

Експресія аквапорину *PIP2;1* як ознака посухостійкості гібридів *Zea mays* L. за умов зниженої вологості ґрунту

Г. В. Шевченко*, І. І. Овруцька, Ю. В. Овчаренко

Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська, 2, м. Київ, 01601, Україна,
*e-mail: galli.shevchenko@gmail.com

Мета. Дослідити експресію аквапорину *PIP2;1* у гібридів кукурудзи 'Достаток' і 'Флагман' (посухостійкі), а також у 'Переяславський' та 'Яхта' (помірно посухостійкі), які 10 діб зростали в умовах зниженої вологості субстрату (30%). Оцінити можливий вплив ліпідів та жирних кислот цитоплазматичної мембрани на функціонування *PIP2;1* за таких умов. **Методи.** Біохімічні: виявлення складу ліпідів та жирних кислот фракції цитоплазматичної мембрани коренів рослин (рідинна хроматографія); молекулярно-біологічні: дослідження відносної експресії аквапорину *PIP2;1* (полімеразна ланцюгова реакція, ПЛР); морфометричні виміри та статистичні методи обробки результатів. **Результати.** Показано, що в гібридів кукурудзи 'Переяславський' та 'Яхта' експресія *PIP2;1* знижувалася, а в 'Достаток' та 'Флагман', навпаки, підвищувалася. У коренях 'Достаток' і 'Флагман' в умовах зниженої вологості субстрату фіксували менший дефіцит води порівняно з 'Переяславський' та 'Яхта'. Крім того, у цитоплазматичній мембрані всіх гібридів збільшувалася кількість стеринів і фосфоліпідів. **Висновки.** Зниження експресії *PIP2;1*, відзначене в 'Переяславський' та 'Яхта', є характерним для нестійких рослин і свідчить про їхню реакцію на зниження вологості субстрату та протидію зневодненню, оскільки менша кількість аквапоринів забезпечує утримання води в клітинах. Водночас, за вологості субстрату 30% експресія *PIP2;1* у посухостійких гібридів 'Достаток' та 'Флагман', навпаки, підвищувалася на фоні меншого водного дефіциту коренів (порівняно з 'Переяславський' та 'Яхта'). Цілоком імовірно, що посилена експресія ізоформи *PIP2;1* саме в 'Достаток' та 'Флагман' є специфічним індикатором посухостійкості гібридів. Отримані дані є важливими для вдосконалення селекції посухостійких гібридів кукурудзи.

Ключові слова: кукурудза; аквапорин *PIP2;1*; стерини; фосфоліпіди; ненасичені жирні кислоти; корені; водний дефіцит; посухостійкість.

Вступ

Дефіцит вологи є одним з основних абіотичних стресів, що впливає на врожайність, тому актуальності набуває дослідження механізмів адаптаційних можливостей рослин, зокрема сільськогосподарських культур. Відомо, що однією з первинних мішеней зовнішнього стресу є цитоплазматична мембрана клітин [1], яка реагує на нестачу вологи біохімічними перебудовами ліпідного бішару та зміною його в'язкості. Плинний стан цитоплазматичної мембрани та активність аквапоринів забезпечують стає функціонування мембрани в умовах нестачі вологи.

Невеликі гідрофобні білки аквапорини (27–30 кДа) у мембранах клітин організовані у вигляді висококонсервативних тетрамерних структур [2–4]. Аквапорини формують трансмембранні канали, завдяки яким між клітинами відбувається пасивний транспорт води та розчинених речовин, що є основним водним шляхом в умовах посухи [5]. У геномі *Zea mays* L. виявлено 36 генів, які кодуєть аквапорини [6]. Найчисельніша родина аквапоринів рослин – це PIP-аквапорини цитоплазматичної мембрани (plasma membrane intrinsic proteins), яку поділяють на дві групи: PIP1 та PIP2. Аквапорини групи PIP2 експресується переважно в коренях рослин і характеризуються більшою здатністю пропускати воду порівняно з PIP1-аквапоринами [5, 7].

Оскільки PIP2-аквапорини відіграють важливу роль у водному балансі клітин, рівень експресії їхніх генів може змінюватися під час зневоднення ґрунту. Відомо, що дефіцит

Galina Shevchenko
<https://orcid.org/0000-0001-5826-025X>

Iryna Ovrutskaya
<https://orcid.org/0000-0002-5829-1424>

Yuliia Ovcharenko
<https://orcid.org/0000-0002-5527-504X>

вологи посилює функціонування аквапоринів та збільшує кількість їхніх транскриптів [8]. Функціонування аквапоринів залежить також від жорсткості ліпідного бішару цитоплазматичної мембрани клітин, тому для розуміння природи посухостійкості гібридів кукурудзи важливо досліджувати склад ліпідів мембрани, визначати рівень функціонування аквапоринів та виявляти їхню роль у реакції рослин на зниження вологості ґрунту.

Мета досліджень – дослідити молекулярні ознаки посухостійкості гібридів кукурудзи, а саме кількісний та якісний склад ліпідів цитоплазматичної мембрани коренів і рівень експресії ізоформи аквапорину *PIP2;1*. В експерименті порівнювали посухостійкі гібриди кукурудзи ('Достаток', 'Флагман') з помірно посухостійкими ('Переяславський', 'Яхта') за умов зниженої вологості субстрату (30%). Поряд із цим, оцінювали морфологічні показники коренів (довжина), визначали водний дефіцит коренів та листків, а також склад жирних кислот цитоплазматичної мембрани.

Матеріали та методика досліджень

Умови вирощування рослин. У вегетаційних дослідках вирощували рослини *Z. mays* чотирьох гібридів: 'Достаток' (посухостійкий та екологічно пластичний), 'Переяславський' (помірно посухостійкий) – оригінатор Інститут фізіології рослин і генетики НАН України (м. Київ), а також 'Флагман' (посухостійкість висока) і 'Яхта' (посухостійкість помірна) – оригінатор Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення (м. Одеса). Зернівки гібридів кукурудзи отримували у 2014–2017 рр., зберігали за температури повітря 12–14 °C у темряві в паперових конвертах із сілікогелем.

Зернівки попередньо замочували водою на фільтрувальному папері в темряві впродовж трьох діб. Субстратом для вирощування було обрано пісок, визначено його повну вологоємність та розраховано необхідну вологість, яка становила 15,9 г води на 100 г сухого субстрату (піску) за 70% від повної вологоємності (контроль) та 6,8 г води на 100 г сухого субстрату за 30% від повної вологоємності (експеримент) [9]. Тридобові проростки кукурудзи висаджували у вегетаційні посудини (діаметром 28 см, по 20 рослин у кожній, заповнені піщаним субстратом з вологістю 70%). Рослини зростали під прозорим тентом упродовж вегетаційного сезону (травень–липень), вологість субстрату моніторили через день. В експерименті

вологість субстрату поступово доводили до 30% від повної вологоємності шляхом припинення поливу й на такому субстраті рослини вирощували впродовж наступних 10 діб. Для експериментів використовували рослини у фазі п'ятого листка (за Ф. М. Куперман), віком 21–22 доби. Матеріал для молекулярно-біологічних реакцій відбирали на 10 годину в день виділення РНК з рослин. Вимірювали довжину головного кореня ($n = 75$ для кожного зразка) та визначали водний дефіцит листків та коренів ($n = 30$ для кожного зразка), який розраховували за формулою: водний дефіцит = $100 \times [(\text{кількість води, яка насичує орган}) - (\text{вихідна кількість води})] / \text{кількість води, яка насичує орган}$ [9]. Експерименти проводили у трьох біологічних повторях.

Дослідження експресії гена *PIP2;1*. Пошук гена аквапорину *PIP2;1* здійснювали за допомогою програми BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) у міжнародній базі даних GenBank, під час добору та перевірки праймерів до ділянки ДНК, яка кодує консервативну частину білка *PIP2;1*, використовували сервіс BLAST on-line (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Праймери синтезували на замовлення комерційною компанією Metabion International AG (Germany).

Експресію гена аквапорину *PIP2;1* оцінювали методом напівкількісної зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на підставі накопичення продуктів ПЛР (ампліконів). Для ізолювання загальної РНК брали наважку 100 мг коренів досліджуваних рослин, гомогенізували в ступці на льоду й проводили виділення, застосовуючи реактиви набору innuPREP Plant RNA kit («AJ Innuscreen GmbH», Germany) згідно з методикою виробника. Кількісний аналіз РНК здійснювали спектрофотометричним методом (ураховували показники за довжини хвилі 260 та 280 нм), а перевірку цілісності РНК – через електрофорез в 1%-му агарозному гелі. РНК зберігали за -70 °C щонайдовше впродовж трьох діб. Зворотну транскрипцію РНК (1 μg) проводили на ампліфікаторі «Терцик» (ДНК-технологія, Росія), використовуючи набір Revert AidH Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific).

Для визначення експресії гена аквапорину *PIP2;1* застосовували специфічні праймери: 5'- GTT CCA GAG CGC CTA CTT C -3', 5'- GGG CTT GTC CTT GTT GTA GAT -3' (довжина продукту – 297 пар нуклеотидних послідовностей). Щільність амплікону аквапорину *PIP2;1* порівнювали з такою гена *18S rRNA*

(internal control) із праймерами: 5'- GCG AAA GCA TTT GCC AAG G - 3', 5'- ATT CCT GGT CGG CAT CGT TTA - 3' (довжина продукту – 104 пари нуклеотидних послідовностей). Програма ампліфікації включала такі етапи: початкова денатурація – 95 °С, 3 хв, 25 циклів: 95 °С, 30 с; асоціація праймерів: 59 °С, 30 с; синтез: 72 °С, 30 с; інкубація: 72 °С, 1 хв. Зупиняли реакцію, охолоджуючи зразки до 4 °С. За негативний контроль брали розчин для ампліфікації без кодуєчої ДНК зразка. Продукт ампліфікації розділяли у 1,5%-му агарозному гелі з TRIS-ацетатним буфером у присутності бромистого етидію та візуалізували в ультрафіолетовому світлі за допомогою системи Bio-Vision (Vilber Lourmat). Маркер для ДНК – 1 Kb Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific. Щільність ампліконів вимірювали за допомогою програми GelAnalyzer2010a (www.GelAnalyzer.exe). Рівень відносної експресії аквапорину *PIP2;1* розраховували, зважаючи на співвідношення щільності в гелі продуктів зразків зі щільністю продукту гена *18S rRNA* у зразках, який брали за одиницю (рис. 1).

Дослідження фракції цитоплазматичної мембрани. Мікросомальну фракцію, збагачену фрагментами плазмалеми, отримували з коренів кукурудзи методом двофазної водно-полімерної системи [10] із використанням центрифуги Optima L-90K (Beckman). Чистоту фракції перевіряли за допомогою електронної мікроскопії після специфічного забарвлення везикул цитоплазматичної мембрани фосфорно-вольфрамовою кислотою (ФВК) [11]. Для цього фракцію плазмалеми фіксували глютаровим альдегідом та обробляли

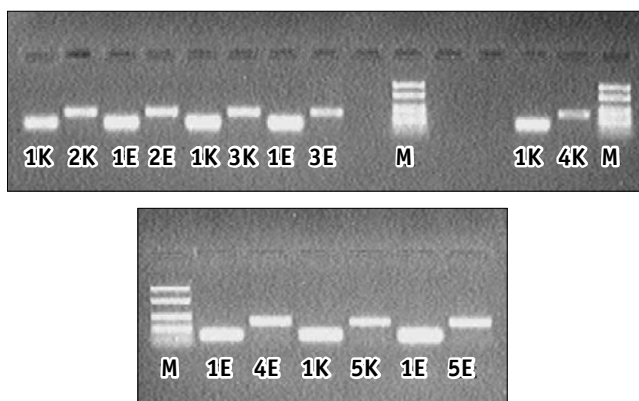


Рис. 1. Агарозний гел-електрофорез продуктів реакції зворотньої транскрипції аквапорину *PIP2;1*:

М – молекулярний маркер; 1 – *18S rRNA* – внутрішній контроль для усіх гібридів; 2 – *PIP2;1* гібрида 'Переяславський'; 3 – *PIP2;1* гібрида 'Достаток'; 4 – *PIP2;1* гібрида 'Яхта'; 5 – *PIP2;1* гібрида 'Флагман'. К – контроль, вологість субстрату 70%; Е – експеримент, вологість субстрату 30%

згідно зі стандартною методикою для електронної мікроскопії. На ультратонких зрізах підраховували відношення пофарбованих ФВК везикул до непофарбованих (рис. 2). Чистота фракції становила в середньому 52–55% (n = 5).

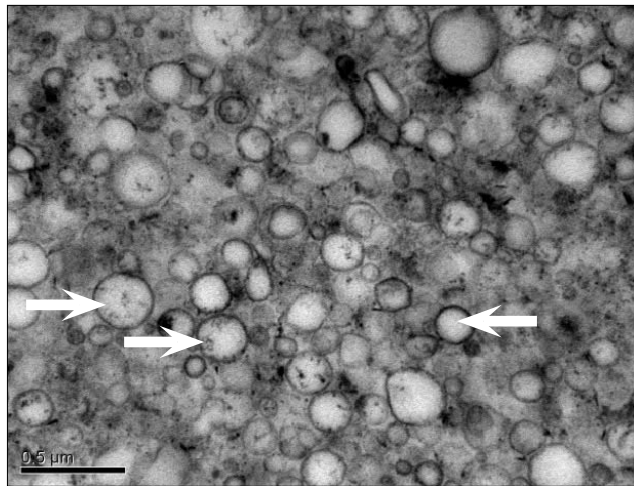


Рис. 2. Мікросомальна фракція коренів кукурудзи, збагачена фрагментами плазмалеми
(Стрілками позначені везикули плазмалеми. Масштаб: 0,5 мкм)

Ліпідний склад фракції цитоплазматичної мембрани аналізували за допомогою вискоєфективної фазової рідинної хроматографії на системі Agilent 1100 в центрі ВЕРХ, Національний ботанічний сад імені М. М. Гришка НАН України (м. Київ). Для виділення ліпідних складників відокремлені від буферу препарати цитоплазматичної мембрани екстрагували ізопропанолом з розрахунку 2 мл на 50 мг маси виділеної мембрани. Середньо-, мало- та неполярні метаболіти, зокрема стерини та фосфоліпіди, оцінювали напівкількісно (загальний пул, хроматографічний профіль).

Для отримання ліпідних профілів, що включають стерини та їхні ефіри з ЖК, та фосфоліпіди застосовували триелюентну схему (елюент А = 0,01 М водний розчин ортофосфорної кислоти; В не використовувався; С = ацетонітрил; D = ізопропанол) на колонці Thermo Scientific Hypersil™ BDS C18, 3µm, 2.1 × 100 mm. Текстове та графічне оформлення даних виконувалося в MS Word 2010, MS Excel 2010 та Corel Draw X3. Положення фосфоліпідів на хроматограмі визначали за стандартним препаратом фосфоліпідів насіння сої (Sigma), а стеринів – за стандартом стігмастеролу (стандартний розчин стігмастеролу 10 мкг/мл, у хлороформі, Supelco) (рис. 3).

Аналіз жирних кислот (ЖК) проводили після лужного гідролізу мембранних фосфо-

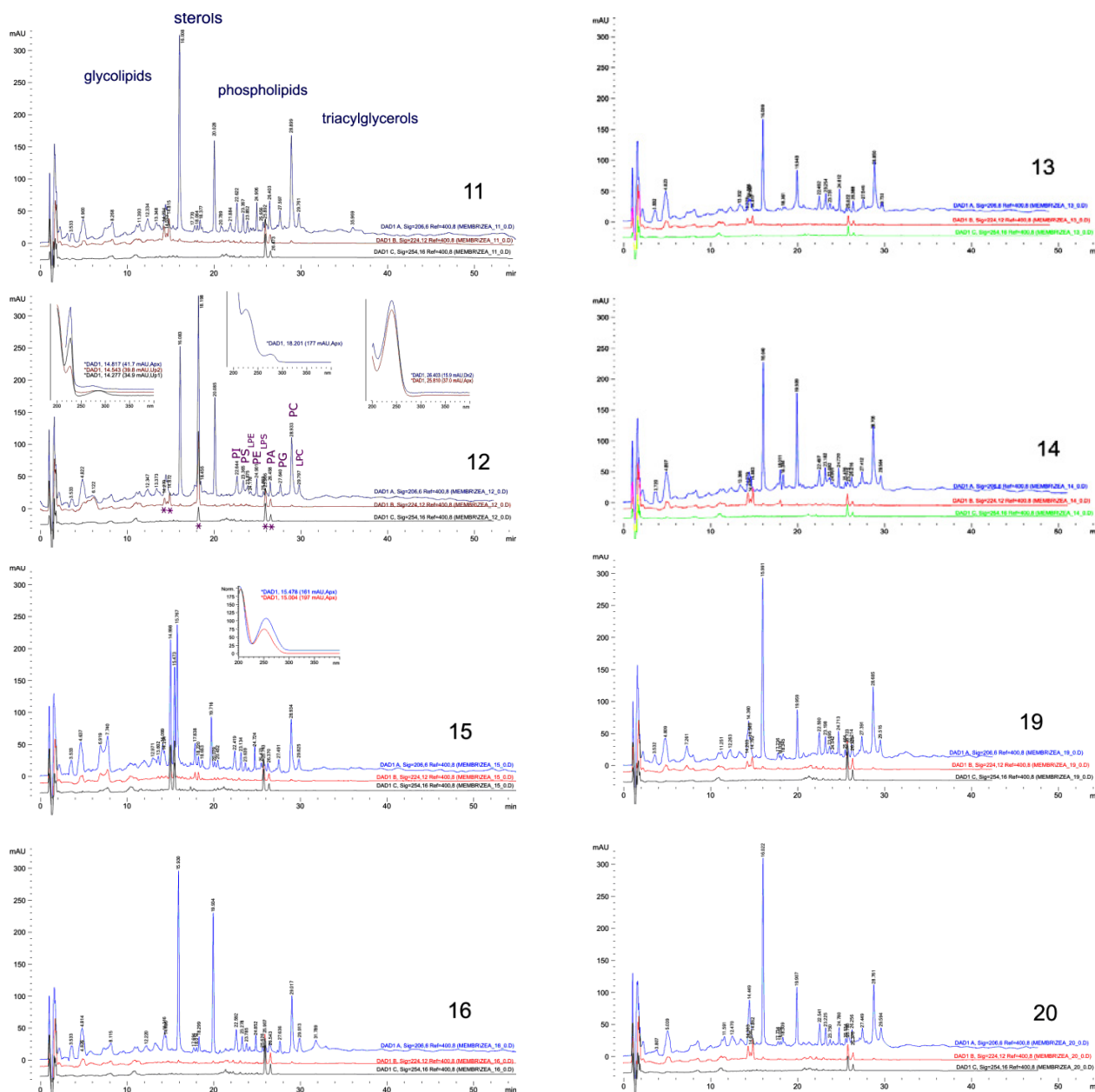


Рис. 3. Хроматографічні профілі ліпідів плазмалеми, включно зі стеринами та фосфоліпідами гібридів кукурудзи: 'Переяславський' (11 – контроль: 70% вологості субстрату, 12 – дослід: 30% вологості субстрату); 'Яхта' (13 – контроль, 14 – дослід); 'Достаток' (15 – контроль, 16 – дослід); 'Флагман' (19 – контроль, 20 – дослід)

ліпідів у вигляді n-бромфенацилових похідних за допомогою обернено-фазової високо-ефективної рідинної хроматографії на системі Angilent 1100. Використовували двоелюентну систему (елюент А – 0,05 М водний розчин ортофосфорної кислоти; елюент В – метанол) на колонці Angilent ZORBAX Eclipse XDB-C18, 5 мкм, 4,6 × 250 мм. Базове детектування ЖК проводили на 258 нм, поріг виявлення ЖК > 0,02–0,03-мольних %, аналітична похибка < 2%. Жирині кислоти ідентифікували, порівнюючи відносний час утримання піків зі стандартами [12]. Коефіцієнт ненасиченості (К) ЖК визначали як відношення: \sum ненасичених ЖК / \sum насичених ЖК.

Експерименти виконували в трьох біологічних повторях. Статистично отримані дані обробляли за допомогою програми Microsoft Excel 2013. Для кожного показника визначали його середнє значення та стандартне відхилення від середнього значення.

Результати досліджень

Дослідження ростових параметрів коренів гібридів кукурудзи виявили тенденцію до збільшення загальної довжини головного кореня як у посухостійких гібридів – 'Достаток' та 'Флагман', так і в помірно посухостійкого гібрида 'Яхта' за умов вологості субстрату 30% (рис. 4).

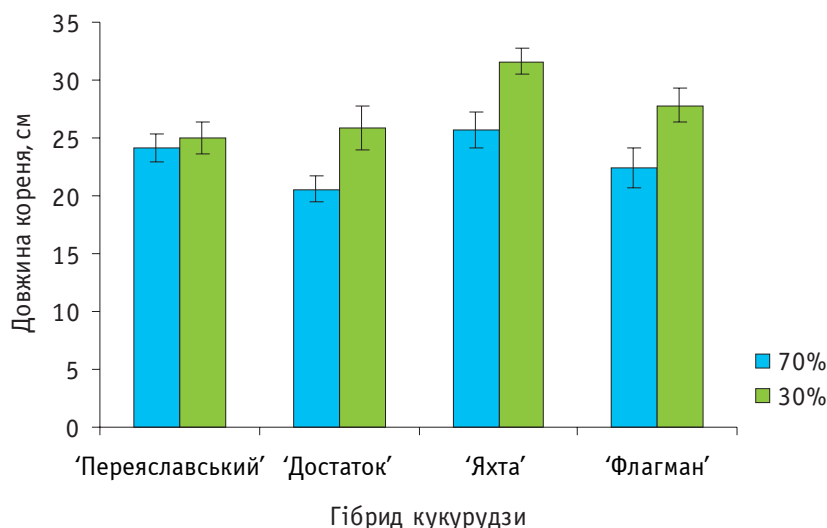


Рис. 4. Середня довжина коренів гібридів *Z. mays* L. за умов вологості субстрату 70 та 30% (n = 75 для кожного зразка)

Збільшення довжини головного кореня є неспецифічною реакцією рослин на умови зменшення вологості субстрату, адже довша та розлогіша коренева система забезпечує виживання в умовах дефіциту води [13]. У зв'язку із цим, цікавим виявляється майже стала довжина головного кореня гібрида 'Переяславський' (рис. 4).

Дослідження водного дефіциту коренів виявили підвищення цього показника в помірно посухостійких гібридів 'Переяславський' та 'Яхта' (у 'Яхта' – істотно), що свідчить про реакцію рослин на стресові умови (рис. 5).

У посухостійких гібридів 'Достаток' та 'Флагман' водний дефіцит коренів за вологості субстрату 30% був незначним, що доводить стійкість рослин до таких умов. Ви-

міри водного дефіциту листків, навпаки, не виявили достовірної зміни в усіх гібридів кукурудзи (не показано), що свідчить про той факт, що 30%-ва вологість субстрату впродовж 10 діб помітно не впливає на стан листків досліджуваних гібридів.

Визначення відносної експресії аквапорину *PIP2;1* виявило її зниження в помірно посухостійких гібридів 'Переяславський' та 'Яхта' (рис. 6), що є результатом протидії рослин утраті води.

Це є неспецифічною ознакою нестійких до посухи рослин, оскільки аналогічні спостереження були зроблені для багатьох сільськогосподарських культур [14]. Згідно з [15], і в *Arabidopsis thaliana* шість генів *PIP2*-групи, які експресуються в коренях, під впливом посухи виявляли суттєве зниження накопи-

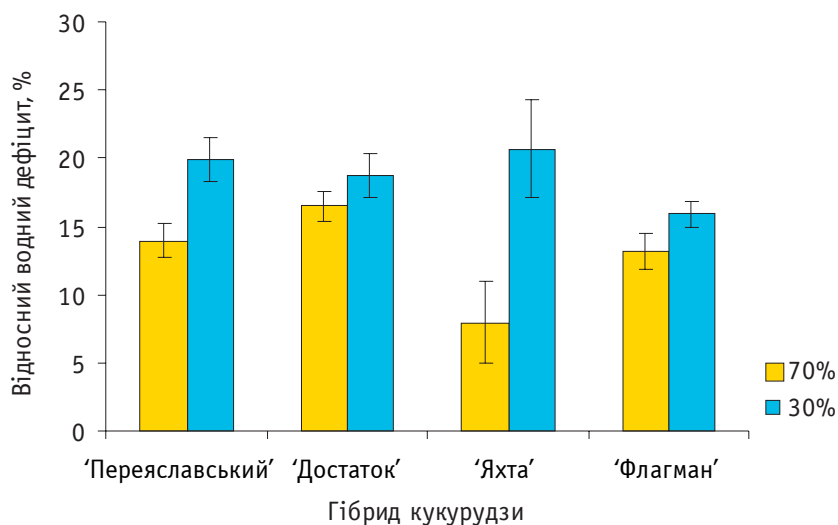


Рис. 5. Водний дефіцит коренів гібридів *Z. mays* L. за умов вологості субстрату 30 та 70% (n = 30 для кожного зразка)

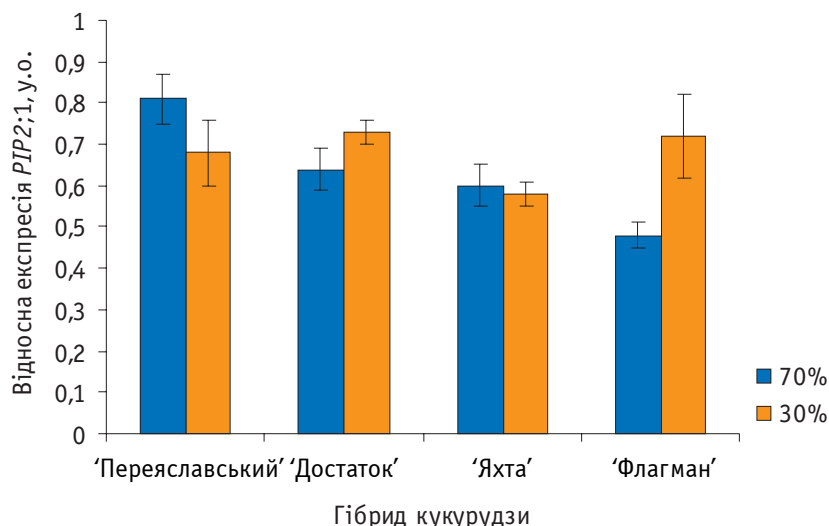


Рис. 6. Відносний рівень експресії *PIP2;1* у коренях гібридів *Z. mays* L. за умов вологості субстрату 30 та 70%

чення mRNA. Аналогічно, у *Nicotiana tabacum*, експресія аквапоринів PIP-родини знижувалася згідно з рівнем посухи [8], що також притаманне таким видам, як *Fragaria vesca* [16] та *Camellia sinensis* [17].

Штучне моделювання стресу за допомогою 250 мМ розчину манітолу також позначалося на швидкому зниженні майже вдвіть експресії *PIP2;2*, *PIP2;3* та *PIP2;6* і пролонгованому зниженні експресії *PIP2;7* та *PIP2;8* у рослин *A. thaliana* L. [18]. Своєю чергою, ектопічна надекспресія *PIP2;5* у *N. tabacum* призвела до посиленої втрати води за дегідратії [19].

Згідно з нашими дослідженнями, за умов зниженої вологості субстрату (30%) у посухостійких гібридів 'Достаток' та 'Флагман', на противагу помірно посухостійким гібридам ('Переяславський' та 'Яхта'), виявилося посилення експресії *PIP2;1* (рис. 6). Слід зазначити, що в рослин не підвищувався рівень втрати води (рис. 5), що доводить їх стійкість до цих умов. Виявлена підвищена експресія *PIP2;1* у посухостійких гібридів кукурудзи дещо суперечить загальній тенденції зниження кількості білків аквапоринів у рослин за умов зневоднення та посухи [8, 14–17]. Тому не виключено, що підвищена експресія *PIP2;1* за умов зниження вологості субстрату є характерною рисою саме посухостійких гібридів 'Достаток' та 'Флагман' і може бути специфічною ознакою посухостійкості гібридів кукурудзи загалом.

Посилення експресії *PIP2;1* відмічали також під час відповіді дикорослих рослин на різну вологість ґрунту. Зокрема, значну відмінність в експресії *PIP2;1* виявили в суходільного *Sium latifolium* L., у якого експресія *PIP2;1* зберігалася підвищеною протя-

гом онтогенезу порівняно з такою в повітряно-водних рослин *Sium sizaroideum* L. [20]. Підвищення рівня експресії *PIP2;1* у суходільного *S. latifolium* L., можливо, є видовою ознакою адаптації рослин до суходолу. Це узгоджується з повідомленнями [21] про те, що експресія гена аквапорину *TaAQP7* із *Triticum aestivum*, який також відносять до підгрупи PIP2, визначав стійкість до посухи трансгенного *N. tabacum*, при цьому рослини характеризувалися стійким водний статусом, зниженням накопичення активних форм кисню й упередженням руйнування мембрани [21]. Слід зазначити, що попри достатньо довгу історію досліджень аквапоринів, багато механізмів посухостійкості за їхньої участі досі залишаються нерозкритими. Різна експресія генів аквапоринів підгрупи PIP2 у відповідь на водний стрес припускає, що різні ізоформи аквапоринів відіграють різну роль у регуляції водного транспорту [22], що, загалом, значно розширює адаптаційні можливості рослин.

Відомо [23, 24], що транспорт води через аквапорини регулюється фізичними властивостями цитоплазматичної мембрани, а саме її жорсткістю/плинністю, що сприяє функціонуванню білків. Фізичний стан мембрани впливає також на дифузюю води через ліпідний бішар, а дифузюю, своєю чергою, визначається змінами складу ліпідів (кількістю фосфоліпідів, стеринів та ненасичених жирних кислот) та їх пакуванням у мембрані [25]. Деякі автори [26] припускають, що зміни композиції ліпідів мембрани призводять до змін у проникності через аквапорини.

Наші дослідження виявили підвищений рівень стеринів в усіх гібридів за умов 30%-ї

вологості субстрату, що свідчить про реакцію плазмалеми клітин коренів на зовнішній стрес, а саме про послаблення плинності та деяке «загустіння» мембрани. Відомо, що функціонування стеринів безпосередньо пов'язане з їхньою здатністю впливати на структуру мембрани та її водопроникність. Через взаємодію з боковими ланцюгами жирних кислот фосфоліпідів та інтегральними білками мембрани стерини впливають на пакування мембранного бішару, змінюючи при цьому плинність мембрани [27]. Виявлено, що посилення жорсткості мембрани через збільшення кількості стеринів сприяє посиленню водопроникності й газообміну саме через білки аквапорини. Зокрема, вважають, що ефективність функціонування аквапоринів тісно пов'язана з їхньою взаємодією з доменами мембрани, збагаченими стеролами [28]. Це твердження базується на тому факті, що висока локальна концентрація аквапоринів мембрани спостерігається у збагачених стеринами доменах з характерною високою водопроникністю [29]. Крім того, повідомлялося, що збільшення частки аквапоринів у детергент-стійких фракціях мембрани (DRM-detergent-resistant plasma membrane fraction), які є збагаченими на стерини і суттєво відрізняються від загальної фракції плазматичної мембрани, збільшує осмотичне проникнення води в плазмалему за низьких температур та заморозків, підвищуючи тим самим виживання організму [30].

Дослідження регуляції внутрішньоклітинного транспорту аквапоринів та їх субклітинної локалізації у відповідь на зовнішні стреси, наприклад, зневоднення та сольовий стреси, виявили, що домени, збагачені на стероли, є ключовими в динаміці клітинної поверхні та ендоцитозі аквапоринів плазматичної мембрани [28, 31]. Зокрема, уміст стеринів пов'язують із посиленою або послабленою стійкістю до сольового стресу, до якої також залучені аквапорини [26, 32]. Показано, що підвищений уміст солі, зазвичай, зумовлює збільшення загальної кількості стеринів [26, 33].

Спираючись на зв'язок зниження плинності мембрани з посиленням функціонування аквапоринів, Frick та ін. [24] припустили, що жорсткість мембрани може впливати на конформаційний стан *PIP2;1*, зсуваючи рівновагу в бік його відкритої конформації, що й сприяє проходженню води. Також виявлено, що гідратація мембрани збільшує простір між ацильними ланцюгами жирних кислот [34]. Таким чином, через збільшену кількість молекул води на межі

з'єднання ліпід/білок, унаслідок збільшеної ненасиченості жирних кислот, спостерігали збільшення проникності через аквапорини [35]. У наших дослідженнях виявлено, що вологість субстрату 30%, за якої посилюється експресія *PIP2;1* загалом, не впливає на втрату води в коренях посухостійких гібридів 'Достаток' та 'Флагман'. Не виключено, що в цих гібридів ізоформа *PIP2;1* бере участь у регулюванні іншої функції, пов'язаної з транспортом розчинних речовин крізь мембрану під час зневоднення. Тому, можливо, що підвищена експресія *PIP2;1* є специфічною ознакою посухостійкості саме гібридів 'Достаток' та 'Флагман' і відрізняється від такої в помірно посухостійких 'Переяславський' та 'Яхта'.

В усіх досліджуваних гібридів збільшувалася кількість фосфоліпідів, які також структурно і функціонально залучені до реакції рослин на зовнішній стрес. Відомо, що склад фосфоліпідів, їхні головні групи та ацил-ланцюги впливають на фізичні властивості плазмалеми, що є суттєвим для функціонування білків. Показовим є співвідношення фосфатидилхоліну (ФХ) до фосфатидилетаноламіну (ФЕ). Вважають, що збільшення співвідношення ФХ/ФЕ є ознакою збереження інтегральності мембрани й нормалізації функціонування білків [36].

В експериментах співвідношення ФХ/ФЕ суттєво збільшувалося в помірно посухостійких гібридів 'Переяславський' та 'Яхта', а в посухостійких навпаки: не зазнавало змін у гібрида 'Достаток' або навіть знижувалося в гібрида 'Флагман' (табл. 1).

Збільшення співвідношення ФХ/ФЕ є неспецифічною реакцією і свідчить про реагування рослин на знижену вологість ґрунту. Зокрема, дослідження складу плазмалеми пшениці в умовах посухи виявили підвищення співвідношення ФХ/ФЕ та рівня ненасиченості жирних ацильних ланцюгів фосфоліпідів. Вважають, що це забезпечує більш плинний матрикс, що зберігає фізіологічні функції ліпідного бішару [36]. Збільшення показника ФХ/ФЕ спостерігали також у цитоплазматичній мембрані соняшнику в умовах водного стресу [37]. У нашому випадку, збільшення співвідношення ФХ/ФЕ в помірно посухостійких гібридів 'Переяславський' та 'Яхта' може свідчити про протидію зневодненню неадаптованих до посухи рослин, що спрямоване на поліпшення плинності мембрани та збереження її функціональності. Проте, незважаючи на те, що склад фосфоліпідів може модулювати функціонування аквапоринів через вплив

Таблиця 1

Уміст фосфотидилхоліну та фосфотидилетаноламіну у фракції плазмалеми коренів гібридів кукурудзи за умов зниженої вологості субстрату

Гібрид кукурудзи	Вологість субстрату, %	Уміст фосфоліпідів, мкг/мл		Співвідношення ФХ/ФЕ
		фосфатидилхолін (ФХ)	фосфатидилетаноламін (ФЕ)	
'Переяславський'	70	26,10	14,20	1,80
	30	26,4	6,90	3,80
'Достаток'	70	34,0	4,70	7,20
	30	16,40	5,20	3,20
'Яхта'	70	0,64	3,32	0,19
	30	0,45	0,51	0,88
'Флагман'	70	0,77	0,13	5,90
	30	0,57	0,77	0,74

на плинність плазмалеми, загалом вважають, що адаптація рослин до стресу залежить більшою мірою від аквапоринів, ніж від ліпідного складу [23].

Підтримання функціонального стану плазмалеми в умовах зневоднення забезпечує також і склад жирних кислот, особливо ненасичених (табл. 2).

Таблиця 2

Якісний та кількісний склад жирних кислот фракції плазмалеми коренів гібридів кукурудзи за умов зниженої вологості субстрату

Уміст фосфоліпідів, мкг/мл	Гібрид кукурудзи							
	'Переяславський'		'Достаток'		'Яхта'		'Флагман'	
	Вологість субстрату, %							
	70	30	70	30	70	30	70	30
Насичені жирні кислоти								
Пальмітинова 16:0	34,1	34,6	36,9	36,4	25,5	25,3	30,6	29,7
Стеаринова 18:0	10,4	8,9	8,1	9,3	4,4	2,9	4,2	6,1
Σ	44,6	43,5	45,0	45,7	29,9	28,2	34,8	35,8
Ненасичені жирні кислоти								
Олеїнова 18:1	4,5	5,0	6,6	6,0	6,3	3,7	4,2	4,9
Лінолева 18:2	34,1	23,8	40,5	39,3	32,4	45,5	34,1	23,8
Ліноленова 18:3	1,9	1,7	2,2	2,8	2,6	2,8	1,9	1,7
Σ	40,9	30,4	49,3	48,1	41,3	52,0	40,9	30,4
Коефіцієнт ненасиченості	1,2	0,8	1,1	1,0	1,4	1,8	1,2	0,8

В усіх гібридів (окрім 'Яхта') коефіцієнт ненасиченості був близьким до 1, хоча кількість деяких кислот змінювалася (табл. 2). У помірно посухостійкого гібриду 'Яхта' коефіцієнт ненасиченості був близьким до 2, що свідчить про посилення плинності мембрани коренів, як реакцію на зниження вологості субстрату. Варто зазначити, що гібрид 'Яхта' характеризувався також найбільшим водним дефіцитом у коренях (рис. 5), що є характерним для реакцій на водний стрес неадаптованих рослин.

Висновки

Зниження експресії *PIP2;1* є відмітною рисою помірно посухостійких гібридів кукурудзи 'Переяславський' та 'Яхта' і свідчить про реакцію рослин на зниження вологості субстрату до 30%. Це може відбуватися через зменшену кількість білка *PIP2;1* і результуючу протидію втраті води крізь мембрану. Про реакцію коренів на ці умови вказує також збільшення їхньої до-

вжини, кореневого водного дефіциту та деяке посилення жорсткості цитоплазматичної мембрани.

Водночас, за вологості субстрату 30% експресія *PIP2;1* у посухостійких гібридів кукурудзи 'Достаток' та 'Флагман' навпаки посилювалася. При цьому водний дефіцит коренів був меншим, ніж у помірно посухостійких гібридів. Це дає змогу припустити, що така ознака як експресія саме *PIP2;1* може бути однією з визначальних ознак посухостійкості зазначених гібридів кукурудзи. Не виключено, що ізоформа *PIP2;1* виконує певну специфічну функцію в забезпеченні посухостійкості рослин. Цілком очевидно, що посухостійкість гібридів кукурудзи є комплексним механізмом і опосередковується також багатьма іншими молекулярними чинниками.

Виявлені молекулярні ознаки посухостійкості можуть використовуватися для поліпшення селекції кукурудзи, спрямованої на адаптацію до посухи.

Використана література

- Gronnier J., Crowe J.-M., Habenstein B. et al. Structural basis for plant plasma membrane protein dynamics and organization into functional nanodomains. *eLife*. 2017. Vol. 6. e26404. doi: 10.7554/eLife.26404
- Luu D. T., Maurel C. Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant Cell Environ.* 2005. Vol. 28, Iss. 1. P. 85–96. doi: 10.1111/j.1365-3040.2004.01295.x
- Reizer J., Reizer A., Saier M. The MIP family of integral membrane channel proteins: sequence comparisons, evolutionary relationships, reconstructed pathway of evolution, and proposed functional differentiation of the two repeated halves of the proteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1993. Vol. 28, Iss. 3. P. 235–257. doi: 10.3109/10409239309086796
- Maurel C., Verdoucq L., Luu D. T., Santoni V. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2008. Vol. 59, Iss. 1. P. 595–624. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092734
- Chaumont F., Tyerman S. D. Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. *Plant Physiol.* 2014. Vol. 164, Iss. 4. P. 1600–1618. doi: 10.1104/pp.113.233791
- Chaumont F., Barrieu F., Wojcik E. et al. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. *Plant Physiol.* 2001. Vol. 125, Iss. 3. P. 1206–1215. doi: 10.1104/pp.125.3.1206
- Chaumont F., Barrieu F., Jung R., Chrispeels M. J. Plasma membrane intrinsic proteins from maize cluster in two sequence subgroups with differential aquaporin activity. *Plant Physiol.* 2000. Vol. 122, Iss. 4. P. 1025–1034. doi: 10.1104/pp.122.4.1025
- Mahdieh M., Mostajeran A., Horie N., Katsuhara M. Drought stress alters water relations and expression of PIP-type aquaporin genes in *Nicotiana tabacum* plants. *Plant Cell Physiol.* 2008. Vol. 49, Iss. 5. P. 801–813. doi: 10.1093/pcp/pcn054
- Войцехівська О. В., Капустян А. В., Косик О. І. та ін. Фізіологія рослин. Практикум / за ред. Т. В. Паршикової. Луцьк : Терен, 2010. С. 75–77.
- Larsson C., Sommarin M., Widell S. Isolation of highly purified plant plasma membranes and separation of inside-out and right-side-out vesicles. *Methods Enzymol.* 1994. Vol. 228. P. 451–469. doi: 10.1016/00766879(94)28046-0
- Carde J.-P. Electron microscopy of plant cell membranes. *Methods Enzymol.* 1987. Vol. 148. P. 599–622. doi: 10.1016/0076-6879(87)48058-0
- Chen S.-H. S., Kou A. Y. Improved procedure for the separation of phospholipids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 1982. Vol. 227, Iss. 1. P. 25–31. doi: 10.1016/S0378-4347(00)80352-7
- Subbarao G. V., Nam N. H., Chauhan Y. S., Johansen C. Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. *J. Plant Physiol.* 2000. Vol. 157, Iss. 6. P. 651–659. doi: 10.1016/S0176-1617(00)80008-5
- Moshelion M., Halperin O., Wallach R. et al. Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water-stressed plants: crop water-use efficiency, growth and yield. *Plant Cell Environ.* 2015. Vol. 38, Iss. 9. P. 1785–1793. doi: 10.1111/pce.12410
- Jang J. Y., Kim D. G., Kim Y. O. et al. An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.* 2004. Vol. 54, Iss. 5. P. 713–725. doi: 10.1023/B:PLAN.0000409000.61345.a6
- Surbanovski N., Sargent D. J., Else M. A. et al. Expression of *Fragaria vesca* PIP aquaporins in response to drought stress: PIP down-regulation correlates with the decline in substrate moisture content. *PLoS One*. 2013. Vol. 8, Iss. 9. e74945. doi: 10.1371/journal.pone.0074945
- Yue C., Cao H., Wang L. et al. Molecular cloning and expression analysis of tea plant aquaporin (AQP) gene family. *Plant Physiol. Biochem.* 2014. Vol. 83. P. 65–76. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.07.011
- Morillon R., Chrispeels M. J. The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2001. Vol. 98, Iss. 24. P. 14138–14143. doi: 10.1073/pnas.231471998
- Jang, J. Y., Lee, S. H., Rhee, J. Y. et al. Transgenic *Arabidopsis* and tobacco plants overexpressing an aquaporin respond differently to various abiotic stresses. *Plant Mol. Biol.* 2007. Vol. 64, Iss. 6. P. 621–632. doi: 10.1007/s11103-007-9181-8
- Блюма Д. А. Експресія генів аквапоринів підгрупи PIP2 в рослині *Sium latifolium* L. в умовах різного водного режиму. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. : Біол.* 2010. Т. 45, № 4. С. 3–8.
- Zhou S., Hu W., Deng X. et al. Overexpression of the wheat aquaporin gene, TaAQP7, enhances drought tolerance in transgenic tobacco. *PLoS One*. 2012. Vol. 7, Iss. 12. e52439. doi: 10.1371/journal.pone.0052439
- Hachez C., Zelazny E., Chaumont F. Modulating the expression of aquaporin genes in planta: a key to understand their physiological functions? *Biochim. Biophys. Acta*. 2006. Vol. 1758, Iss. 8. P. 1142–1156. doi: 10.1016/j.bbamem.2006.02.017
- Carvajal M., Cooke D. T., Clarkson D. T. Response of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water uptake. *Planta*. 1996. Vol. 199, Iss. 3. P. 372–381. doi: 10.1007/BF00195729
- Frick A., Järvä M., Ekvall M. et al. Mercury increases water permeability of a plant aquaporin through a non-cysteine-related mechanism. *Biochem. J.* 2013. Vol. 454, Iss. 3. P. 491–499. doi: 10.1042/BJ20130377
- Ho C., Kelly M. B., Stubbs C. D. The effects of phospholipid unsaturation and alcohol perturbation at the protein/lipid interface probed using fluorophore lifetime heterogeneity. *Biochem. Biophys. Acta*. 1994. Vol. 1193, Iss. 2. P. 307–315. doi: 10.1016/0005-2736(94)90167-8
- López-Pérez L., Martínez-Ballesta M. C., Carvajal M. Changes in plasma membrane lipids, aquaporins and proton pump of broccoli roots, as an adaptation mechanism to salinity. *Phytochem.* 2009. Vol. 70, Iss. 4. P. 492–500. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.01.014
- Da Silveira M. G., Golovina E. A., Hoekstra F. A. et al. Membrane fluidity adjustments in ethanol-stressed *Oenococcus oeni* cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69, Iss. 10. P. 5826–5832. doi: 10.1128/AEM.69.10
- Luu D. T., Maurel C. Aquaporin trafficking in plant cells: an emerging membrane-protein model. *Traffic*. 2013. Vol. 14, Iss. 6. P. 629–635. doi: 10.1111/tra.12062
- Belugin B. V., Zhestkova I. M., Trofimova M. S. Affinity of PIP aquaporins to sterol enriched domains in plasma membrane of the cells of etiolated pea seedlings. *Biochem. (Mosc.) Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.* 2011. Vol. 5, Iss. 1. P. 56–63. doi: 10.1134/S1990747810051010
- Minami A., Fujiwara M., Furuto A. et al. Alterations in detergent-resistant plasma membrane microdomains in *Arabidopsis thaliana* during cold acclimation. *Plant Cell Physiol.* 2009. Vol. 50, Iss. 2. P. 341–359. doi: 10.1093/pcp/pcn202
- Hachez C., Besserer A., Chevalier A. S., Chaumont F. Insights into plant plasma membrane aquaporin trafficking. *Trends Plant Sci.* 2013. Vol. 18, Iss. 6. P. 344–352. doi: 10.1016/j.tplants.2012.12.003
- Chalbi N., Martínez-Ballesta M. C., Youssef N. B., Carvajal M. Intrinsic stability of Brassicaceae plasma membrane in relation to changes in proteins and lipids as a response to salinity. *J. Plant Physiol.* 2015. Vol. 175. P. 148–156. doi: 10.1016/j.jplph.2014.12.003
- Silva C., Aranda F. J., Ortiz A. et al. Root plasma membrane lipid changes in relation to water transport in pepper: a response to NaCl and CaCl₂ treatment. *J. Plant Biol.* 2007. Vol. 50, Iss. 6. P. 650–657. doi: 10.1007/BF03030609

34. Disalvo E. A. Membrane hydration: a hint to a new model for biomembranes. *Subcell Biochem.* 2015. Vol. 71. P. 1–16. doi: 10.1007/978-3-319-19060-0_1
35. Lee A. G. How lipids affect the activities of integral membrane proteins. *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. Vol. 1666, Iss. 1–2. P. 62–87. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.05.012
36. Vigh L., Huitema H., Woltjes J., van Hasselt P. R. Drought stress-induced changes in the composition and physical state of phospholipids in wheat. *Physiol. Plant.* 1986. Vol. 67, Iss. 1. P. 92–96. doi: 10.1111/j.1399-3054.1986.tb01268.x
37. Navarri-Izzo F., Quartacci M. F., Melfi D., Izzo R. Lipid composition of plasma membranes isolated from sunflower seedlings grown under water stress. *Physiol. Plant.* 1993. Vol. 87, Iss. 4. P. 508–514. doi: 10.1111/j.1399-3054.1993.tb02500.x
- ## References
1. Gronnier, J., Crowet, J.-M., Habenstein, B., Nasir, M. N., Bayle, V., Hosi, E., ... Mongrand, S. (2017). Structural basis for plant plasma membrane protein dynamics and organization into functional nanodomains. *eLife*, 6, e26404. doi: 10.7554/eLife.26404
2. Luu, D. T., & Maurel, C. (2005). Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant Cell Environ.*, 28(1), 85–96. doi: 10.1111/j.1365-3040.2004.01295.x
3. Reizer, J., Reizer, A., & Saier, M. (1993). The MIP family of integral membrane channel proteins: sequence comparisons, evolutionary relationships, reconstructed pathway of evolution, and proposed functional differentiation of the two repeated halves of the proteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 28(3), 235–257. doi: 10.3109/10409239309086796
4. Maurel, C., Verdoucq, L., Luu, D. T., & Santoni, V. (2008). Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59(1), 595–624. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092734
5. Chaumont, F., & Tyerman, S. D. (2014). Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. *Plant Physiol.*, 164(4), 1600–1618. doi: 10.1104/pp.113.233791
6. Chaumont, F., Barrieu, F., Wojcik, E., Chrispeels, M. J., & Jung, R. (2001). Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. *Plant Physiol.*, 125(3), 1206–1215. doi: 10.1104/pp.125.3.1206
7. Chaumont, F., Barrieu, F., Jung, R., & Chrispeels, M. (2000). Plasma membrane intrinsic proteins from maize cluster in two sequence subgroups with differential aquaporin activity. *Plant Physiol.*, 122(4), 1025–1034. doi: 10.1104/pp.122.4.1025
8. Mahdieh, M., Mostajeran, A., Horie, N., & Katsuhara, M. (2008). Drought stress alters water relations and expression of PIP-type aquaporin genes in *Nicotiana tabacum* plants. *Plant Cell Physiol.*, 49(5), 801–813. doi: 10.1093/pcp/pcn054
9. Voitsekhivska, O. V., Kapustian, A. V., Kosyk, O. I., Musiienko, M. M., Olkhovych, O. P., Paniuta, O. O., Parshykova, T. V., & Slavny, P. S. (2010). *Fiziolohiia roslin. Praktykum* [Plant Physiology. Workshop] (pp. 75–77). T. V. Parshykova (Ed.). Lutsk: Teren. [in Ukrainian]
10. Larsson, C., Sommarin, M., & Widell, S. (1994). Isolation of highly purified plant plasma membranes and separation of inside-out and right-side-out vesicles. *Methods Enzymol.*, 228, 451–469. doi: 10.1016/0076-6879(94)28046-0
11. Carde, J.-P. (1987). Electron microscopy of plant cell membranes. *Methods Enzymol.*, 148, 599–622. doi: 10.1016/0076-6879(87)48058-0
12. Chen, S.-H. S., & Kou, A. Y. (1982). Improved procedure for the separation of phospholipids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 227(1), 25–31. doi: 10.1016/S0378-4347(00)80352-7
13. Subbarao, G. V., Nam, N. H., Chauhan, Y. S., & Johansen, C. (2000). Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. *J. Plant Physiol.*, 157(6), 651–659. doi: 10.1016/S0176-1617(00)80008-5
14. Moshelion, M., Halperin, O., Wallach, R., Oren, R., & Way, D. A. (2015). Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water-stressed plants: crop water-use efficiency, growth and yield. *Plant Cell Environ.*, 38(9), 1785–1793. doi: 10.1111/pce.12410
15. Jang, J. Y., Kim, D. G., Kim, Y. O., Kim, J. S., & Kang, H. (2004). An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.*, 54(5), 713–725. doi: 10.1023/B:PLAN.0000040900.61345.a6
16. Surbanovski, N., Sargent, D. J., Else, M. A., Simpson, D. W., Zhang, H., & Grant, O. M. (2013). Expression of *Fragaria vesca* PIP aquaporins in response to drought stress: PIP down-regulation correlates with the decline in substrate moisture content. *PLoS One*, 8(9), e74945. doi: 10.1371/journal.pone.0074945
17. Yue, C., Cao, H., Wang, L., Zhou, Y., Hao, X., Zeng, J., Wang, X., & Yang, Y. (2014). Molecular cloning and expression analysis of tea plant aquaporin (AQP) gene family. *Plant Physiol. Biochem.*, 83, 65–76. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.07.011
18. Morillon, R., & Chrispeels, M. J. (2001). The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 98(24), 4138–4143. doi: 10.1073/pnas.231471998
19. Jang, J. Y., Leem, S. H., Rhee, J. Y., Chung, G. C., Ahn, S. J., & Kang, H. (2007). Transgenic *Arabidopsis* and tobacco plants overexpressing an aquaporin respond differently to various abiotic stresses. *Plant Mol. Biol.*, 64(6), 621–632. doi: 10.1007/s11103-007-9181-8
20. Bliuma, D. (2010). Gene expression of the PIP2 subgroup aquaporins in *Sium latifolium* L. under different water regimes. *Naukovi zapysky Ternopilskoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu imeni Volodymyra Hnatiuka. Seriya: Biolohiia* [Scientific Issue Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University. Series: Biology], 45(4), 3–8. [in Ukrainian]
21. Zhou, S., Hu, W., Deng, X., Ma, Z., Chen, L., Huang, C., ... He, G. (2012). Overexpression of the wheat aquaporin gene, TaAQP7, enhances drought tolerance in transgenic tobacco. *PLoS One*, 7(12), e52439. doi: 10.1371/journal.pone.0052439
22. Hachez, C., Zelazny, E., & Chaumont, F. (2006). Modulating the expression of aquaporin genes in planta: a key to understand their physiological functions? *Biochim. Biophys. Acta.*, 1758(8), 1142–1156. doi: 10.1016/j.bbamem.2006.02.017
23. Carvajal, M., Cooke, D. T., & Clarkson, D. T. (1996). Response of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water uptake. *Planta*, 199(3), 372–381. doi: 10.1007/BF00195729
24. Frick, A., Järvä, M., Ekvall, M., Uzdaviny, P., Nyblom, M., & Törnroth-Horsefield, S. (2013). Mercury increases water permeability of a plant aquaporin through a non-cysteine-related mechanism. *Biochem. J.*, 454(3), 491–499. doi: 10.1042/BJ20130377
25. Ho, C., Kelly, M. B., & Stubbs, C. D. (1994). The effects of phospholipid unsaturation and alcohol perturbation at the protein/lipid interface probed using fluorophore lifetime heterogeneity. *Biochem. Biophys. Acta*, 1193(2), 307–315. doi: 10.1016/0005-2736(94)90167-8
26. López-Pérez, L., Martínez-Ballesta, M. C., Maurel, C., & Carvajal, M. (2009). Changes in plasma membrane lipids, aquaporins and proton pump of broccoli roots, as an adaptation mechanism to salinity. *Phytochem.*, 70(4), 492–500. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.01.014
27. Da Silveira, M. G., Golovina, E. A., Hoekstra, F. A., Rombouts, F. M., & Abee, T. (2003). Membrane fluidity adjustments in ethanol-stressed *Oenococcus oeni* cells. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(10), 5826–5832. doi: 10.1128/AEM.69.10.5826-5832.2003
28. Luu, D. T., & Maurel, C. (2013). Aquaporin trafficking in plant cells: an emerging membrane-protein model. *Traffic*, 14(6), 629–635. doi: 10.1111/tra.12062

29. Belugin, B. V., Zhestkova, I. M., & Trofimova, M. S. (2011). Affinity of PIP aquaporins to sterol enriched domains in plasma membrane of the cells of etiolated pea seedlings. *Biochem. (Mosc.) Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.*, 5(1), 56–63. doi: 10.1134/S1990747810051010
30. Minami, A., Fujiwara, M., Furuto, A., Fukao, Y., Yamashita, T., Kamo, M., Kawamura, Y., & Uemura, M. (2009). Alterations in detergent-resistant plasma membrane microdomains in *Arabidopsis thaliana* during cold acclimation. *Plant Cell Physiol.*, 50(2), 341–359. doi: 10.1093/pcp/pcn202
31. Hachez, C., Besserer, A., Chevalier, A. S., & Chaumont, F. (2013). Insights into plant plasma membrane aquaporin trafficking. *Trends Plant Sci.*, 18(6), 344–352. doi: 10.1016/j.tplants.2012.12.003
32. Chalbi, N., Martinez-Ballesta, M. C., Youssef, N. B., & Carvajal, M. (2015). Intrinsic stability of Brassicaceae plasma membrane in relation to changes in proteins and lipids as a response to salinity. *J. Plant Physiol.*, 175, 148–156. doi: 10.1016/j.jplph.2014.12.003
33. Silva, C., Aranda, F. J., Ortiz, A., Carvajal, M., Martínez, V., & Teruel, J. A. (2007). Root plasma membrane lipid changes in relation to water transport in pepper: a response to NaCl and CaCl₂ treatment. *J. Plant Biol.*, 50(6), 650–657. doi: 10.1007/BF03030609
34. Disalvo, E. A. (2015). Membrane hydration: a hint to a new model for biomembranes. *Subcell Biochem.*, 71, 1–16. doi: 10.1007/978-3-319-19060-0_1
35. Lee, A. G. (2004). How lipids affect the activities of integral membrane proteins. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1666(1–2), 62–87. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.05.012
36. Vigh, L., Huitema, H., Woltjes, J., & van Hasselt, P. R. (1986). Drought stress-induce changes in the composition and physical state of phospholipids in wheat. *Physiol. Plant.*, 67(1), 92–96. doi: 10.1111/j.1399-3054.1986.tb01268.x
37. Navarri-Izzo, F., Quartacci, M. F., Melfi, D., & Izzo, R. (1993). Lipid composition of plasma membranes isolated from sunflower seedlings grown under water stress. *Physiol. Plant.*, 87(4), 508–514. doi: 10.1111/j.1399-3054.1993.tb02500.x

УДК 577.218: 577.115: 582.542.11: 581.43: 58.032.3

Шевченко Г. В.*, **Овруцкая И. И.**, **Овчаренко Ю. В.** Экспрессия аквапорина *PIP2;1* как признак засухоустойчивости гибридов *Zea mays* L. при пониженной влажности почвы // *Plant Varieties Studying and Protection*. 2019. Т. 15, № 2. С. 188–199. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.15.2.2019.173572>

*Институт ботаники имени Н. Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, г. Киев, 01601, Украина, *e-mail: galli.shevchenko@gmail.com*

Цель. Исследовать экспрессию аквапорина *PIP2;1* у гибридов кукурузы 'Достаток' и 'Флагман' (засухоустойчивые), 'Переяславський' и 'Яхта' (умеренно засухоустойчивые), которые 10 суток росли при пониженной влажности субстрата (30%). Оценить возможное влияние состава липидов и жирных кислот на функциональную активность *PIP2;1* в данных условиях. **Методы.** Биохимические: исследование состава липидов и жирных кислот фракции цитоплазматической мембраны корней (жидкостная хроматография); молекулярно-биологические: выявление относительной экспрессии аквапорина *PIP2;1* в корнях (полимеразная цепная реакция, ПЦР); морфометрические измерения и статистические методы обработки результатов. **Результаты.** Показано, что у гибридов кукурузы 'Переяславський' и 'Яхта' экспрессия *PIP2;1* снижалась, а у гибридов 'Достаток' и 'Флагман', наоборот, повышалась. В корнях 'Достаток' и 'Флагман' в условиях пониженной влажности субстрата отмечали сниженный дефицит воды по сравнению с 'Переяславський' и 'Яхта'. Кроме того, в цитоплазматической мембране всех гибри-

дов увеличивалось количество стероидов и фосфолипидов. **Выводы.** Снижение экспрессии *PIP2;1*, отмеченное у гибридов 'Переяславський' и 'Яхта' является характерным для нестойких к засухе растений и свидетельствует об их реакции на снижение влажности субстрата, а также, противодействует обезвоживанию, поскольку меньшее количество аквапоринов обеспечивает задержку воды в клетках. В то же время, при влажности субстрата 30% экспрессия *PIP2;1* у засухоустойчивых гибридов 'Достаток' и 'Флагман', наоборот, усиливалась на фоне меньшего водного дефицита корней (по сравнению с гибридами 'Переяславський' и 'Яхта'). Не исключено, что усиленная экспрессия *PIP2;1* именно у данных гибридов 'Достаток' и 'Флагман' является специфическим индикатором засухоустойчивости. Полученные данные вносят существенный вклад в совершенствование селекции засухоустойчивых гибридов кукурузы.

Ключевые слова: кукуруза; аквапорин *PIP2;1*; стероиды; фосфолипиды; ненасыщенные жирные кислоты; корни; водный дефицит; засухоустойчивость.

UDC 577.218: 577.115: 582.542.11: 581.43: 58.032.3

Shevchenko, H. V.*, **Ovrukska, I. I.**, & **Ovcharenko, Yu. V.** (2019). Expression of aquaporin *PIP2;1* as an indicator of *Zea mays* L. cultivar tolerance to reduced soil moisture. *Plant Varieties Studying and Protection*, 15(2), 188–199. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.15.2.2019.173572>

*Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2 Tereshchenkivska St., Kyiv, 01601, Ukraine, *e-mail: galli.shevchenko@gmail.com*

Purpose. To investigate expression of aquaporin *PIP2;1* in maize cultivars 'Pereiaslavskyi' and 'Dostatok', (moderately drought-resistant) and 'Yachta' and 'Flahman' (drought-resistant), which grew for 10 days in low humidity substrate (30%). To evaluate possible influence of lipids and fatty acids on the functional activity of *PIP2;1* under above humidity conditions. **Methods.** Biochemical: study of lipids and fatty acids in cytoplasmic membrane fraction from the roots (liquid chromatography); molecular: detection of the relative expression of aquaporin *PIP2;1* in the roots (polymerase chain reaction,

PCR); morphometric measurements and statistical methods for result processing. **Results.** Studies showed that in moderately drought-tolerant maize cultivars 'Pereiaslavskyi' and 'Yachta', *PIP2;1* expression decreased, while in drought-tolerant 'Dostatok' and 'Flahman', on the contrary, it increased. In 'Dostatok' and 'Flahman' smaller root water deficit compared with 'Pereiaslavskyi' and 'Yachta' in conditions of low humidity of the substrate was recorded. In addition, the quantity of sterols and phospholipids increased in the plasma membrane of all hybrids. **Conclusions.** Reduced expression of *PIP2;1*

observed in 'Pereiaslavskiy' and 'Yachta', is a characteristic feature of not drought tolerant plants and indicates reaction to a decrease in substrate moisture and counteraction to dehydration, since a smaller amount of aquaporins ensures water retention in the cells. Contrary, at a substrate moisture content of 30%, *PIP2;1* expression in drought-resistant hybrids 'Dostatok' and 'Flahman' increased which was accompanied by lesser root water deficiency (comparing to that of

'Pereiaslavskiy' and 'Yachta'). It is quite probable that the enhanced expression of the *PIP2;1* isoform in cultivars 'Dostatok' and 'Flahman' is a specific indicator of hybrids drought resistance. The obtained data are important for improving the selection of drought resistant maize hybrids.

Keywords: corn; aquaporin *PIP2;1*; sterols; phospholipids; unsaturated fatty acids; roots; water deficiency; drought tolerance.

Надійшла / Received 19.04.2019

Погоджено до друку / Accepted 21.06.2019