

3. Пруцков В.Н., Куперман Ф.М., Животков Л.А. Селекция и сортовая агротехника пшеницы интенсивного типа.- М.: Колос, 1982.- 303 с.

### **Резюме**

У статті приведені результати взаємозв'язку основних маркерних господарсько-цінних ознак при індивідуальному відборі перспективного селекційного матеріалу м'якої озимої пшениці.

В статье приведены результаты взаимосвязи основных маркерных хозяйственно-ценных признаков при индивидуальном отборе перспективного селекционного материала мягкой озимой пшеницы.

The results of inter connections of main marked - value features under individual selection of prospective selective soft weat material are examined in this article.

### **САКАЛО В.Д., КУРЧИЙ В.М.**

*Институт физиологии растений и генетики Национальной Академии наук Украины, Украина 03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17*

### **ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА СИНТЕЗ И МЕТАБОЛИЗМ САХАРОЗЫ В КОЛЕОПТИЛЯХ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ**

Засуха является одним из факторов, лимитирующих урожай сельскохозяйственных культур. Известно, что стресс водного дефицита особенно пагубно влияет на самых ранних этапах развития растений. В этот период важна роль колеоптиля, как органа, защищающегося развивающийся проросток [1]. Одной из реакций колеоптиля на водный дефицит является изменение его размеров. Взаимосвязь между длиной колеоптиля и индексом резистентности к засухе в селекции пшеницы рекомендуется для оценки засухоустойчивости и отбора генотипов по этому признаку [2]. Устойчивые линии имели большую длину колеоптиля, чем не устойчивые, водный стресс значительно уменьшал длину колеоптиля. Корреляционная зависимость между длиной колеоптиля и засухоустойчивостью была обнаружена и для популяций рекомбинантных инбредных линий риса в условиях водного стресса [3].

Среди физиологических реакций на стрессовые воздействия важная роль отводится растворимым углеводам, функционированию ферментов их синтеза и метаболизма. В синтезе сахарозы в нефотосинтезирующих тканях, таких как колеоптиль, важная роль принадлежит сахарозосинтазе (СС, К.Ф. 2.4.1.13), которая благодаря своей способности как к синтезу, так и расщеплению дисахарида, обеспечивает субстратами (УДФГ) ростовые процессы, накопление растворимых сахаров, выполняющих осмопротекторную роль. Гидролиз сахарозы инвертазой (К.Ф. 3.2.1.26) также играет важную роль при стрессах водного дефицита [4]. Вместе с тем, особенности функционирования ферментов СС и инвертазы в колеоптилях кукурузы практически не изучены.

Целью данной работы было изучение влияния стресса водного дефицита на функционирование ферментов синтеза и метаболизма сахарозы – сахарозосинтазы и инвертазы, накопление растворимых сахаров в колеоптилях двух инбредных линий кукурузы, отличающихся устойчивостью к засухе.

#### **Материалы и методы**

Объектом исследования были 9-ти суточные проростки двух инбредных линий кукурузы селекции Института физиологии растений и генетики НАН Украины, характеризующиеся различной устойчивостью к стрессу водного дефицита: неустойчивая линия Л 240 и устойчивая – Л 250. Проростки выращивали в песчаной культуре при ес-

тественном свете,  $t$  22-24°C, засуху создавали прекращением полива на 2 суток, контрольные проростки продолжали поливать водой.

Для выделения ферментов – СС и инвертазы навески колеоптилей – 1 г гомогенизировали в среде, которая содержала 0,05 М трис-НСl, рН 7,5, 1 мМ ЭДТА, 10 мМ ДТТ, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>. Гомогенат прожимали через капрон, центрифугировали 20 мин при 20000 g, супернатант высаливали сульфатом аммония до 70 % насыщения. Полученный после центрифугирования осадок растворяли в минимальном объеме буфера и диализовали на протяжении ночи против разбавленного в 10 раз буфера. Полученный диализат, в котором определяли содержание белков [5], использовали как источник ферментов – СС и инвертазы.

Состав инкубационной смеси (в мкмольях) в реакции расщепления сахарозы: 0,1 М цитратный буфер, рН 6,4 – 50 мкл, УДФ – 2,5, сахароза – 20, ферментный препарат – 50 мкл. Активность определяли арсеномолибдатным методом [6]. Инкубационная смесь для определения активности сахарозосинтазы в реакции синтеза сахарозы (в мкмольях): 0,2 М трис-НСl буфер, рН 7,3 – 50 мкл, УДФГ – 1, фруктоза – 3, ферментный препарат – 50 мкл ( $\approx$  100 мкг белка). Объем смеси – 0,2 мл. Активность определяли резорциновым методом [7].

Инкубационная смесь для нейтральной инвертазы: 1/15 М К-Ф буфер, рН 7,0 – 50 мкл, сахароза – 20 мкмоль, ферментный препарат – 50 мкл; для кислой инвертазы: 1 М ацетатный буфер, рН 4,7 – 50 мкл, сахароза – 20 мкмоль, ферментный препарат – 50 мкл. Активность определяли по [6].

Для определения содержания растворимых сахаров навеску (500 мг) фиксировали и экстрагировали 80 % этанолом. Полученный после центрифугирования супернатант выпаривали, сахара растворяли в воде и использовали для определения сахарозы резорциновым методом [7], моносахаров – арсеномолибдатным [6].

В таблицах представлены средние арифметические значения 4-х опытов со стандартными отклонениями.

### Результаты и обсуждение

В колеоптилях проростков кукурузы обнаружена активная сахарозосинтаза, которая в нефотосинтезирующих тканях отвечает за синтез сахарозы и ее включение в метаболизм. Сахароза, в свою очередь, за счет обратимого действия СС расщепляется с образованием уридиндифосфатглюкозы, используемой для синтеза компонентов клеточных стенок тканей колеоптиля [8]. В колеоптилях двух линий кукурузы активность фермента в реакции расщепления сахарозы в 2 раза выше синтетической направленности реакции, что связано с интенсивными ростовыми процессами. Стресс водного дефицита оказывает влияние на активность СС в реакции расщепления сахарозы. У неустойчивой к засухе линии Л 240 активируется удельная активность на 28 %, общая на – 73 %, в то время как у засухоустойчивой Л 250 активация не обнаружена. Синтез сахарозы у засухоустойчивой линии Л 240 активируется больше, чем расщепление (на 71-130 %), у засухоустойчивой – Л 250 незначительно (33-21 %) активируется только синтез сахарозы, но не расщепление. Отношение реакций синтез/расщепление у неустойчивой линии повышается с 0,56 до 0,74 во время засухи, а у засухоустойчивой Л 250 практически не меняется, так как активация СС в реакции синтеза сахарозы незначительная (табл. 1).

Таблица 1

Активность сахарозосинтазы в колеоптилях проростков кукурузы в условиях засухи

Инбредные линии	Расщепление сахарозы, мкм фруктозы		Синтез сахарозы, мкмоль сахарозы		Синтез/расщепление
	на мг белка · час	на г ткани · час	на мг белка · час	на г ткани · час	

Линия Л 240	$\frac{4,3 \pm 0,1}{100}$	$\frac{90,1 \pm 5,0}{100}$	$\frac{2,4 \pm 0,05}{100}$	$\frac{49,6 \pm 2,4}{100}$	0,56
Линия Л 240 (засуха)	$\frac{5,5 \pm 0,3}{128}$	$\frac{155,5 \pm 2,5}{173}$	$\frac{4,1 \pm 0,1}{171}$	$\frac{114,0 \pm 5,0}{230}$	0,74
Линия Л 250	$\frac{5,5 \pm 0,05}{100}$	$\frac{87,4 \pm 2,4}{100}$	$\frac{3,0 \pm 0,01}{100}$	$\frac{44,6 \pm 1,2}{100}$	0,54
Линия Л 250 (засуха)	$\frac{5,2 \pm 0,02}{95}$	$\frac{91,1 \pm 1,9}{104}$	$\frac{4,0 \pm 0,05}{133}$	$\frac{53,8 \pm 0,8}{121}$	0,59

В колеоптилях активен и фермент гидролиза сахарозы – инвертаза. Причем, активность кислой (вакуолярной) инвертазы в 2-3 раза выше активности щелочной (цитоплазматической). В условиях засухи активируется кислая инвертаза (на 56-106 %) только у неустойчивой линии Л 240, а у засухоустойчивой Л 250 активность остается на уровне контроля. Щелочная инвертаза практически не активируется в обеих линиях (табл. 2).

Таблица 2

Активность инвертазы в колеоптилях проростков кукурузы в условиях засухи

Инбредные линии	Кислая инвертаза, мкмоль фруктозы		Щелочная инвертаза, мкмоль фруктозы	
	на мг белка · час	на г ткани · час	на мг белка · час	на г ткани · час
Линия Л 240	$\frac{4,6 \pm 0,05}{100}$	$\frac{37,2 \pm 5,0}{100}$	$\frac{1,7 \pm 0,01}{100}$	$\frac{35,5 \pm 0,5}{100}$
Линия Л 240 (засуха)	$\frac{7,2 \pm 0,1}{156}$	$\frac{200,0 \pm 10,0}{206}$	$\frac{1,5 \pm 0,01}{88}$	$\frac{40,2 \pm 1,2}{113}$
Линия Л 250	$\frac{9,5 \pm 0,2}{100}$	$\frac{150,0 \pm 5,0}{100}$	$\frac{3,4 \pm 0,02}{100}$	$\frac{53,8 \pm 1,8}{100}$
Линия Л 250 (засуха)	$\frac{8,3 \pm 0,1}{87}$	$\frac{146,1 \pm 2,3}{97}$	$\frac{3,4 \pm 0,04}{100}$	$\frac{60,0 \pm 2,0}{111}$

В условиях водного дефицита в обоих генотипах кукурузы наблюдается повышение уровня сахарозы, что согласуется с активацией сахарозосинтазы в реакции синтеза сахарозы. Таким образом, в колеоптилях, защищающих прорастающий лист от повреждений, формируется система защиты от стресса водного дефицита, накапливается сахароза, которая как известно, является хорошим осмопротектором [9]. Причем, в колеоптилях важная роль в синтезе сахарозы принадлежит СС в отличие от фотосинтезирующих тканей, где ее роль незначительна, и как считают, фермент не изменяется при стрессах [10]. В то же время моносахара в небольшом количестве накапливаются только у неустойчивой линии Л 240 за счет активации СС и кислой инвертазы. По накоплению сухого вещества две линии в условиях засухи мало отличаются. Фракция легко растворимых белков у неустойчивой к засухе линии Л 240 в условиях засухи повышается в 2,5 раза, а у засухоустойчивой Л 250 увеличивается незначительно (табл. 3).

Таблица 3

Содержание растворимых углеводов в колеоптилях проростков кукурузы в условиях засухи

Инбредные линии	Сахароза, мкмоль / г сухой ткани	Моносахара, мкмоль / г сухой ткани	% сухой ткани	Белок, мг / г ткани
-----------------	----------------------------------	------------------------------------	---------------	---------------------

Линия Л 240	$\frac{126,7 \pm 3,0}{100}$	$\frac{433,6 \pm 18,0}{100}$	11,6	11,9 ± 0,1
Линия Л 240 (засуха)	$\frac{231,2 \pm 12,2}{182}$	$\frac{590,7 \pm 25,2}{136}$	12,0	28,2 ± 0,4
Линия Л 250	$\frac{236,0 \pm 3,5}{100}$	$\frac{664,0 \pm 54,3}{100}$	11,4	15,7 ± 0,2
Линия Л 250 (засуха)	$\frac{401,7 \pm 20,2}{170}$	$\frac{553,1 \pm 16,2}{83}$	12,0	17,7 ± 0,3

Таким образом, в coleoptiliaх, т.е. на самых ранних фазах развития растения стресс водного дефицита оказывает существенное влияние на активность ферментов синтеза и метаболизма сахарозы. Существуют генотипические особенности реакции двух линий с разной толерантностью к засухе в проявлении активности ферментов СС и инвертазы, в накоплении растворимых углеводов. Так, у засухоустойчивой линии Л 250 в условиях засухи повышается только содержание сахарозы на фоне незначительной активации СС в реакции синтеза сахарозы. В то же время в coleoptiliaх неустойчивой линии Л 240 активируется СС как в реакции синтеза сахарозы, так и ее расщепления, гидролиз сахарозы кислой инвертазой, увеличивается содержание сахарозы и моносахаров, легкорастворимых белков.

#### Литература

1. *Cosgrove D.J.* Expansive growth of plant cell walls // *Plant Physiol. and Biochem.* - 2000. - 38. - P. 109-124.
2. *Wang W., Zou Q., Yang j., Zhou X.* The dynamic characteristics of coleoptile growth under water stress in different drought resistant wheats // *Plant Physiol. Comm.* - 199. - 35, N 5. - P. 359-362.
3. *Hu Song-ping, Yang Hua, Zou Gui-Hua and et al.* Coleoptile length and drought resistance and their QTL mapping in rice // *Rice Science.* - 2007. - 14, N 1. - P. 13-20.
4. *Bianco R.L., Rieger M., Sung S.-Y.S.* Effect of drought on sorbition and sucrose metabolism in sink and sources of peach // *Physiol. Plant.* - 2000. - 108, N 1. - P. 71-78.
5. *Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr A.J. and Rondall A.J.* Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* - 1951. - 192, N 2. - P. 265-275.
6. *Somogyi M.* Notes on sugar determination // *J. Biol. Chem.* - 1952. - 195, N 1. - P. 18-23.
7. *Roe J.H.* A Colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine // *J. Biol. Chem.* - 1954. - 107. - P. 15-22.
8. *Amor G., Haigler C.H., Wainscott M., Johnson S. et al.* A membrane-associated form of sucrose synthase and its potential role synthesis of cellulose and callose in plants // *PNAS USA.* - 1995. - 92. - P. 9353-9357.
9. *Франко О.Л., Мело Ф.Р.* Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // *Физиология растений.* - 2000. - 47, № 1. - С. 152-159.
10. *Yang J., Zhang J., Wang Z., Zhu Q.* Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose - phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling // *J. Exp. Bot.* - 2001. - 52, N 364. - P. 2169-2179.

#### Резюме

Вивчали вплив посухи на активність ферментів синтезу і метаболізму сахарози – сахарозосинтази та інвертази в coleoptiliaх двох інбредних ліній кукурудзи з різною посухостійкістю: нестійкою – Л 240 та посухостійкою – Л 250. Накопичення сахарози в coleoptiliaх цих ліній кукурудзи зв'язано з активацією сахарозисинтази в реакції синтезу сахарози, що свідчить про внесок цього ферменту в осморегуляцію в умовах посухи.

Изучали влияние засухи на активность ферментов синтеза и метаболизма сахарозы – сахарозосинтазы и инвертазы в coleoptilyах двух инбредных линий кукурузы с разной засухоустойчивостью: неустойчивой – Л 240 и засухоустойчивой – Л 250. Накопление сахарозы в coleoptilyах этих линий кукурузы связано с активацией сахарозосинтазы в реакции синтеза сахарозы, что свидетельствует о вкладе этого фермента в осморегуляцию в условиях засухи.

The activity of enzymes of synthesis and metabolism of sucrose (sucrose synthase and invertase) in the coleoptiles of two maize inbred lines of different drought resistance L 240 (non resistant) and L 250 (resistant) was studied. It is concluded that accumulation of sucrose in the coleoptiles of these lines is connected with activation of sucrose synthase in the reaction of sucrose synthesis, and this suggests about the role this enzymes into the osmoregulation during drought.

**САМЧУК В.А.<sup>1</sup>, СТЕКЛЕНЬОВ Є.П.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Луганський національний університет імені Тараса Шевченка,  
Україна, 91011, Луганськ, вул. Оборонна, 2, e – mail: anatomic @ mail. dsip. net

<sup>2</sup>Біосферний заповідник „Асканія - Нова”  
Україна, 75230, смт. Асканія – Нова, Херсонська обл.

## **МІНЛИВІСТЬ БУДОВИ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ У БІЗОНІВ І БАНТЕНГІВ ТА ЇХ ГІБРИДІВ ІЗ СВІЙСЬКИМИ БИКАМИ**

Значні перетворення геному міжвидових гібридів, їх наслідки і вплив на організм тварини потребують комплексного вивчення. Окремі види, міжродові й міжвидові гібриди родів *Bos* і *Bison* мають високий поліморфізм за кількістю і розмірами гібридаційних фрагментів ДНК [1]. Властивий жуйним шлунково-кишковий тип травлення у диких жуйних більш виразний порівняно із домашніми тваринами і формується під значним впливом якості і складу кормів вже під час переходу з молока на рослинну їжу. У тонкій кишці відбуваються процеси подальшого (після шлунка) травлення і всмоктування поживних речовин. Крім цього, тонка кишка виконує евакуаторну функцію, яка здійснюється за рахунок перистальтичних скорочень м'язової оболонки і проштовхування продуктів травлення у товсту кишку. У бантенгових гібридів із червоною степовою породою тонка кишка розвинена більше, ніж в обох вихідних видів. Це ж стосується й кількості сосочків в рубці, відносної товщини слизової оболонки в сичузі, дванадцятипалій кишки [3, 4]. Порожня кишка, її мікроструктура у бізонових і бантенгових гібридів із сірою українською породою вивчені мало.

Метою досліджень було вивчення морфометричних показників та мікроструктури порожньої кишки бізонових і бантенгових гібридів та їх вихідних форм.

### **Матеріали і методи**

У дослідах використовували зразки порожньої кишки 34 дорослих тварин: бізонів, бантенгів, червоної степової та сірої української порід, гібридів бантенга із червоною степовою та сірою українською породами й гібридів бізона із сірою українською породою. Матеріал відбирався відразу після забою тварин у перші 30-40 хвилин. Визначали абсолютну масу (г) і довжину (см) та індекси забезпечення маси тіла в проміле (‰) й відносного розвитку порожньої кишки в процентах (%) від загальної маси і довжини кишечнику. Для гістологічного дослідження шматочки стінки органу фіксували в 10 % - му нейтральному формаліні, рідині Карнуа, заливали в целоїдин і парафін. Зрізи товщиною 6-10 мкм фарбували гематоксиліном Ерліха та ео-