

УДК 633.15:547.979.8:535.651

## **СПЕКТРАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАСІННЯ ЛІНІЙ КУКУРУДЗИ З РІЗНОЮ СТІЙКІСТЮ ДО ПОСУХИ**

© 2010 р. В. С. Феденко<sup>1</sup>, С. П. Антонюк<sup>2</sup>, В. С. Стружко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Науково-дослідний інститут біології

Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара

(Дніпропетровськ, Україна)

<sup>2</sup> Інститут зернового господарства

Національної академії аграрних наук України

(Дніпропетровськ, Україна)

Проводили порівняльний аналіз спектральних параметрів насіння ліній кукурудзи, стійких та нестійких до посухи. Виявлена переважна тенденція підвищеного накопичення каротиноїдів у насінні посухостійких ліній. Встановлено спектральні показники для експрес-діагностики підвищеного вмісту пігментів у зерні селекційних форм кукурудзи.

**Ключові слова:** *Zea mays L.*, посухостійкість, каротиноїди, спектри відбивання, колориметрія

Стійкість до посухи залежить від змін метаболічних процесів на різних етапах онтогенетичного розвитку, що значною мірою визначається генотипом рослин (Діагностика ..., 1988; Григорюк и др., 2003). У зв'язку з цим привертає увагу генотипно зумовлена стійкість до посухи селекційних форм культурних рослин, яка реалізується при формуванні життєздатного насіння, його перебуванні у періоді спокою та при проростанні.

Певну роль у цих процесах відіграють каротиноїди насіння, фізіологічні функції яких пов'язані з участю в антиоксидантній системі захисту від активних форм кисню. Функціонування цієї системи забезпечує зниження інтенсивності процесів пошкодження і старіння (Howitt, Pogson, 2006). Крім того, внаслідок деградації каротиноїдів утворюється необхідна для фітогормональної регуляції фізіологічних процесів абсцизова кислота (АБК) (Handbook ..., 1999).

При з'ясуванні ролі каротиноїдів у посухостійкості як тест-об'єкт доцільно використовувати насіння жовтозерної кукурудзи. Насіння

кукурудзи відрізняється вищим вмістом каротиноїдів порівняно з іншими злаковими культурами (Wurtzel, 2004). Крім того, наявність одного класу біохромів в тканинах насіння жовтозерної кукурудзи дозволяє селективно оцінити рівень їх накопичення, використовуючи неруйнівні методи спектроскопії відбивання у видимому діапазоні та колориметрії, оскільки спектральні параметри корелятивно пов'язані із вмістом пігментів (Феденко и др., 1993; Феденко, Стружко, 1994, 1999б). На основі такої залежності розроблено експрес-метод оцінки специфічності селекційних форм кукурудзи до накопичення каротиноїдів (Пат. 2005352). Є підстави вважати, що відмінності за рівнем накопичення каротиноїдів у насінні різних форм кукурудзи, контрастних за посухостійкістю, можуть бути встановлені за спектрометричними параметрами.

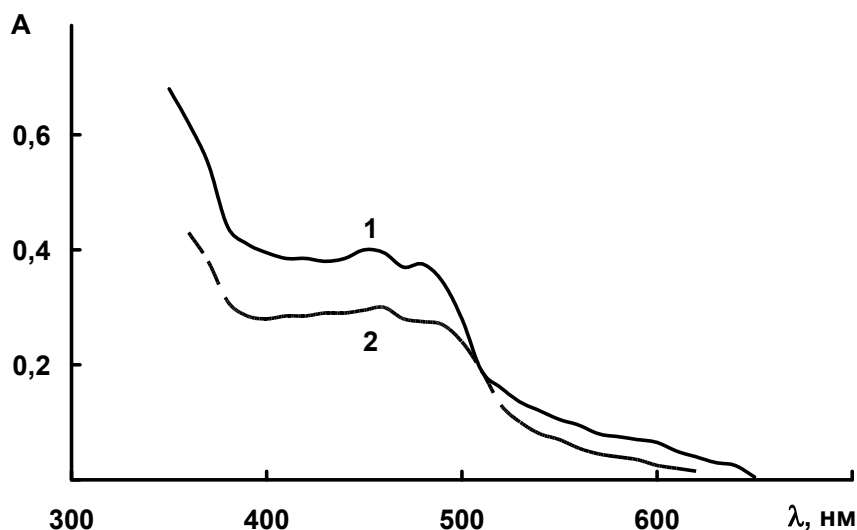
Мета роботи – провести порівняльний аналіз спектральних характеристик каротиноїдних пігментів у насінні різних ліній кукурудзи, що відрізняються за стійкістю до посухи.

### **МЕТОДИКА**

Як об'єкт дослідження використовували насіння ліній кукурудзи (*Zea mays L.*) двох груп. Перша група – стійкі до посухи лінії: ДК 517, ДК 315, ДК 420-1, ДК 414-19; друга група

---

Адреса для кореспонденції: Феденко Володимир Савелійович, НДІ біології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна;  
e-mail: opticlub@ukr.net



**Рис. 1. Спектри відбивання розмелених зернівок ліній кукурудзи.**

1 – ДК 517 (стійка до посухи); 2 – ДК 454/455 (нестійка до посухи).

– нестійкі: ДК 424, ДК 454/455, AS 3070, ДК 369, ДК 633/619-5. Селекційний матеріал отримано в Інституті зернового господарства НААНУ (Дніпропетровськ).

Для створення однорідного розподілу пігментів насіння розмелювали на лабораторному млині LM-3100 (Швеція). Для підготовки зразків до вимірювань спектральних параметрів користувались стандартним тримачем твердих препаратів за умов повного покриття поверхні (діаметр – 2 см).

Спектри відбивання розмелених зернівок у діапазоні 350-800 нм отримували на спектрофотометрі Specord M 40 (Німеччина), додатково обладнаному приставкою з фотометричною кулею і касетою для математичної обробки «Data Handling I», що дозволило проводити згладжування спектрів із виключенням випадкових шумових піків, а також реєструвати похідні спектрів у режимі нормування (Феденко, Стружко, 1998). Корекцію 100%-ої лінії проводили за стандартом MgO, оптичної нульової точки – за стандартом чорного порожнистого тіла. Інтенсивність спектрів відбивання наводили в одиницях абсорбції.

Для колориметричних вимірювань використовували спектрофотометр Specord M 40 з іншою касетою для математичної обробки «Color Measurement» з метою визначення координат кольору ( $X, Y, Z$ ), координат кольоровості ( $x, y$ ) та колориметричних коефіцієнтів ( $L, a, b$ ) препаратів. Значення домінуючої довжини хви-

лі  $\lambda_d$  і умовної чистоти кольорового тону  $P_e$  знаходили графічним методом за кольоровим графіком (Феденко, Стружко, 1998). Кольорові характеристики наводили в колориметричних системах XYZ ( $\lambda_d, P_e, L$ ) та CIELab 77. На основі колориметричних коефіцієнтів розраховували кольорову різницю  $\Delta E$  між порівнюваними зразками з розподілом цієї інтегральної величини на різниці за яскравістю ( $\Delta L$ ), кольоровістю ( $\Delta C$ ) та кольоровим тоном ( $\Delta H$ ) (Феденко, Стружко, 1998).

Похибка вимірювань оптичних параметрів не перевищувала 5 %. Статистичну обробку експериментальних даних проводили з 5 % рівнем значущості.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У спектрах відбивання розмелених зернівок спостерігалася характерна смуга з чотирма максимумами при 405, 428, 456, 485 нм (рис 1). Наявність такої смуги зумовлена суперпозицією ксантофілів і каротинів, які складають каротиноїдний комплекс насіння жовтозерної кукурудзи (лютеїн, зеаксантін,  $\beta$ -криптоксантін,  $\alpha$ -каротин,  $\beta$ -каротин) (Howe, Tanumihardjo, 2006). Каротиноїдну природу біохромів у досліджених зразках підтверджено також першою похідною спектрів (рис. 2) з максимумами (408, 425, 448, 480 нм) та мінімумами (412, 440, 465, 507 нм), які відповідають встановленим раніше для жовтозерної кукурудзи (Феденко, Стружко, 1999б). Слід зазначити, що за характером прояву максимумів та їх положенням препарати

## СПЕКТРАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАСІННЯ

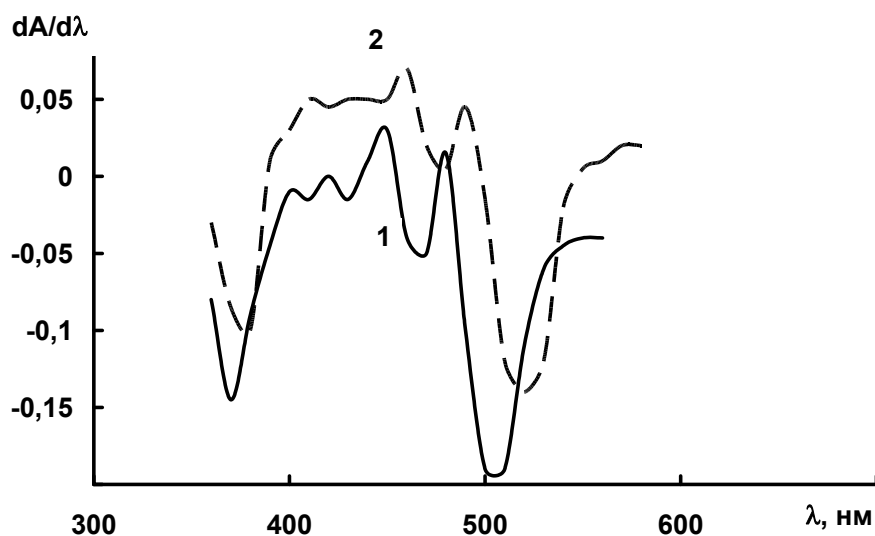


Рис. 2. Перші похідні спектрів відбивання розмелених зернівок ліній кукурудзи. 1 – ДК 517 (стійка до посухи); 2 – ДК 454/455 (нестійка до посухи).

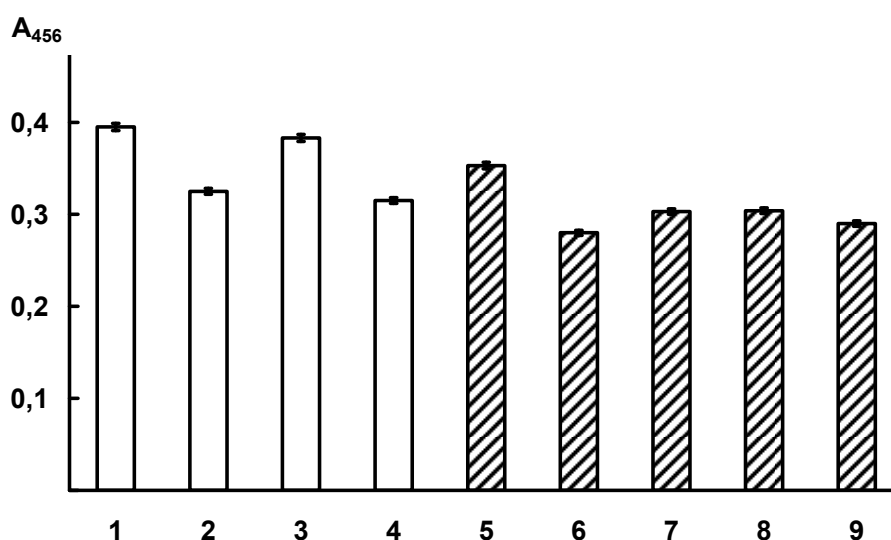


Рис. 3. Оптична густина максимуму при 456 нм у спектрах відбивання розмелених зернівок стійких (1-4) та нестійких (5-9) до посухи ліній кукурудзи. 1 – ДК 517; 2 – ДК 315; 3 – ДК 420-1; 4 – ДК 414-19; 5 – ДК 424; 6 – ДК 454/455; 7 – AS 3070; 8 – ДК 369; 9 – ДК 633/619-5.

насіння обох груп із різною стійкістю до посухи практично не відрізнялись. При цьому спостерігалася переважна тенденція підвищення оптичної густини максимумів у спектрі відбивання для насіння посухостійких ліній за винятком нестійкої до посухи лінії ДК 424. Для підтвердження цієї тенденції на рис. 3 наведено значення оптичної густини найінтенсивнішого максимуму при 456 нм ( $A_{456}$ ). Враховуючи встановлений нами раніше (Феденко и др., 1993; Феденко, Стружко, 1994) регресивний зв'язок між інтенсивністю відбивання у види-

мому діапазоні та вмістом каротиноїдів для жовтозерної кукурудзи, виявлену тенденцію можна пояснити підвищеним рівнем накопичення цих пігментів у насінні посухостійких ліній.

Колориметричні параметри дозволили кількісно визначити ознаку забарвлення для порівняльного аналізу обох досліджених груп ліній. Комплекс каротиноїдних пігментів з подібним якісним складом зумовив наближені значення домінуючої довжини хвилі (582,3 – 583,3 нм) у діапазоні жовтого кольору (таблиця). При цьому умовна чистота кольорового тону зміню-

Колориметричні характеристики розмеленого насіння кукурудзи ліній з різною стійкістю до посухи

Лінія кукурудзи	$\lambda_d$ , нм	$P_e$ , %	$L$	$a$	$b$
Стійкі до посухи					
ДК 517	583,1	38,25	92,36	-4,77	-27,49
ДК 315	582,9	29,87	94,06	-7,14	-39,43
ДК 420-1	583,2	39,51	93,47	-4,35	-26,14
ДК 414-16	583,2	32,71	94,36	-5,85	-35,89
Нестійкі до посухи					
ДК 424	583,0	34,34	94,01	-6,01	-33,29
ДК 454/455	583,1	31,75	95,64	-6,46	-37,49
AS 3070	583,3	34,70	95,69	-5,40	-33,54
ДК 369	582,9	33,32	96,62	-6,88	-35,90
ДК 633/619-5	582,3	30,66	96,80	-7,87	-38,99

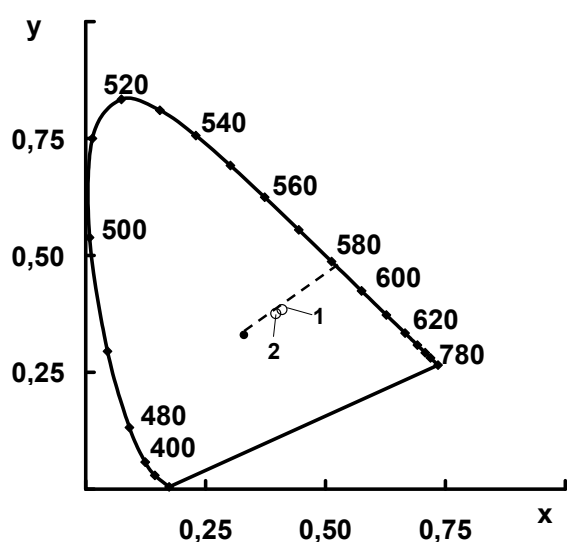


Рис. 4. Координати кольоровості розмелених зернівок ліній кукурудзи.  
1 – ДК 517 (стійка до посухи); 2 – ДК 454/455 (нестійка до посухи).

валась в інтервалі 29,27 – 38,25%, що зумовлено різним рівнем накопичення пігментів. Тенденції змін  $\lambda_d$  та  $P_e$  представлено на кольоровому графіку (рис. 4) для зразків із різною посухостійкістю (лінії ДК 517, ДК 454/455). У даному випадку координати кольоровості зумовили однаковий кольоровий стимул ( $\lambda_d = 583,1$  нм) та різну насиченість кольорового тону ( $P_e = 38,25$  та  $31,75\%$  для ліній ДК 517 та ДК 454/455 відповідно). При цьому коефіцієнт яскравості для цих препаратів становив 92,36 та 95,64 відповідно, а для всіх досліджених зразків величина  $L$  варіювала в діапазоні 92,36 – 96,80 (таблиця). Колориметричні коефіцієнти  $a$ ,  $b$  розмелених зернівок відзначались від'ємними зна-

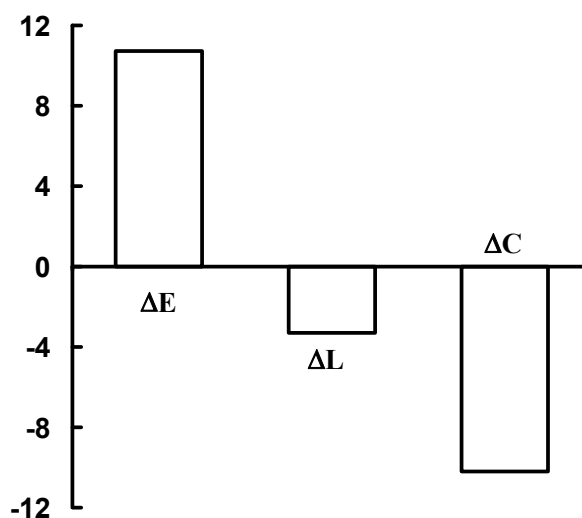


Рис. 5. Кольорові різниці розмелених зернівок кукурудзи (лінія ДК 517 відносно лінії ДК 454/455).

ченнями (таблиця), які визначають координати зразків в рівноконтрасній системі *CIELab*.

Відмінність забарвлення розмелених зернівок порівнюваних ліній визначена шляхом розрахунку кольорових різниць на основі колориметричних коефіцієнтів (рис. 5). Найсуттєвіший вклад в інтегральну величину  $\Delta E$  вносить різниця за кольоровістю  $\Delta C$  (різниця за кольоровим тоном  $\Delta H$  склала усього 0,05, і тому на рис. 5 не позначена). Даний факт пояснюється тим, що кольоровий контраст між насінням ліній ДК 517 і ДК 454/455 із різною посухостійкістю створюється головним чином за рахунок різного рівня накопичення каротиноїдних пігментів, які зумовлюють забарвлення.

## СПЕКТРАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАСІННЯ

Отже, підвищений рівень накопичення каротиноїдів у насінні посухостійкої лінії кукурудзи спричиняв зростання оптичної густини максимумів у видимому діапазоні, умовної чистоти кольорового тону, колориметричних коефіцієнтів  $a$  і  $b$ , а також зниження коефіцієнта яскравості.

З огляду на фізіологічні функції каротиноїдів у насінні (Howitt, Pogson, 2006) та загальну модель відповідних реакцій рослинного організму на абіотичний стрес (Hirayama, Shinozaki, 2010), переважну тенденцію підвищеного накопичення каротиноїдів у зернівках посухостійких ліній кукурудзи можна пояснити можливою участю цих сполук як антиоксидантів та метаболічних попередників стресового фітогормону АБК у формуванні адаптивних реакцій за умов водного дефіциту і несприятливого температурного режиму. Отримані результати розширюють уявлення щодо фізіолого-біохімічних аспектів стійкості до посухи залежно від генотипу рослин.

Крім того, слід зазначити, що високий вміст каротиноїдів, які є потенційним джерелом вітаміну А, – одна з ознак підвищеної біологічної цінності зерна у контексті сучасного підходу “biofortification” (Nestel et al, 2006; Li et al, 2007). Тому лінії з підвищеним рівнем каротиноїдів у насінні слід розглядати як донори господарсько-корисних ознак при створенні гібридів кукурудзи.

Комплекс запропонованих діагностичних критеріїв може бути використаний для експрес-відбору в системі селекційної оцінки (Феденко, 2001) і для визначення показника підвищення біологічної цінності зерна кукурудзи (Howe, Tanumihardjo, 2006).

Таким чином, для насіння посухостійких ліній кукурудзи характерна переважна тенденція підвищеного накопичення каротиноїдів порівняно з нестійкими до посухи лініями. Для експрес-діагностики цього показника можуть бути використані відбивальні та колориметричні параметри насіння.

## ЛІТЕРАТУРА

Григорюк И.А., Ткачев В.И., Савинский С.В., Мусиенко Н.Н. Современные методы исследования и оценки засухо- и жароустойчивости растений. – Киев: Наук. світ, 2003. – 139 с.

Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям / Ред. Г.В. Удовенко. – Л.: ВИР, 1988. – 288 с.

Феденко В.С. Селекційна оцінка господарсько-корисних ознак злакових культур // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К.: Логос, 2001. – Т. 2. – С. 512-518.

Феденко В.С., Стружко В.С. Вариабельность параметров отражения зерновок мутантов кукурузы по эндосперму // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26, № 1. – С. 72-77.

Феденко В.С., Стружко В.С. Колориметрические характеристики семян мутантов кукурузы по эндосперму // Физиология и биохимия культ. растений. – 1999а. – Т. 31, № 5. – С. 359-365.

Феденко В.С., Стружко В.С. Колориметрія у фізіології та біохімії рослин. – Дніпропетровськ: ДДУ, 1998. – 68 с.

Феденко В.С., Стружко В.С. Спектральные параметры и окраска семян кукурузы // Физиология и биохимия культ. растений. – 1999б. – Т. 31, № 4. – С. 254-260.

Феденко В.С., Стружко В.С., Глушко В.В. Экспресс-метод оценки форм кукурузы по содержанию каротиноидов // Селекция и семеноводство. – 1993. – № 1. – С. 22-23.

Пат. № 2005352, Российская Федерация, МКИ<sup>5</sup> 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. 15.01.1994, Бюл. №1.

Handbook of plant and crop stress / Ed. M. Pessarakli. – N. Y., Basel: Marcel Dekker, Inc., 1999. – 1254 p.

Hirayama T., Shinozaki K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future // Plant J. – 2010. – V. 61. – P. 1041-1052.

Howe J.A., Tanumihardjo S.A. Evaluation of analytical methods for carotenoid extraction from biofortified maize (*Zea mays* sp.) // J. Agric. Food Chem. – 2006. – V. 54. – P. 7992-7997.

Howitt C.A., Pogson B.J. Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues // Plant Cell Environ. – 2006. – V. 29. – P. 435-445.

Li S., Tayie F.A.K., Yonng M.F. et al. Retention of provitamin A carotenoids in high  $\beta$ -carotene maize (*Zea mays*) during traditional African household processing // J. Agric. Food Chem. – 2007. – V. 55. – P. 10744-10750.

## **ФЕДЕНКО, АНТОНЮК, СТРУЖКО**

*Nestel W., Bonis H.E., Mecnakshi J.V., Pfeifer W.*  
Biofortification of staple food crops // *J. Nutr.* –  
2006. – V. 136. – P. 1064-1067.

*Phytochem.* V. 38. Secondary Metabolism in Model  
Systems / Ed. J.T. Romeo. – Amsterdam; N.Y.: El-  
sevier, 2004. – P. 85-110.

*Wurtzel E.T.* Genomics, genetics, and biochemistry of  
maize carotenoid biosynthesis // *Recent Adv.*

Надійшла до редакції  
22.04.2010 р.

### **SPECTRAL CHARACTERISTICS OF MAIZE LINES SEEDS WITH DIFFERENT DROUGHT TOLERANCE**

V. S. Fedenko<sup>1</sup>, S. P. Antonyuk<sup>2</sup>, V. S. Struzhko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Biology Research Institute  
of Oles Gonchar of Dnipropetrovsk National University  
(Dnipropetrovsk, Ukraine)*  
<sup>2</sup> *Institute of Grain Farming  
of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
(Dnipropetrovsk, Ukraine)*

Comparative analysis of spectral parameters of drought-tolerant and -untolerant maize lines seeds was carried out. Predominated tendency of increased carotenoid accumulation in drought-tolerant seeds was determined. Spectral indexes for express-diagnostics of increased pigment level in seeds of maize varieties for selection were found.

**Key words:** *Zea mays L., drought tolerance, carotenoids, reflectance spectra, colorimetry*

### **СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕМЯН ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЗАСУХЕ**

В. С. Феденко<sup>1</sup>, С. П. Антонюк<sup>2</sup>, В. С. Стружко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Научно-исследовательский институт биологии  
Днепропетровского национального университета им. Олесь Гончара  
(Днепропетровск, Украина)*  
<sup>2</sup> *Институт зернового хозяйства  
Национальной академии аграрных наук Украины  
(Днепропетровск, Украина)*

Проводили сравнительный анализ спектральных параметров семян линий кукурузы, устойчивых и неустойчивых к засухе. Выявлена преобладающая тенденция повышенного накопления каротиноидов в семенах засухоустойчивых линий. Установлены спектральные показатели для экспресс-диагностики повышенного уровня пигментов в зерне селекционных форм кукурузы.

**Ключевые слова:** *Zea mays L., засухоустойчивость, каротиноиды, спектры отражения, колориметрия*