**Влияние света на образование триоз в листьях ячменя**

Г.Н. Чупахина, М.В. Куркина

Исследуется влияние условий освещения на образование триоз в листьях ячменя. Показано стимулирующее действие света и экзогенного субстрата – 1%‑ного раствора глюкозы – на накопление триоз в зеленых листьях ячменя, а также светозависимое накопление триоз в альбиносных листьях, снабженных экзогенным субстратом. Благодаря использованию разобщителя дыхания и окислительного фосфорилирования – 2,4-динитрофенола, ингибитора гликолиза – фторида натрия, а также растений с депигментированными листьями установлено наличие связи между светозависимым образованием триоз и дыханием.

Проблема взаимосвязи фотосинтеза и дыхания является одной из основных в физиологии растений, поэтому изучение обмена углеводов для решения вопроса о соотношении двух энергетических процессов имеет важное значение. Одно из центральных мест в обменных реакциях углеводов занимают фосфотриозы – диоксиацетонфосфат (ДОАФ) и фосфоглицериновый альдегид (ФГА). Однако вопрос формирования пула фосфотриоз в растениях практически не изучен. Имеется лишь несколько работ по данной теме. В частности, о влиянии температуры на размеры пулов фосфотриоз кукурузы и ячменя [1] и об увеличении содержания промежуточных продуктов цикла Кальвина, в том числе и ДОАФ в листьях ячменя, зараженных мучнистой росой [2]. В других работах представлены сведения об изменении концентрационного уровня ДОАФ в листьях кукурузы в течение суток [3] и уровня фосфотриоз при прорастании семян, т. е. в период активного глюконеогенеза [4].

Целью данного исследования явилось изучение влияния света на накопление фосфотриоз в листьях ячменя. Поскольку ДОАФ и ФГА в растениях образуются в процессе дыхания, фотосинтеза и глюконеогенеза, то для разграничения данных пулов фосфотриоз нами исследовалось влияние света на уровень этих соединений в зеленых и альбиносных проростках ячменя, а также в условиях ингибирования гликолиза и дыхательного процесса в целом.

**Методика**

В качестве объекта исследования использовали 8 – 13-дневные проростки ячменя (Hordeum vulgare L.) сорта Роланд, выращенные в установке ТКШ-1 «Флора» при постоянном освещении светом люминесцентных ламп белого света ЛБУ-30 интенсивностью 5 Дж/м2⋅с. Альбиносные проростки получали из семян, обработанных 0,25%‑ным раствором стрептомицина. Перед опытом растения выдерживали в темноте в течение 24 часов. В качестве разобщителя дыхания и окислительного фосфорилирования использовали 0,001 М раствор 2,4-динитрофенола, гликолиз затормаживали 0,015 М раствором фторида натрия – ингибитором энолазной реакции. Срезанные листья помещали основаниями в воду и в растворы субстрата или ингибитора и освещали в течение 24 часов светом различной интенсивности. Опыты включали и темновой вариант. Содержание триоз определяли фотоколориметрическим методом [5] и рассчитывали в мкг/г сырого веса, используя калибровочную кривую для диоксиацетона. Опыты проводили в двух биологических повторностях и воспроизводили два – четыре раза. Полученные данные обработаны статистически методом парных сравнений. На рисунках представлены средние арифметические значения.

**Результаты и обсуждение**

Для выяснения условий, определяющих образование фосфотриоз в растениях, изучалось влияние освещения и экзогенного субстрата – 1%-ного раствора глюкозы – на биосинтез ДОАФ и ФГА в зеленых листьях ячменя (рис.1).



На 1%-ном растворе глюкозы

На воде

Рис. 1. Влияние света (12 Дж/м2⋅с) на содержание триоз в 10 – 11-дневных зеленых листьях ячменя в присутствии 1%-ного раствора глюкозы. Экспозиция 24 часа

Исследования показали, что содержание моносахаридов триоз в освещенных листьях было в 2,5 раза выше, чем в неосвещенных. Можно предположить, что увеличение уровня фосфотриоз произошло за счет новообразования их в цикле Кальвина в условиях интенсивного фотосинтеза. Присутствие экзогенного субстрата – 1%‑ного раствора глюкозы – стимулировало накопление ДОАФ и ФГА на свету, в результате чего уровень фосфотриоз превысил таковой у неосвещенных листьев в 2,8 раза. Накопление ДОАФ и ФГА в неосвещенных листьях на растворе глюкозы также имело место, но уровень их был всегда ниже, чем на свету, так как из-за отсутствия фотосинтеза в темноте накопление фосфотриоз шло только за счет дыхательного процесса.

Таким образом, представленные данные показывают положительное действие экзогенного субстрата – 1%-ного раствора глюкозы – на биосинтез фосфотриоз и стимулирующее действие света на данный процесс. Увеличение уровня фосфотриоз в темноте может быть связано с гликолизом и окислительным пентозофосфатным циклом, которые, вероятно, активируются при наличии глюкозы. Что касается работы этих окислительных процессов на свету, то в научной литературе имеются данные о функционировании гликолиза и окислительного пентозофосфатного цикла в разных зонах растущего листа ячменя [6]. Авторы указанной работы говорят о том, что в клетках меристематической зоны не происходит ингибирования гликолиза и окислительного пентозофосфатного цикла на свету. В зоне растяжения и зрелых клеток листа эти процессы ингибированы на 40 – 50 %. В наших исследованиях отмечено светозависимое увеличение уровня фосфотриоз в присутствии глюкозы – общего субстрата для этих окислительных процессов, поэтому можно предположить, что на свету пул фосфотриоз формируется и за счет дыхания.

Связь светозависимого накопления фосфотриоз с процессом дыхания проверяли на опытах: дыхательный процесс ингибировали 0,001 М раствором 2,4-динитрофенола – разобщителем дыхания и окислительного фосфорилирования (рис. 2).

Ингибирование в равной степени снизило уровень фосфотриоз в освещенных и неосвещенных листьях по сравнению с контролем. Следовательно, и на свету пул фосфотриоз в зеленых листьях ячменя пополняется ДОАФ и ФГА дыхательного метаболизма.



На 0,001 М растворе 2,4-динитрофенола

На воде

Рис. 2. Влияние света (12 Дж/м2⋅с) на содержание триоз в 10-дневных зеленых листьях ячменя в присутствии 0,001 М раствора 2,4-динитрофенола. Экспозиция 24 часа

С целью разделения пулов триоз фотосинтетического и дыхательного происхождения в опытах наряду с зелеными проростками использовали и альбиносные (рис. 3). Исследования показали, что альбиносные листья содержали несколько меньше фосфотриоз и их уровень не зависел от освещения, но в присутствии экзогенного субстрата светозависимое накопление наблюдалось и у альбиносов, что подтверждает полученные другими авторами данные [7] о стимулировании светом гликолиза и окислительного пентозофосфатного пути у альбиносов. Таким образом, исследования, проведенные на зеленых и альбиносных растениях, показали, что формирование пула фосфотриоз на свету происходит за счет ДОАФ и ФГА не только фотосинтетического, но и дыхательного происхождения.

Известно, что окисление глюкозы идет по гликолитическому и пентозофосфатному пути, причем эндогенный сахар окисляется преимущественно гликолитическими ферментами с вовлечением образовавшихся продуктов в цикл трикарбоновых кислот, а превращение экзогенной глюкозы в основном связано с работой окислительного пентозофосфатного цикла [8]. Поэтому можно предположить, что увеличение уровня фосфотриоз в листьях на экзогенном субстрате шло за счет их образования в реакциях пентозофосфатного пути.



На 1%-ном растворе глюкозы

На воде

Рис. 3. Влияние света (12 Дж/м2⋅с) на содержание триоз

в 12 – 13-дневных альбиносных листьях ячменя

в присутствии 1%-ного раствора глюкозы. Экспозиция 24 часа

Вклад гликолиза в образование фосфотриоз исследовали в опытах с использованием ингибитора энолазной реакции гликолиза – 0,015 М раствора фторида натрия. Опыты, проведенные с зелеными проростками ячменя (рис. 4), показали, что увеличение уровня ДОАФ и ФГА в освещенных листьях, находящихся на воде (контроль), составило 84 %, а в присутствии ингибитора – 68 % от исходного содержания. Экзогенная 1%-ная глюкоза стимулировала накопление фосфотриоз на 156 %, а при добавлении фторида натрия – на 122 %. Следовательно, в зеленых листьях ячменя накопление фосфотриоз происходит и за счет их образования при окислении глюкозы по гликолитическому пути в условиях освещения.

Что касается альбиносных растений, то данные опыта (рис. 5) показывают, что уровень триоз в освещенных и неосвещенных листьях на воде не изменился по сравнению с исходным содержанием. При стимуляции накопления фосфотриоз 1%-ным раствором глюкозы происходило увеличение уровня ДОАФ и ФГА на свету на 207 %, а в темноте на 88 %. В варианте, где в субстрат был добавлен



На 0,015 М растворе фторида натрия

На воде

На 1%-ном растворе глюкозы +  
 + 0,015 М растворе фторида натрия

На 1%-ном

растворе глюкозы

Рис. 4. Влияние света (12 Дж/м2⋅с) на содержание триоз

при ингибировании гликолиза 0,015 М раствором фторида натрия

в 9 – 10-дневных зеленых листьях ячменя, находящихся на воде

и 1%-ном растворе глюкозы. Экспозиция 24 часа

ингибитор гликолиза – фторид натрия, это увеличение составило только 64 % и 24 % соответственно. Следовательно, и в альбиносных листьях ячменя пул фосфотриоз на свету пополняется за счет ДОАФ и ФГА гликолитического происхождения. Следует отметить, что уровень фосфотриоз в освещенных листьях на субстрате и в варианте опыта, где к субстрату был добавлен ингибитор, был всегда выше, чем в неосвещенных. Таким образом, свет оказывал положительное действие на биосинтез фосфотриоз в альбиносных листьях ячменя в присутствии экзогенного субстрата.

Светозависимое накопление фосфотриоз зависело от интенсивности света (рис. 6). Содержание ДОАФ и ФГА в зеленых листьях на воде и на 1%-ном растворе глюкозы повышалось с увеличением интенсивности света, причем уровень их в листьях на субстрате, как всегда, был выше, чем в его отсутствии. Что касается альбиносных проростков, то уровень фосфотриоз в листьях, находящихся на воде, не



На 0,015 М растворе фторида натрия

На воде

На 1%-ном растворе глюкозы + 0,015 М растворе фторида натрия

На 1%-ном

растворе глюкозы

Рис. 5. Влияние света (12 Дж/м2⋅с) на содержание триоз

при ингибировании гликолиза 0,015 М раствором фторида натрия

в 8 – 10-дневных альбиносных листьях ячменя, находящихся на воде

и 1%-ном растворе глюкозы. Экспозиция 24 часа

зависел от интенсивности света, но в присутствии экзогенного субстрата у альбиносов, так же как и в зеленых листьях, наблюдалось с увеличением интенсивности света повышение содержания этих соединений. Следовательно, показана положительная зависимость накопления ДОАФ и ФГА от интенсивности света, что может быть связано с увеличением пула фотосинтетических и дыхательных триоз у зеленых листьев и с повышением уровня триоз дыхательного метаболизма у альбиносных листьев, снабженных субстратом.

Таким образом, исследования условий формирования пула фосфотриоз показали, что в зеленых листьях ячменя накопление ДОАФ и ФГА дыхательного метаболизма может стимулироваться светом и экзогенным субстратом – 1%-ным раствором глюкозы. В отсутствии фотосинтеза у альбиносных проростков светозависимое накопление фосфотриоз имеет место только в присутствии экзогенного субстрата.



Зеленые листья

Альбиносные листья

Зеленые листья на воде

Альбиносные листья на воде

Зеленые листья на 1%-ном

растворе глюкозы

Альбиносные листья на 1%-ном

растворе глюкозы

Дж/м2⋅с

Рис. 6. Влияние света различной интенсивности на содержание триоз

в 8 – 13-дневных зеленых и альбиносных листьях ячменя, находящихся

на воде и 1%-ном растворе глюкозы. Экспозиция 24 часа

**Список литературы**

1. Labate C.A., Adcock M.D., Leegood R.C. Effects of temperature on the regulation of photosynthetic carbon assimilation in leaves of maize and barley // Planta. 1990. Vol. 181. № 4. P. 547 – 554.

2. Scholes J.D., Lee P., Horton P., Lewis D.H. The effect of powdery mildew of barley on the concentration of calvin cycle metabolites and on the partioning of carbohydrate // Meet. photosynth. London, 4 – 6 Apr., 1990 / Agr. and food res. counc. London, 1990. P. 20 – 21.

3. Hideaki U., Kalt-Torres W., Kerr P.S., Huber S.C. Diurnal changes in maize leaf photosynthesis. Levels of metabolic intermediates of sucrose synthesis and the regulatory metabolite fructose 2,6-biphosphate // Plant physiol. 1987. Vol. 83. № 2. P. 289 – 293.

4. Kobr M., Beevers H.. Gluconeogenesis in the castor bean endosperm. Changes in glucolytic intermediates // Plant physiol. 1971. Vol. 47. № 1. P. 48 – 52.

5. Чупахина Г.Н., Куркина М.В. Фотоколориметрический метод определения триоз в растительном материале // Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум / Калинингр. ун-т; Авт.-сост. Г.Н. Чупахина. Калининград, 2000. С. 32 – 34.

6. Филиппова Л.А., Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Мирославов Е.А., Кудинова Л.И. Взаимоотношение фотосинтеза и дыхания у ассимилирующих клеток в разных зонах растущего листа ячменя // Физиология растений. 1986. Т. 33. Вып. 1. С. 66 – 74.

7. Зубкова Е.К., Филиппова Л.А., Мамушина Н.С., Чупахина Г.Н. Действие света на темновое дыхание альбиносных и зеленых участков листа ячменя // Физиология растений. 1988. Т. 35. Вып. 2. С. 254 – 259.

8. Шугаева Н.А., Выскребенцева Э.И. Принципиальные различия окислительного метаболизма экзогенного и эндогенного сахара // Физиология растений. 1985. Т. 32. Вып. 6. С. 1188 – 1190.