

АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
Інститут фізіології та генетики рослин

На правах рукопису

ПАТЛАНЬ Лариса Андріївна

ТРАНСПОРТ І МЕТАБОЛІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ САХАРОЗИ
В КОРЕНЕПЛОДІ ЦУКРОВОГО БУРЯКА

/03.00.12 фізіологія рослин/

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1992

76 26.770

Робота виконана в Ордену Трудового Червоного Прапора
Інституті фізіології рослин ім.К.А.Тимирязєва
Російської Академії наук

Науковий керівник: кандидат біологічних наук
ст.наук.співр. Пристуня М.А.

Офіційні оponentи: доктор біологічних наук
професор Мусієнко М.М.

кандидат біологічних наук
ст.наук.співр. Рожко І.І.

Провідна організація: Українська сільськогосподарська
академія *Державний аграрний*
університет

Захист відбудеться "21" січня 1993 р. о 12³⁰ год. на
засіданні спеціалізованої вченої ради Д 016.57.01 по захисту
дисертації на здобуття наукового ступеня доктора наук при
Інституті фізіології рослин і генетики АН України за адресою:
252022; м.Київ-22, вул.Васильківська, 31/17.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту
фізіології рослин і генетики АН України.

Автореферат розісланий "18" сережня 1992 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук

Труханов В.А.
ТРУХАНОВ В.А.

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00825752 (Т)

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН УРСР

AB - 26.710

Загальна характеристика роботи

Актуальність проблеми. Здатність цукрового буряка до накопичення високої концентрації сахарози в коренеплоді визначає не лише економічну цінність даної культури, але й стійкий інтерес до її фізіології, взаємодії процесів росту та цукронакопичення. Сучасні уявлення про співвідношення цих двох процесів побудовані в значній мірі на зіставленні сумарного накопичення різних форм органічних сполук у цілому коренеплоді з короточасним перетворенням сахарози в модельних системах тканинних зрізів. Використання модельної системи створє додаткову проблему її адекватності цілому коренеплоду і затруднює оцінку динаміки перетворення сахарози в тканинах запасачого кореня. Використання у даній праці підхід дає можливість позбутися цього ускладнення й дозволяє за допомогою фотосинтетичного введення радіоактивного вуглецю дослідити перетворення асимілятів, які надходять в інтактний коренеплід вегетучої рослини.

Мета і завдання досліджень. Метою даної роботи було вивчення метаболізму сахарози в коренеплоді інтактних рослин цукрового буряка. У зв'язку з цим задачі досліджень були такими:

- визначити обсяг використання продуктів фотосинтезу в ростових і акумуляційних процесах в коренеплодах цукрового буряка в період активного росту і цукронакопичення;
- оцінити внесок гліконеогенезу та кругообігу запасних полісахаридів, що легко мобілізуються, в процесах акумулювання сахарози в коренеплодах цукрового буряка в період активного росту й цукронакопичення.

Наукова новизна. Вперше вивчено динаміку використання асимілятів, що надходять в інтактний коренеплід цукрового буряка, в біосинтезі полімерних сполук рослиної клітини. Показано, що в їх біосинтезі беруть участь не лише асиміляти, що знову надходять, але й раніше акумульована сахароза запасачої паренхіми. Виявлено значне переважання швидкості акумулювання сахарози над її метаболічними перетвореннями, продемонстрована менша інтенсивність біосин-

Список скорочень:

СНС - спиртнерозчинні сполуки;

СРС - спирторозчинні сполуки

тезу полімерних сполук у внутрішніх зонах коренеплоду в порівнянні з більш молодими зовнішніми. Показано обмежене значення процесів глікогенезу і кругообігу запасних полісахаридів у цукронакопиченні.

Практична цінність. Одержані в роботі результати дають можливість протягом мінімальних часових інтервалів безпосередньо оцінити швидкість метаболічних перетворень асимілятів, що транспортуються в коренеплід, виявити особливості метаболізму сахарози в окремих зонах коренеплоду, а також в запасючих коренях рослин різного віку, віставити динаміку перетворення асимілятів у коренеплоді з інтенсивністю його росту і охарактеризувати, таким чином, окремі складові процесу цукронакопичення.

Робота може становити інтерес для співробітників науково-дослідних організацій, співробітників, пов'язаних з вирощуванням цукрового буряка і фізіологією цукронакопичення.

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідалися на Всесоюзній конференції "Фізіолого-біохімічні основи продуктивності цукрового буряка" (Київ, 1989), на IV Всесоюзній конференції молодих вчених і спеціалістів "Внесок молодих вчених в інтенсифікацію сільського господарства УРСР" (Київ, 1991), на Конференції молодих вчених і спеціалістів України "Актуальні питання ботаніки і екології" (Полтава, 1992). У завершеному вигляді робота доповідалась і обговорювалась на розширеному семінарі лабораторії транспорту метаболітів Інституту фізіології рослин ім.Тимирязєва Російської Академії Наук (1992).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 4 роботи.

Структура роботи. Дисертаційна робота викладена на 106 сторінках машинописного тексту, містить 15 таблиць, 10 малюнків і складається із вступу, огляду літератури, опису об'єктів і методів дослідження, викладу одержаних результатів та їх обговорення, закінчення, висновків і списку використаної літератури (155 найменувань, з них 71 іноземне).

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження були коренеплоди цукрового буряка (*Beta vulgaris* L.) сортів Верхняцький 034, Білоцерківський 045, Білоцерківський 034, Ялтушківський 037 і гібриду Івїлейний, вирощених у залежності від умов досліду в піщаній та ґрунтовій культурах. У дослідках з використанням штучного освітлення за 48 годин до початку експерименту рослини поміщали в витягну шафу при 12-годинному освітленні лампами галогенового циклу інтенсивністю 15 тис. люкс. У дослідках з природним освітленням рослини постійно знаходилися на вегетаційному майданчику. Для введення радіоактивного вуглецю ^{14}C використовувались рослини віком від 50 до 100 днів, маса коренеплодів яких варіювала від 40 до 900 г. Радіоактивний вуглець вводили в невідокремлений від рослини листок середнього ярусу розетки протягом 10-хвилинного фотосинтезу в камері з початковою концентрацією вуглекислоти 0,3% і загальною радіоактивністю 30 мкСі. Для фотосинтетичного введення $^{14}\text{CO}_2$ використовували модифікований прилад Ю.І.Новицького (1956).

Визначення інтенсивності фотосинтезу проводилося за вимірюваннями радіоактивності листків, а також за допомогою інфрачервоного газоаналізатора "URAS". Оскільки асиміляти із листка надходять переважно в ту частину коренеплоду, яка розташована під ним (Беліков, Костецкий, 1964; Боронкова, 1978; Needer, Beringer, 1987), для фіксації використовували безпосередньо ту половину коренеплоду, в яку надходили асиміляти із "підживленого" листка. При оцінці розподілу асимілятів у цілому коренеплоді фіксували середню пробу зрізів цієї половини. При вивченні розподілу асимілятів по різних зонах кореня фіксували висічки діаметром 1 см із самих зовнішніх (VI-VII кільця) і внутрішніх (II-IV кільця) його частин. Фіксацію проводили в 10-кратному об'ємі киплячого 96%-ного етанолу. Фіксований матеріал піддавали 3-кратній екстракції 80 %-ним етанолом і об'єднували з розчином, одержаним при фіксації. Даний екстракт використовували для визначення загальної радіоактивності СРС. Сухий залишок подрібнювали за допомогою вібраційного млина (фірма Retzsch, ФРН).

Для визначення особливостей метаболізму різних зон коренеплоду використовували також ліофільно висушені зрізи діаметром 10 мм,

одержані за допомогою заморожувачого мікромому. Радіоавтографи арізів одержували за методикою, описаною М.А. Приступою (1968). Сумарну радіоактивність СРС і СНС визначали на торцевому лічильнику-спектрометрі "Robotron 20050" (НДР) і за допомогою рідинної оцинтиляції на приладі фірми ІКВ "Reckbeta 1219". Сумарну фракцію СРС за допомогою фільтрації через іонообмінні смоли (КУ-2 в H^+ -формі, Dowex Іх4) "Serva", ФРН), в COO^- -формі) розділяли на електронейтральні, електропозитивні і електронегативні речовини, яким відповідають сахари, амінокислоти, органічні кислоти й фосфорні ефіри. Вміст у складі СРС тієї чи іншої групи електрозаряджених радіоактивних сполук визначали як різницю між радіоактивністю вихідного розчину і фільтрату.

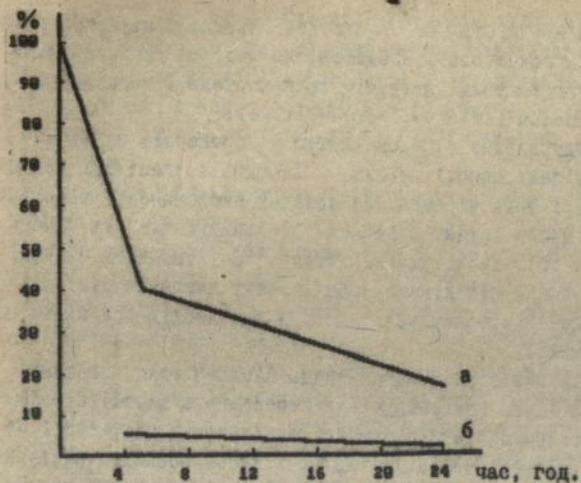
Вміст сахарози визначали за допомогою резорцинової реакції (Roe et al., 1949), вміст амінокислот - за допомогою нітгідринової реакції у відновлюючому середовищі (Rosen, 1957).

У складі сумарної фракції СРС окремо визначали радіоактивність полісахаридів, що легко мобілізуються, - крохмалю і декстринів. Сумарну радіоактивність визначали в суспензії, а радіоактивність розчинних продуктів α -амілоглюкозидазного гідролізу вимірювали в надосадовій рідині після центрифугування при 3000 об/хв. Визначаючи % радіоактивності супернатанту від сумарної радіоактивності, оцінювали відносну радіоактивність крохмалю і декстринів у сумарній фракції СНС.

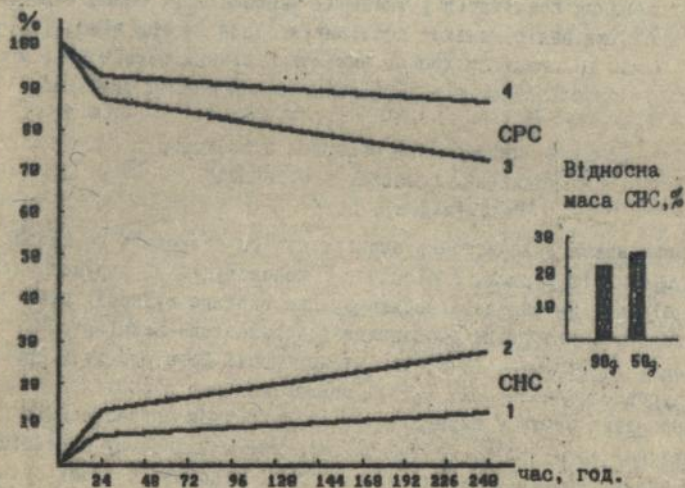
Використані реактиви були вітчизняного виробництва марки ч.д.а. або х.ч., α -амілоглюкозидаза - фірми "Serva" (ФРН).

Динаміка відтоку асимілятів

Характеристика метаболізму асимілятів у процесі їх надходження в коренеплід і акумулювання в його запасючих тканинах передбачає необхідність дослідження динаміки відтоку продуктів фотосинтезу із листкової пластинки і наступного їх перерозподілу між провідними і запасючими тканинами кореня. Динаміка зміни радіоактивності листкової пластинки виявляє двохфазний характер (мал. 1а). Найбільш швидке зниження радіоактивності листкової пластинки відбувається протягом перших 4 годин після надходження в неї $^{14}CO_2$. За цей проміжок часу втрачалось до 50% її початкової рівня. Надалі радіоактивність листкової пластинки змінювалась



Мал.1.Змінення відносної радіоактивності листкової пластинки/а/ та черешка/б/.



Мал.2.Змінення відносної радіоактивності СРС та СНС 50-денних/2,3/ і 90-денних/1,4/ коренеплодів цукрового буряка

із значно меншою швидкістю. На кінець доби експерименту вона становила 10-18% від початкової. Вважають, що подібна динаміка відтоку виражає розподіл асимілятів між транспортним і запасачим компартаментами листка (Moorby, Jerman, 1975).

Вивчення надходження ^{14}C -асимілятів у коренеплід вимагає обліку зміни радіоактивності не лише в листовій пластинці донорного листка, але і його черешка. На початку експерименту відносна радіоактивність цього органу становила 5%, знижуючись під кінець доби до 2% (мал. 16). Такий низький вміст ^{14}C у тканинах черешка і листової пластинки під кінець доби відтоку виключає будь-яке істотне "підтікання" мічених асимілятів у коренеплід при більш тривалій експозиції.

Згідно з радіоавтографічними даними після 4 годин відтоку радіоактивні асиміляти концентруються переважно в флоемі провідних пучків як внутрішнього, четвертого, кільця коренеплоду, так і периферійних його кілець. Через 24 години відтоку розподіл радіоактивності між провідними пучками, кільцевою і міжкільцевою паренхимом стає більш рівномірним, що вказує на закінчення розподілу транспортованих асимілятів у тканинах коренеплоду. Таким чином, співвідношення радіоактивних асимілятів після 24 год відтоку і розподілу можна використати для оцінки метаболічних перетворень асимілятів у процесі їхнього акумулювання в запасачих тканинах.

Розміри використання сахарози в ростових

і акумуляційних процесах коренеплоду

Beta vulgaris L.

Показником використання асимілятів, що надходять до коренеплоду цукрового буряка, в біосинтезі конституційних структур клітин є відношення сахароза/несахарі, яке виявляє відносну сталість і не залежить від рівня забезпечення коренеплоду асимілятами (Milford, 1973; Wuse, 1979) та інтенсивності його ростових процесів (Курсанов, Павлінова, 1967). Вважається, що розподіл вуглецю між процесами росту і акумулювання відбувається безпосередньо при надходженні асимілятів, що транспортуються в запасачу паренхіму. Таким чином, критерієм адекватності даної гіпотези повинен бути розподіл продуктів метаболізму асимілятів, що знову надходять, між сахарозою і несахарами в тому ж співвідношенні, що і в тканинах

коренеплоду. Згідно з кінцевою величиною сахароза/несахари в процесах фотосинтезу структурних сполук використовується 80% асимілятів, що надходять до коренеплоду (Шавлинова, 1973, 1985). Проте відношення сахароза/несахари в величині, усередненою для цілого коренеплоду, значення якої можуть виявляти відхилення в окремих тканинах.

Гістологічне вивчення коренеплоду показало особливості росту різних його зон: судинної, окладки і міжкільцевої паренхіми, а також залежність концентрації сахарози від об'єму акцепторної клітини (Оканенко, 1966; Milford, 1973). Уявлення про шляхи метаболізму асимілятів у коренеплоді ґрунтуються переважно на даних модельних дослідів, результати яких істотно залежать від умов експерименту. Це створює додаткову проблему адекватності одержаних результатів процесам, що відбуваються *in vivo*.

Сумарним критерієм метаболізації асимілятів у коренеплоді слугувала величина відносної радіоактивності конституційних полімерів (так звані спиртнерозчинні сполуки), тобто відношення радіоактивності СНС до сумарної радіоактивності досліджуваних тканин. Величину відносної радіоактивності високополімерних сполук зіставляли з їхнім ваговим вмістом у сухій речовині коренеплоду, позначаючи його терміном "відносна маса".

Розміри включення ^{14}C до складу СНС коренеплоду через добу після введення $^{14}\text{CO}_2$ наведені в табл. I, де підсумовано результати дослідів, проведених протягом 3 років (дані одержані для середньої проби коренеплоду). Відповідно до наведених даних відносна радіоактивність СНС після 24 годин розподілу асимілятів була значно нижчою їхньої відносної маси (22%), варіючись від 4 до 9,5 %. Свіжа вага коренеплодів коливалася у межах 285-500 г при віці рослин від 80 до 100 днів. При цьому відносна радіоактивність СНС не виявляла певної кореляції з сировою масою коренеплоду, вмістом у ньому сухої речовини і відносною масою СНС. Відсутність подібної кореляції може вказувати на відносну незалежність біосинтезу структурних полісахаридів коренеплоду в момент проведення дослідів від попередніх умов вегетації рослин.

Невідповідність відносної радіоактивності СНС їх відносній масі суперечить уявленню про переважне використання в біосинтезі структурних полісахаридів коренеплоду асимілятів, що знову над-

Таблиця 1

Виділення ^{14}C до складу різних фракцій коренеплоду цукрового буряка сорту Верхняцький ОЗА через 24 год після введення $^{14}\text{CO}_2$

Вік, дні	Тип освітлення	Вага коренеплодів, г	Вміст сухої речовини, %			Відносна маса СНС, %	Відносна радіоактивність СНС, %
			сумарний	СРС	СНС		
80	Природне	285	19,9	14,7	4,7	23,7	4,5±0,3
90	Природне	502	20,0	15,5	4,5	22,5	6,3±0,2
100	Штучне	442	21,0	17,0	4,3	20,5	7,0±0,1

Таблиця 2

Розрахунок споживання СРС вегетативного коренеплоду цукрового буряка

Сира маса коренеплоду, г	Загальна маса СРС, г	Зниження відносної радіоактивності, %	Змінення маси СРС		
			коренеплід за 9 діб	на 1 г сирої маси за год., мг	на 100 г сухої маси за год., мг
		50-денні рослини			
76	10,6	14	-1,49	-0,093	-49,0
		90-денні рослини			
460	73,5	4	-2,95	-0,030	-14,7

ходять, і може гравувати на участь у біосинтезі високомолекулярних компонентів клітин поряд із новими асимілятами (транспортний фонд) раніше акумульованої сахарози (запасний фонд).

Одним із шляхів експериментальної перевірки припущення про метаболічне споживання сахарози запасного фонду може бути визначення зміни радіоактивності СРС (представлених в основному сахарами) та СНС за проміжки часу більш тривалі, ніж 24 год. Істотне переважання відносної радіоактивності СРС дає підставу вважати цю групу сполук джерелом вуглецю в процесі метаболічних перетворень і дихання. Зміна відносної радіоактивності СРС і СНС коренеплодів дорослих рослин після 10-денного інтервалу показана на мал.2, з якого видно, що включення ^{14}C до складу СНС з високою швидкістю відбувається протягом перших 24 год досліді і значно знижується протягом наступних 9 діб. Очевидно, що сповільнення зміни відносної радіоактивності СНС виражає не зменшення абсолютної швидкості метаболічних процесів, а зниження питомої радіоактивності їх субстратів протягом досліді. Істотне переважання включення ^{14}C в СРС дозволяє використати зміни їхньої відносної радіоактивності як показник споживання їхнього вуглецю. Згідно з проведеними розрахунками (табл.2) сумарне зменшення сухої маси екстрактивних речовин коренеплоду становить біля 0,080 мг на 1 г свіжої маси за годину або 14 мг на 100 г сухої маси за той же відрізок часу. Визначені нами величини метаболізму екстрактивних речовин у дорослих коренеплодів вегетуючих рослин близькі до розмірів виділення $^{14}\text{CO}_2$ у коренеплодів, що зберігаються при 17°C , яке складає 11,7 мг на ту ж одиницю (Толмачев, 1968) і відповідає витраті 7,25 мг сахарози, але дещо вище величин, одержаних при вимірюванні дихання коренеплоду за допомогою інфрачервоного газоаналізатора в кінці вегетаційного періоду - 4 мг/100 г сухої маси \times год $^{-1}$ (Дитрофізов, 1989), коли ростові процеси коренеплоду сповільнені.

Таким чином, виявлене нами споживання низькомолекулярних сполук відрізняється малою швидкістю і не може бути переконливим доказом метаболізації акумульованих сполук. У зв'язку з цим, було доцільно оцінити швидкість перетворення радіоактивних асимілятів у тих об'єктах, у яких можна чекати високої інтенсивності метаболізму порівняно із середньою пробою великого коренеплоду. З цих міркувань ряд дослідів було присвячено вивченню динаміки перетво-

рення радіоактивних речовин у зовнішніх зонах (де відбуваються процеси новоутворень) великих коренеплідів, оира мвоа яких перевищувала 400 г, а також молодших, 50-денних, рослин, свіжа вага яких коливалась у межах 50-100 г. Як видно з табл.3, питома радіоактивність СРС зовнішніх зон коренеплоду перевищувала відповідну величину його внутрішніх зон, що може свідчити про більш активне надходження асимілятів у ці тканини коренеплоду.

При вивченні швидкості включення ^{14}C в СНС різних зон коренеплоду через 24 год після введення $^{14}\text{CO}_2$ нам не вдалося встановити систематичних відмінностей у зовнішніх і внутрішніх зонах кореня. Включення ^{14}C в СНС перебувало на рівні, визначеному раніше в середній пробі кореня, а саме: відносна радіоактивність цих сполук дорівнювала 6,3 - 9,3 % за добу при їх відносній масі біля 22 % (табл. 4).

Наступне збільшення тривалості досліду до 10 діб привело лише до незначного підвищення радіоактивності СНС (до 8-13%). У цьому випадку нам теж не вдалося встановити систематичних відмінностей у відносній радіоактивності високомолекулярних сполук зовнішніх і внутрішніх зон коренеплоду.

Одержані нами величини метаболізації ^{14}C -асимілятів, що входять у протиріччя з ваговим виразом споживання сахарози в процесах біосинтезу, могли відобразити ослаблення процесів росту коренеплоду внаслідок недостатньої інтенсивності штучного освітлення. Правомірно передбачити, що у молодих рослин цукрового буряка з більш високою інтенсивністю метаболізму, в яких, зокрема, величина дихання на підтримування коренеплідів у середині вегетаційного періоду в 10 раз вища, ніж у кінці (Митрофанов і др., 1989), швидкість зміни відносної радіоактивності СНС також буде підвищуватись. Виходячи із цього, ми провели ряд дослідів по визченню метаболізму коренеплідів молодих рослин цукрового буряка (мал.2). Як видно з графіка, в таких рослин, свіжа вага коренеплоду яких становила 40-80 г, уже в перші 24 год дослідів відносна радіоактивність СНС складала 13-14 %, досягаючи в кінці десятої доби експерименту 28-23 %. В останньому випадку відносна радіоактивність дещо перевищувала відповідну величину відносної маси. При визначенні швидкості метаболізації асимілятів коренеплодами молодих рослин цукрового буряка нами було показано, що в порівнянні з до-

Питома радіоактивність фракції різних зон коренеплоду цукрового буряка через 24 год. після введення $^{14}\text{CO}_2$

Зона коренеплоду	Радіоактивність, розп./хв \cdot 100 мг $^{-1}$ сухої речовини	
	СНС	СРС
зовнішня	22400 \pm 698	232150 \pm 12308
внутрішня	12000 \pm 288	168350 \pm 7575

Таблиця 4

Включення ^{14}C до складу полімерних сполук різних зон коренеплоду в умовах штучного освітлення. 90-денні рослини. Сорт Верхняцький ОЗ4

№ рослини	Експозиція, год	Вміст СНС у сухій речовині, %	Відносна радіоактивність СНС, %	
			зовнішня зона	внутрішня зона
1	24	21,7 \pm 0,2	9,5 \pm 0,3	6,7 \pm 0,3
2	24	22,5 \pm 0,1	7,0 \pm 0,1	8,0 \pm 0,4
3	24	20,9 \pm 0,3	6,3 \pm 0,8	6,3 \pm 0,7
4	240	21,3 \pm 0,5	11,9 \pm 1,0	8,1 \pm 0,7
5	240	23,1 \pm 0,2	12,6 \pm 0,5	12,8 \pm 0,9

рослими рослинами для них характерна значно більша інтенсивність цього процесу: 49 мг на 100 г сухої маси коренеплоду за год (табл.3), що близько збігається з оцінкою дихання ізольованих коренеплодів на підтримування, наведеною вище. В обох вікових групах рослин найбільша швидкість включення радіоактивного вуглецю в структурні полімери спостерігається протягом першої доби і зникається протягом наступних дев'яти. Така динаміка відбиває, очевидно, не зміну швидкості біосинтезу конституційних сполук клітини за час досліджу, а відмінності питомої радіоактивності асимілятів, які надходять із підживленого лотка, порівняно із запасними сахарами коренеплоду, які в різні періоди були вихідними продуктами для цього біосинтезу. Підвищення відносної радіоактивності високомолекулярних сполук протягом наступних дев'яти діб, виражене в молодих рослин, може вказувати на використання в біосинтезі полімерів не лише асимілятів, що знову надходять, але й запасних сахарів коренеплоду. Істотно менші зміни відносної радіоактивності запасних низькомолекулярних речовин за час досліджу в більших коренеплодах є, очевидно, наслідком збільшення їх загальної маси, а також послаблення ростових і метаболічних процесів. Очевидно, інтенсивність метаболізації запасних сполук корелює з інтенсивністю процесів росту, яка у дорослих рослин істотно ослаблена, зокрема через штучне освітлення. В даній ситуації виникла необхідність порівняти інтенсивність фотосинтезу рослин у лабораторії та в природних умовах освітлення. З метою оцінки розмірів метаболічного використання запасних сполук коренеплоду нами було проведено серію аналогічних дослідів в умовах природного освітлення вегетуючої рослини і контрольованою інтенсивністю приросту сухої речовини.

Визначення інтенсивності фотосинтезу показало, що в умовах низької освітленості (56 Вт/м^2) ця величина складала в залежності від застосованого методу від 5,06 до $7,94 \text{ мг CO}_2/\text{дм}^2 \times \text{год}^{-1}$. При середній сумарній радіації в об'єкті ФАР 425 Вт/м^2 , характерній для першої декади серпня, інтенсивність фотосинтезу досягала $34,5 \text{ мг CO}_2/\text{дм}^2 \times \text{год}$. Таким чином, значне зниження інтенсивності фотосинтезу в умовах штучного освітлення, можливо, і було причиною зниження інтенсивності ростових процесів. Результатом цього могло бути сповільнене включення асимілятів, що знову надходять, до скла-

Таблиця 5

Питома радіоактивність СРС і СНС різних зон коренеплоду цукрового буряка через добу після введення $^{14}\text{CO}_2$ в умовах природного освітлення

С о р т	Зона коренеплоду	Питома радіоактивність, розп./с*100 мг ⁻¹ сухої речовини		
		СНС	СРС	сумарна
Білоцерківський 045	зовнішня	130561 ₋ 2253	200166 ₊₃₄ 20	330727 ₋ 5622
	внутрішня	26692 ₋ 1068	82258 ₊₂₃ 85	108950 ₋ 3160
	центральна	21279 ₋ 660	55986 ₊₁₃ 99	77265 ₋ 1932
Білоцерківський 034	зовнішня	1108451 ₊₄ 7663	2355760 ₊₇ 538	3464211 ₊₁₀ 855
	внутрішня	622534 ₊₂₆ 909	2192610 ₊₈ 551	2818444 ₊₁₀ 999
	центральна	388200 ₋₂₂ 127	1291576 ₊₇ 230	1679776 ₊₂₄ 086
гібрид	зовнішня	183041 ₊₆ 223	322715 ₊₄ 841	505757 ₊₇ 587
Двілесьня	внутрішня	30499 ₊₁₀ 34	102859 ₊₂ 983	133358 ₋₃ 867
	центральна	9805 ₋ 333	18549 ₋ 594	28354 ₋ 907

ду СНС.

Вплив умов освітлення на процеси росту коренеплоду визначали за швидкості накопичення ним сухої речовини. В умовах природного освітлення швидкість накопичення сухої речовини коренеплоду була в 2 рази вищою аналогічної величини для рослини, які знаходилися в умовах штучного освітлення (2,04 і 1,00 г/добу, відповідно). Таким чином, зниження освітленості, яке привело до зниження фотосинтезу, було причиною зменшення швидкості процесів росту коренеплодів цукрового буряка. У зв'язку з цим наступна серія дослідів проводилася на рослинах, що знаходилися в умовах природного освітлення протягом всієї вегетації. Критерієм достатнього освітлення для процесів росту кореня під час досліду могло бути збереження постійної швидкості його росту. Дані про накопичення сухої маси і сахарози коренеплодами цукрового буряка (сорт Білоцерківський 045) показано на мал.3. Як видно з графіка, накопичення сухої речовини і сахарози в період проведення дослідів (перша половина серпня) відповідало середній швидкості цього процесу протягом усього часового інтервалу серпень-вересень. Постійний рівень вмісту сахарози в сухій речовині коренеплоду протягом експерименту дозволяв визначити приріст маси високополімерних сполук і зіставити його із змінами їхньої відносної радіоактивності. Досліди проводили за часовою схемою, що описана вище.

При визначенні питомої радіоактивності різних зон коренеплоду через добу після введення мітки виявилось, що найінтенсивніше надходження асимілятів відбувалося в найбільш периферійні кільця коренеплоду, що відповідало аналогічним даним у дослідях із штучним освітленням (табл. 5).

Через добу після асиміляції $^{14}\text{CO}_2$ відносна радіоактивність СНС порівняно з їхньою відотною масою була достатньо низькою в усіх зонах коренеплоду (табл.6). Незалежно від сорту рослини відносна радіоактивність СНС була максимальною в найбільш зовнішніх його зонах і зменшувалася в доцентровому напрямку. Вміст СНС у сухій речовині коренеплоду розподілявся аналогічно. В залежності від індивідуальної рослини відносна маса високомолекулярних сполук була в 1,5-2 рази вища їхньої відносної радіоактивності. При порівнянні цих величин для коренеплодів, зафіксованих через 10 діб після введення $^{14}\text{CO}_2$, відносна радіоактивність СНС найбільш периферійних зон

Таблиця 6

Включення ^{14}C до складу полімерних сполук коренеплоду цукрового буряка через добу після введення $^{14}\text{CO}_2$

Сорт	Зона коренеплоду	Вміст СНС у сухій речовині, %	Відносна радіоактивність СНС, %
Білоцерківський 045	зовнішня	19,8±0,5	13,5±0,3
	внутрішня	19,0±0,2	6,8±0,1
	центральна	14,3±0,4	5,8±0,3
Білоцерківський 034	зовнішня	25,1±0,8	13,2±0,7
	внутрішня	21,2±0,1	7,5±0,2
	центральна	19,9±0,2	6,9±0,2
гібрид	зовнішня	20,3±0,7	12,0±0,9
Дзілейний	внутрішня	18,0±0,3	6,4±0,2
	центральна	14,1±0,4	7,8±0,2

Таблиця 7

Включення ^{14}C до складу полімерних сполук коренеплоду цукрового буряка через 10 діб після введення $^{14}\text{CO}_2$

Сорт	Зона коренеплоду	Вміст СНС у сухій речовині, %	Відносна радіоактивність СНС, %
Білоцерківський 045	зовнішня	18,6±0,6	19,5±1,6
	внутрішня	18,7±0,5	14,9±0,1
	центральна	18,0±0,9	13,5±0,4
Ятужківський 037	зовнішня	21,9±0,9	22,0±1,2
	внутрішня	20,2±0,3	18,9±0,4
	центральна	20,0±0,1	14,7±2,3
гібрид	зовнішня	22,0±1,1	37,7±2,3
Дзілейний	внутрішня	18,0±0,7	13,9±1,1

коренеплоду фактично зрівнялася з їхньою відносною масою, а в деяких випадках значно перевищила цю величину (більше 30 % при відносній масі біля 20 %) (табл. 7.). Більша величина відносної радіоактивності високополімерних сполук порівняно з їхньою відносною масою може відобразити компенсацію метаболічних втрат радіоактивної сахарози запасного фонду за рахунок заново надходжуваних нерадіоактивних продуктів фотосинтезу. Підвищене включення ^{14}C в конституційні сполуки периферійних зон коренеплоду цукрового буряка, що корелює з надходженням асимілятів у зовнішні частини коренеплоду, дозволяє припустити різне споживання транспортних і запасних фондів для біосинтезу високополімерних структур у його внутрішніх і периферійних тканинах. Оцінку участі цих фондів у синтезі біополімерів можна зробити через відношення їхньої відносної радіоактивності до відносної маси, які можуть бути подані у вигляді виразів:

$$\frac{R_i}{R_i + R_s} \quad \text{і} \quad \frac{M_i}{M_i + M_s}$$

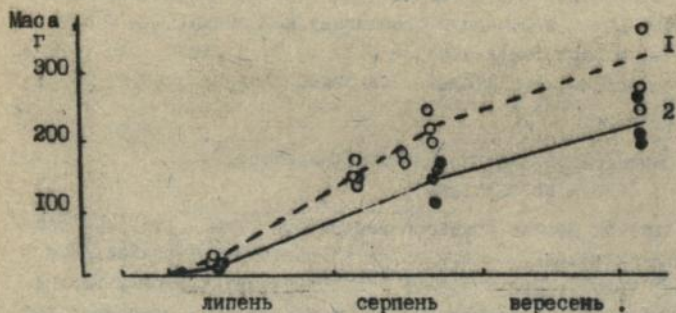
де, R_i , R_s , M_i і M_s - радіоактивність (R) і маса (M) спиртоторозчинних (i) і спирторозчинних (s) сполук. Рівність відносної радіоактивності відносній масі

$$\frac{R_i}{R_i + R_s} = \frac{M_i}{M_i + M_s}$$

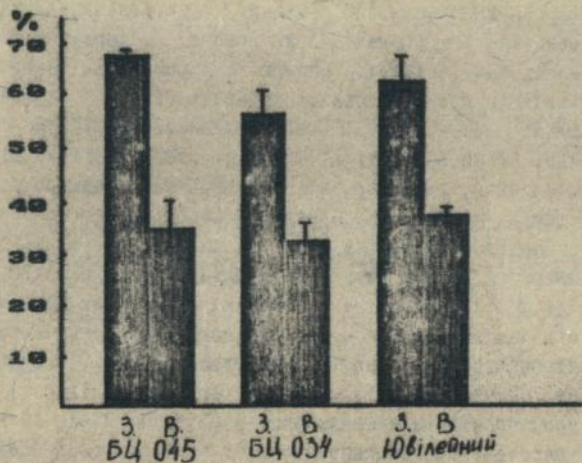
після 24 годин розподілу й метаболізації радіоактивних асимілятів передбачає, що джерелом вуглецю в біосинтезі високомолекулярних сполук служать виключно асиміляти транспортного фонду. Характерною особливістю наших експериментів є нерівність

$$\frac{R_i}{R_i + R_s} < \frac{M_i}{M_i + M_s}$$

Очевидно, що відношення лівої частини цієї нерівності до правої може бути кількісним вираженням розмірів участі асимілятів транспортного фонду в біосинтезі високомолекулярних сполук. Як видно з мал.4, це відношення для зовнішніх зон коренеплодів складало біля 60 %, а для внутрішніх - біля 30 %. Очевидно, в умовах інтенсивно-



Мал.3. Накопичення сухої речовини/1/ та сахарози/2/ коренеплідів цукрового буряка сорту Білоцерківський 045 за вегетаційний період 1989р.



Мал.4. Розміри споживання асимілятів транспортного фонду різних зон коренеплоду в біосинтезі полімерних сполук.

АНС ім. С. Стефаніши
АН УРСР

го росту в зовнішніх кільцях коренеплоду використання асимілятів транспортного фонду в процесах біосинтезу конституційних сполук досягає 60 %, у внутрішніх зонах - біля 80 %, а решта - 40 і 70 % чуглець, відповідно, - надходять у високopolімерні сполуки із запасного фонду.

взаємні перетворення низькомолекулярних сполук коренеплоду

Для багатьох рослин показана можливість глюконеогенезу, тобто утворення вуглеводів із продуктів гліколітичного розщеплення кислот циклу Кребса. При введенні ^{14}C -органічних кислот у листки цукрового буряка ^{14}C використовувався в біосинтезі органічних кислот, амінокислот і, меншою мірою, сахарів (Нагорная, 1967). Була також показана можливість глюконеогенезу в тканинах коренеплоду цієї рослини (Гродзиновский и др., 1961). Показником участі низькомолекулярних СРС у цьому процесі, а також їх взаємних перетворень може слугувати динаміка вклучення ^{14}C у фракції електронейтральних (сахари), електронегативних (органічні кислоти та фосфорні ефіри) й електропозитивних (амінокислоти) сполук. Безпосередньо через 4 год відтоку асимілятів у сумарній радіоактивності СРС 94 % складають електронейтральні речовини, 3,8% - електропозитивні й 2,5% - електронегативні (табл.3). Дані за такий короткий проміжок відтоку продуктів фотосинтезу, очевидно, відображають вист цих речовин у транспортних шляхах коренеплоду буряка. У коренеплодах молодих рослин сумарна радіоактивність органічних кислот, фосфорних ефірів і амінокислот зростає протягом усього досліджу, сягаючи за 10 діб 17 %, з яких 11 % - дві перші групи сполук. У дорослих рослин, що знаходилися під час досліджу в умовах штучного освітлення, радіоактивність електронейтральних сполук знижується до 87 %, а сумарна радіоактивність електрозаряджених речовин зростає до 12,4 %, переважно за рахунок електронегативних сполук (7,5 %). Після 10 діб експерименту спостерігається зниження загальної радіоактивності електронегативних і електропозитивних сполук до 7,2 % - також за рахунок електронегативних речовин.

Слід зазначити, що відносна радіоактивність електропозитивних сполук виявляла значні коливання, особливо в групі рослин, що постійно знаходилися в умовах природного освітлення, й була дещо вище

Відносна радіоактивність та вміст фракцій спиртоторозчинних сполук у коренеплодах цукрового буряка. Сорт Верхняцький 034

Експозиція, год.	Вік рослини, дні	Відносна радіоактивність, %			Вміст сахарози, % від сухої маси СРС	Вміст вуглець амінокислот у СРС, %
		електро-позитивні	електро-негативні	електро-нейтральні		
4	50	3,3	2,5	94,2		0,77±0,07
24	50	6,7	6,9	86,4	86±2	2,15±0,20
240	50	5,8	11,4	82,8		1,55±0,11
24	90	4,9	7,5	87,6		2,12±0,60
240	90	3,4	3,8	92,8	87±1	1,70±0,33

Таблиця 9

Відносна радіоактивність крохмальної фракції коренеплоду цукрового буряка стадії активного цукронакопичення

Сорт	Експозиція, год.	Відносна радіоактивність крохмалю й декстринів, %	% від радіоактивності СНС
Гібрид Ввілейний	24	1,5±0,1	17,7±0,4
	240	3,7±0,1	18,7±5,9
Білоперківська 045	24	2,8±0,0	25,5±2,5
	240	4,3±0,1	20,8±2,0

процентного вмісту амінокислот у тканинах коренеплоду (табл. 3). Проте в усіх варіантах досліді можна відзначити близьку відповідність між відносною радіоактивністю електрзаряджених сполук та ваговим вмістом амінокислот (1,0 - 2,8 %), органічних кислот (6,7 %) (Максимович и др., 1951) і фосфорних ефірів (1,2 % (Бузанов и др., 1971 а, 1971 б; Ильенко и др., 1971). В усіх групах рослин через 24 год досліді встановлюється близька відповідність між ваговим вмістом сахарози в загальній масі СРС та відносною радіоактивністю електронейтральних сполук.

Таким чином, обмежені розміри фонду електронегативних сполук та невелика швидкість його оновлення допускають лише кількісно незначну участь гліконеогенезу в процесі цукронакопичення. Аналогічно, підвищення відносної радіоактивності цих речовин у коренеплодах молодих рослин не може свідчити про значні розміри гліконеогенезу в запасачому компартменті коренеплоду.

Аналіз включення ^{14}C до складу амінокислот, органічних кислот і фосфорних ефірів показав, що утворення цих сполук у інтактному коренеплоді істотно нижче, ніж у досліді з використанням тканинних зрізів (Оканенко и др., 1967). У порівнюваних проміжках часу інкубації (3-5 годин) сумарна відносна радіоактивність цих груп сполук у наших досліді складала біля 5 %, тоді як у модельних експериментах при введенні ^{14}C -глюкози відносна радіоактивність тільки амінокислот досягала 80 % і більше, а органічних кислот - 14-17 %. Причиною такої невідповідності даних могла бути висока метаболічна активність процесів, що мають місце в тканинних зрізах, а також більша швидкість метаболічних перетворень глюкози в порівнянні з сахарозою. Описані відмінності відносної радіоактивності електрзаряджених сполук у коренеплоді інтактноі рослини та тканинних зрізів коренеплоду можуть слугувати додатковим побічним доводом на користь акумулювання запасачою паренхімою сахарози без попереднього розщеплення її молекули.

До питання про роль крохмалю в процесі цукронакопичення в коренеплоді

Виявлені системи перетворення крохмалю (Машков, Кокин, 1929; Курсанов, Павлинова, 1948; Mavuda Hiroshi et al., 1987), а також змінювання вмісту крохмалю в лейкопластах в онтогенезі коренеплоду

(Холодова, Болякина, 1983; Болякина, 1986) стали підставою для припущення, згідно з яким цей полімер може бути тимчасовим депо вуглецю на шляху транспорту асимілятів до запасової паренхіми кореня. Низький вміст крохмалю (одне з небагатьох вдалих визначень показало, що вміст крохмалю в коренеплоді молодих рослин складає 0,066 % свіжої маси (Steiger, Abel, 1975) це не заперечує можливості його активної участі в фізіологічних процесах і може, зокрема, відобразити велику швидкість оновлення цього полісахариду за рахунок асимілятів, що надходять у коренеплід.

Використання радіохімічного методу у вивченні даного питання могло б допомогти визначити швидкість його оновлення й наблизитися до розуміння фізіологічної ролі крохмалю та близьких йому сполук у коренеплоді цукрового буряка.

Як видно з таблиці 9, включення ^{14}C до складу полісахаридів, що легко мобілізуються (крохмаль + декстрини), протягом перших 24 год досліді було незначним і становило всього кілька відсотків від сумарної радіоактивності як у Двілейного, так і в Білоцерківського 045. Протягом наступних днів досліді значення цього параметру змінювалось мало.

Така відсутність істотних змін у відносній радіоактивності крохмалю та декстринів не може свідчити про високу рухливість цієї фракції. Очевидно, депонування крохмалю в лейкопластах цукрового буряка носить більш довготривалий характер і не відноситься до механізмів регуляції розподілу вуглецю, що надходить у запасову клітину, з добовим циклом.

Закінчення

За допомогою фотосинтетичного введення радіоактивного вуглецю вивчалися метаболічні перетворення асимілятів, що надходять до інтактного коренеплоду цукрового буряка. Метаболічні перетворення оцінювалися за включенням радіоактивного вуглецю до складу спирто-нерозчинних полімерних сполук, а також до складу низькомолекулярних речовин існої природи. Радіоактивність окремих фракцій органічних сполук виражалася у процентах сумарної величини і позначалася терміном "відносна радіоактивність".

У період росту та цукронакопичення із листкової пластинки протягом 24 год відтікає 32-96 % новоутворених продуктів імпульсно-

го фотосинтезу та завершується їх перехід із провідних шляхів до запасової паренхіми коренеплоду. Незалежно від умов вирощування та сорту рослини від 7 до 13 % асимілятів, що надходять до коренеплоду протягом доби, використовуються для біосинтезу полімерних сполук.

Відносна радіоактивність полімерних сполук, синтезованих протягом 24 год, істотно нижча від їх масової частки, що коливається в межах 13-22 % сумарної маси сухої речовини коренеплоду. Відмінність відносної радіоактивності від масової частки конституційних сполук може вказувати на використання в їхньому біосинтезі не тільки тих асимілятів, що надходять *de novo*, але й сахарози запасного фонду коренеплоду.

Відношення безрозмірних величин відносної радіоактивності полімерних сполук до їх відносної маси характеризує розмір безпосереднього внеску асимілятів транспортного фонду в біосинтез маси високополімерних сполук. В умовах інтенсивного росту в зовнішніх кільцях коренеплоду використання асимілятів транспортного фонду досягає 60 % загальної маси синтезованих полімерних сполук, у внутрішніх кільцях воно не перевищує 30 %.

З продовженням експерименту підвищення відносної радіоактивності високополімерних сполук відбувається з меншою швидкістю порівняно з першою добою. Воно відображає метаболічні перетворення сахарози запасного фонду коренеплоду, питома радіоактивність якої нижча, ніж у радіоактивних асимілятів, що надходять до коренеплоду з листка.

Швидкість метаболічних перетворень сахарози запасного фонду, розрахована за зміняванням відносної радіоактивності полімерних сполук, істотно залежить від фізіологічного стану рослин. В умовах зниженої інтенсивності фотосинтезу та ослабленого надходження асимілятів у коренеплід споживання сахарози запасного фонду близьке до її витрати в диханні на підтримкування. Висока інтенсивність дихання коренеплідів молодих рослин добре корелує з більшою швидкістю споживання їх запасної сахарози в порівнянні з коренеплодами дорослих рослин у другій половині їхньої вегетації.

Радіоактивність декстринів і крохмалю коливається в межах 20-30 % сумарної радіоактивності високополімерних сполук. Зміни відносної радіоактивності запасних полісахаридів у багатоденних

експериментах не мають чітко вираженої спрямованості й не дають підстав розглядати крохмаль та близькі йому декстрини як форму тимчасового депошування вуглецю надлишкової маси асимілятів добового циклу на шляху до їхньої акумуляції в вакуолях запасальної паренхіми, а також утилізації в біосинтезі структурних полісахаридів.

Обмежені розміри фонду електрзаряджених сполук і швидкості його обновлення не можуть свідчити про значні розміри глюконеогенезу в накопиченні сахарів у запасальному компартменті коренеплоду. Швидкість гліколітичних і окислювальних процесів перевищує швидкість біосинтезу високополімерних сполук.

В И С Н О В К И

1. У період активного росту та цукронакопичення з листка середнього ярусу цукрового буряка протягом 24 годин відтікає 82-96% новоутворених продуктів фотосинтезу і завершується їх перехід із провідних шляхів у запасальну паренхіму коренеплоду.

2. У період активного росту та цукронакопичення в біосинтезі конституційних сполук клітини використовуються не тільки асиміляти, що зверху надходять, але й сахароза запасного фонду. У зовнішніх зонах коренеплоду використання асимілятів транспортного фонду досягає 60 % загальної маси синтезованих полімерних сполук, у внутрішніх зонах воно не перевищує 30 %.

3. Швидкість метаболічних перетворень сахарози запасного фонду істотно залежить від фізіологічного стану рослини і має пряму кореляцію з інтенсивністю ростових процесів коренеплоду.

4. Обмежені розміри фонду електрзаряджених сполук і швидкості його обновлення не можуть свідчити про значні розміри глюконеогенезу в накопиченні цукрів у запасальному компартменті коренеплоду.

5. Низька величина відносної радіоактивності крохмалю та незначні розміри її динаміки в умовах багатоденної експозиції суперечать уявленню про функціонування полісахаридів, що легко мобілізуються, як тимчасового депо надлишкових асимілятів добового циклу на шляху до їхньої акумуляції в вакуолях запасальної паренхіми чи використання в процесах біосинтезу.

Список праць, опублікованих за матеріалами дисертації:

1. Патлянь Л.А. Метаболізм асимілятів в корнеплоді сахарної свекли // Тез. докл. ІУ Всесоюзної конференції молодих учених по фізіології рослинної клітки. - Минск, 1990. - С.56.
2. Патлянь Л.А. Роль крахмала в регулюванні потоку вуглевода в запасачем корнеплоді сахарної свекли // Тез. докл. Научно-практичної конференції молодих учених і спеціалістів України "Вклад молодих учених в інтенсифікацію сільського господарства УРСР". - Київ, 1991. - С.121.
3. Патлянь Л.А. Розміри метаболізації асимілятів транспортного фонду в різних зонах коренеплоду цукрового буряка // Тези допов. Конференції молодих учених і спеціалістів України "Актуальні питання ботаніки та екології". - Полтава, 1992. - С.35.
4. Патлянь Л.А. Використання фотоасимілятів у біосинтезі конституційних сполук в онтогенезі цукрового буряка // Тези допов. Всеукраїнської конференції фізіологів рослин. - Київ, 1992 / у друці /.
5. Приступа Н.А., Патлянь Л.А. Транспорт и метаболизация асимілятів в тканинах корнеплоді сахарної свекли // Физиолого-биохимические основы продуктивности сахарной свеклы. - Киев; ВНИС, 1989. - С.133-142.

Л. Патлянь

Подп. в печ. 20.10.92. Формат 60x84/16. Бумага тип. Офс. печать.
Усл. печ. л. 1,39. Усл. кр.-отт. 1,39. Уч.-изд. л. 1,2. Тираж
100 экз. Зак. **304** Бесплатно.

Отпечатано в Институте математики АН Украины
252601 Киев 4, ИСН, ул. Терещенковская, 3

470461

AB 26.710

AB 26.710