

УДК 581.1.134.631

СИНТЕЗ І МЕТАБОЛІЗМ САХАРОЗИ В ЛИСТКАХ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ

В.Д. САКАЛО, К.А. ЛАРЧЕНКО, В.М. КУРЧІЙ

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17*

Вивчали метаболізм сахарози в листках проростків кукурудзи різних генотипів за умов водного дефіциту. Встановлено активацію сахарозофосфатсинтази (СФС) за короткотривалого (2 доби) водного дефіциту у стійких до цього стресу генотипів (Л 250, Л 390, гібрид F₁ Титан 220 СВ) та інгібування — у середньостійких гібридів F₁ Росава, F₁ Комета та нестійкої лінії Л 240. У разі подовження водного стресу до 4 діб відмічено інгібування СФС і збільшення накопичення сахарози і у стійких генотипів, що може бути одним із механізмів регуляції рівня сахарози в клітинах. За відновлення поливу активність СФС починала підвищуватись, але з різною інтенсивністю, незалежно від стійкості генотипу до водного дефіциту. Активність СФС, накопичення сахарози та збільшення її вмісту відносно крохмалю можуть бути допоміжними критеріями оцінки посухостійкості кукурудзи.

Ключові слова: *Zea mays* L., генотипи, посуха, сахарозофосфатсинтаза, сахароза, крохмаль.

Дефіцит води є основним абіотичним чинником, який лімітує продуктивність сільськогосподарських культур у посушливих і напівпосушливих регіонах України. Оскільки деструктивні зміни рослин, спричинені посухою, є наслідком порушення метаболічних процесів, з'ясування реакції рослин на дію стресових чинників необхідне для розуміння механізмів їх адаптації.

Рівень стійкості рослинного організму забезпечується перебудовою метаболізму, спрямованого на його адаптацію до дії несприятливих чинників. В адаптації рослинного організму до посухи важливу роль відіграють вуглеводи. Зміну спрямованості вуглеводного обміну в рослинній клітині у відповідь на дефіцит води вважають проявом адаптивної реакції, основою якої є регуляція активності ферментних систем. Протекторна функція цукрів полягає в захисті білково-ліпідних комплексів клітин у разі зневоднення, а як осмопротектори вони підвищують осмотичний потенціал клітин рослин [2]. Показана можливість заміни води на сахарозу в структурі фосфоліпідів за зневоднювальних стресів [3]. Є дані щодо прямої захисної дії сахарози на ферментні білки при деградації клітин [14]. Крім того, цукри здатні активувати експресію генів, які кодують ферменти, пов'язані з фотосинтезом, метаболізмом самих вуглеводів [8, 11].

Щоб оцінити фізіологічну роль вуглеводів, необхідні докази характеру й механізмів регуляції активності ключових ферментів, їх залежності від інтенсивності стресового чинника, динаміки їх виявлення.

Відомо, що посуха може викликати як зниження [19, 20], так і підвищення вмісту в клітині розчинних цукрів [6, 7]. Швидше за все це можна пояснити фазою розвитку, різною стійкістю до стресу, ступенем зневоднення рослин. Оскільки вміст сахарози в листках визначається динамічною рівновагою її синтезу й гідролізу, індукована стресами зміна кількості сахарози може бути пов'язана з регуляцією активності ферментів, які синтезують і залучають у метаболізм цей дисахарид. Інтенсивність синтезу сахарози, її включення в метаболізм стійких і чутливих до водного стресу рослин можуть значно різнитись. За дії водного стресу на активність СФС між культурами виявлено відмінність. Показано, що в зрілих листках квасолі та бобів активність СФС за водного дефіциту знижується [4, 17], причому це супроводжується ослабленням фотосинтезу. У сої, адаптованої до умов водного дефіциту, активність ферменту підвищувалась [5]. Реакція генотипів кукурудзи на дію стресових чинників за цим показником практично не вивчена.

Роль ферменту, що контролює синтез і метаболізм сахарози, може бути визначальною і характеризувати стійкість рослин до водного дефіциту, тому в реакції генотипів кукурудзи з різною толерантністю до посухи важливо виявити зв'язок між характером вуглеводного обміну, проявом фізіологічних реакцій і стійкістю до посухи.

Метою нашої роботи було з'ясувати, як посуха різної інтенсивності впливає на вуглеводний обмін листків проростків ліній і гібридів кукурудзи, що різняться за стійкістю до цього стресу. Вивчено динаміку активності ферменту синтезу сахарози — СФС, вміст сахарози і крохмалю як можливих ознак, пов'язаних із посухостійкістю.

Методика

Об'єктом дослідження були генотипи кукурудзи, отримані у відділі експериментального мутагенезу, які характеризувались різними ступенями адаптації до посухи, зокрема: середньостійкі до посухи гібриди F₁ Росава та F₁ Комета МВ, посухостійкі лінії Л 250, Л 390, гібрид F₁ Титан 220 СВ, нестійка лінія Л 240. Для аналізів використовували листки 9- та 11-добових проростків, які мало різнилися за рівнем сформованості листкового апарату й активністю метаболічних процесів.

Насіння вирощували в піщаній культурі за природного освітлення й температури 22—24 °С. Посуху створювали припиненням поливу 9-добових проростків протягом 2- або 4-х діб, контрольні проростки продовжували поливати.

СФС із листків виділяли за методом Губера [9], модифікованим щодо культури.

Наважку листків масою 500 мг розтирали з 4 мл 50 мМ Мопс-NaOH буфера (рН 7,5), в який добавляли 15 мМ MgCl₂, 6 мМ ДТТ, 1 мМ ЕДТА і 0,1 % тритону X-100. Відціджений крізь капрон гомогенат центрифугували за 20 000 g протягом 15 хв. Для знесолення надосадової рідини проводили гел'фільтрацію на Сефадексі G-25, урівноваженому тим самим буфером, але без тритону X-100. Процедура виконували в тефлонових трубках із решітчастим дном, які вміщували в центрифужні пробірки і центрифугували за 5000 g протягом 5 хв. В отриманому екстракті визначали вміст білків [10] і активність СФС.

Склад інкубаційного середовища для СФС за насичення субстратами: 50 мМ Мопс-NaOH буфера (рН 7,5); 10 мМ УДФГ; 40 мМ глюкозо-

6-фосфату; 10 мМ фруктозо-6-фосфату; 15 мМ $MgCl_2$; 2,5 мМ ДТТ; 45 мкл ферментного препарату. Загальний об'єм середовища — 70 мкл, тривалість інкубації — 30 хв за 35 °С. Реакцію припиняли додаванням 70 мкл 30 %-го розчину КОН, фруктозу руйнували кип'ятінням протягом 10 хв із лугом. Всі операції з ферментами проводили на холоді. Активність СФС виражали в мікромолях утвореної сахарози на 1 мг білка або на 1 г тканини за 1 год [13]. У дослідях використано реактиви фірми «Serva» (Німеччина).

Для визначення вмісту розчинних цукрів і крохмалю наважку листків масою 500 мг фіксували киплячим етанолом і проводили триразове екстрагування 80 %-м етанолом. Зібрану після центрифугування за 5000 g надосадову рідину, яка містила розчинні цукри, випаровували, доводили об'єм дистильованою водою до 5 мл і використовували для визначення сахарози резорциновим методом [13]. Для визначення крохмалю осад, отриманий після екстрагування розчинних цукрів, який містив полісахариди, заливали гарячою водою і витримували на киплячій водянній бані протягом 1 год для клейстеризації крохмалю. Після охолодження до 50 °С додавали 1 од. α -амілази («Fluca», Швейцарія), розчиненої у фосфатному буфері (рН 6,5), і залишали для інкубації за 37 °С на 30 хв. Після центрифугування надосадову рідину, що містила мальтозу й декстрини, гідролізували 20 %-м розчином НСІ протягом 30 хв на киплячій водянній бані до глюкози і нейтралізували 20 %-м розчином NaOH. Крохмаль визначали за вмістом глюкози арсеномолібдатним методом [16] і множенням на коефіцієнт 0,93.

У таблицях наведено усереднені значення з 4—5 дослідів та їх стандартні відхилення.

Результати та обговорення

Роль СФС — ферменту, що синтезує в листках сахарозу, яка є одним із найважливіших осмопротекторів в умовах водного дефіциту — визначальна. На регуляцію активності СФС в умовах стресу можуть впливати як рівень накопичення метаболітів, так і генотипні особливості, толерантність до посухи.

Тривалість посухи істотно змінювала активність СФС у листках різних генотипів кукурудзи. Так, у нестійкої лінії Л 240 та середньостійких гібридів F_1 Комета МВ і F_1 Росава 2-добова посуха спричинила значне інгібування ферменту, причому знижувалась як питома активність (на 56—66 % на 1 мг білка), так і загальна (на 46—57 % на 1 г тканини), яка залежала від вмісту білка в тканині. Водночас у генотипах, толерантних до посухи, СФС активувалась: у лінії Л 250 — на 76—88 %, у гібрида F_1 Титан 220 СВ — на 63—99, у лінії Л 390 — на 60—65 %.

Наведені дані засвідчують, що за короткотривалого водного дефіциту активність СФС може бути маркерною ознакою посухостійкості зазначених генотипів. Активування СФС як перший крок відповіді на короткотривалий водний дефіцит виявлене в дисках листків шпинату і розглядається як участь ферменту в осморегуляції [12].

У період жорсткішої посухи (4 доби без поливу) активність СФС у середньостійких гібридів F_1 Комета МВ і F_1 Росава продовжувала знижуватись. Однак у цей період фермент СФС інгібувався також і у толерантних до посухи генотипів: у лінії Л 250 — на 49—56 %, у гібрида F_1 Титан 220 СВ — на 47—52, у лінії Л 390 — на 38 %, тобто жорстка посуха

призводила до інгібування синтезу сахарози як у нестійких, так і у стійких генотипів кукурудзи (табл. 1).

Отже, тільки за нетривалого водного стресу активність СФС може слугувати допоміжним критерієм оцінювання реакції генотипів кукурудзи на посухостійкість, оскільки тривала посуха інгібує фермент незалежно від стійкості генотипів до цього стресу. Тут важливо визначити вміст сахарози у тканинах листків, оскільки саме вона може регулювати активність ферменту.

Інгібування СФС за нетривалого водного стресу менш посухостійких генотипів мало впливало на рівень сахарози в них, однак спостерігалась тенденція до його збільшення на 9—34 %. У стійких ліній Л 390 і Л 250 активування СФС супроводжувалось збільшенням вмісту сахарози на 18—63 %, у гібрида F₁ Титан 220 СВ вміст сахарози залишався на контрольному рівні. Тобто за короткотривалого водного дефіциту й чіткої відмінності в активуванні СФС у стійких і нестійких до посухи генотипів вміст сахарози — основної протекторної сполуки хоча й незначно, але підвищувався, проте у посухостійкого гібрида F₁ Титан 220 СВ такого ефекту не помічено навіть за значного активування (на 63 %) СФС.

ТАБЛИЦЯ 1. Активність сахарозофосфатсинтази в листках проростків кукурудзи, вирощених за умов водного стресу

Генотип	Активність СФС			
	мкмоль сахарози/ (мг білка · год)		мкмоль сахарози/ (г тканини · год)	
	Контроль	Посуха	Контроль	Посуха
Тривалість посухи 2 доби				
Лінія Л 240	$\frac{5,3 \pm 0,2}{100}$	$\frac{1,88 \pm 0,05^*}{34}$	$\frac{126,7 \pm 4,6}{100}$	$\frac{55,0 \pm 2,4^*}{43}$
F ₁ Комета МВ	$\frac{5,7 \pm 0,3}{100}$	$\frac{2,70 \pm 0,01^*}{47}$	$\frac{131,5 \pm 2,5}{100}$	$\frac{71,1 \pm 5,0^*}{54}$
F ₁ Росава	$\frac{3,60 \pm 0,05}{100}$	$\frac{1,60 \pm 0,04^*}{44}$	$\frac{137,4 \pm 2,4}{100}$	$\frac{62,0 \pm 2,0^*}{45}$
Лінія Л 250	$\frac{0,90 \pm 0,03}{100}$	$\frac{1,70 \pm 0,02^*}{188}$	$\frac{38,3 \pm 1,6}{100}$	$\frac{67,5 \pm 0,9^*}{176}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{1,75 \pm 0,07}{100}$	$\frac{2,85 \pm 0,03^*}{163}$	$\frac{58,2 \pm 1,6}{100}$	$\frac{115,6 \pm 2,3^*}{199}$
Лінія Л 390	$\frac{2,55 \pm 0,04}{100}$	$\frac{4,2 \pm 0,1^*}{165}$	$\frac{106,4 \pm 1,0}{100}$	$\frac{170,5 \pm 2,5^*}{160}$
Тривалість посухи 4 доби				
Лінія Л 240	$\frac{3,8 \pm 0,2}{100}$	$\frac{2,10 \pm 0,04^*}{53}$	$\frac{114,8 \pm 12,8}{100}$	$\frac{71,5 \pm 1,9^*}{62}$
F ₁ Комета МВ	$\frac{3,85 \pm 0,30}{100}$	$\frac{0,75 \pm 0,01^*}{19}$	$\frac{114,5 \pm 10,5}{100}$	$\frac{36,5 \pm 1,0^*}{32}$
F ₁ Росава	$\frac{4,8 \pm 0,2}{100}$	$\frac{1,60 \pm 0,01^*}{33}$	$\frac{140,1 \pm 9,4}{100}$	$\frac{68,0 \pm 2,6^*}{48}$
Лінія Л 250	$\frac{4,1 \pm 0,2}{100}$	$\frac{1,80 \pm 0,03^*}{44}$	$\frac{144,4 \pm 12,6}{100}$	$\frac{73,4 \pm 6,0^*}{51}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{3,9 \pm 0,2}{100}$	$\frac{1,90 \pm 0,03^*}{48}$	$\frac{109,0 \pm 1,6}{100}$	$\frac{57,7 \pm 2,3^*}{53}$
Лінія Л 390	$\frac{2,75 \pm 0,30}{100}$	$\frac{1,70 \pm 0,05^*}{62}$	$\frac{46,7 \pm 2,8}{100}$	$\frac{31,4 \pm 2,2^*}{67}$

*Тут і в табл. 2—4: різниця вірогідна за $p = 0,05$ відносно контролю.

За довготривалого водного дефіциту рівень сахарози в нестійкій лінії та середньостійкого гібрида F₁ Комета МВ залишався на рівні контролю, у середньостійкого гібрида F₁ Росава й толерантних до посухи ліній Л 250, Л 390 і гібрида F₁ Титан 220 СВ рівень сахарози значно зростає поряд з інгібуванням ферменту її синтезу (табл. 2), тобто генотипи кукурудзи з різною чутливістю до водного дефіциту по-різному реагують на тривалість водного стресу за активністю СФС і вмістом сахарози в листках 9- та 11-добових проростків. Підвищення рівня сахарози за тривалого водного стресу у стійких ліній, гібрида F₁ Титан 220 СВ і середньостійкого гібрида F₁ Росава може бути результатом уповільнення включення її в метаболізм і виконувати осмопротекторну функцію, однак накопичена сахароза, у свою чергу, здатна інгібувати СФС. Зниження активності СФС в умовах накопичення ендогенної сахарози (при гальмуванні відтоку) ми раніше виявили в листках цукрових буряків [1]. У стійких до дефіциту води генотипів кукурудзи накопичена за довготривалого водного стресу сахароза так само інгібує фермент. Це явище можна розглядати як один із механізмів регуляції рівня сахарози в клітині, порушення якого може призвести до деструктивних змін.

Активацію СФС і акумуляцію сахарози в умовах водного дефіциту виявлено в стеблах рису [18]. Ми вважаємо, що ця реакція має генотипну відмінність і залежить від тривалості водного стресу. У стійких до водного стресу генотипів кукурудзи за короткотривалого зневоднення активування СФС і підвищення рівня сахарози засвідчують їх здатність до адаптації в цих умовах. У разі подовження водного стресу накопичена сахароза починає виконувати роль не тільки осмопротектора, а й інгібітора СФС, фермент за 4-добового водного дефіциту у стійких генотипів інгібується надлишком сахарози.

Незмінний рівень сахарози і низька активність СФС як за короткого, так і за тривалого водного стресу в менш стійких генотипів засвідчує, що рівень їх адаптації нижчий, ніж у стійких генотипів.

Протекторну роль виконує і крохмаль хлоропластів. Акумуляуючись у хлоропластах упродовж дня, вночі він ремобілізується для синтезу сахарози. В разі уповільнення росту рослин, що трапляється внаслідок стресів, крохмаль також може бути допоміжним джерелом біосинтезу са-

ТАБЛИЦЯ 2. Вміст сахарози в листках проростків кукурудзи, вирощених за умов водного стресу

Генотип	Сахароза, мкмоль/г сухої речовини за тривалості посухи			
	2 доби		4 доби	
	Контроль	Посуха	Контроль	Посуха
Лінія Л 240	$\frac{141,6 \pm 1,5}{100}$	$\frac{168,8 \pm 1,0^*}{119}$	$\frac{345,5 \pm 5,6}{100}$	$\frac{376,0 \pm 4,4}{109}$
F ₁ Комета МВ	$\frac{245,0 \pm 3,0}{100}$	$\frac{267,6 \pm 30,9}{109}$	$\frac{330,4 \pm 5,0}{100}$	$\frac{323,2 \pm 2,9}{98}$
F ₁ Росава	$\frac{175,1 \pm 1,6}{100}$	$\frac{234,3 \pm 5,0^*}{134}$	$\frac{236,0 \pm 7,5}{100}$	$\frac{380,1 \pm 12,0^*}{161}$
Лінія Л 250	$\frac{129,7 \pm 0,7}{100}$	$\frac{211,5 \pm 1,5^*}{163}$	$\frac{261,1 \pm 7,2}{100}$	$\frac{439,0 \pm 7,0^*}{168}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{188,9 \pm 2,4}{100}$	$\frac{187,4 \pm 2,0}{99}$	$\frac{220,1 \pm 11,4}{100}$	$\frac{309,0 \pm 10,0^*}{140}$
Лінія Л 390	$\frac{230,6 \pm 3,8}{100}$	$\frac{272,4 \pm 3,6^*}{118}$	$\frac{235,1 \pm 3,6}{100}$	$\frac{376,8 \pm 6,7^*}{160}$

харози. Із крохмалю формується запас асимілятів, а утворені в результаті мобілізації крохмалю тріозофосфати відіграють важливу роль у системі ендогенної регуляції СФС [15]. Показано, що в стеблах рису за водного дефіциту активність СФС підвищувалась внаслідок інтенсивного гідролізу крохмалю амілазами [18]. У генотипах кукурудзи короткотривалий водний дефіцит незначно ініціював процес гідролізу крохмалю, а подовження посухи до 4 діб дещо його підсилювало. За водного дефіциту крохмаль гідролізувався найінтенсивніше у середньостійкого гібрида F₁ Комета МВ (табл. 3). Оскільки продукти гідролізу крохмалю можуть використовуватись як субстрати для синтезу сахарози, важливою є зміна співвідношення сахароза/крохмаль за двох термінів посухи. За короткотривалого водного дефіциту в нестійкої лінії співвідношення сахароза/крохмаль збільшувалось на 21 %, у середньостійких — на 31—23, у посухостійких — на 74—31—38 %. У разі подовження посухи до 4 діб співвідношення сахароза/крохмаль у нестійкої лінії підвищувалось до 33 %, у середньостійких — до 63—74, у стійких — до 88—97 % (див. табл. 3). Отже, стійкі до посухи генотипи (Л 250, Л 390, гібрид F₁ Титан 220 СВ) значну частину сахарози отримують внаслідок гідролізу крохмалю, а збільшення співвідношення сахароза/крохмаль у них можна розглядати як ознаку, пов'язану із посухостійкістю.

ТАБЛИЦЯ 3. Вміст крохмалю та співвідношення сахароза/крохмаль у листках проростків кукурудзи, вирощених за умов водного стресу

Генотип	Крохмаль, мкмоль глюкози/г сухої речовини		Сахароза/крохмаль	
	Контроль	Посуха	Контроль	Посуха
Тривалість посухи 2 доби				
Лінія Л 240	$\frac{39,1 \pm 1,3}{100}$	$\frac{36,6 \pm 1,0^*}{94}$	3,8	4,6
F ₁ Комета МВ	$\frac{62,2 \pm 3,7}{100}$	$\frac{46,1 \pm 2,1^*}{74}$	3,9	5,1
F ₁ Росава	$\frac{40,9 \pm 2,4}{100}$	$\frac{44,5 \pm 2,5}{109}$	4,3	5,3
Лінія Л 250	$\frac{30,8 \pm 2,1}{100}$	$\frac{28,9 \pm 1,9^*}{94}$	4,2	7,3
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{26,8 \pm 1,6}{100}$	$\frac{20,4 \pm 1,7}{76}$	7,0	9,2
Лінія Л 390	$\frac{61,5 \pm 3,8}{100}$	$\frac{53,9 \pm 2,1^*}{88}$	3,7	5,1
Тривалість посухи 4 доби				
Лінія Л 240	$\frac{35,2 \pm 1,4}{100}$	$\frac{28,8 \pm 1,8^*}{82}$	9,8	13,0
F ₁ Комета МВ	$\frac{43,5 \pm 2,5}{100}$	$\frac{26,0 \pm 1,0^*}{60}$	7,6	12,4
F ₁ Росава	$\frac{46,7 \pm 2,0}{100}$	$\frac{43,7 \pm 2,5}{94}$	5,0	8,7
Лінія Л 250	$\frac{39,1 \pm 2,1}{100}$	$\frac{34,8 \pm 1,9^*}{89}$	6,7	12,6
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{58,3 \pm 6,2}{100}$	$\frac{41,3 \pm 2,4^*}{71}$	3,8	7,5
Лінія Л 390	$\frac{25,6 \pm 2,0}{100}$	$\frac{21,8 \pm 1,1}{85}$	9,2	17,3

СИНТЕЗ И МЕТАБОЛИЗМ САХАРОЗЫ В ЛИСТЯХ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ

ТАБЛИЦЯ 4. Активність сахарозофосфатсинтази в листках проростків кукурудзи за відновлення поливу після дії 4-добової посухи

Генотип	Активність СФС, мкмоль сахарози/(мг білка · год)			
	Контроль	Посуха	Контроль	Відновлення поливу
Лінія Л 240	$\frac{5,2 \pm 0,4}{100}$	$\frac{2,50 \pm 0,05^*}{48}$	$\frac{3,0 \pm 0,4}{100}$	$\frac{2,0 \pm 0,1}{67}$
F ₁ Комета МВ	$\frac{6,2 \pm 0,2}{100}$	$\frac{3,20 \pm 0,01^*}{52}$	$\frac{4,2 \pm 0,1}{100}$	$\frac{2,50 \pm 0,05^*}{60}$
F ₁ Росава	$\frac{3,7 \pm 0,1}{100}$	$\frac{0,60 \pm 0,01^*}{16}$	$\frac{2,6 \pm 0,1}{100}$	$\frac{2,60 \pm 0,05}{100}$
Лінія Л 250	$\frac{2,30 \pm 0,01}{100}$	$\frac{0,90 \pm 0,05^*}{40}$	$\frac{2,30 \pm 0,01}{100}$	$\frac{1,20 \pm 0,01^*}{52}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{5,4 \pm 0,2}{100}$	$\frac{1,30 \pm 0,01^*}{24}$	$\frac{2,8 \pm 0,4}{100}$	$\frac{1,20 \pm 0,01^*}{43}$
Лінія Л 390	$\frac{0,80 \pm 0,01}{100}$	$\frac{0,20 \pm 0,01^*}{37}$	$\frac{2,00 \pm 0,05}{100}$	$\frac{3,00 \pm 0,07^*}{150}$

З урахуванням важливої ролі СФС, зміни її активності в різних генотипів за умов посухи, важливо було з'ясувати, як швидко після відновлення поливу нормалізується функціонування ферменту.

За умов 4-добової посухи інгібування ферменту СФС як у стійких, так і менш стійких генотипів було значним (48—84 %). Після відновлення поливу впродовж 2 діб активність СФС починала підвищуватись. У нестійкої лінії Л 240 і гібрида F₁ Комета МВ активність СФС після відновлення поливу зростала усього на 8—19 % відповідно, у середньостійкого гібрида F₁ Росава — досягала рівня контролю, у стійкої лінії Л 390 фермент навіть активувався на 50 %. Активація СФС у стійкого гібрида F₁ Титан 220 СВ на фоні сильного інгібування ферменту в умовах посухи після відновлення поливу збільшилась із 24 до 43 % (табл. 4). Наведені дані засвідчують, що СФС у генотипах кукурудзи дуже лабільно реагує на дефіцит води і після відновлення поливу активність ферменту найінтенсивніше зростає у середньостійкого гібрида F₁ Росава та стійкої лінії Л 390.

Отже, в результаті досліджень встановлено, що в 6 генотипах кукурудзи за дії водного стресу різної тривалості істотно змінюється функціонування ферменту синтезу сахарози — СФС: у стійких генотипів за умов короткотривалого дефіциту води він активується, у нестійких і середньостійких — інгібується. Цей ефект разом із накопиченням сахарози і збільшенням співвідношення сахароза/крохмаль, особливо значним у посухостійких генотипів за довготривалого водного стресу, може бути допоміжним критерієм при оцінюванні потенційної посухостійкості.

1. Сакало В.Д., Курчий В.М. Регуляция углеводного метаболизма эндогенной сахарозой в листьях сахарной свеклы // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — 39, № 6. — С. 506—513.
2. Франко О.Л., Мело Ф.Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений. — 2000. — 47, № 1. — С. 152—159.
3. Caffery T., Fonseca V., Carl Leopold A. Lipid-sugar interaction relevance to anhydrous biology // Plant Physiol. — 1988. — 86, N 3. — P. 754—758.
4. Castrillo M. Sucrose metabolism in bean plants under water deficit // J. Exp. Bot. — 1992. — 43, N 257. — P. 1557—1561.

5. Cheikh N., Brenner M.L. Regulation of key enzymes of sucrose biosynthesis in soybean leaves // Plant Physiol. — 1992. — **100**. — P. 1230—1237.
6. Geigenberger P., Reinholz R., Langerberger S. et al. Regulation of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short term water-deficit // Planta. — 1997. — **201**, N 3. — P. 446—453.
7. Gill P.K., Sharma A.D., Singh P., Bhullar S.S. Effect of various abiotic stresses on the growth, soluble sugars and water relations of sorghum seedlings grown in light and darkness // Bulg. J. Plant Physiol. — 2001. — **27**, N 1/2. — P. 72—84.
8. Ho S.-L., Chao Y.-C., Tong W.-F., Yu S.-M. Sugar coordinately and differentially regulates growth- and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanism // Plant Physiol. — 2001. — **125**, N 4. — P. 877—890.
9. Huber S.C. Role of sucrose phosphate synthetase in partitioning of carbon in leaves // Ibid. — 1983. — **71**, N 4. — P. 818—821.
10. Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr A.J., Rondall A.J. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — **192**, N 2. — P. 265—275.
11. Pego J.V., Kortstee A.J., Huijser G., Smeeckens C.M. Photosynthesis, sugar and gene expression // J. Exp. Bot. — 2000. — **61**, N 2. — P. 407—416.
12. Quik P., Siegl G., Neuhaus E. et al. Short-term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose-phosphate synthase // Planta. — 1989. — **177**, N 3. — P. 535—546.
13. Roe J.H. A Colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine // J. Biol. Chem. — 1954. — **107**. — P. 15—22.
14. Schwab K.B., Gaff D.E. Influence of compatible solutes on soluble enzymes on sensitive *Sporobus pyramidalis* // J. Plant Physiol. — 1990. — **2**. — P. 208—215.
15. Sicher R., Kremer D. Changes of sucrose phosphate synthase activity in barley primary leaves during light/dark transitions // Plant Physiol. — 1984. — **76**. — P. 910—912.
16. Somogyi M. Notes on sugar determination // J. Biol. Chem. — 1952. — **195**, N 1. — P. 18—23.
17. Vassey T.L., Quick W.P., Sharkey T.D., Stitt M. Water stress, carbon dioxide and light effects on sucrose phosphate synthase activity in *Phaseolus vulgaris* // Physiol. Plant. — 1991. — **81**, N 1. — P. 37—44.
18. 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.
19. Jordanov I., Velikova V., Tsonev T. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance // Photosynthetica. — 2000. — **38**, N 1. — P. 171—186.
20. Zayed M.A., Zeid I.M. Effect of water and salt stresses on growth, chlorophyll, mineral ions and organic solutes contents, and enzymes activity in mung bean seedlings // Biol. Plant. — 1997. — **40**, N 3. — P. 351—356.

Отримано 28.01.2009

СИНТЕЗ И МЕТАБОЛИЗМ САХАРОЗЫ В ЛИСТЬЯХ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА

В.Д. Сакало, Е.А. Ларченко, В.М. Курчий

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Изучали метаболизм сахарозы в листьях проростков кукурузы разных генотипов в условиях водного дефицита. Установлена активация сахарозофосфатсинтазы (СФС) при краткосрочном (2 сут) водном дефиците у устойчивых к этому стрессу генотипов (Л 250, Л 390, гибрид F₁ Титан 220 СВ) и ингибирование — у среднеустойчивых гибридов F₁ Росава, F₁ Комета и неустойчивой линии Л 240. При продолжении водного стресса до 4 сут отмечено ингибирование СФС и увеличение накопления сахарозы и у устойчивых генотипов, что может быть одним из механизмов регуляции уровня сахарозы в клетках. При возобновлении полива активность СФС начинала повышаться, но с разной интенсивностью, независимо от стойкости генотипа к водному дефициту. Активность СФС, накопление сахарозы и увеличение ее содержания относительно крахмала могут быть дополнительными критериями оценки засухоустойчивости кукурузы.

SYNTHESIS AND SUCROSE METABOLISM IN THE LEAVES OF MAIZE SEEDLINGS UNDER WATER STRESS

V.D. Sakalo, K.A. Larchenko, V.M. Kurchii

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The metabolism of sucrose in the leaves of seedlings of different maize genotypes under water deficit was studied. It was found the activation of sucrose phosphate synthase (SPS) during short term (2 days) water deficit in tolerant genotypes (L 250, L 390, hybrid F₁ Titan 220 CB), but inhibition in middle tolerant F₁ Rosava, F₁ Cometa MB and in the non-tolerant L 240. During long term (4 days) water deficit the inhibition of SPS and increasing of the sucrose in the tolerant genotypes were detected, that might be one of the mechanisms of sucrose level regulation in the cells. When normal watering was restored the activity of SPS began increase, but with different intensity independently to the tolerance of genotypes to water deficit. It is concluded that activity of SPS, sucrose accumulation and increasing of its concentration relative to starch can be used as additional criteria of drought-resistance evaluation of maize.

Key words: *Zea mays* L., genotypes, drought, sucrose phosphate synthase, sucrose, starch.