармакологическим действием. Установлена антимикробная активность водно-спиртового экстракта антоциановой формы кукурузы в отношении тест-штаммов синегнойной палочки и стафилококка. Химический состав данной фармакологической композиции свидетельствует о ее потенциальной противоопухолевой, антиоксидантной и другой фармакологической активности (Полуконова, 2010). Антоцианы, выделенные из пурпурной кукурузы, могут использоваться как пищевые красители, так и фармакологические средства.

В настоящее время все более популярным продуктом питания становится

сладкая кукуруза и продукты ее переработки (Ko et al., 2016). Выведение линий кукурузы с повышенным содержанием сахара и антоцианов может открыть перспективы по созданию новых продуктов питания, сочетающих в себе хорошие вкусовые качества и пользу для здоровья человека.

Для начала селекционных работ по выведению таких линий, прежде всего, необходим тщательный подбор исходного материала. Известно, что содержание различных веществ в растениях может повышаться с увеличением плоидности, поэтому при селекции, направленной на повышение количественного содержания каких-либо веществ в качестве исходного материала могут быть использованы полиплоидные растения.

Целью настоящей работы являлся подбор исходного материала для селекции пурпурной кукурузы с высоким содержанием сахаров.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи.

1. Определить содержание сахаров в соке стеблей растений разной плоидности кукурузы линии ПС (Пурпурная Саратовская).
2. Определить содержание сахаров в экстрактах из кроющих листьев початков растений разной плоидности кукурузы линии ПС.
3. Провести сравнительный анализ количественного содержания сахаров в соке и экстракте диплоидных и тетраплоидных растений.

Бакалаврская работа состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования, заключение, выводы, приложение. Список использованных источников включает 31 научную работу.

Основное содержание работы. В разделе «Обзор литературы» бакалаврской работы приводится анализ литературы по вопросам, касающихся биологической и хозяйственной ценности пурпурных форм кукурузы, структуры и фармакологических действий антоцианов, содержания сахаров в растительной продукции, использование полиплоидии в селекции (Харламова, Кафка, 1979; Aoki et al., 2002; Pedreschi, Cisneros-Zevallos, 2007; Tahir et al., 2008; Борисова, 2011; Romay et al., 2013; Полуконова и др., 2010; Lago et al., 2012; Давыдова, Казаченко, 2013; Жукова, Цой, 2015; Ko et al., 2016 и др.)

Материалом исследования послужили диплоидные и тетраплоидные растения кукурузы линии ПС (Пурпурная Саратовская). Все растения характеризовались пурпурной окраской зерен, листьев и эпидермиса стебля, но отличались друг от друга окраской сердцевинки стебля. У части диплоидных и тетраплоидных растений сердцевина стебля имела пурпурную окраску, тогда как у остальных растений она оставалась неокрашенной.

Растения линий кукурузы ПС – однолетние, травянистые, темно-бардового цвета, высотой 1,5 – 2 м с прямостоячим стеблем толщиной до 3 см, характеризуются высоким содержанием флавоноидов. Листья очередные, длинные, линейные, сверху опушенные, снизу голые с влагалищами, охватывающими стебель. Початки закрыты кроющими листьями. В верхней части початка при цветении выступают нитевидные столбики с рыльцами, свешивающимися в виде пучка. Длина листовой пластинки початков варьирует от 15 до 26 см, ширина – от 5 до 7 см. Цвет с наружной стороны малиново-темно-красный, с внутренней стороны – светлее (рис. 1).



Рисунок 1 – Растения линии кукурузы Пурпурная Саратовская

К моменту сбора урожая примерно 40% растений имели больше одного (два, реже три) полностью сформированных и хорошо озернённых початков. Длина початка варьирует от 15 до 20 см, ширина от 4 до 5 см. Количество зерновок в початке колеблется от 300 до 370 шт. Цвет зерновок пурпурный (рис. 2).



Рисунок 2 – Зерновки кукурузы линии Пурпурная Саратовская

Для подбора исходного материала для селекции на повышенное содержание сахаров проводили биохимический анализ сока растений, водных и спиртовых экстрактов. Определяли содержание сахарозы, редуцирующих сахаров и общее количество сахаров в расчете на г/100мл.

Свежесрезанные стебли кукурузы освобождали от початков и листьев. С помощью соковыжималки центрифужного типа из стеблей кукурузы получали

сок насыщенно темно-бардового цвета. Для длительного хранения сок консервировался и хранился в холодильнике при температуре +4⁰С. В 2015 г. было получено 25 литров сока из диплоидных растений, имеющих полностью красную окраску, 15 литров из растений, имеющих зеленую окраску внутри стебля, и 9 литров из тетраплоидных растений.

Из сухих кроющих листьев зрелого початка получали спиртовой и водный экстракт. 5 г измельченных листьев заливали 250 мл дистиллированной воды или 250 мл 40%-ного этилового спирта. Измельчение растительного сырья увеличивает поверхность соприкосновения фаз (твердое тело – жидкость) и облегчает процесс экстракции. Экстрагирование проводилось в течение времени, которое определялось экспериментально в зависимости от требуемой концентрации получаемого экстракта (от 10 минут до 1 часа). После завершения экстракции экстракт отделялся от шрота путем фильтрования.

Для анализа сока и экстрактов растений кукурузы линии ПС на наличие редуцирующих сахаров и сахарозы использовался метод определения редуцирующих сахаров по Лэну и Эйнону.

Как показало проведенное исследование, в водных и спиртовых экстрактах из кроющих листьев початков кукурузы линии ПС сбора 2010-2015 гг. редуцирующие сахара и сахароза отсутствовали.

В соке растений количество сахаров варьировало по годам. У диплоидных растений с зеленой окраской сердцевинки стебля общее количество сахаров варьировало от 6,8 до 10,6 мг/100мл; у диплоидных растений с пурпурной сердцевинкой стебля – от 7,9 до 11,2 мг/100мл; у тетраплоидных растений с зеленой окраской сердцевинки стебля – от 5,6 до 15,6 г/100 мл. Тетраплоидные растения с пурпурной сердцевинкой стебля были получены только в 2015 г., в полученном из них соке содержание сахаров составило 6,3 г/100 мл (таблица).

В соке всех изученных растений количество редуцирующих сахаров (глюкозы, фруктозы) превышало количество сахарозы (таблица, рис. 3, 4).

Таблица – Содержание редуцирующих сахаров и сахарозы в соках стеблей растений кукурузы линии ПС

| Год сбора урожая | Плоидность растений и окраска стебля | Количество, г/100 мл | | |
|------------------|--------------------------------------|----------------------|-----------|------------|
| | | редуцирующих сахаров | сахарозы | всего |
| 2011 | 2n, зеленая | 5,7 ± 0,1 | 1,1 ± 0,1 | 6,8 ± 0,2 |
| | 4n, зеленая | 6,6 ± 0,2 | 3,2 ± 0,2 | 9,8 ± 0,4 |
| 2012 | 2n, пурпурная | 6,6 ± 0,2 | 1,3 ± 0,1 | 7,9 ± 0,3 |
| | 2n, зеленая | 5,1 ± 0,1 | 1,7 ± 0,1 | 6,8 ± 0,2 |
| | 4n, зеленая | 4,0 ± 0 | 1,6 ± 0,1 | 5,6 ± 0,1 |
| 2013 | 2n, зеленая | 6,6 ± 0,2 | 3,2 ± 0,1 | 9,6 ± 0,3 |
| | 4n, зеленая | 4,9 ± 0,1 | 1,5 ± 0,4 | 6,4 ± 0,5 |
| 2014 | 2n, пурпурная | 6,6 ± 0,3 | 3,2 ± 0,1 | 9,8 ± 0,4 |
| | 2n, зеленая | 7,4 ± 0,1 | 3,2 ± 0 | 10,6 ± 0,1 |
| | 4n, зеленая | 13,1 ± 0,9 | 2,5 ± 0,1 | 15,6 ± 1 |
| 2015 | 2n, пурпурная | 8,0 ± 0,2 | 3,2 ± 0,1 | 11,2 ± 0,3 |
| | 2n, зеленая | 6,6 ± 0,2 | 3,9 ± 0,1 | 10,5 ± 0,3 |
| | 4n, пурпурная | 2,6 ± 0,2 | 3,7 ± 0,1 | 6,3 ± 0,3 |
| | 4n, зеленая | 4,7 ± 0,1 | 3,2 ± 0,2 | 7,9 ± 0,3 |

У диплоидных растений в исследованный период количество редуцирующих сахаров в соках из стеблей с зеленой и красной окраской сердцевинки было относительно постоянным и варьировало незначительно: у растений с зеленой сердцевинкой – от 5,1 до 7,4 г/100 мл; у растений с пурпурной сердцевинкой – от 6,6 до 8,0 г/100 мл. Между тем, у тетраплоидных растений количественное содержание редуцирующих сахаров значительно варьировало по годам: от 5, 6 до 15,6 г/100 мл.

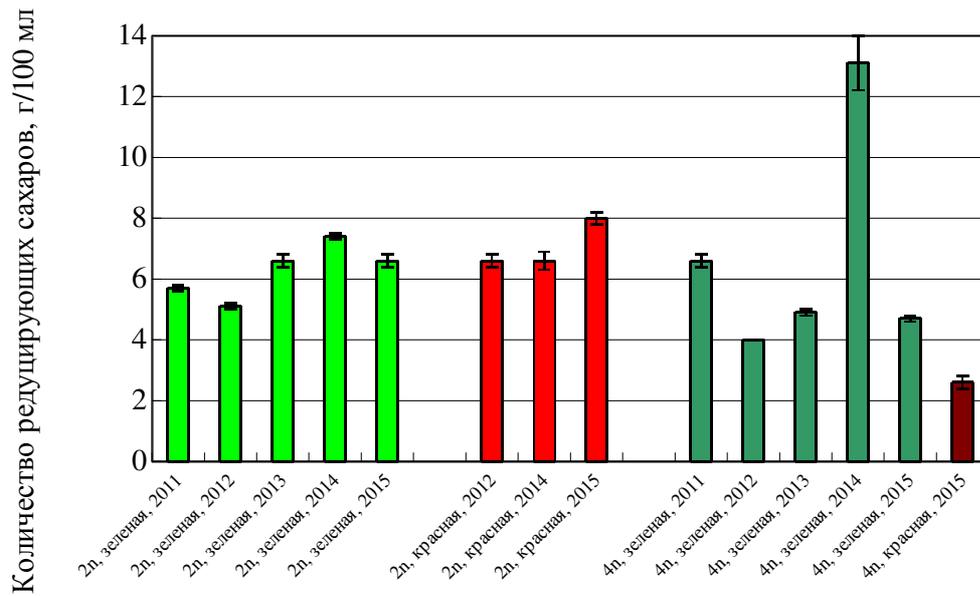


Рисунок 3 – Количество редуцирующих сахаров в соках растений кукурузы линии ПС разной плоидности

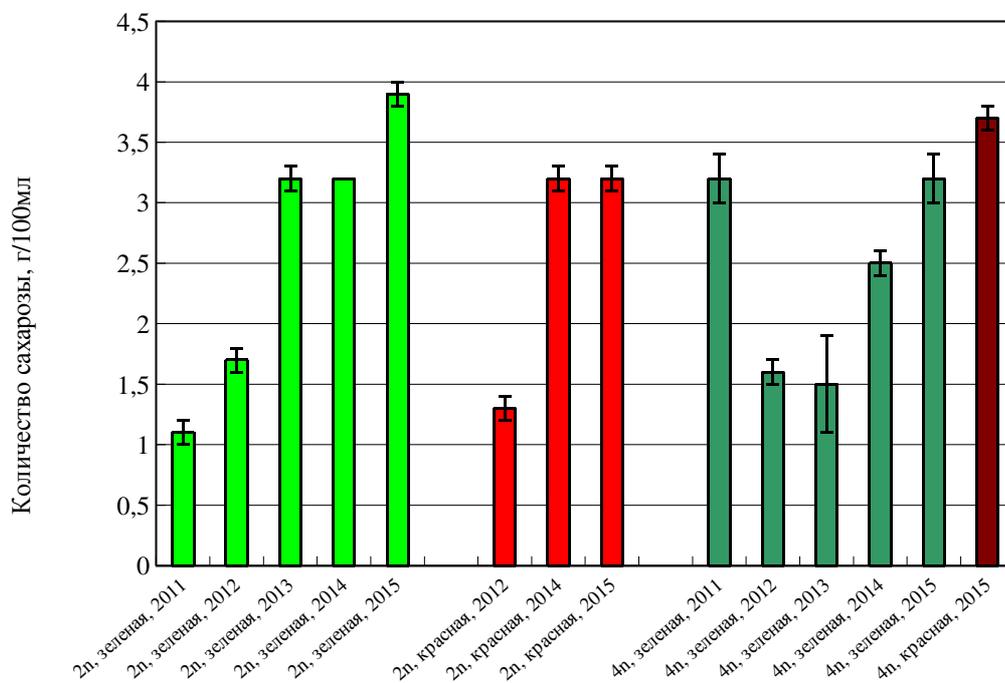


Рисунок 4 – Количество сахарозы в соках растений кукурузы линии ПС разной плоидности

Диплоидные растения с разной окраской сердцевины стебля существенно не отличались друг от друга по содержанию сахарозы. У тетраплоидных растений не зарегистрировано увеличения количества сахарозы в соке растений по сравнению с их диплоидными аналогами. В разные годы сбора урожая количество сахарозы в соке у тетраплоидов варьировало и отличалось от диплоидных аналогов, как в сторону увеличения, так и в стороны снижения (таблица, рис. 4).

Полученные результаты также позволяют проследить незначительное колебание общего содержания сахаров в соках из стеблей диплоидных растений кукурузы линии ПС с пурпурной — от 7,9 до 11,2 г/100 мл, и зеленой окраской внутри стебля — от 6,8 до 10,6 г/100 мл (рис. 5).

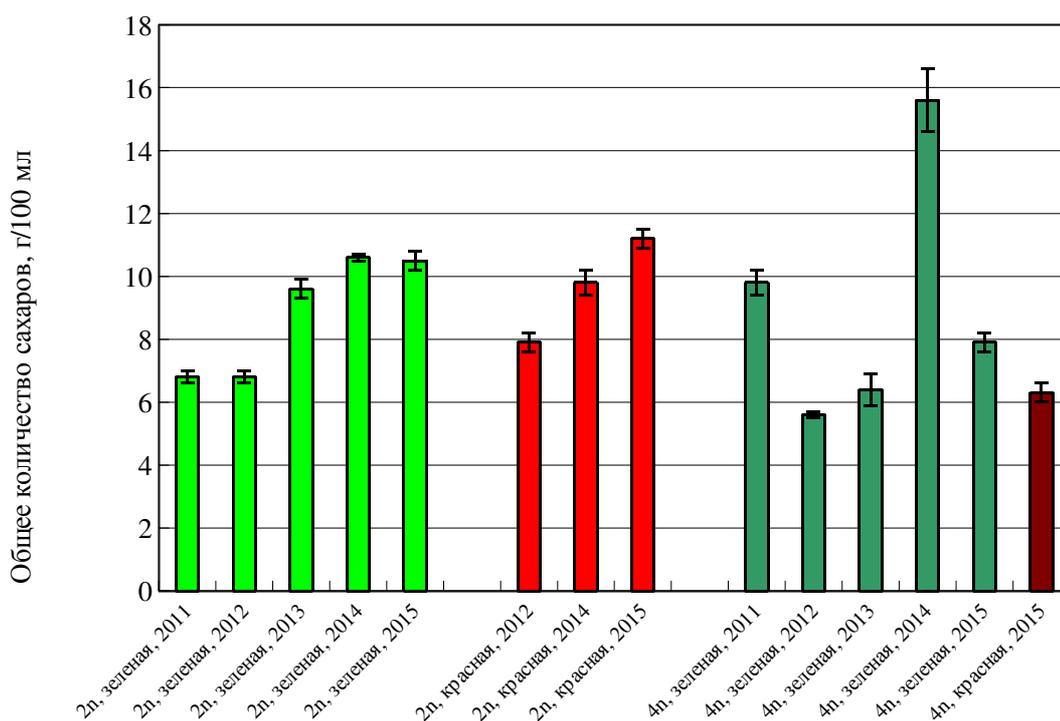


Рисунок 5 – Общее количество сахаров в соках растений кукурузы линии ПС разной плоидности в разные годы сбора урожая

Общее содержание сахаров в соках тетраплоидных растений кукурузы линии ПС сбора 2011-2015 годов, значительно колеблется. Максимальное количество сахаров наблюдается в соках сбора 2014 года, минимальное в соках 2012 года. Данный факт может зависеть от условий внешней среды в период вегетации.

Все изученные формы пурпурной кукурузы достоверно не отличались друг от друга по общему содержанию сахаров в соке стеблей. Однако, у тетраплоидных растений общего количества сахаров в соке стеблей варьирует по годам более существенно по сравнению с диплоидами (рис. 6). Так, коэффициент вариации признака у тетраплоидов составил 44,1%, у диплоидов с зеленой сердцевинкой 21,6%, у диплоидов с пурпурной сердцевинкой – 17,2%.

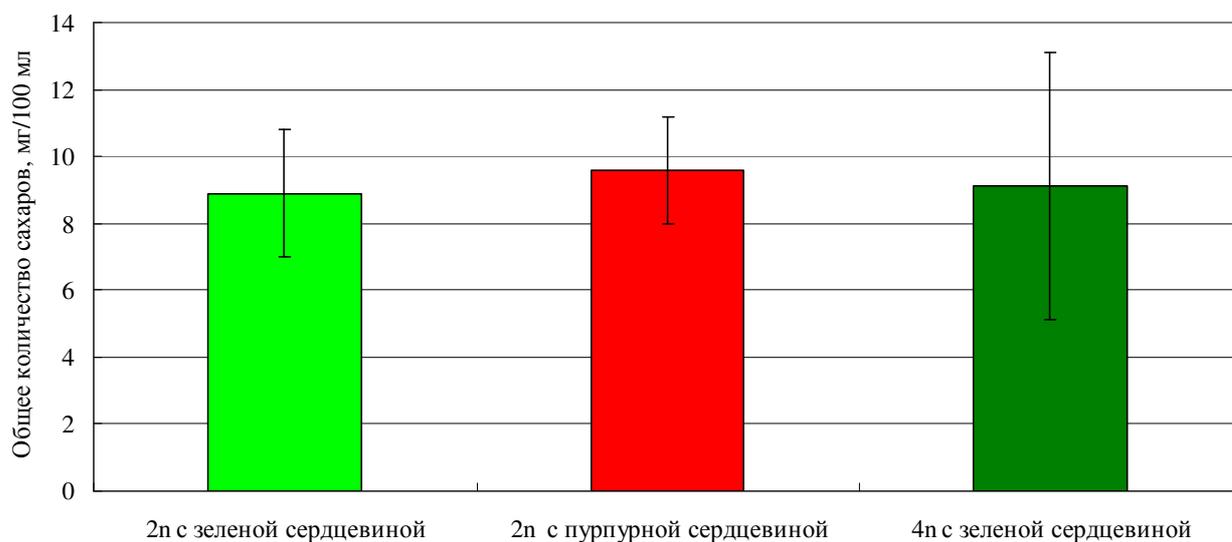


Рисунок 6 – Общее количество сахаров в соках растений кукурузы линии ПС разной плоидности (среднее за 5 лет)

Заключение. Результаты проведенного исследования показали, что содержание сахаров в соке из стеблей кукуруза линии ПС составляет в среднем $8,9 \pm 1,9$ г/100 мл у диплоидов с зеленой сердцевиной, $9,6 \pm 1,6$ г/100 мл у диплоидов с пурпурной сердцевиной и $9,1 \pm 4,0$ г/100 мл у тетраплоидов с зеленой сердцевиной стебля. Данное количество сахаров в кукурузе сопоставимо с содержанием их в таких сладких фруктах и овощах как арбуз, дыня, апельсин, столовая свекла (см. таблицу).

Содержание сахаров в соке варьирует по годам. Однако у диплоидов признак «количество сахаров в соке» более стабилен, чем у тетраплоидов, для которых характерен более широкий диапазон варьирования признака. У всех изученных форм максимальное количество сахаров наблюдалось в соках сбора 2014 года, минимальное в соках 2011 и 2012 гг. Данная закономерность, скорее всего, есть следствие действия погодных условий в период вегетации. Лето 2011 и 2012 гг. по сравнению с другими годами характеризовалось наименьшим количеством осадков и экстремально высокими дневными температурами.

Диплоидные растения с разной окраской сердцевины стебля не отличались друг от друга по содержанию сахаров в соке. Однако пурпурная окраска стебля позволяет получить сок более насыщенный антоцианами. Тетраплоиды содержат примерно такое же количество сахаров, что и диплоиды. Вместе с тем фитомасса тетраплоидных растений в 2 раза больше, чем у диплоидных растений. В связи с этим, выращивание тетраплоидов с целью получения из них сока более рентабельно по сравнению с диплоидами, поскольку с одной и той же площади можно получить больше продукции.

Исходя из полученных результатов, для дальнейшей селекции пурпурной кукурузы с повышенным содержанием сахаров можно рекомендовать в качестве исходного материала диплоидные растения с пурпурной окраской сердцевины стебля и тетраплоидные растения линии ПС.

Выводы:

1. В водных и спиртовых экстрактах растений кукурузы линии ПС сахара отсутствуют.
2. Содержание сахаров в соке из стеблей кукурузы линии ПС составляет в среднем $8,9 \pm 1,9$ г/100 мл у диплоидов с зеленой сердцевиной, $9,6 \pm 1,6$ г/100 мл у диплоидов с пурпурной сердцевиной и $9,1 \pm 4,0$ г/100 мл у тетраплоидов с зеленой сердцевиной стебля. В соке преобладают редуцирующие сахара (глюкоза и фруктоза).
3. Количество сахаров варьировало по годам у диплоидных растений с зеленой окраской сердцевины стебля – от 6,8 до 10,6 мг/100мл; у диплоидных растений с пурпурной сердцевиной стебля – от 7,9 до 11,2 мг/100мл; у тетраплоидных растений с зеленой окраской сердцевины стебля 5, 6 – 15,6 г/100 мл; у тетраплоидных растений с пурпурной сердцевиной стебля – 6,3 г/100 мл.
4. При увеличении ploидности растений не наблюдается увеличения количества сахаров в соке стеблей.
5. Для дальнейшей селекции пурпурной кукурузы на повышение содержания сахаров целесообразно использовать в качестве исходного материала диплоидные растения с пурпурной окраской сердцевины стебля и тетраплоидные растения линии ПС.