

УДК 581.1.134.631

АКТИВНІСТЬ САХАРОЗОСИНТАЗИ ТА ІНВЕРТАЗИ В ЕТІОЛЬОВАНИХ ПРОРОСТКАХ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ

В.Д. САКАЛО, В.М. КУРЧІЙ

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

Вивчали вплив стресів засолення і водного дефіциту на функціонування ферментів сахарозосинтази (СС) та інвертази, накопичення вуглеводів в етіюльованих проростках гібридів кукурудзи з різною толерантністю до посухи: середньостійкого гібрида F₁ Росава та посухостійкого F₁ Титан 220 СВ. Установлено незначне (15—30 %) активування СС в реакції розщеплення сахарози в обох гібридах за умов засолення та інтенсивніше (30—81 %) — за водного стресу. На активність СС в реакції синтезу сахарози стреси засолення й водного дефіциту практично не впливали. Гідроліз сахарози кислою інвертазою в умовах засолення у гібрида F₁ Росава частково інгібувався, у стійкого гібрида F₁ Титан 220 СВ — дещо активувався (на 10—22 %). За водного дефіциту активність кислої інвертази залишалась на рівні контролю. Активність лужної інвертази в умовах засолення не змінювалась, за водного дефіциту — інгібувалась, особливо у F₁ Титан 220 СВ (55—65 %). У разі засолення підвищувались рівні сахарози (особливо в гібрида F₁ Росава) і моносахаридів, за водного дефіциту — тільки моносахаридів (12—19 %). Вірогідно, стреси засолення й водного дефіциту стимулюють сахарозосинтазний механізм розщеплення сахарози.

Ключові слова: *Zea mays* L., засолення, посуха, сахарозосинтаза, інвертаза, сахароза, моносахариди.

Засолення і водний стрес — взаємопов'язані абіотичні чинники, які значною мірою впливають на продуктивність рослин. Проблема засолення ґрунтів пов'язана з їх зрошенням та інтенсивним використанням добрив. Високий рівень засолення є причиною дисбалансу іонів, створення токсичного рівня цитоплазматичного натрію, водного стресу. Щоб зберегти клітинний метаболізм і захистити від руйнування компоненти клітин, рослини використовують кілька механізмів. Більшість рослин здатна адаптуватись до низького чи середнього рівня засолення, однак їх ріст гальмується, коли засолення перевищує 200 мМ NaCl. Сольовий і водний стреси спричинюють порушення основних біосинтетичних функцій, у тім числі фотосинтезу й вуглеводного метаболізму [8]. Інгібування метаболізму і росту має захисне значення в разі жорстких стресів, коли деструктивні процеси переважають над регенераційними. Зміна спрямованості метаболічних процесів на адаптацію до водного й сольового стресів виражається в акумуляції осмопротекторів, серед яких важливими є цукри, що можуть виконувати протекторну функцію за стресів різної природи, відома також їх захисна дія на білково-ліпідний комплекс мембран [4].

Різноманітність функцій вуглеводів зумовлює їх роль у регуляції стресів та адаптації рослин. Вважають, що метаболізм сахарози відіграє провідну роль в адаптації рослин до зневоднення. Оскільки стреси (зневоднення, засолення) призводять до значних функціональних порушень у рослинній клітині, актуальним залишається питання вивчення динаміки функціонування ферментів, які синтезують і включають сахарозу в метаболізм.

Характер метаболізму сахарози може великою мірою впливати на розвиток рослин та їх адаптацію до стресових умов, тому що сама сахароза або продукти її розщеплення здатні включатись у регуляцію різних систем [5, 13]. Сахароза може гідролізуватись інвертазою (КФ 3.2.1.26) або розщеплюватись СС (КФ 2.4.1.13). Ці ферменти каталізують включення сахарози в метаболізм і тим самим підтримують баланс між цукрами як сигнальними молекулами і метаболічними шляхами. Регуляція реакцій, здійснюваних СС та інвертазою, їх активність у тих чи інших тканинах — центральне питання вуглеводного обміну рослин. Обидва ці ферменти руйнують сахарозу *in vivo*, але продукти їх реакцій різняться. В результаті гідролізу сахарози інвертазою утворюються дві гексози, за розщеплення сахарози сахарозосинтазою — одна гексоза й уридиндифосфатглюкоза (УДФГ) [15]. Розщеплення сахарози сахарозосинтазою та гідроліз інвертазою стимулює низку фізіологічних процесів, які впливають на розвиток, формують реакцію на стреси. Розглядають гіпотезу щодо взаємозв'язку двох ферментів на різних етапах розвитку і пов'язаних із цим змін у відношенні моносахариди/сахароза, тобто клітинного рівня цукрів [2, 3, 14]. Ферменти, які включають сахарозу в метаболізм, відіграють важливу роль у розподілі й використанні моносахаридів у рослинах, підтриманні балансу між сигналами, що генеруються сахарозою. Інвертази — кисла і нейтральна — відіграють важливу, але різну роль у контролі метаболізму сахарози. Кисла (вакуолярна) інвертаза забезпечує гексозами процеси росту, експресується в дуже молодих тканинах, гідролізує сахарозу за великої потреби в гексозах, її активність негативно корелює з акумуляцією сахарози [11]. Лужна (цитоплазматична) інвертаза пов'язана з накопиченням сахарози, оскільки виявлена в тканинах рослин, які активно акумулюють сахарозу [6]. Функціонування СС в основному пов'язують із запасуючими тканинами. Вважають можливим взаємоперемикання інвертазного і сахарозосинтазного шляхів гідролізу й розщеплення сахарози, що впливає на спрямованість метаболізму, в тім числі в умовах, спричинених стресами.

Для цукрів характерна малоспецифічна захисна дія, що виявляється за стресів різноманітної природи, однак інтенсивність, спрямованість цих процесів може мати значну сортову специфіку, бо різні сорти різняться як за стійкістю до стресових чинників, так і за характером вуглеводного обміну [4]. Оскільки молекулярний рівень адаптації рослин є визначальним як генетично найбільш детермінований, активність ферментів може бути використана в ролі одного з показників стійкості до стресових чинників. До таких ферментів належать СС та інвертаза, які синтезують і включають у метаболізм сахарозу.

Метою нашої роботи було вивчення впливу стресів засолення й водного дефіциту на функціонування ферментів СС та інвертази, накопичення вуглеводів, їх метаболізм в етіологованих проростках гібридів кукурудзи, які різнились за здатністю адаптуватись до умов посухи.

Методика

Об'єктами дослідження були два гібриди кукурудзи: середньостійкий до посухи гібрид F₁ Росава і посухостійкий гібрид F₁ Титан 220 СВ селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.

Насіння кукурудзи стерилізували 7 %-м розчином H₂O₂ протягом 30 хв, розкладали в кювети (по 100 шт.) і пророщували на фільтрувальному папері за 21–22 °С в термостаті. Умови водного стресу створювали переведенням 6-добових етіольованих проростків на 48 год у 0,3 %-й розчин поліетиленгліколю-6000, засолення — переведенням на 48 год із дистильованої води в 0,2 %-й розчин NaCl.

Для виділення ферментів СС та інвертази наважку 500 мг етіольованих проростків розтирали в середовищі, яке містило 0,05 М *трис*-HCl буфер (рН 7,5), 1 мМ ЕДТА, по 10 мМ ДДТ і MgCl₂. Після центрифугування гомогенату за 20 000 g упродовж 20 хв надосадову рідину фракціонували сульфатом амонію в діапазоні 20–70 % насичення. Отриманий після центрифугування в тому самому режимі осад розчиняли в мінімальному об'ємі середовища виділення й діалізували протягом ночі проти того ж буфера, але розбавленого в 10 разів. У цьому діалізаті визначали вміст білків [7] і використовували його як джерело ферментів СС та інвертази. Всі операції з ферментами проводили на холоді.

Склад інкубаційного середовища для СС етіольованих проростків у реакції розщеплення сахарози: 0,1 М цитратний буфер (рН 6,4) — 50 мкл, УДФ — 2,5 мкмоль, сахароза — 20 мкмоль, ферментний препарат — 50 мкл. Активність визначали за фруктозою арсеномолібдатним методом [10]. Інкубаційне середовище для визначення активності СС в реакції синтезу сахарози: 0,2 М *трис*-HCl буфер (рН 7,3) — 50 мкл, УДФГ — 1 мкмоль, фруктоза — 3 мкмоль, ферментний препарат — 50 мкл (~100 мкг білка). Об'єм суміші — 0,2 мл. Активність визначали резорциновим методом Рое [9].

Інкубаційне середовище для нейтральної інвертази: 1/15 М калій-фосфатний буфер (рН 7,0) — 50 мкл, сахароза — 20 мкмоль, ферментний препарат — 50 мкл; для кислої інвертази: 1 М ацетатний буфер (рН 4,7) — 50 мкл, сахароза — 20 мкмоль, ферментний препарат — 50 мкл. Активність визначали арсеномолібдатним методом [10].

Для встановлення вмісту розчинних цукрів і крохмалю наважку проростків 500 мг фіксували киплячим етанолом і тричі екстрагували 80 %-м етанолом. Надосадову рідину, яка містила розчинні цукри, випарювали у фарфорових чашках досуха, цукри розчиняли у воді й використовували для визначення сахарози резорциновим методом [9], моносахариди — арсеномолібдатним методом [10]. У таблицях наведено середні арифметичні значення 4 дослідів зі стандартними відхиленнями.

Результати та обговорення

На відміну від зелених тканин, у яких сахарозу синтезує сахарозофосфатсинтаза, в етіольованих безхлорофільних тканинах сахарозу синтезує і включає в метаболізм сахарозосинтаза, активність якої не залежить від наявності світла.

Активність СС у реакції розщеплення сахарози в етіольованих проростках двох гібридів практично не відрізнялась. В умовах сольового стресу фермент дещо активувався: у середньостійкого гібрида F₁ Росава — на 15–25 %, у стійкого F₁ Титан 220 СВ — на 18–30 %. Активність фер-

АКТИВНОСТЬ САХАРОЗОСИНТАЗЫ И ИНВЕРТАЗЫ

менту в реакції синтезу сахарози була вдвічі вищою, ніж у реакції її розщеплення в обох гібридів. Стрес засолення не впливав на активність, тому відношення реакцій синтез/розщеплення сахарози знижувалось із 2,1–2,2 до 1,7 (табл. 1). Це можна пояснити тим, що NaCl-стрес порушує іонний баланс у клітинах і призводить до втрати Ca^{2+} і K^+ , які активують саме синтетичну спрямованість СС [12].

Істотніше впливав на активність СС в етіологованих проростках кукурудзи водний стрес. Так, за умов водного дефіциту в середньостійкого гібрида F_1 Росава питома активність сахарозосинтази в реакції розщеплення сахарози підвищувалась на 76 %, загальна — на 30 %, у посухостійкого гібрида F_1 Титан 220 СВ — відповідно на 44 і 81 %. Синтез сахарози за умов водного дефіциту активувався тільки у гібрида F_1 Росава (на 23 % питома активність), у F_1 Титан 220 СВ — практично залишався на рівні контролю. Синтетична спрямованість СС щодо реакції розщеплення за умов водного дефіциту знижувалась, особливо у посухостійкого гібрида F_1 Титан 220 СВ — з 3,9 до 2,1 (табл. 2).

ТАБЛИЦЯ 1. Активність сахарозосинтази в етіологованих проростках кукурудзи за умов засолення

Гібрид	СС/(мг білка · год)		СС / (г тканини · год)		Синтез/розщеплення	
	Контроль	Засолення	Контроль	Засолення	Контроль	Засолення
Розщеплення сахарози, мкмоль фруктози						
F_1 Росава	$\frac{4,6 \pm 0,05}{100}$	$\frac{5,3 \pm 0,01^*}{115}$	$\frac{25,4 \pm 0,2}{100}$	$\frac{31,7 \pm 0,1^*}{125}$	2,2	1,7
F_1 Титан 220 СВ	$\frac{4,9 \pm 0,1}{100}$	$\frac{5,8 \pm 0,05^*}{118}$	$\frac{24,3 \pm 0,1}{100}$	$\frac{31,6 \pm 0,2^*}{130}$	2,1	1,7
Синтез сахарози, мкмоль сахарози						
F_1 Росава	$\frac{10,0 \pm 1,0}{100}$	$\frac{8,8 \pm 0,5^*}{88}$	$\frac{55,7 \pm 0,9}{100}$	$\frac{53,2 \pm 0,4^*}{96}$	—	—
F_1 Титан 220 СВ	$\frac{10,2 \pm 0,2}{100}$	$\frac{9,9 \pm 0,1}{97}$	$\frac{50,5 \pm 0,5}{100}$	$\frac{54,2 \pm 0,4^*}{107}$	—	—

*Тут і в табл. 2–4, 6 — різниця вірогідна за $p = 0,05$ відносно контролю.

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив водного дефіциту на активність сахарозосинтази в етіологованих проростках кукурудзи

Гібрид	СС/(мг білка · год)		СС / (г тканини · год)		Синтез/розщеплення	
	Контроль	Засолення	Контроль	Засолення	Контроль	Засолення
Розщеплення сахарози, мкмоль фруктози						
F_1 Росава	$\frac{1,9 \pm 0,1}{100}$	$\frac{3,4 \pm 0,05^*}{176}$	$\frac{11,4 \pm 0,8}{100}$	$\frac{14,8 \pm 1,0^*}{130}$	3,2	2,5
F_1 Титан 220 СВ	$\frac{1,8 \pm 0,01}{100}$	$\frac{2,6 \pm 0,02^*}{144}$	$\frac{10,0 \pm 1,0}{100}$	$\frac{18,1 \pm 1,1^*}{181}$	3,9	2,1
Синтез сахарози, мкмоль сахарози						
F_1 Росава	$\frac{6,0 \pm 0,5}{100}$	$\frac{7,4 \pm 0,2^*}{123}$	$\frac{35,1 \pm 1,1}{100}$	$\frac{36,7 \pm 0,8}{105}$	—	—
F_1 Титан 220 СВ	$\frac{7,0 \pm 0,2}{100}$	$\frac{5,5 \pm 0,1^*}{79}$	$\frac{38,3 \pm 0,9}{100}$	$\frac{37,7 \pm 1,2}{98}$	—	—

Отже, стрес водного дефіциту інтенсивніше активує СС у реакції розщеплення сахарози, ніж засолення, як у середньостійкого гібрида F₁ Росава, так і у стійкого F₁ Титан 220 СВ. На реакцію синтезу сахарози ці стреси практично не впливали, тому відношення реакцій синтез/розщеплення сахарози знижувалось.

В етіолованих проростках кукурудзи виявлено інвертазу, яка представлена кислую (вакуолярною) і лужною (цитоплазматичною) формами. Порівняння питомих активностей обох ферментів (СС та інвертази), які беруть участь у включенні сахарози в метаболізм, дає підставу при-

ТАБЛИЦЯ 3. Активність інвертази в етіолованих проростках кукурудзи за умов засолення

Гібрид	Фруктоза			
	мкмоль/(мг білка · год)		мкмоль/(г тканини · год)	
	Контроль	Засолення	Контроль	Засолення
Кисла інвертаза				
F ₁ Росава	$\frac{8,8 \pm 0,5}{100}$	$\frac{6,1 \pm 0,1^*}{69}$	$\frac{49,2 \pm 2,5}{100}$	$\frac{36,7 \pm 0,5^*}{75}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{8,2 \pm 0,4}{100}$	$\frac{9,0 \pm 0,1^*}{110}$	$\frac{40,4 \pm 2,0}{100}$	$\frac{49,2 \pm 1,2^*}{122}$
Лужна інвертаза				
F ₁ Росава	$\frac{2,9 \pm 0,1}{100}$	$\frac{3,0 \pm 0,05}{103}$	$\frac{32,9 \pm 0,5}{100}$	$\frac{35,7 \pm 0,2^*}{108}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{3,1 \pm 0,02}{100}$	$\frac{3,1 \pm 0,01}{100}$	$\frac{30,0 \pm 0,08}{100}$	$\frac{34,6 \pm 0,04^*}{115}$

ТАБЛИЦЯ 4. Вплив водного дефіциту на активність інвертази в етіолованих проростках кукурудзи

Гібрид	Фруктоза			
	мкмоль/(мг білка · год)		мкмоль/(г тканини · год)	
	Контроль	Посуха	Контроль	Посуха
Кисла інвертаза				
F ₁ Росава	$\frac{6,2 \pm 0,3}{100}$	$\frac{6,45 \pm 0,2}{104}$	$\frac{35,0 \pm 2,0}{100}$	$\frac{29,8 \pm 0,2^*}{85}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{6,45 \pm 0,3}{100}$	$\frac{5,45 \pm 0,1^*}{84}$	$\frac{36,4 \pm 2,4}{100}$	$\frac{37,9 \pm 0,3}{104}$
Лужна інвертаза				
F ₁ Росава	$\frac{2,9 \pm 0,4}{100}$	$\frac{2,7 \pm 0,2}{93}$	$\frac{16,5 \pm 0,4}{100}$	$\frac{12,5 \pm 0,2^*}{76}$
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{4,8 \pm 0,4}{100}$	$\frac{1,7 \pm 0,1^*}{35}$	$\frac{24,7 \pm 1,3}{100}$	$\frac{12,2 \pm 0,4^*}{45}$

ТАБЛИЦЯ 5. Вплив стресів засолення і водного дефіциту на співвідношення активностей ферментів сахарозсинтази й інвертази

Гібрид	Сахарозсинтаза/інвертаза			
	Контроль	Засолення	Контроль	Посуха
F ₁ Росава	0,52	0,87	0,31	0,52
F ₁ Титан 220 СВ	0,60	0,64	0,28	0,48

ТАБЛИЦА 6. Влияние стрессов засоления та водного дефицита на вміст сахарози і моносахаридів в етіюльованих проростках кукурудзи (мкмоль/г сухої тканини)

Гібрид	Сахароза		Моносахариди/сахароза		Сахароза		Моносахариди		Моносахариди/сахароза				
	Контроль	Засолення	Контроль	Засолення	Контроль	Посуха	Контроль	Посуха	Конт-роль	Посуха			
F ₁ Росава	$\frac{215,3 \pm 1,0}{100}$	$\frac{386,6 \pm 19,0^*}{179}$	$\frac{1247,0 \pm 42,0}{100}$	$\frac{1408,8 \pm 22,0^*}{113}$	$\frac{234,8 \pm 21,0}{100}$	$\frac{253,8 \pm 10,2}{109}$	$\frac{1605,4 \pm 30,0}{100}$	$\frac{1804,8 \pm 64,0^*}{112}$	5,8	3,6	5,8	6,9	7,1
F ₁ Титан 220 СВ	$\frac{260,2 \pm 2,2}{100}$	$\frac{309,8 \pm 10,0^*}{119}$	$\frac{1499,0 \pm 28,0}{100}$	$\frac{1743,3 \pm 20,0^*}{116}$	$\frac{190,1 \pm 0,6}{100}$	$\frac{171,9 \pm 0,5}{90}$	$\frac{1586,3 \pm 34,0}{100}$	$\frac{1884,3 \pm 50,0^*}{119}$	5,8	6,7	5,8	8,3	11,0

пустити, що в етіюльованих проростках кукурудзи інвертазний шлях гідролізу сахарози переважає над сахарозосинтазним. Водночас активність кислої інвертази в 2—3 рази вища за активність лужної. Кисла інвертаза за умов засолення у гібрида F₁ Росава на 25 % інгібувалась, а в гібрида F₁ Титан 220 СВ — на 10—22 % активувалась. Активність лужної інвертази за умов засолення в обох генотипах залишалась практично на рівні контролю (табл. 3).

Водний дефіцит практично не впливав на активність кислої інвертази в етіюльованих проростках обох гібридів, а лужна інвертаза у стійкого до цього стресу гібрида F₁ Титан 220 СВ значно інгібувалась (на 55—65 %) (табл. 4).

Враховуючи головну роль кислої інвертази у гідролізі сахарози, її високу питому активність порівняно з СС, цікаво визначити, який шлях включення сахарози в метаболізм превалює в умовах стресу за відношенням питомих активностей ферментів СС (реакція розщеплення сахарози) та кислої інвертази. За контрольних умов сахарозу в обох гібридах інтенсивніше гідролізує кисла інвертаза (табл. 5), за стресу засолення над інвертазним починає переважати сахарозосинтазний шлях розщеплення сахарози, але тільки у гібрида F₁ Росава. За умов посухи сахарозосинтазний шлях розщеплення сахарози починає переважати над її гідролізом кислою інвертазою в обох гібридів. Вважають, що активність інвертаз практично не змінюється в умовах стресу [1]. За нашими даними, стреси засолення та водного дефіциту практично не активують інвертазний шлях гідролізу сахарози.

Синтетична активність СС забезпечує високий рівень сахарози в етіюльованих проростках кукурудзи. Стрес засолення спричинює підвищення рівня сахарози у гібрида F₁ Росава на 79 %, у гібрида F₁ Титан 220 СВ — на 19 %. За контрольного рівня активності синтезу сахарози сахарозосинтазою в цих умовах підвищення вмісту сахарози можна пояснити її невикористанням у метаболізмі й накопиченням як осмопротектора (табл. 6). Незначне підвищення вмісту моносахаридів (на 13—16 %) корелює з активуванням СС в реакції розщеплення сахарози, знижує співвідношення моносахаридів і сахарози у гіб-

рида F₁ Росава. У гібрида F₁ Титан 220 СВ рівні сахарози і моносахаридів незначно підвищувались, а їх співвідношення практично не змінювалось. Стрес водного дефіциту практично не впливав на вміст сахарози, а рівень моносахаридів у проростках обох гібридів кукурудзи підвищувався всього на 12—19 %, тому відношення вмісту моносахаридів до вмісту сахарози збільшувалось в обох гібридів. Вірогідно, в разі засолення осмолпротекторами є сахароза і меншою мірою моносахариди, за водного стресу — тільки моносахариди.

Отже, стреси засолення й водного дефіциту впливають на активність ключових ферментів метаболізму сахарози — сахарозосинтази та інвертази в етіюльованих проростках гібридів кукурудзи. За умов засолення й більшою мірою за водного стресу активується фермент СС в реакції розщеплення сахарози, а синтетична спрямованість реакції не змінюється. Помічене збільшення вмісту сахарози, особливо у гібрида F₁ Росава за умов засолення, можна пояснити невикористанням її в метаболізмі. За умов засолення гідроліз сахарози слабо інгібується кислотою інвертазою тільки у проростках гібрида F₁ Росава. У гібрида F₁ Титан 220 СВ цей фермент значно інгібується за водного дефіциту, тому невелике підвищення рівня моносахаридів може бути пов'язане тільки з активуванням СС в реакції розщеплення сахарози. Співвідношення активностей СС та інвертази підтверджує, що стреси засолення й водного дефіциту стимулюють сахарозосинтазний шлях розщеплення сахарози.

1. Пшибытко Н.Л., Калитуха Л.М., Волкова О.В., Кабашикова Л.Ф. Роль сахаров в адаптации фотосинтетического аппарата к стрессовым факторам // Физиология и биохимия культ. растений. — 2003. — 35, № 4. — С. 330—341.
2. Borisjuk L., Rolletschek H., Wobus U., Weber H. Differentiation of legume cotyledons as related to metabolic gradients and assimilate transport into seeds // J. Exp. Bot. — 2003. — 54. — P. 503—512.
3. Borisjuk L., Walenta S., Rolletschek H. et al. Spatial analysis of plant metabolism: sucrose imaging within *Vicia faba* cotyledons reveals specific developmental patterns // Plant J. — 2002. — 29. — P. 521—530.
4. Caffery M., Fonseca V., Carl Leopold A. Lipid-sugar interaction relevance to anhydrous biology // Plant Physiol. — 1988. — 86, N 3. — P. 754—758.
5. Hajirezaei M.R., Bornke F., Peisker M. et al. Decreased sucrose content triggers starch breakdown and respiration in stored potato tubers (*Solanum tuberosum*) // J. Exp. Bot. — 2003. — 54. — P. 477—488.
6. Klotz K.L., Finger F.L. Sucrose catabolism during sugar beet root development. Changes in sucrolytic isoenzyme activities and carbohydrate accumulation during growth // J. Sugar Beet Res. — 2001. — 38, N 1. — P. 81—87.
7. 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.
8. Meyer S., Genty B. Heterogeneous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubiginosa* L. during water stress and abscisic acid treatment induction of a metabolic component by limitation of CO₂ diffusion // Planta. — 1999. — 210, N 1. — P. 126—131.
9. Roe J.H. A Colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine // J. Biol. Chem. — 1954. — 107. — P. 15—22.
10. Somogyi M. Notes on sugar determination // Ibid. — 1952. — 195, N 1. — P. 18—23.
11. Sturm A., Tang G.Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning // Trends. Plant Sci. — 1999. — 4. — P. 401—407.
12. Tarakcioglu C., Inal A. Changes induced by salinity, demarcating specific ion ratio (Na/Cl) and osmolality in ion and proline accumulation, nitrate reductase activity and growth performance of lettuce // J. Plant Nutrition. — 2002. — 25. — P. 27—41.
13. Vaughn M.W., Harrington G.N., Bush D.R. Sucrose-mediated transcriptional regulation of sucrose symporter activity in phloem // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2002. — 99. — P. 10876—10880.

14. *Weschke W., Panitz R., Gubatz S. et al.* The role of invertases and hexose transporters in controlling sugar ratios in maternal and filial tissues of barley caryopses during early development // *Plant J.* — 2003. — **33**. — P. 395—411.
15. *Winter H., Huber S.C.* Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization of activity of key enzymes // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* — 1996. — **47**. — P. 509—540.

Отримано 11.03.2009

АКТИВНОСТЬ САХАРОЗОСИНТАЗЫ И ИНВЕРТАЗЫ В ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКАХ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

В.Д. Сакало, В.М. Курчий

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Изучали влияние стрессов засоления и водного дефицита на функционирование ферментов сахарозосинтазы (СС) и инвертазы, накопление углеводов в этиолированных проростках гибридов кукурузы с разной толерантностью к засухе: среднеустойчивого гибрида F₁ Росава и засухоустойчивого F₁ Титан 220 СВ. Установлена незначительная (15—30 %) активность СС в реакции расщепления сахарозы в обоих гибридах в условиях засоления и более интенсивная (30—81 %) — при водном стрессе. На активность СС в реакции синтеза сахарозы стрессы засоления и водного дефицита практически не влияли. Гидролиз сахарозы кислой инвертазой в условиях засоления у гибрида F₁ Росава частично ингибировался, у устойчивого гибрида F₁ Титан 220 СВ — незначительно активировался (10—22 %). При водном дефиците активность кислой инвертазы оставалась на уровне контроля. Активность щелочной инвертазы в условиях засоления не изменялась, при водном дефиците — ингибировалась, особенно в F₁ Титан 220 СВ (55—65 %). В условиях засоления повышались уровни сахарозы (особенно у гибрида F₁ Росава) и моносахаридов, а при водном дефиците — только моносахаридов (на 12—19 %). Вероятно, стрессы засоления и водного дефицита стимулируют сахарозосинтазный механизм расщепления сахарозы.

ACTIVITY OF SUCROSE SYNTHASE AND INVERTASE IN THE MAIZE ETIOLATED SEEDLINGS UNDER ACTION OF STRESS FACTORS

V.D. Sakalo, V.M. Kurchii

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

The effect of salinity and water deficit on functioning of sucrose synthase and invertase enzymes, carbohydrate accumulation in the etiolated seedlings of maize hybrids of different tolerance to drought: middle tolerant F₁ Rosava and tolerant F₁ Titan 220 CB have been studied. It was found small (15—30 %) activity sucrose synthase in the reaction of sucrose cleavage in both hybrids in salinity conditions and more intensive (30—81 %) under water deficit. At the same time the activity of sucrose synthase in the reaction of sucrose synthesis was not changed under these conditions. Hydrolysis of sucrose by an acid invertase in the salinity conditions in the hybrid F₁ Rosava was inhibited partially, but in the tolerant hybrid F₁ Titan 220 CB was detected small activation (10—22 %). Under water deficit the activity of acid invertase was compared to control. The activity of alkaline invertase under salinity was not changed and under water deficit was inhibited, especially in F₁ Titan 220 CB (55—65 %). In the salinity conditions it is shown the increasing in sucrose (especially in hybrid F₁ Rosava) and hexoses levels, but under water deficit only hexose quantity was increased (12—19 %). It is possible that salinity and water deficit stimulated the sucrose synthase path of the sucrose cleavage.

Key words: *Zea mays* L., salinity, drought, sucrose synthase, invertase, monosugars.