

9. *Новицкая Л.Л.* О возможной причине формирования структурных аномалий ствола карельской березы // Ботанический журнал. 1997. Т. 82. № 9. С. 61–66.
10. *Новицкая Л.Л.* Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 p.
11. *Новицкая Л.Л., Галибина Н.А.* Транспортная и запасная формы сахаров у березы повислой (*Betula pendula* Roth) // Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды. 2011.
12. *Цельникер Ю.Л., Малкина И.С.* Баланс органического вещества в онтогенезе листа у лиственных деревьев // Физиология растений. 1986. Vol. 33. № 5. P. 935–943.
13. *Шуляковская Т.А., Ветчинникова Л.В., Ильинова М.К., Канючкова Г.К.* Жирнокислотный состав суммарных липидов ствовой части березы. // Строение, свойства и качество древесины-2000. Петрозаводск, 2000. С. 110–112.
14. *Gibson S.I.* Plant sugar-response pathways. Part of a complex regulatory web // Plant Physiology. 2000.124:1532-1539.
15. *Gibson S.I.* Sugar and phytohormone response pathways: navigating a signalling network // Journal of Experimental Botany. 2004. 55: 253-164.
16. *Graham I.A.* Carbohydrate control of gene expression in higher plants // Research in Microbiology. 1996. 147: 572-580.
17. *Koch K.E.* Carbohydrate-modulated gene expression in plants // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 1996. 47: 509-540.
18. *Loreti E., De Bellis L., Alpi A., Perata P.* Why and how do plant cells sense sugars // Annals of Botany. 2001. Vol. 88. P. 803–812.
19. *Novitskaya L.L., Kushnir F.V.* The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth // Journal of Plant Growth Regulation. 2006. Vol. 25. P. 18–29.
20. *Sheen J., Zhou L. and Jang J.C.* Sugars as signalling molecules // Current Opinion in Plant Biology. 1999. 2: 410-418.
21. *Simko I.* Sucrose application causes hormonal changes associated with potato tuber induction Journal of Plant Growth Regulation. 1994. 13: 73–77.
22. *Smeeckens S.* Sugar regulation of gene expression in plants// Current Opinion in Plant Biology. 1998. 1: 230-234.

TRANSPORT AND STORAGE SUGAR'S FORM IN *BETULA PENDULA* ROTH

Novitskaya L.L., Galibina N.A.

Forest Research Institute, Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences, Pushkinskaya St., 11, Petrozavodsk 185910, Russia. Tel: +7 (8142) 76-81-60. E-mail: novits@krc.karelia.ru

Abstract. The objects of research were silver birch (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) and Karelian birch (*B. pendula* var. *carelica*). The result of our previous studies have led to the conclusion that the cause of the structural abnormalities of Karelian birch is excessive content of sucrose in the conducting phloem and cambial zone. Since only transport sucrose can influence on the morphogenesis it is necessary to form a correct estimate of sucrose pool, its transport and storage components.

The present study has shown that sucrose is the basic transport form of assimilates both in silver birch, and in Karelian birch. Sucrose is present in birch only at the transport form, it doesn't carry out storage function; storage of sugars occurs in the form of fructose.

ТРАНСПОРТНАЯ И ЗАПАСНАЯ ФОРМЫ САХАРОВ У БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ (*BETULA PENDULA* ROTH)

Новицкая Л.Л., Галибина Н.А.

Учреждение РАН Институт леса КарНЦ РАН, Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910, Россия. Тел.: +7 (8142) 76-81-60. E-mail: novits@krc.karelia.ru

Введение. В соответствии с разрабатываемой нами гипотезой, формирование структурных аномалий карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica*) индуцируется появлением избытка сахарозы в проводящей флоэме и камбиальной зоне [4, 5, 13].

Морфогенетическая роль сахарозы определяется двумя основными факторами: (1) она является основной транспортной формой ассимилятов у растений и поэтому служит исходным субстратом для синтеза структурных элементов клеток и тканей; (2) сахароза оказывает влияние на экспрессию генома [7–10, 14, 15], что может приводить к серьезным метаболическим последствиям, вплоть до изменения программы развития клеток.

Помимо участия в транспорте и обмене веществ у некоторых растений сахароза выполняет функции запасного соединения. Например, у сахарной свеклы, сахарного тростника, клена сахарного и некоторых других, она в больших количествах накапливается в вакуолярном пространстве клеток [3]. Следовательно, оценивая пул сахарозы в тканях растений, необходимо иметь в виду его транспортную и запасную составляющие.

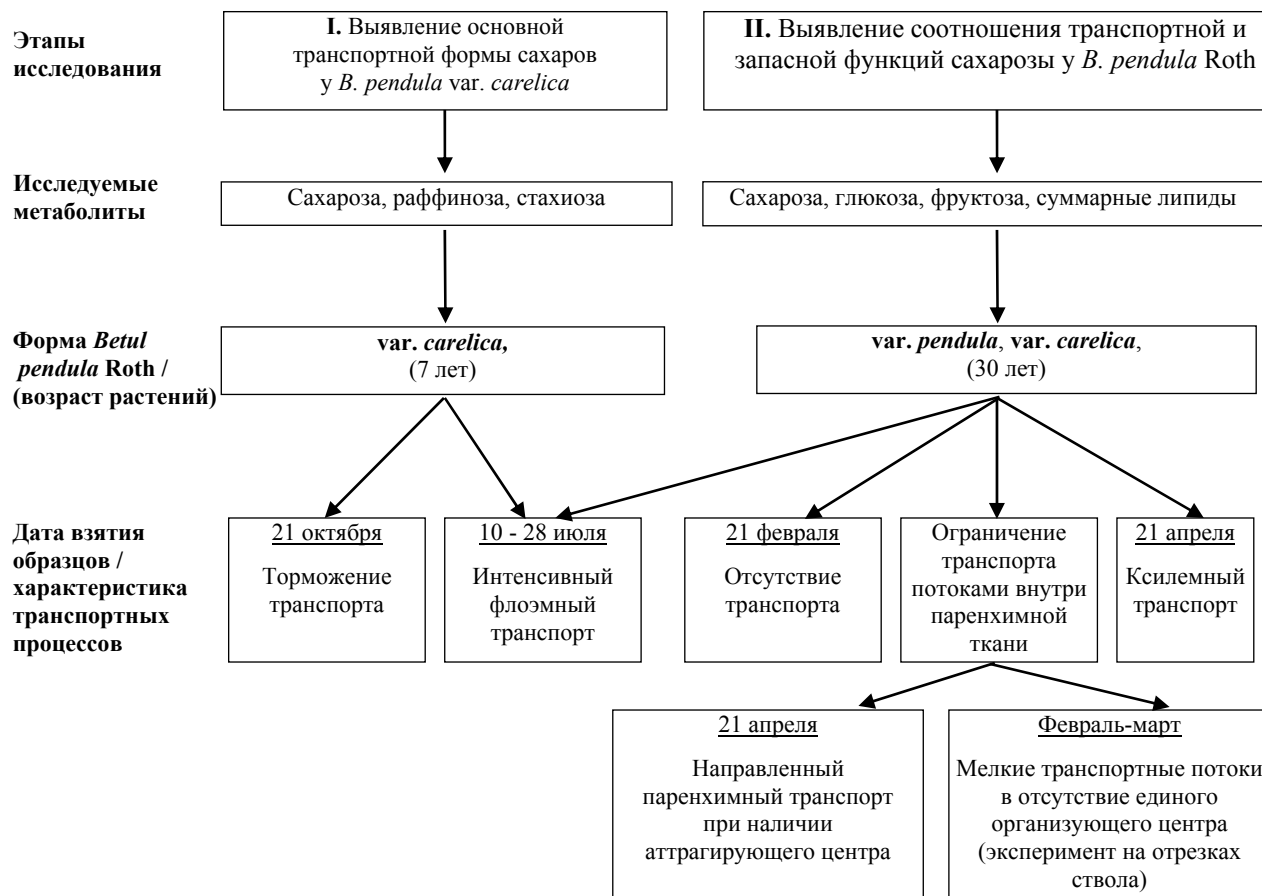


Схема. Особенности этапов исследования (пояснения в тексте).

Воздействие на морфогенез может оказывать только транспортная сахароза, вернее ее поток, воспринимаемый сахарочувствительными рецепторами клетки [11]. Запасная сахароза – это метаболит, который временно выведен из обмена и для хранения которого задействованы имеющиеся на данный момент емкости – вакуолярный аппарат клеток паренхимы.

Для растений карельской березы, по сравнению с обычной березой повислой (*B. pendula* var. *pendula*), характерно повышенное содержание сахарозы в проводящей флоэме [5]. Рассматривать данную разницу в уровнях сахарозы с точки зрения наличия избытка дисахарида в тканях карельской березы можно только в том случае, если она представлена транспортной сахарозой.

Известно, что у обычной березы повислой в период вегетации сахароза является практически единственным сахаром флоэмного экссудата, лишь осенью здесь появляется небольшое количество раффинозы и стахиозы [2]. На карельской березе подобные исследования ранее не проводились.

В задачи нашего исследования входило: (1) выявить основную транспортную форму сахаров у карельской березы, (2) установить, выполняет ли сахароза у березы только транспортную функцию или является также запасной формой ассимилятов.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования были обычная береза повислая (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) и карельская береза (*B. pendula* var. *carelica*). Все опытные растения росли в одинаковых условиях на Агробиологической станции КарНЦ РАН в 2 км от Петрозаводска (61° 45' с.ш., 34° 20' в.д.). Возраст деревьев обычной березы повислой – 30 лет, карельской березы – 7 лет и 30 лет. 30-летние деревья карельской березы имели насыщенную текстуру древесины, 7-летние растения уже приступили к формированию структурных аномалий.

Исследования проводили на фоне разной интенсивности транспортных процессов и разного соотношения функций транспорта и запасаения веществ. На схеме приведены названия этапов исследования, изучаемые метаболиты, используемые объекты, сроки отбора образцов и особенности транспортных процессов в это время. Дополнительная информация и необходимые пояснения даны в тексте статьи.

Часть исследований проводили на отрезках стволов. Цель эксперимента заключалась в изучении состава и концентрации сахаров в условиях отсутствия явно выраженных аттрагирующих зон и флоэмного и ксилемного транспорта метаболитов.

Постановка эксперимента заключалась в следующем. В конце февраля из стволов березы выпиливали трехметровые сегменты (нижний спил на высоте 1,3 м от земли), которые делили на отрезки длиной 30 см. Каждый отрезок помещали в полиэтиленовый пакет, который плотно завязывали для предотвращения высыхания тканей. Отрезки стволов в пакетах держали при комнатной температуре в течение 1–6 недель. Условия температуры и влажности способствовали гидролизу отложенных с осени запасных соединений. Образующиеся в процессе гидролиза сахара перемещались по градиентам концентрации в пределах клеток паренхимы и в рамках межклеточных взаимодействий. К четвертой неделе эксперимента на торцах отрезков ствола сформировались валики каллусной ткани, которая представляла собой достаточно однородное скопление сильно оводненных паренхимных клеток [12]. Внутри каллуса движение веществ было ориентировано по направлению к многочисленным очагам деления и дифференцировки клеток.

Материал для биохимических исследований фиксировали жидким азотом с последующим лиофильным высушиванием. Экстракцию сахаров проводили по стандартной методике [1].

Содержание растворимых углеводов в фильтрате из растительных тканей и в очищенном ксилемном соке анализировали на ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографической) системе серии «Стайер» (Аквилон, Россия). Определение содержания липидов проводили как описано в [13].

Результаты и обсуждение. В период активного камбиального роста (июль) транспортные формы сахаров во флоэме карельской березы представлены в основном одной сахарозой. В октябре на фоне высокого содержания сахарозы появились значимые уровни раффинозы и стахиозы (рис. 1).

Следовательно, у карельской березы сахароза является основной, а в период активного камбиального роста практически единственной транспортной формой углеводов. Как и следовало ожидать, по этому показателю карельская береза не отличается от обычной березы повислой [2], формой которой она является.

Исследования показали, что в период активного камбиального роста (28.07), возможного лишь при условии интенсивного притока фотоассимилятов из кроны, концентрация сахарозы довольно высокая (рис. 2).

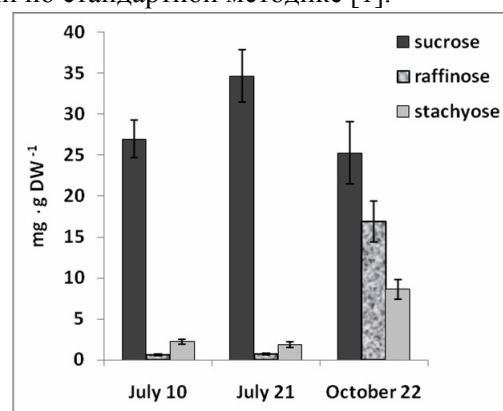


Рисунок 1. Содержание транспортных форм углеводов (мг/г) во флоэме карельской березы.

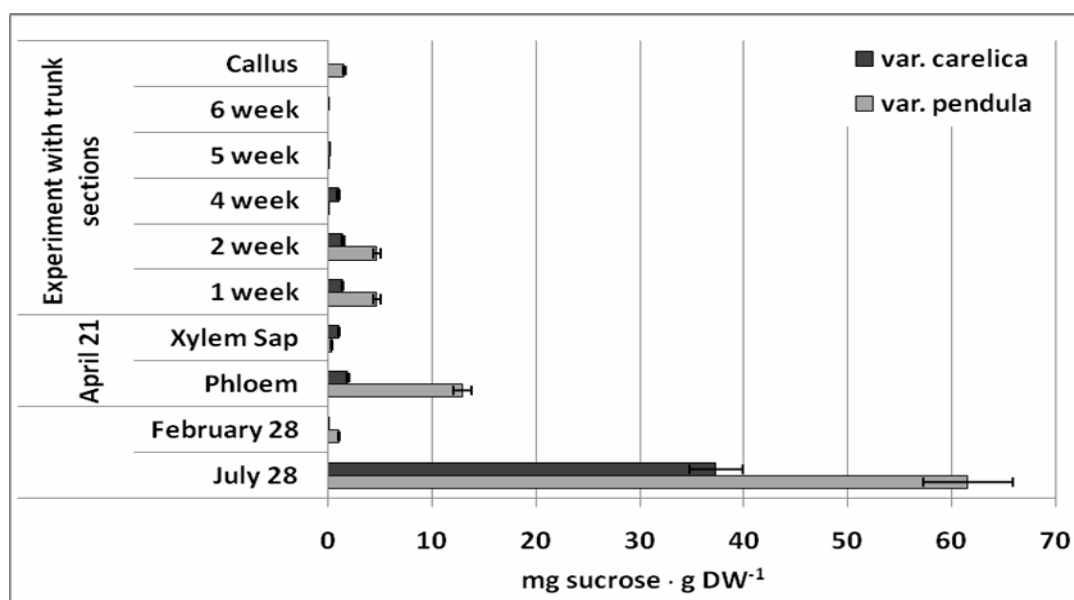


Рисунок 2. Содержание сахарозы во флоэме и ксилемном соке двух форм березы и каллусе обычной березы повислой.

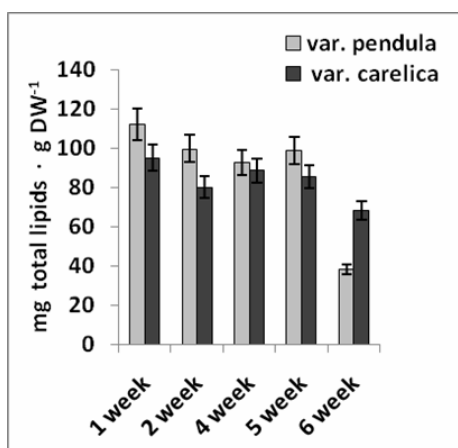


Рисунок 3. Динамика содержания суммарных липидов во флоэме двух форм березы повислой в эксперименте на отрезках ствола.

Зимой (конец февраля), когда транспорт отсутствует из-за отрицательных температур, у карельской березы сахара не обнаруживалась вовсе, а у обычной березы ее уровень приближался к нулю. В период весеннего сокодвижения (21.04), сахара, образующаяся при гидролизе запасных соединений, чтобы попасть в русло ксилемного потока, направленного к пробуждающимся почкам, проходит некоторый отрезок пути по клеткам паренхимы. В результате повышается содержание дисахарида во флоэме, особенно у обычной березы повислой. Следует подчеркнуть очень низкую концентрацию сахарозы в ксилемном соке, что указывает на ее распад при выходе за пределы симпласта. В свете выявленных тенденций логичным представляется невысокий уровень сахарозы в эксперименте на отрезках ствола, когда при отсутствии единого организующего центра в тканях имеют место только мелкие транспортные потоки, обусловленные разницей концентраций сахарозы и межклеточными взаимодействиями. Низкий уровень сахара

был обнаружен и в каллусной ткани, образованной на торцах отрезков ствола.

Обращает на себя внимание полное исчезновение сахарозы к 6-й неделе эксперимента на отрезках ствола (рис. 2). Данное явление наблюдается на фоне резкого снижения концентрации липидов (рис. 3) и повышения концентрации фруктозы (рис. 4), что вместе, очевидно, свидетельствует об активизации в тканях гидролитических процессов. Причем полученные данные указывают на то, что у обычной березы массовый гидролиз, в частности липидов, наступает раньше, чем у карельской березы. Высокий уровень сахаров (фруктозы) должен существенно повысить вязкость внутриклеточного раствора, что в условиях отсутствия аттрагирующих центров и, соответственно, значимых градиентов концентрации, очевидно, вызывает сильное замедление и, возможно, даже остановку транспорта.

Если в период зимнего покоя (февраль) были обнаружены лишь следы сахарозы (рис. 2), то содержание фруктозы в это время было достаточно высоким (рис. 4). В эксперименте на отрезках ствола уровень фруктозы был выше уровня глюкозы во все сроки определения. В каллусной ткани также в несколько раз преобладала фруктоза.

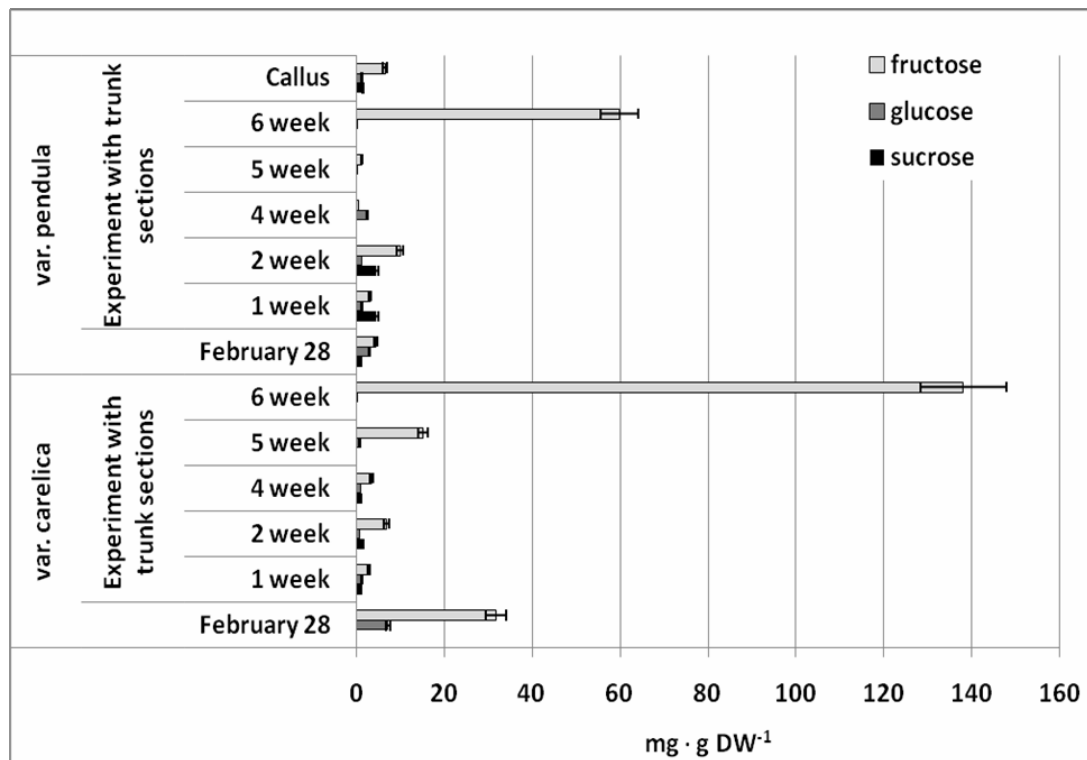


Рисунок 4. Содержание моносахаров во флоэме двух форм березы повислой в эксперименте на отрезках ствола.

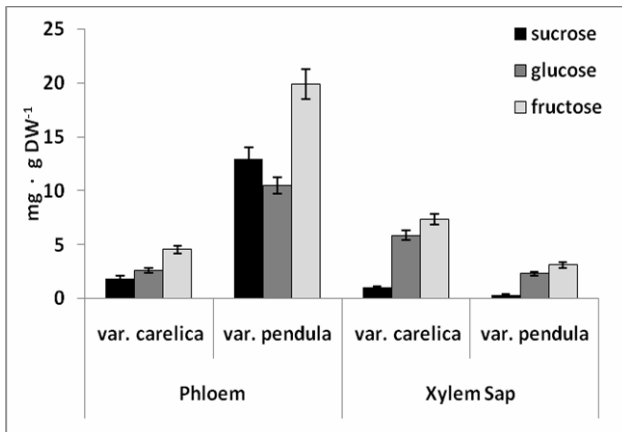


Рисунок 5. Содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы во флоэме и ксилемном соке двух форм березы повислой в период весеннего сокодвидения.

Преобладание фруктозы над сахарозой и глюкозой наблюдается и во флоэме интактных деревьев в период весеннего сокодвижения (рис. 5). Этот период весеннего пробуждения дерева связан с активными гидролитическими процессами, обеспечивающими мобилизацию запасенных в коре и древесине веществ. Нельзя не заметить, что весной содержание сахаров существенно выше во флоэме обычной березы, что можно было бы интерпретировать как более быструю (раннюю) мобилизацию у нее запасов по сравнению с карельской березой. Однако более высокий уровень сахаров в ксилемном соке карельской березы указывает на то, что разница по уровню сахаров во флоэме может быть вызвана более интенсивным у карельской березы оттоком сахаров из флоэмы в ксилему.

В ксилемном соке разница между концентрацией фруктозы и глюкозы небольшая, но, тем не менее, фруктоза преобладает.

В связи с кругом рассматриваемых вопросов особого внимания заслуживают данные, представленные на рис. 6. Образцы тканей в данном случае были взяты в период активного камбиального роста, т. е. активного деления, роста и развития клеток и тканей ствола. Источником углерода для этих процессов служит притекающая из листьев сахароза. Она же является, если не единственным, то во всяком случае основным источником гексоз, поскольку реакции обмена веществ в это время направлены на синтез, а не на гидролиз полимерных запасных соединений.

Известно, что для глюкозы характерна очень высокая метаболическая активность, в связи с чем она обычно не накапливается в зонах активного роста. Фруктоза намного медленнее, чем глюкоза, вовлекается в метаболизм. Поэтому при активном расщеплении сахарозы в тканях происходит повышение уровня фруктозы. Более того, резкое повышение концентрации фруктозы обычно рассматривают как один из показателей высокой активности ростовых процессов [6].

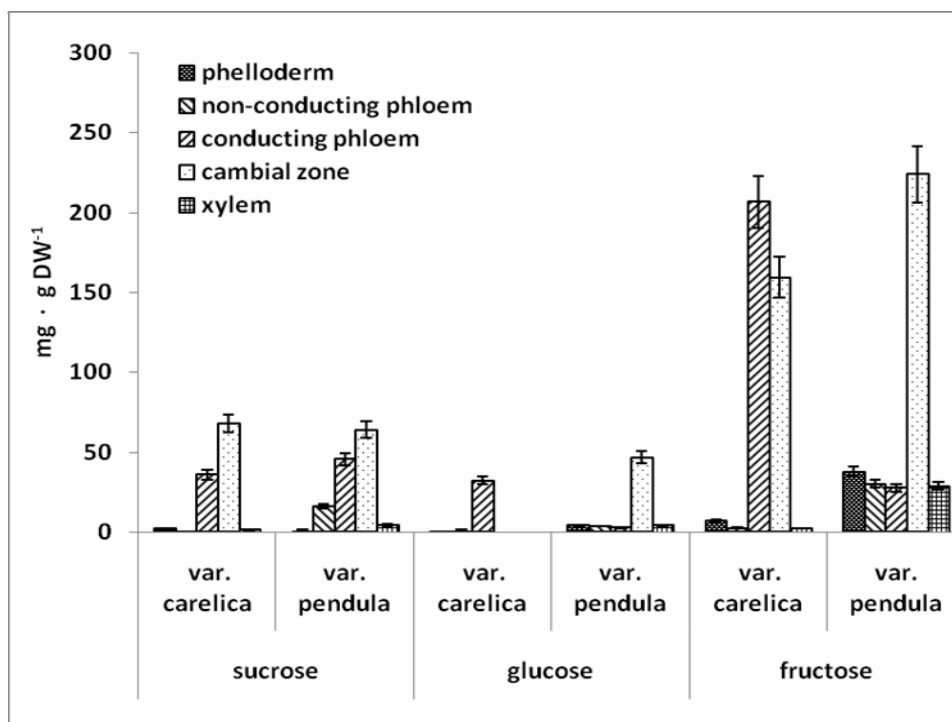


Рисунок 6. Содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы в последовательных слоях тканей ствола двух форм березы в период активного камбиального роста (июль).

Исходя из сказанного, большие пики фруктозы – у обычной березы в камбиальной зоне и у карельской березы в камбиальной зоне и проводящей флоэме (рис. 6), очевидно, можно рассматривать как показатель интенсивного расщепления сахарозы и активных ростовых процессов в этих слоях тканей ствола. Необходимо отметить, что большой пик фруктозы в камбиальной зоне представляет собой нормальное явление, так как ростовые процессы в этот период должны быть сосредоточены именно здесь. Наличие двух пиков фруктозы у карельской березы свидетельствует о том, что формирование структурных аномалий ствола у этой древесной породы связано с интенсивной утилизацией сахарозы как в зоне камбия, так и в проводящей флоэме.

Распределение сахарозы по слоям тканей (рис. 6), по нашему мнению, достаточно объективно отражает иерархию аттрагирующих центров в стволе в это время. Необходимо отметить, что самый высокий уровень сахарозы, несомненно, должен приходиться на ситовидные трубки флоэмы, из которых она разгружается по градиенту концентрации в сторону более низкого содержания дисахарида. Более низкую концентрацию сахарозы в проводящей флоэме, по сравнению с камбиальной зоной, можно объяснить тем, что на диаграмме приведены данные, отражающие усредненное содержание сахарозы на весь комплекс структурных элементов проводящей флоэмы, который, помимо ситовидных трубок, включает значительную долю паренхимных клеток.

На момент проведения анализа основным потребителем сахарозы в стволе является камбиальная зона, поэтому этому слою соответствует высокий уровень дисахарида. Отток сахарозы из проводящей флоэмы происходит не только в центростремительном (в камбиальную зону), но и центростремительном направлении, т. е. к периферийным слоям коры. Этот поток намного слабее, что находит отражение в относительно невысоком уровне сахарозы в непроводящей флоэме. Чем дальше от

проводящих тканей, тем слабее поток сахарозы и, наконец, на периферии коры – в феллодерме, она обнаруживается лишь в следовых количествах.

Обобщение приведенных в статье данных позволяет сделать следующие выводы:

– уровень сахарозы в тканях пропорционален интенсивности транспортных процессов: интенсивный осевой транспорт (июль) – высокий уровень сахарозы, отсутствие транспорта (февраль) – содержание сахарозы падает почти до нуля, ограниченный паренхимный транспорт (апрель, а также эксперимент на отрезках ствола) – небольшие количества сахарозы, величина которых определяется напряженностью транспортных процессов;

– сахароза у березы, являясь основной транспортной формой углеводов, по-видимому, присутствует в растении только в транспортной или потоковой форме, она не выполняет запасную функцию;

– фруктоза в тканях березы может накапливаться в больших количествах; ее накопление происходит и при гидролитической, и при синтетической направленностях метаболизма; содержание фруктозы значительно преобладает над другими сахарами как в период зимнего покоя, так и при активных ростовых процессах; фруктоза накапливается в тканях независимо от температурных условий окружающей среды – при отрицательных температурах зимой, низких положительных температурах весной и оптимальных для роста температурах летом;

– запасным сахаром у березы повислой является фруктоза;

– при появлении в камбиальной зоне березы повышенного уровня сахарозы возникает необходимость в утилизации большего количества дисахарида, что может вызвать образование большего числа запасующих сахара клеток – клеток паренхимы. Значительное увеличение доли паренхимы приводит к нарушению структуры проводящих тканей, как это имеет место у карельской березы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках гранта № 09-04-01643-а.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гляд В.М.* Определение моно- и олигосахаров в растениях методом нормально-фазовой высокоэффективной хроматографии. Сыктывкар: Коми НЦ РАН, 1999. 16 р.
2. *Колесниченко В.М.* Динамика содержания и превращения ассимилятов у древесных растений // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Воронеж. 1985. 22 с.
3. *Курсанов А.Л.* Транспорт ассимилятов в растении. Москва: Наука, 1976. 647 р.
4. *Новицкая Л.Л.* О возможной причине формирования структурных аномалий ствола карельской березы // Ботанический журнал. 1997. Т. 82. № 9. С. 61–66.
5. *Новицкая Л.Л.* Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 с.
6. *Софронова Г.И.* Углеводный обмен // Физиолого-биохимические основы роста и адаптации сосны на Севере. Л.: Наука. 1985. С. 30–57.
7. *Gibson S.I.* Plant sugar-response pathways. Part of a complex regulatory web // *Plant Physiology*. 2000. 124:1532-1539.
8. *Gibson S.I.* Sugar and phytohormone response pathways: navigating a signalling network // *Journal of Experimental Botany*. 2004. 55: 253-164.
9. *Graham I.A.* Carbohydrate control of gene expression in higher plants // *Research in Microbiology*. 1996. 147: 572-580.
10. *Koch K.E.* Carbohydrate-modulated gene expression in plants // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 1996. 47: 509-540.
11. *Loreti E., De Bellis L., Alpi A., Perata P.* Why and how do plant cells sense sugars // *Annals of Botany*. 2001. Vol. 88. P. 803–812.
12. *Novitskaya L.L.* Regeneration of bark and formation of abnormal birch wood // *Trees*. 1998. Vol. 13. № 2. P. 74–79.
13. *Novitskaya L.L., Kushnir F.V.* The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth // *Journal of Plant Growth Regulation*. 2006. Vol. 25. P. 18–29.
14. *Sheen J., Zhou L. and Jang J.C.* Sugars as signalling molecules // *Current Opinion in Plant Biology*. 1999. 2: 410-418.
15. *Smeekens S.* Sugar regulation of gene expression in plants // *Current Opinion in Plant Biology*. 1998. 1: 230-234.