

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «БИОРЕСУРСЫ»  
ЦЕНТРАЛЬНЫЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД  
Отдел биохимии и биотехнологии растений

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ  
АСПЕКТЫ БИОХИМИИ  
И БИОТЕХНОЛОГИИ  
РАСТЕНИЙ**

Сборник научных трудов  
III Международной научной конференции  
14–16 мая 2008 г., Минск

*К 50-летию Отдела биохимии  
и биотехнологии растений*

Минск  
«Издательский центр БГУ»  
2008

УДК 581:576.3(043.2)  
ББК 28.55  
Т33

Научные рецензенты:

д-р биол. наук, проф., акад. НАН Беларуси *В. Н. Решетников*;  
д-р биол. наук, проф. *В. М. Юрин*;  
д-р биол. наук, проф. *В. Л. Калер*

Редакционная коллегия:

*В. Н. Решетников, О. П. Булко, И. И. Паромчик, Т. И. Фоменко,  
Е. В. Спиридович, Т. В. Антипова*

**Теоретические** и прикладные аспекты биохимии и биотехнологии растений : сб. науч. тр. 3-й Междунар. науч. конф., 14–16 мая 2008 г., Минск : к 50-летию Отд. биохимии и биотехнологии растений / НАН Беларуси, Центр. ботан. сад [и др.] ; редкол. : В. Н. Решетников [и др.] . — Минск : Изд. центр БГУ, 2008. — 562 с.  
ISBN 978-985-476-604-1.

В сборнике изложены результаты исследований по составу, свойствам, организации интерфазных клеточных ядер и пластид высших растений, путей регулярного воздействия на ядерный аппарат, включая реконструкцию генома с помощью трансгенеза. Представлены отдельные проблемы регуляции морфогенеза растительных клеток и микрклонального размножения некоторых культур, использования молекулярных маркеров в документировании ботанических коллекций. Рассмотрены биохимические основы практического использования растительных ресурсов.

УДК 581:576.3(043.2)  
ББК 28.55

ISBN 978-985-476-604-1

© Центральный ботанический сад  
НАН Беларуси, 2008

УДК:[581.4+581.1]:633.5

## ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА САХАРОЗЫ И БИОСИНТЕЗА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ У ЛЬНА-ДОЛГУНЦА

<sup>1</sup>Титок В.В., <sup>2</sup>Леонтьев В.Н., <sup>1</sup>Кубрак С.В., <sup>1</sup>Юренкова С.И.,  
<sup>1</sup>Хотылева Л.В.

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072,  
Минск, ул. Академическая 27, e-mail: V.Titok@igc.bas-net.by

<sup>2</sup>Белорусский государственный технологический университет, 220050,  
Минск, ул. Свердлова, 13а, e-mail: leontiev@bstu.unibel.by

---

*Проведен сравнительный анализ активности основных ферментов, участвующих в метаболизме сахарозы и биосинтезе целлюлозы. Обнаруженные межсортные различия по активности анализируемых ферментов могут свидетельствовать о дифференциальной активности реакций синтеза целлюлозы в зависимости от генотипа исследуемых сортов льна-долгунца.*

Лен культурный (*Linum usitatissimum* L.) является модельной системой для фундаментального изучения процессов роста, дифференциации клеток и формирования клеточных стенок. Для этой культуры характерно наличие хорошо развитой флоэмной ткани, состоящей из различных типов клеток, в том числе, высокоспециализированных волоконных клеток. Волокна льна – классический пример клеток, метаболизм которых ориентирован на масштабный биосинтез целлюлозы. Несмотря на то, что целлюлоза – главный полимерный компонент растительной клеточной стенки и наиболее распространенный полисахарид на Земле, понимание механизма биосинтеза целлюлозы является одним из малоизученных направлений в биологии растений. Простота химической структуры целлюлозы противоречит сложностям, которые связаны с ее биосинтезом и сборкой.

Цель настоящего исследования состояла в изучении активности ферментов, непосредственно участвующих в метаболизме сахарозы и биосинтезе целлюлозы (сахарозофосфатсинтазы, сахарозосинтазы и кислой инвертазы) у сортов льна-долгунца, различающихся по продуктивности и качеству волокна.

Материалом для исследований служили сорта льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L. ssp. *usitatissimum* convar. *elongatum*) различного эколого-географического и генетического происхождения.

Для определения активности сахарозосинтазы (К.Ф. 2.4.1.13) была использована методика, разработанная на основе методов [1, 2]. Определение активности сахарозофосфатсинтазы (К.Ф. 2.4.1.14) проводили, ис-

пользуя комбинацию методов [3, 4], а активность кислой инвертазы (К.Ф. 3.2.1.26) [5]. Для биохимических анализов были использованы листья растений льна, выращенных в полевых и лабораторных условиях ( $22^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , освещенность 6 тыс. лк, длительность фотопериода 16 час.).

Биосинтез сахарозы катализируется последовательным действием сахарозофосфатсинтазы (SPS) и сахарозо-6-фосфатфосфатазы. Равновесие обратимой реакции с SPS *in vivo* смещается благодаря быстрому удалению сахарозо-6-фосфата с помощью специфической фосфатазы и таким образом SPS вносит существенный вклад в контролирование потока углерода для синтеза сахарозы. На регуляцию генной экспрессии SPS наслаивается несколько механизмов, которые могут регулировать ее каталитическую активность. Один из них представляет собой аллостерический контроль активации фермента глюкозо-6-фосфатом и ингибирования неорганическим фосфатом [2]. Распад сахарозы может катализироваться, по крайней мере, двумя классами ферментов. Инвертазы катализируют необратимый гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы. Напротив, обратимое расщепление сахарозы катализируется сахарозосинтазой (SuSy). При расщеплении сахарозы сахарозосинтазой энергия гликозидной связи сохраняется в UDP-глюкозе, которая является субстратом для синтеза целлюлозы. К настоящему времени показано наличие сопряженной реакции между SuSy и целлюлозосинтазами, а также построена модель, в которой растворимая SuSy обеспечивает UDP-глюкозой реакцию биосинтеза полисахарида, в то время как инвертазы поставляют гексозы для дыхательного метаболизма [6]. Обнаружено, что значительная часть сахарозосинтазы связана с фракцией макрочастиц растущего волокна [7]. Такая сахарозосинтаза названа мембранно-связанной формой (P-SuSy) в отличие от растворимой SuSy – S-SuSy. Сложность в регуляции генной экспрессии и локализации фермента предполагает его ключевую роль в метаболизме растения. Иммунофлюоресцентные исследования показали, что SuSy может быть локализована в клеточной стенке волокна в области вторичной стенки, что согласуется с ориентированным синтезом микрофибрилл целлюлозы [6]. Считается, что P-SuSy обеспечивает канальную проводимость UDP-глюкозы к целлюлозе на плазматической мембране – биохимический анализ выявил высокую концентрацию фермента на поверхности волокна около кортикальных микротрубочек в непосредственной близости к участку синтеза целлюлозы на плазматической мембране [7]. Инвертазы в дополнение к SuSy могут катализировать гидролиз сахарозы. Эти ферменты также отличаются по локализации: растворимая кислая инвертаза – вакуолярная, нерастворимая кислая инвертаза связана с клеточной стенкой и нейтральные/щелочные инвертазы – цитозольные. Вакуолярная

кислая инвертаза расщепляет сахарозу, когда имеется высокий спрос на продукты ее гидролиза (при элонгации и расширении клетки).

**Таблица**

Активность сахарозосинтазы (Susy), сахарозофосфатсинтазы (SPS) и кислой инвертазы (Inv) в листьях сортов льна-долгунца в условиях светоустановки (I) и полевых условиях (II) ( $\mu\text{mol Fru/h mg protein}$ ).

Сорт	Susy		SPS		Inv
	I	II	I	II	II
Вита	2,10	0,96	2,40	2,22	2,22
Fibra	6,12	2,64	2,94	2,52	1,44
К-65	5,82	0,90	1,80	4,38	5,64
Архангельский кряж	1,20	2,28	2,58	7,50	0,90
Bison	2,46	1,80	1,20	4,86	5,28
Батист	1,26	3,24	1,92	2,34	2,46
Дашковский	1,98	1,92	1,68	0,84	1,02
Л-41	1,02	1,20	3,14	3,48	1,50
Успех	1,32	2,70	1,44	4,86	1,74
Л-1120	4,92	1,68	2,40	1,02	0,36

В таблице представлены результаты изучения активности ферментов метаболизма сахарозы у сортов льна-долгунца. Полученные данные показали, что наибольшая активность Susy в листьях растений, выращенных в лабораторных условиях, обнаружена у сортов Fibra, К-65 и Л1120 (таблица, Susy, I). У остальных анализируемых сортов она колебалась в пределах от 1,02 (у сорта Л-41) до 2,46  $\mu\text{mol Fru/h mg protein}$  (у сорта Bison). Известно, что наиболее высокая активность сахарозосинтазы характерна для молодых листьев растений. Поэтому полученные результаты можно объяснить различиями в скорости биосинтетических реакций, направленных на процессы роста и развития тканей листа, у поздних и раннеспелых сортов льна-долгунца. Активность Susy в листьях сортов Батист, Успех, Fibra и Архангельский кряж, собранных с полевых растений на стадии «быстрый рост», была выше, чем у остальных исследуемых сортов (таблица, Susy, II). Однако, различия по величинам активности этого фермента у сортов, выращенных в полевых условиях, не столь значительны по сравнению с результатами, полученными на листьях растений, культивируемых в светоустановке. По-видимому, это связано с тем, что листья полевых растений на стадии «быстрый рост» полностью сформированы и функционирование сахарозосинтазы направлено в сторону расщепления сахарозы с образованием метаболитов, которые используются в реакциях дыхательного метаболизма, а также в процессах «поддержания» клеточных компартментов.

По активности SPS также были отмечены межсортовая гетерогенность и различия в зависимости от условий выращивания растений льна-долгунца (таблица, SPS, I и II). У большинства анализируемых сортов (К-65, Архангельский кряж, Bison, Батист, Успех, Л-1120) отмечена более высокая активность SPS в листьях полевых растений по сравнению с сортами, выращенными в лабораторных условиях. Полученные нами данные показывают, что активность SPS достигает высоких значений в листьях-донорах полевых растений, находящихся на стадии «быстрый рост». Обнаруженная вариабельность по активности SPS может быть обусловлена межсортовыми различиями в интенсивности фотосинтетических реакций в листьях растений на стадии «быстрый рост», для которой характерна активизация синтетических и биоэнергетических реакций, обеспечивающих рост и развитие растительного организма (таблица, SPS, II).

Анализ данных по активности кислой инвертазы выявил только межсортовые различия (таблица, Inv, II). Наибольшая активность фермента обнаружена у сортов К-65 и Bison. Растворимая кислая инвертаза локализована в вакуолях и является регулятором концентрации сахарозы в цитозоле, поэтому высокие величины ее активности могут указывать на эффективное функционирование фотосинтеза.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что направленность реакций метаболизма сахарозы зависит от стадии развития растений и сортовых особенностей льна-долгунца. Исходя из вышесказанного, можно заключить, что изучение отдельных звеньев метаболизма сахарозы позволит расширить наши представления о биосинтетических процессах, проходящих в ходе формирования клеточной стенки волокна растений. Разработка стратегии по модификации активности биосинтеза целлюлозы для улучшения структуры, качества волокна и урожайности льна-долгунца, несомненно, потребует более глубокого исследования взаимодействий между размером пула субстратов, посттрансляционной регуляцией активности ферментов, участвующих в метаболизме сахарозы, и регуляцией их генной экспрессии.

#### Литература

1. Брускова Р.К., Зартдинова Р.Ф., Сацкая М.В., Измайлов С.Ф. Активность сахарозосинтазы и кислой инвертазы в органах проростков гороха // Физиол. раст. – 2004. – Т. 51, № 5. – С.702–706.
2. Павлинова О.А., Балахонцев Е.Н., Туркина М.В. Сахарозофосфатсинтаза, сахарозосинтаза и инвертаза в листьях сахарной свеклы // Физиол. раст. – 2002. – Т. 49, № 1. – С.78–84.
3. Babb V.M., Haiger C.H. Sucrose phosphate activity rises in correlation with high-rate cellulose synthesis in three heterotrophic systems // Plant Physiol. – 2001. – vol. 127, N 3. – P.1234–1232.

4. Huber S.C., Israel D.W. Biochemical basis for partitioning of photosynthetically fixed carbon between starch and sucrose in soybean (*Glycine max* Merr.) leaves // *Plant Physiol.* – 1982. – vol. 69, N 3. – P.691–696.

5. Tang G.-Q., Sturm A. Antisense repression of sucrose synthase in carrot (*Daucus carota* L.) affects growth rather than sucrose partitioning // *Plant Molecular Biology.* – 1999. – vol. 41, N 4. – P.465–479.

6. Doblin M. S., Kurek I., Jacob-Wilk D., Delmer D.P. Cellulose Biosynthesis in Plants: from Genes to Rosettes // *Plant Cell Physiol.* – 2002. – vol. 43, N12. – P.1407–1420.

7. Winter H, Huber C.S. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes // *Crit. Rev. Plant Sci.* – 2000. – vol. 19, N 1. – P.31–67.

### **Summary**

Comparative analysis of the activity of major enzymes involved in sucrose metabolism and cellulose biosynthesis was carried out. The revealed intervarietal differences in the activity of the enzymes analyzed can be evidence of a differential activity of cellulose synthesis reactions depending on the genotype of fiber flax accessions under study.