

4. Roder M.S., Korzun V., Wendehake K. et al. A microsatellite map of wheat // *Genetics*.— 1998.— 149.— P. 2007–2023.

5. Zhang X.Y., You G.X., Wang L.F. An estimation of the minimum number of SSR alleles needed to reveal genetic relationships in wheat varieties: information from 96 random accessions with maximized genetic diversity // *Proc. X. Intern. Wheat Genet. Symposium*.— 2003.— V.2.— P. 545–548.

6. Zhao X., Zhao, X., Xia, Z. Novel DNA variations to characterise low molecular weight glutenin Glu-D3 genes and develop STS markers in common wheat // *Theoretical and Applied Genetics*.— 2007.— 114.— P. 451–460.

7. Попереля Ф.О., Благодарова О.М. Генетика якості зерна перших генотипів надсильної пшениці України // *Цитологія і генетика*.— 1998.— С. 11–18.

### **Резюме**

Низкомолекулярные глютенины имеют значительное влияние на проявление определенных признаков хлебопекарского качества. Проанализированы аллели **a, b, c, e, d, g** локуса Glu-D3 20 сортов пшеницы. Показана вариабельность аллелей **a, b, c, e, d** и отсутствие аллеля **g** у всех сортов.

Низкомолекулярні глютеніни мають значний вплив на прояв певних ознак хлібопекарської якості. Проаналізовані алелі **a, b, c, e, d, g** локуса Glu-d3 20 сортів пшениці. Показана варіабельність алелей **a, b, c, e, d** і відсутність алеля **g** у всіх сортів

Low-molecular glutenins have a considerable effect on the display of certain signs of khlebopekarskogo quality. The alleles **a, b, c, e, d, g** of locus Glu-D3 of 20 sorts of wheat have been analysed. Variability of **a, b, c, e, d** as well as the absent of alleles **g** were shown.

**САКАЛО В.Д., КУРЧІЙ В.М.**

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

## **ОСОБЕННОСТИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЗЕРНОВКИ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ**

В настоящее время хорошо известна способность сахаров регулировать в течение всего жизненного цикла растений многие биохимические процессы. Сахара контролируют синтез запасных продуктов, донорно-акцепторные связи, входят в состав макромолекул клеточных структур, мембранных рецепторов, нуклеиновых кислот, выполняют сигнальную функцию, участвуя в регуляции деления, роста и дифференциации клеток [1, 2]. Они активируют экспрессию ряда генов, кодирующих ферменты, связанные с фотосинтезом, синтезом крахмала, самой сахарозы, липидов и белков, с восстановлением и ассимиляцией азота, дыханием [3].

Для понимания механизмов регуляции процессов, определяемых углеводным обменом, необходимы исследования дифференциальной активности

ферментов, осуществляющих синтез сахарозы и ее включение в метаболизм, в онтогенезе растений. Ферментом, непосредственно осуществляющим синтез сахарозы в листьях, является сахарозофосфатсинтаза (СФС) (К.Ф. 2.4.1.14), образующая в цитозоле из УДФГ и фруктозо-6-фосфата сахарозофосфат, который при помощи сахарозофосфатазы превращается в сахарозу с освобождением  $P_n$ . СФС является ключевым ферментом синтеза сахарозы в листьях.

Пути расщепления сахарозы *in vivo* катализируют два фермента — сахарозосинтаза (СС) (К.Ф. 2.4.1.13) и инвертаза (К.Ф. 3.2.1.26), их регуляция, специфика проявления активности в онтогенезе играют важную роль в растительном углеводном метаболизме. Различия между этими ферментами в том, что СС расщепляет сахарозу с образованием УДФГ (АДФГ) и одной молекулы фруктозы, а инвертаза гидролизует сахарозу с образованием двух гексоз. Функции этих ферментов в клетке также несколько отличаются. СС основной фермент, функционирующий там, где идут активные процессы роста, образования клеточных структур, биосинтез биополимеров углеводного характера, включения углерода в гликолиз и дыхание. Инвертаза в апопласте является первым ферментом, который передает углевод сахарозы в русло метаболизма внутри клетки. Инвертазы потенциально могут быть сильными эффекторами ряда процессов, таких как биосинтез и восприятие гормонов (АБК) [4]. Инвертаза клеточных стенок ассоциируется с быстро растущими тканями, вовлечена в флоэмный транспорт и донорно-акцепторную регуляцию.

Особенности углеводного обмена, регулирующая роль ферментов, связанных с синтезом и метаболизмом сахаров, могут иметь генотипические отличия и по-разному проявляться в онтогенезе. В связи с этим, целью нашей работы было исследование функциональной активности ферментов синтеза и метаболизма сахарозы в процессе налива зерна инбредных линий кукурузы.

### **Материалы и методы**

В качестве исходного материала брали инбредные линии кукурузы селекции Института физиологии растений и генетики НАНУ — Л391, Л390, Л370, Л250, которые отличались по форме семян и срокам созревания. Линии Л391 и Л390 с зубовидным типом зерна — позднеспелые, высокоурожайные; линии Л370 и Л250 с кремнистым зерном, характеризуются относительно быстрым ростом и развитием на начальных стадиях онтогенеза. Считают, что различия между зубовидной и кремнистой кукурузой основываются на особенностях эндосперма, связанных с содержанием крахмала: в эндосперме зубовидной кукурузы его больше, чем в кремнистой [5].

Для изучения роли ферментов в развитии, формировании зерновки, исследовали активность СФС в листьях, СС и инвертазу в семени линий кукурузы в две фазы онтогенеза: в стадии молочной спелости (14 дней после опыления) и в стадии восковой спелости (46 дней после опыления). Выделение СФС из листьев проводили по методу Губера [6], определение

активности — резорциновым методом [7]. Сахарозосинтазу и инвертазу семян кукурузы выделяли из одной навески по методу [8]. Активность СС в реакции синтеза сахарозы определяли по Рое [7], в реакции расщепления сахарозы и инвертазу — по количеству освобожденной фруктозы [9]. Белок определяли по Лоури [10]. В таблицах представлены средние арифметические значения 3-х аналитических повторностей со стандартными отклонениями.

### Результаты и обсуждение

В листьях инбредных линий кукурузы обнаружена высокая активность синтеза сахарозы. Как видно из табл. 1 у зубовидной кукурузы, которая относится к познеспелым и высокоурожайным (Л391 и Л390) высокая активность фермента СФС в стадии молочной спелости, практически не снижается и в стадии восковой спелости. В то же время первоначально высокая активность СФС у линий 370 и 250 снижается в период восковой спелости в 2–3 раза. Эти результаты свидетельствуют о том, что синтез сахарозы в листьях, осуществляемый СФС-зой коррелирует с процессами роста и развития, и что существуют некоторые генотипические отличия в проявлении этой активности в онтогенезе. Вместе с тем, по содержанию легкорастворимых белков в листьях линии кукурузы мало отличаются, но в стадии восковой спелости наблюдается двукратное их уменьшение.

Метаболизм синтезированной в листьях сахарозы направлен на ее использование в процессах роста початка и налива зерна. В период формирования зерновок сахарозосинтаза, расщепляя сахарозу снабжает растущие ткани УДФГ, необходимой для построения клеточных структур. Для биосинтеза крахмала, который начинается когда ростовые процессы уже практически завершены, СС использует в качестве второго субстрата АДФ, образуя АДФГ, которая является донором глюкозы в биосинтезе крахмала. Поэтому активность СС определяли как с УДФ, так и с АДФ в качестве субстратов.

*Таблица 1*

#### Активность сахарозофосфатсинтазы и содержание белка в листьях разных линий кукурузы

Дни после опыления	Инбредные линии	Активность, мкмоль сахарозы		Белок, мг/г ткани
		на г ткани · час	на мг белка · час	
14	Л 391	153,5±25,0	2,35±0,35	65,4±3,0
- " -	Л 390	127,6±13,0	1,75±0,45	73,2±1,2
- " -	Л 370	221,4±26,2	2,95±0,35	74,8±2,0
- " -	Л 250	92,9±8,4	1,2±0,1	75,2±1,2
46	Л 391	139,7±8,6	4,4	35,6±2,0
- " -	Л 390	132,0±2,0	4,05	32,9±2,3
- " -	Л 370	66,6±9,0	1,55	42,6±1,3
- " -	Л 250	46,0±1,0	1,1	40,2±0,1

В стадии молочной спелости в семенах кукурузы преобладала синтетическая направленность СС, особенно у линий Л391 и Л390. Расщепление сахарозы с образованием УДФГ у этих линий ниже, чем у Л370 и Л250. Причем, у Л390 — через 14 дней вообще не обнаружили активности, (поэтому приводим данные, полученные через 29 дней после опыления). Т.е. в стадии молочной спелости у линий, отличающихся интенсивным ростом на начальных стадиях онтогенеза, активность расщепления сахарозы с образованием УДФГ в 2–2,5 раза выше, чем у позднеспелых.

Через 46 дней после опыления в стадии восковой спелости общая активность СС в реакции расщепления сахарозы у Л391 и Л390 повышается в 3,8–4,4 раза соответственно, а у линий Л370 и Л250 — 1,7–2,6 раза. Удельная активность повышается еще больше: у Л391 и Л390 — в 7,5–13 раз, а у Л370 и Л250 в 3,1–4,5 раза.

Синтетическая направленность СС в 2 раза повышается только у Л250. Учитывая значительное повышение активности СС в реакции расщепления в этой стадии созревания зерна отношение реакций синтеза и расщепления сахарозы практически уравнивается (табл. 2).

Довольно высокая активность СС в реакции расщепления сахарозы с субстратом АДФ характерна для крахмалзапасующих растений, в отличие от таких сахаронакопителей, как сахарная свекла.

У позднеспелых линий Л391 и Л390 через 14–29 дней после опыления (молочная спелость) активность синтеза АДФГ ниже, чем у Л370 и Л250, как общая так и удельная (табл. 3).

В период восковой спелости (46-й день) существенно повышается удельная активность фермента у всех линий. Т.е. СС играет важную роль как в формировании зерна, так и в образовании крахмала.

Таблица 2

**Активность сахарозсинтазы семян линий кукурузы (расщепление сахарозы с УДФ)**

Дни после опыления	Инбредные линии	Расщепление сахарозы, мкмоль фруктозы		Синтез сахарозы, мкмоль сахарозы		Синтез/расщеп.
		на г ткани· час	на мг белка· час	на г ткани· час	на мг белка· час	
14	Л391	27,6±2,7	1,5±0,15	89,5±1,6	4,8±0,15	3,2
29	Л390	18,3±0,7	0,9±0,01	50,0±0,6	5,35±0,05	2,7
14	Л370	66,5±2,0	4,2±0,9	89,2±7,5	5,6±0,5	1,3
14	Л250	34,6±2,6	2,6±0,3	52,3±1,7	4,0±0,1	1,5
46	Л391	104,0±1,0	11,3±1,0	117,4±2,6	12,7±0,2	1,1
46	Л390	80,8±2,0	11,9±1,0	67,5±1,0	9,9±0,1	0,8
46	Л370	114,2±1,3	13,0±0,2	97,3±0,7	10,3±0,1	0,9
46	Л250	89,2±2,8	11,8±0,4	101,8±1,5	12,6±0,2	1,1

Таблица 3

**Активность сахарозосинтазы семян линий кукурузы (расщепление сахарозы с АДФ)**

Дни после опыления	Инбредные линии	Активность, мкмоль фруктозы	
		на г ткани· час	на мг белка· час
14	Л 391	25,4±0,8	1,4±0,05
29	Л 390	11,3±0,07	1,2±0,01
14	Л 370	36,2±2,9	2,2±0,05
14	Л 250	19,5±1,8	1,5±0,1
46	Л 391	41,7±0,9	4,5±0,1
46	Л 390	19,2±1,1	2,8±0,1
46	Л 370	27,5±0,9	3,1±0,1
46	Л 250	20,4±1,2	2,7±0,2

Таблица 4

**Активность инвертазы эндосперма семян линий кукурузы**

Дни после опыления	Инбредные линии	Активность, мкмоль фруктозы		Инвертаза/ сахарозосинтаза
		на г ткани· час	на мг белка· час	
14	Л 391	129,8±5,2	7,0±1,6	4,7
29	Л 390	99,9±5,2	10,7±0,8	11,9
14	Л 370	82,1±2,3	5,2±0,7	1,24
14	Л 250	69,3±3,5	5,4±0,9	2,1
46	Л 391	19,5±2,8	2,1±0,4	0,18
46	Л 390	12,8±2,0	1,9±0,3	0,16
46	Л 370	6,2±1,2	0,7±0,06	0,05
46	Л 250	4,0±0,8	0,5±0,02	0,04

Активность фермента гидролиза сахарозы — инвертазы высокая в начале онтогенеза — в молочной стадии, как общая, так и удельная, причем линии Л391 и Л390 отличаются более высокой активностью. Но в период восковой спелости активность гидролиза сахарозы инвертазой падает. Поэтому отношение реакций гидролиза сахарозы инвертазой к реакции ее расщепления СС-ой резко снижается к концу онтогенеза семян (табл. 4).

Изменения в инвертазной активности в сторону снижения гидролиза сахарозы было обнаружено при гипоксии корешков проростков кукурузы и связывается авторами со снижением гексозо-основанных сигналов в этих условиях [11]. В исследуемых нами линиях кукурузы значительное снижение гидролиза сахарозы инвертазой в период восковой спелости семян может быть связано с тем, что процесс фосфорилирования свободных моносахаров необходимый перед их включением в метаболизм замедляется в зрелых тканях.

Таким образом, существуют генотипические различия в проявлении активности СФС в период роста початка и налива зерна кукурузы. Синтезированную в листьях сахарозу в метаболизм семян включают СС и инвертаза. Причем, в стадии молочной спелости преобладает синтетическая направленность фермента и гидролиз сахарозы инвертазой. В период восковой спелости гидролиз сахарозы инвертазой снижается и дисахарид включается в метаболизм преимущественно сахарозосинтазой. В то же время, расщепление сахарозы сахарозосинтазой энергетически более выгодно, т.к. сразу образуются фосфорилированные соединения (УДФГ, АДФГ), непосредственно включающиеся в синтетические процессы.

### Литература

1. Koch K.E. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development // *Curr. Opin. Plant Biol.*— 2004.— 7.— P. 235–246.
2. Koch K.E., Nolte K.D., Duke E.R. et al. Sugar levels modulate differential expression of maize sucrose synthase genes // *Plant Cell.*— 1992.— 4.— P. 59–69.
3. Huang L.F., Bock N., Davis J.M., Koch K.E. Regulation of invertase: a suite of transcriptional and post — transcriptional mechanisms // *Functional Plant Biology.*— 2007.— 34.— P. 499–507.
4. Trouverie J., Chateau-Joubert S., Thevenot C., Jacquemot M.P., Prioul J.L. Regulation of vacuolar invertase by abscisic acid or glucose in leaves and roots from maize plantlets // *Planta.*— 2004.— 219.— P. 894–905.
5. Шмараев Г.Е. Кукуруза: Филогения, классификация, селекция.— 1975.— М.: Колос.— 302 с.
6. Huber S.C. Role of sucrose phosphate synthetase in partitioning of carbon in leaves // *Plant Physiol.*— 1983.— 71, N4.— P. 818–821.
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. Sowokinos I.R. Pyrophosphorylases in *Solanum tuberosum* // *Plant Physiol.*— 1976.— 57.— P. 63–68.
9. Somogyi M. Notes on sugar determination // *J. Biol. Chem.*— 1952.— 195, N1.— P. 18–23.
10. 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, N2.— P. 265–275.
11. Zeng Y., Wu Y., Avigne W.T., Koch K.E. Rapid repression of maize invertases by low oxygen. Invertase/ sucrose synthase balance, sugar signaling potential, and seedling survival // *Plant. Physiol.*— 1999.— 121, N2.— P. 599–608.

### Резюме

В процесі формування зернівки інбредних ліній кукурудзи встановлені генотипові відмінності в функціонуванні ферментів синтезу і метаболізму сахарози — СФС, СС і інвертази. Підвищення активності СС в реакції розщеплення сахарози з утворенням УДФГ і АДФГ у фазу воскової стиглості свідчить про важливу роль ферменту як у формуванні зерна, так і в синтезі крохмалю, в той час, як зниження гідролізу сахарози інвертазою, скоріш за все, зв'язано з уповільненням загального метаболізму в зрілих тганинах.

В процессе формирования зерновки инбредных линий кукурузы установлены генотипические отличия в функционировании ферментов синтеза и метаболизма

сахарози — СФС, СС и инвертазы. Повышение активности СС в реакции расщепления сахарозы с образованием УДФГ и АДФГ в фазу восковой спелости свидетельствует о важной роли фермента как в формировании зерна, так и в синтезе крахмала, в то время как снижение гидролиза сахарозы инвертазой, скорее всего, связано с замедлением общего метаболизма в зрелых тканях.

During grain maturing of maize inbred lines was found genotype differences in the functioning of enzymes of the sucrose synthesis and metabolism (SPS, SS and invertase). Increasing in the activity of SS in the reaction of sucrose cleavage with formation of UDFG and ADPG during waxy stage of grains suggests the fundamental role this enzyme as in the grain formation as in the starch synthesis. At the same time decreasing in the sucrose hydrolysis by invertase may be related to slowing of the general metabolism in the mature tissues.

**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.dsp.net.*

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

## **МІНЛИВІСТЬ БУДОВИ ТОВСТОЇ КИШКИ У БІЗОНІВ І БАНТЕНГІВ ТА ЇХ ГІБРИДІВ ІЗ ДОМАШНЬОЮ КОРОВОЮ**

Відомо, що основні типи травлення сформувалися ще до виникнення тварин сучасного типу. Тварини, яким властиве спеціалізоване харчування, відрізняються своїми можливостями засвоєння їжі. Численні види тварин отримують поживні речовини від бактерій — симбіонтів. Властивий для жуйних тип травлення забезпечується макро- і мікроморфологічними особливостями їх органів травлення. Характерним для типу травлення жуйних є те, що основна частина процесів засвоєння грубих кормів відбувається в складному шлунку та товстій кишці. У кишечнику жуйних, як і в інших рослиноїдних видів, добре розвинуті сліпа й ободова кишки, де продовжується мікробіальна переробка рослинних компонентів, що не перетравились в шлунку. У диких жуйних більш розвинуті рубець і товста кишка, а у свійських — сичуг і тонка кишка [1]. Травна система диких жуйних, перш за все складний шлунок, зазнають суттєвих морфологічних змін під впливом сезонних факторів або в період тривалих посух [2]. Адаптивні зміни травної системи жуйних мають видову специфічність і неоднакові на одних і тих самих структурах. У сичугі бантенга й червоної степової породи є відмінності в глибині шлункових ямок і співвідношенні головних і парієтальних екзокриноцитів, кількості власних і пілоричних залоз сичуга [3]. Слизова оболонка у тонкій кишці бантенга та бантенгових гібридів має більшу відносну товщину порівняно з її показником у домашньої корови, а забезпеченість маси тіла масою тонкою кишки значно більша у домашніх тварин [4]. Товста