

УДК 581.1

## ДОНОРНО-АКЦЕПТОРНЫЕ ОТНОШЕНИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ ПРИ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ СЦЕНАРИЯХ КСИЛОГЕНЕЗА

© 2019 г. Н. А. Галибина<sup>а,1</sup>, Л. Л. Новицкая<sup>а</sup>, К. М. Никерова<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Федеральный исследовательский центр "Карельский научный центр Российской академии наук",  
Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия

Поступила в редакцию 02.04.2018 г.

После доработки 28.04.2018 г.

Принята к публикации 14.05.2018 г.

Были изучены донорно-акцепторные отношения в системе "лист – стебель – корень" в период камбиального роста на примере двух форм березы повислой – обычной березы повислой (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica* (Merckl.) Hämet-Ahti). У карельской березы, по сравнению с обычной березой, в листьях удлиненных (ауксибласты) и укороченных (брахибласты) побегов на фоне меньшего содержания сахарозы происходит накопление крахмала. У обычной березы высокий градиент сахарозы между флоэмой (проведение сахарозы к акцепторным тканям) и ксилемой (основной акцептор притекающей из листьев сахарозы) свидетельствует в пользу активного использования дисахарида на формирование структурных элементов древесины. Во флоэме карельской березы, по сравнению с обычной березой, на фоне высокой активности апопластной инвертазы уменьшается количество сахарозы и возрастает содержание крахмала. Формирование аномальной узорчатой древесины происходит на фоне снижения сахарозосинтазного пути и увеличения апопластного пути утилизации сахарозы. При этом в тканях уменьшается содержание целлюлозы и возрастает количество крахмала. Градиент сахарозы между флоэмой и ксилемой в местах аномалий меньше. Высказано предположение, что следствием перестройки метаболизма у карельской березы является усиление аттрагирующей силы тканей ствола, отражающееся в структурно-функциональных особенностях донора фотоассимилятов – листьев брахибластов, которые у карельской березы имеют более крупные размеры.

**Ключевые слова:** *Betula pendula* var. *carelica* – узорчатая древесина – донорно-акцепторные отношения – сахарозосинтаза – апопластная инвертаза – сахароза – крахмал – целлюлоза – фотосинтетические пигменты

DOI: 10.1134/S0015330319020064

### ВВЕДЕНИЕ

Форма березы повислой – карельская береза, *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merckl.) Hämet-Ahti, известная благодаря аномальной по строению узорчатой древесине, является ценным объектом для изучения механизмов ксилогенеза древесных растений. На основе результатов физиолого-биохимических и анатомо-цитологических исследований и постановки экспериментов было высказано предположение, что нарушение камбиальной деятельности у карельской березы, приводящее к формированию структурных аномалий ствола,

индуцируется появлением избытка сахарозы в проводящей флоэме и камбиальной зоне [1–4]. Сахароза оказывает влияние на экспрессию сахар-модулируемых генов [5–8], что имеет серьезные метаболические последствия, вплоть до изменения программы развития клеток.

Утилизация сахарозы в акцепторных тканях происходит при участии ферментов ее гидролиза – инвертазы и сахарозосинтазы [6, 9, 10]. Ранее было показано, что в аномальных по строению участках ствола карельской березы изменяется соотношение активности апопластной инвертазы (АпИInv) и сахарозосинтазы (СС), что определяет включение расщепляемой ими сахарозы в различные метаболические пути и, как следствие, может влиять на направление дифференциации камбиальных производных [11, 12].

В онтогенезе растений донорно-акцепторные отношения на уровне целого организма поддер-

*Сокращения:* АпИInv – апопластная инвертаза; СС – сахарозосинтаза; АУ – ауксибласты, удлиненные побеги; БР – брахибласты, укороченные побеги; ССК – светособирающий комплекс; Хл *b* – хлорофилл *b*; Хл *a* – хлорофилл *a*.

<sup>1</sup> Адрес для корреспонденции: Галибина Наталия Алексеевна, 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11. Институт леса КарНЦ РАН. Электронная почта: galibina@krc.karelia.ru

живаются благодаря интеграции роста акцепторных органов и изменению фотосинтеза [13, 14]. В период активного камбиального роста древесных растений камбиальная зона и дифференцирующаяся ксилема становятся основным акцептором фотоассимилятов. Развитие ксилемы, особенно стадия отложения вторичной клеточной стенки, требует больших субстратных и энергетических затрат [15]. Изменение запроса со стороны развивающейся ксилемы должно отразиться на фотосинтетической активности листьев — основных доноров ассимилятов в период камбиального роста. В данной связи целью нашей работы было изучение донорно-акцепторных отношений в системе “лист — стебель — корень” в период камбиального роста при разных сценариях ксилогенеза. В задачи исследования входило изучение распределения метаболитов (сахарозы, гексоз, крахмала) и активности ферментов метаболизации сахарозы (СС и АпИнв) в донорных и акцепторных органах деревьев карельской березы с узорчатой древесиной. Для характеристики фотосинтетической активности листьев изучали содержание пигментов. В качестве контроля использовали обычную березу повислую (*B. pendula* var. *pendula*), образующую типичную для вида прямослойную древесину со слабо выраженной текстурой.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Растительный материал и отбор образцов.** Объектами исследования были 6-летние деревья, принадлежащие к двум формам березы повислой (*Betula pendula* Roth) — обычной березе повислой, *B. pendula* var. *pendula* (далее в тексте — обычная береза), и карельской березе, *B. pendula* var. *carelica* (Merckl.) Hämet-Ahti. Все растения произрастали в одинаковых почвенно-климатических условиях на биологической станции Карельского научного центра РАН.

Растения выращены из семян, полученных от контролируемого опыления родительских деревьев с ярко выраженными признаками узорчатости древесины (Fogelia OY, Финляндия). Опытные деревья карельской березы имели высокую степень узорчатости древесины. Для деревьев обычной березы была характерна типичная для вида прямослойная древесина со слабо выраженной текстурой.

В условиях южной Карелии активное функционирование камбия у березы повислой наблюдается со второй декады июня до первой декады августа [3]. Отбор растительных образцов проводили в период активного камбиального роста (3–4 июля 2012 года).

Для анализа отбирали листья с удлинённых (ауксибласты, АУ) и укороченных (брахибласты, БР) побегов, мелкие сосущие корни, ткани ствола

(флоэма и ксилема). Образцы флоэмы и ксилемы отбирали на высоте 1.3 м от земли. У карельской березы выбирали участки с наибольшей степенью проявления структурных аномалий проводящих тканей. Для отбора образцов на стволе вырезали окошки 2 × 6 см и отделяли кору от древесины. С обнаженной поверхности древесины бритвенным лезвием соскабливали тонкий слой, куда входили дифференцирующиеся клетки ксилемы и наружные слои прироста ксилемы текущего года. С внутренней поверхности коры препарировали комплекс тканей, включающий камбиальную зону, проводящую флоэму и самые внутренние слои непроводящей флоэмы. В дальнейшем эти ткани обозначены как “флоэма”. Весь растительный материал замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературной морозильной камере при –70°С.

Отбор образцов тканей ствола контролировали под световым микроскопом. Анализ срезов показал, что для всех исследуемых растений был характерен активный камбиальный рост, в этот период основным акцептором ассимилятов являлись камбиальная зона ствола и дифференцирующаяся ксилема.

**Биохимические исследования.** Определение содержания пигментов проводили спектрофотометрическим методом (спектрофотометр СФ 2000, Россия). Хлорофилл экстрагировали из свежих листьев 80% ацетоном, полученный экстракт анализировали в диапазоне длин волн 410–700 нм. Содержание пигментов рассчитывали по формулам Н.К. Lichtenthaler [16]. Расчет доли хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) от их суммы производили с учетом того, что весь хлорофилл *b* находится в ССК [16].

Для определения сахаров растительный материал сразу после взятия проб замораживали в жидком азоте и лиофильно высушивали. Выделение и экстракцию сахаров проводили по методике, которая была подробно описана ранее [12]. Углеводы дважды экстрагировали 80% этиловым спиртом при 50°С в течение 30 минут. Спиртовые экстракты объединяли и упаривали на водяной бане при температуре 35–40°С. Полученный сухой остаток, содержащий моно-, ди- и олигосахариды растворяли в 3–5 мл (в зависимости от предполагаемого количества углеводов) бидистиллированной воды и фильтровали через бумажные фильтры. Полученный фильтрат подвергали тщательной очистке методом твердофазной экстракции (ТФЭ) для освобождения от мешающих компонентов, таких как пигменты, полисахариды, различные соли и органические кислоты. Для этого растворы образцов пропускали через мембранные фильтры (*d* = 25 mm, 0.45 μm, Nylon) (“ProFill”, Германия), а потом через картриджи для ТФЭ (NH<sub>2</sub>, 500 mg/6 mL, 55 μm, 70 Å) (“Phenomemex Strata”, США). Содержание растворимых углеводов в экс-

тракте анализировали на ВЭЖХ системе серии “Стайер” (“Аквилон”, Россия) при следующих условиях: колонка — Rezex RCM-Monoscharide (“Phenomenex”, США), элюент — бидистиллированная вода, скорость потока элюента — 0.6 мл/мин, детектор — рефрактометр. Критерием идентификации пиков служило время удерживания стандартных веществ: сахарозы, глюкозы, фруктозы (“Panreac”, Испания). Содержание углеводов выражали в мг на г сухой ткани.

Крахмал из органов и тканей извлекали хлорной кислотой по методу Пьючера, его содержание определяли глюкозооксидазным методом по количеству образованной в результате кислотного гидролиза глюкозы [17].

Целлюлозу выделяли по методу Кюршнера-Хоффера смесью концентрированной азотной кислоты и этилового спирта в соотношении 1 : 4 (по объему). Содержание целлюлозы определяли гравиметрическим методом [17].

Для определения активности ферментов растительные ткани растирали в жидком азоте до однородной массы и гомогенизировали при 4°C в буфере следующего состава: 50 мМ Нерес (pH 7.5), 1 мМ ЭДТА, 1 мМ ЭГТА, 3 мМ DTT, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0.5 мМ PMSF. После 20-минутной экстракции гомогенат центрифугировали при 10000 g в течение 20 мин (центрифуга MPW-351R, Польша). Осадок трехкратно промывали буфером. Осадок и объединенный супернатант диализовали при 4°C в течение 18–20 ч против буфера для гомогенизации, разбавленного в 10 раз. В осадке определяли АпИнв, в супернатанте — СС. Активность ферментов определяли после инкубации полученного препарата при 30°C в течение 30 мин.

Инкубационная среда для определения активности АпИнв содержала 100 мМ ацетатный буфер (pH 4.7) и 25 мМ сахарозу. Количество образовавшейся в процессе инкубации глюкозы определяли глюкозооксидазным методом (набор реагентов “Глюкоза-Агат”, Россия). Активность АпИнв выражали в мкмоль распавшейся сахарозы на г ткани [12].

Инкубационная среда для определения активности СС в сторону синтеза сахарозы содержала 73 мМ трис-НСl (pH 7.5), 2.5 мМ УДФ-глюкозу, 20 мМ фруктозу, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 3 мМ DTT. Количество образовавшейся сахарозы определяли спектрофотометрически по резорциновому методу Роэ (спектрофотометр СФ-2000, “ОКБ Спектр”, Россия). Активность сахарозосинтазы выражали в мкмоль образовавшейся сахарозы на г ткани [17].

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”.

**Статистическая обработка данных.** Обработку данных по результатам исследования проводили с

использованием общепринятых методов статистического анализа с использованием пакетов программ Microsoft Excel и StatGraphics для Windows.

В каждой группе было 5 растений березы, образцы с которых анализировали независимо в двух-трех кратной аналитической повторности. Данные представлены в виде средних арифметических значений и стандартных ошибок. Различия в распределении показателей между группами растений определяли методом оценки значимости различий средних величин (*t*-критерий Стьюдента). Статистически значимыми считались различия при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Характеристика фотосинтетического аппарата*

Суммарное содержание хлорофилла в листьях укороченных побегов (БР) обычной березы не отличалось от такового у карельской березы и составило около 2.2 мг/г. В листьях удлиненных побегов (АУ) у карельской березы количество хлорофилла (2.9 мг/г) было выше, чем в листьях обычной березы (2.5 мг/г) (рис. 1).

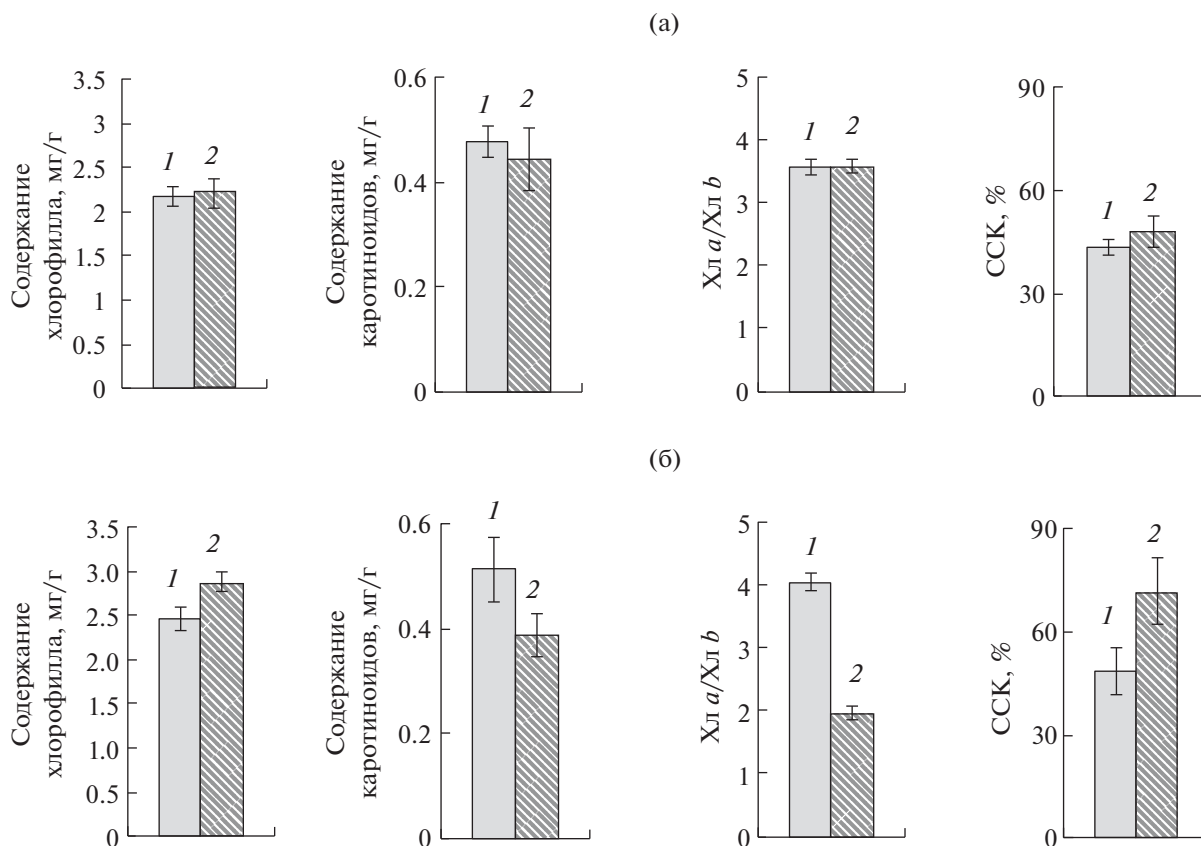
Содержание каротиноидов в листьях БР не отличалось у двух форм березы, а в листьях АУ их количество в 1.3 раза было меньше у карельской березы (рис. 1).

Доля хлорофиллов, принадлежащих ССК, составляла в листьях БР 43 и 48% у обычной и карельской березы соответственно. Достоверных отличий между двумя формами березы выявлено не было. В листьях удлиненных побегов содержание пигментов в ССК у обычной березы было 48%, в то время как у карельской березы этот показатель был в 1.5 раза больше и достигал 72%. Большее содержание пигментов в листьях АУ карельской березы было за счет хлорофилла *b*, о чем свидетельствует в 2 раза более высокое у нее, по сравнению с обычной березой, значение отношения Хл *a*/Хл *b* (рис. 1).

### *Содержание сахарозы*

В период активного камбиального роста у обычной березы содержание сахарозы в листьях АУ и БР не отличалось между собой и составило около 21 мг/г. В акцепторных тканях количество дисахарида было самым высоким во флоэме (114 мг/г), в 3 раза меньше в ксилеме (36 мг/г), а в корнях достигало всего 5 мг/г (рис. 2а).

У карельской березы в листьях количество сахарозы по сравнению с обычной березой было ниже, в 4 и 2.7 раза в АУ и БР соответственно. Еще одна особенность карельской березы — низкое содержание сахарозы в проводящих тканях флоэмы (49 мг/г), которое практически не отличалось от такового в ксилеме и было в 2.3 раза мень-



**Рис. 1.** Суммарное содержание хлорофилла *a* и *b*, содержание каротиноидов, отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* (Хл *a*/Хл *b*) и размер светособирающего комплекса (ССК) в листьях брахибластов (а) и ауксибластов (б) 6-летних растений обычной (1) и карельской (2) березы. Представлены средние значения пяти повторностей и их стандартные ошибки.

ше, по сравнению с обычной березой. В корнях по содержанию дисахарида между двумя формами березы отличий не обнаружили (рис. 2а).

*Содержание гексоз*

У обычной березы содержание гексоз в листьях составило в среднем 21 мг/г. Наибольшее количество гексоз содержалось в ксилеме (84 мг/г) – основном акцепторе ассимилятов в этот период. Во флоэме их количество было в 2.6 раза меньше (36 мг/г), и в корнях составило 7 мг/г (рис. 2б).

У карельской березы распределение гексоз по тканям не отличалось от такового у обычной березы. При этом, если в донорных органах (листья АУ и БР) их содержание было немного выше (26–28 мг/г), по сравнению с обычной березой, то в акцепторных тканях и органах, напротив, ниже – 24, 63 и 5 мг/г во флоэме, в ксилеме и в корнях соответственно (рис. 2б).

*Содержание крахмала и целлюлозы*

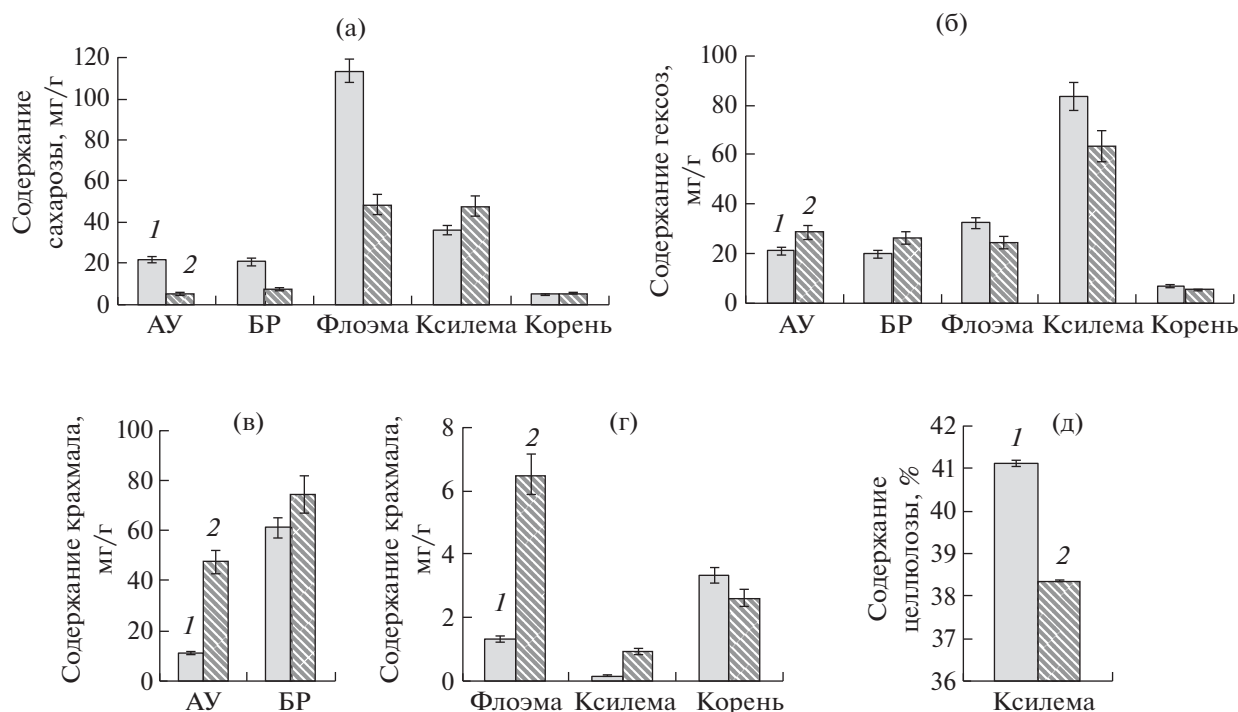
В период камбиального роста у исследуемых растений наибольшее содержание запасного по-

лисахарида крахмала наблюдалось в листьях БР (61 и 74 мг/г у обычной и карельской березы, соответственно). У карельской березы накопление крахмала наблюдалось также в листьях АУ (47 мг/г), у обычной березы его содержание в АУ составило 11 мг/г (рис. 2в).

По сравнению с побегами в акцепторных органах количество крахмала было существенно ниже, как у обычной, так и у карельской березы. У обычной березы наибольшее его количество было в корнях и составило 3.3 мг/г, во флоэме – 1.3 мг/г. В ксилеме обычной березы в период камбиального роста запасание крахмала происходило слабо, его содержание не превышало 0.2 мг/г (рис. 2г).

У карельской березы, по сравнению с обычной березой, в тканях ствола накапливалось больше крахмала (6.5 и 0.9 мг/г во флоэме и в ксилеме соответственно), а в корнях его содержание было чуть меньше (рис. 2г).

Содержание целлюлозы в ксилеме обычной березы (41%) превышало таковое у карельской березы (38%) (рис. 2д).



**Рис. 2.** Содержание сахарозы (а), гексоз (б) и крахмала (в, г) в листьях ауксибластов (АУ), брахибластов (БР), флоэме, ксилеме, корне и целлюлозы (д) в ксилеме 6-летних растений обычной (1) и карельской (2) березы. Представлены средние значения пяти повторностей и их стандартные ошибки.

#### *Активность сахарозосинтазы и апопластной инвертазы*

Активность СС в листьях обычной березы была выше, по сравнению с карельской березой, в 1.7 и 1.3 раза в удлиненных и укороченных побегах соответственно (рис. 3а). В основном акцепторе ассимилятов – развивающейся ксилеме, активность СС у обычной березы в 1.5 раза преобладала над таковой у карельской березы (рис. 3б). При этом во флоэме и в корнях активность СС была, напротив, выше у растений карельской березы в 3.5 и 13 раз соответственно (рис. 3б).

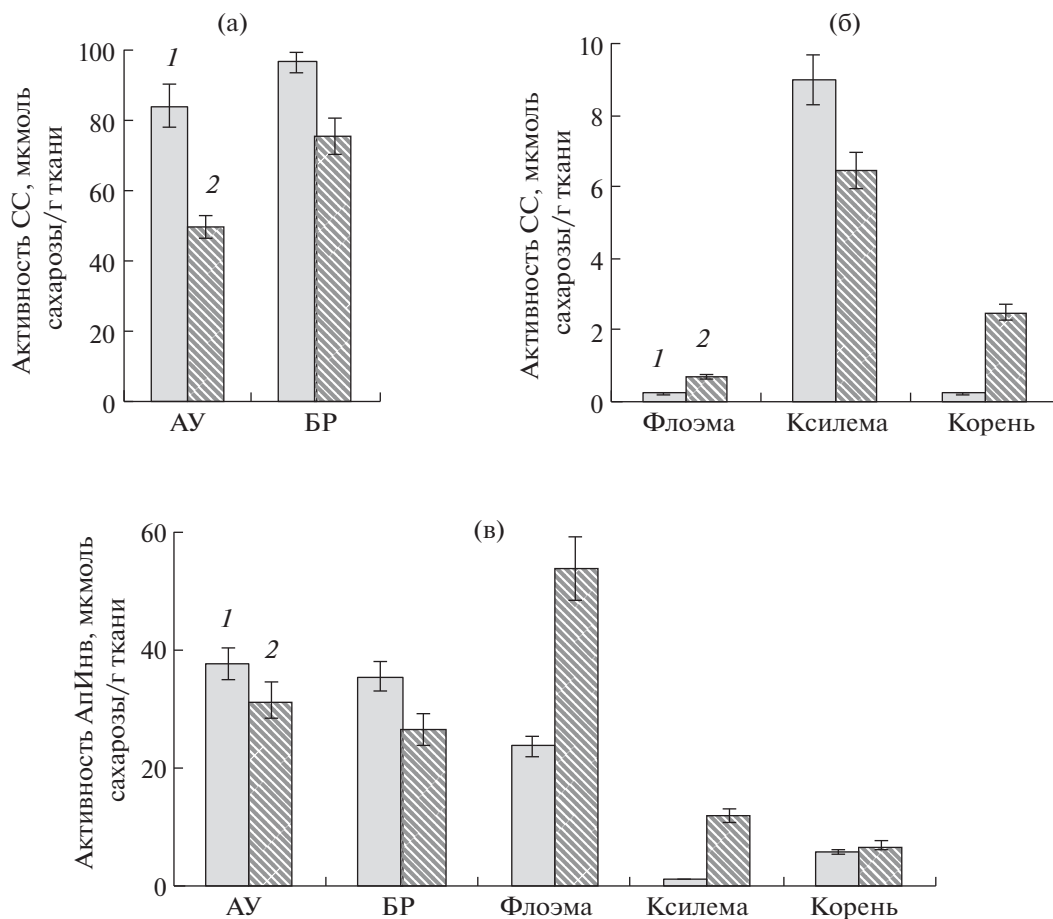
Если в листьях обычной березы активность АПИнв была в 1.3 раза выше, чем у карельской березы, то в акцепторных тканях ствола, наоборот, интенсивное расщепление сахарозы апопластным ферментом наблюдалось у карельской березы. Так, активность АПИнв у нее превышала таковую у обычной березы в 2.3 раза во флоэме и в 12 раз в ксилеме (рис. 3в).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

В период активного роста фотосинтезирующие листья являются основным донором ассимилятов в растениях. У березы формируется два основных типа побегов: удлиненные – АУ и укороченные – БР. Рост АУ продолжается в течение всего вегетационного периода: весной на них развиваются так

называемые листья первого поколения, после чего, по мере удлинения побега, на них появляются последующие листочки – листья второго поколения. Опыты Т. Козловского и Д. Клаузена [18] показали, что АУ большую часть вегетационного периода работают на обеспечение собственного роста и развития и лишь в конце вегетации становятся источником ассимилятов, откладываемых в запас. В отличие от АУ, на БР разворачивание листьев происходит очень быстро: после раскрытия почек на них сразу формируется розетка листьев. На этом процесс листообразования прекращается, после чего БР становятся источником ассимилятов для обеспечения вторичного (камбиально-го) роста ветвей и ствола [19].

Одним из важных показателей фотосинтетической активности листового аппарата является содержание фотосинтетических пигментов. В хлоропластах основная масса хлорофилла входит в состав ССК, выполняющего роль антенны и передающего энергию к реакционному центру фотосистем I или II. Изменение размера ССК определяет формирование устойчивости фотосинтетического аппарата растений [20]. У карельской березы в листьях АУ на фоне большего содержания пигментов количество их в ССК было выше, по сравнению с обычной березой (рис. 1а), что может обеспечивать большее светопоглощение листьев удлиненных побегов.



**Рис. 3.** Активность сахарозосинтазы (СС) (а, б) и апопластной инвертазы (АпИInv) (в) в листьях ауксибластов (АУ), брахибластов (БР), флоэме, ксилеме, корне 6-летних растений обычной (1) и карельской (2) березы. Представлены средние значения пяти повторностей и их стандартные ошибки.

Фотоассимиляты, образующиеся в листьях АУ, используются в ходе роста апикальных меристем побегов и способствуют увеличению линейных параметров кроны. Возрастание фотосинтетической активности единицы площади листьев происходит, как правило, при увеличении запроса со стороны акцепторов, которым принадлежит ведущая роль в функционировании донорно-акцепторной системы растения. Увеличение аттрагирующей способности акцепторов может приводить к увеличению листовой поверхности (через увеличение площади листовой поверхности или заложение новых листьев), что сопровождается усилением суммарного оттока ассимилятов из функционирующих листьев [14]. Установлено, что у карельской березы количество листьев на АУ, а также площадь их листовых пластинок превосходят таковые у обычной березы [19, 21]. Относительно АУ, комплекс имеющихся данных позволяет заключить, что апикальные меристемы побега карельской березы, по-видимому, обладают большей аттрагирующей силой, по сравнению

с аналогичными меристемами обычной березы повислой.

В период активного роста сахарозосинтазная активность в листе смещена в сторону синтеза сахарозы, которая поступает во флоэму и по ней оттекает к акцепторным тканям. Утилизация сахарозы по инвертазному пути в листе приводит к образованию глюкозы и фруктозы, которые не могут загружаться во флоэму, и расходуются в метаболизме клеток листа [22]. У двух форм березы активность СС в листьях АУ и БР преобладала над активностью АпИInv (рис. 3), из чего можно заключить, что отток сахарозы из листьев побегов к акцепторным тканям был очень высоким и значительно превышал использование дисахарида в листе.

У карельской березы, по сравнению с обычной березой, содержание сахарозы в листьях АУ и БР было меньше (рис. 2а). Известно, что высокая интенсивность фотосинтеза листа обеспечивается не только посредством оттока продуктов фотосинтеза к акцепторным органам, но и за счет перевода из-

бытка первичных метаболитов фотосинтеза в запасную форму – крахмал [14]. У карельской березы содержание крахмала было выше в листьях АУ и БР, по сравнению с обычной березой (рис. 2в). Накопление крахмала в листьях карельской березы, вероятно, стало причиной меньшего количества сахарозы в них.

Связь между донорами и акцепторами осуществляется посредством флоэмного транспорта. Сила запроса на ассимиляты определяется интенсивностью разгрузки ситовидных элементов в акцепторных тканях, то есть тесно связана со скоростью утилизации поступающей по флоэме сахарозы [14]. В период активного камбиального роста ксилема – основной акцептор притекающей из листьев сахарозы [15]. У обычной березы содержание сахарозы в ксилеме было меньше, чем во флоэме (рис. 2а). Высокий градиент сахарозы между ксилемой и флоэмой ( $113.6 - 36.3 = 77$  мг/г) свидетельствует в пользу активного использования дисахарида на формирование структурных элементов древесины.

Развитие ксилемы, особенно на стадии отложения вторичной клеточной стенки, требует больших субстратных и энергетических затрат [15]. Основную роль в метаболизации сахарозы в ксилеме обычной березы играет СС: ее активность в 9 раз выше активности АпИнв (рис. 3). УДФ-глюкоза, образующаяся в ходе сахарозосинтазного расщепления сахарозы, служит субстратом для синтеза  $\beta$ -(1 → 4)-глюкановых цепей целлюлозы [23–25].

Формирование аномальной узорчатой древесины карельской березы происходит на фоне сравнительно низкой активности СС в ксилеме (рис. 3б), что сопровождается снижением содержания целлюлозы (рис. 2д). При этом активность АпИнв здесь была примерно в 2 раза выше, по сравнению с активностью СС, и примерно в 12 раз выше, чем у обычной березы.

Содержание сахарозы в ксилеме карельской березы достоверно не отличалось от такового у обычной березы, но градиент сахарозы между флоэмой и ксилемой составил всего 0.8 мг/г ( $49 - 48.2 = 0.8$  мг/г) (рис. 2). В ксилеме узорчатых растений на фоне снижения содержания целлюлозы возрастает количество крахмала (рис. 2). Если биосинтез целлюлозы сопровождается необратимым выведением сахаров из обмена веществ, то накопление крахмала – это временное выведение избытка сахаров. Через биосинтез/деградацию крахмала регулируется сахарозный статус клетки [8, 26]. В клетке постоянно происходит деградация/синтез крахмала и сахарозы до гексоз, которые транспортируются внутри компартментов клетки. Транспортеры глюкозы, сахарозы и других сахаров, расположенные на мембране амилопластов, тонопласте, плазматической мембране,

обеспечивают поступление/извлечение сахаров в цитозоль и из него, что делает их частью системы, регулирующей постоянную концентрацию глюкозы в цитозоле [27, 28]. Работой этого механизма регуляции метаболизма сахаров, очевидно, можно объяснить сравнительно небольшие различия в содержании гексоз в тканях между обычной и карельской березой (рис. 2б). По нашему мнению, комплекс приведенных выше данных свидетельствует о том, что при формировании узорчатой древесины карельской березы имеет место смена приоритетного направления утилизации сахаров в клетках ксилемы. В данном случае процессы, связанные с синтезом/деградацией сахарозы и крахмала, начинают преобладать над синтезом структурных компонентов вторичных клеточных стенок. Такая направленность метаболизма характерна для клеток, сохраняющих живой протопласт. В связи с этим следует отметить, что в аномальных участках древесины карельской березы вместо волокон и сосудов наблюдается активная дифференцировка клеток запасающей паренхимы.

Основная роль флоэмы заключается в проведении ассимилятов к местам их потребления. У обычной березы содержание сахарозы во флоэме было максимальным, по сравнению с другими органами и тканями, что хорошо согласуется с ее главной функцией. У карельской березы количество сахарозы во флоэме было соизмеримо с таковым в ксилеме. Активность АпИнв во флоэме карельской березы была самой высокой, по сравнению с другими органами и тканями, и превосходила таковую у обычной березы в 2 раза (рис. 3в). Известно, что в ситовидных трубках инвертаза отсутствует [9], поэтому выявленную активность инвертазы следует относить к паренхимным клеткам. Высокая активность АпИнв свидетельствует о выходе большого количества сахарозы в апопласт, что обычно имеет место при появлении избытка сахарозы в клетке. Как указывалось ранее, важным механизмом утилизации сахарозы является синтез крахмала. У карельской березы, по сравнению с обычной березой, во флоэме содержание крахмала было в 5 раз больше (рис. 2г), что согласуется с большей (в 1.6 раз) у нее активностью СС во флоэме (рис. 3б), которая принимает активное участие в синтезе крахмала [29, 30].

Интенсивное расщепление сахарозы в апопласте и ее выведение из обмена через синтез крахмала должны приводить к уменьшению концентрации дисахарида в ткани. Действительно, у карельской березы количество сахарозы во флоэме было в 2.3 раза меньше, по сравнению с обычной березой (рис. 2а). Как и в ксилеме, во флоэме карельской березы интенсивная утилизация сахарозы коррелировала с повышенной паренхиматизацией ткани. Формирование клеток паренхимы в этом случае происходит как в результате дифференцировки производных камбия, так и за счет активных

повторных делений ранее сформированных паренхимных клеток. Из сказанного можно заключить, что утилизация в ткани большого избытка сахарозы возможна в результате изменения основного направления ее метаболизации: вместо преимущественного использования дисахарида на синтез компонентов клеточных стенок с последующим отмиранием протопласта наблюдается синтез запасных питательных веществ, что сопровождается формированием запасяющей ткани — паренхимы. Следствием такой перестройки метаболизма является сохранение и, вероятно, даже усиление аттрагирующей силы тканей ствола. Последнее должно находить отражение в структурно-функциональных особенностях донора фотоассимилятов, в нашем случае — листьев БР. Как было указано ранее, листья БР у карельской березы имеют более крупные размеры, по сравнению с аналогичными побегами обычной березы [19, 21], что предполагает синтез в них большего количества сахарозы.

Проведенное исследование показало, что формирование нормальной по строению древесины обычной березы, в составе которой преобладают сосуды и волокна, происходит на фоне высокой активности СС и сопровождается активным синтезом структурных компонентов клеточных стенок. У березы, как и у других древесных растений, при интенсивной дифференцировке водопроводящих и механических элементов ксилемы СС является основным ферментом, участвующим в утилизации притекающей сахарозы. Мембран-связанная форма СС входит в состав целлюлозо-синтазного комплекса, где УДФ-глюкоза сразу вовлекается в синтез целлюлозы, благодаря чему сахара необратимо выводятся из обмена веществ. Соответственно, в нормальной по строению древесине березы повислой мы наблюдали более высокое содержание целлюлозы.

Дифференциация производных камбия в клетки паренхимы, являющиеся основными анатомическими элементами в зонах структурных аномалий узорчатой древесины карельской березы, происходит на фоне низкой активности СС и сопровождается уменьшением содержания целлюлозы на единицу массы ксилемы. В образующихся паренхимных клетках накапливается большое количество запасных продуктов, основным из которых на первых этапах утилизации сахарозы является крахмал. У карельской березы акцепторная сила тканей ствола поддерживается благодаря интенсивной утилизации сахарозы в паренхимных клетках флоэмы апопластной инвертазой. Интенсивное расщепление сахарозы в апопласте способствует разгрузке ситовидных элементов и поддерживает концентрационный градиент фотоассимилятов между донором (фотосинтезирующие листья) и акцептором (камбиальная зона), тем самым регулируя дальний транспорт сахаров.

Наши данные свидетельствуют о том, что изменение программы развития производных камбия у карельской березы, а именно, дифференцировка клеток паренхимы вместо волокон и сосудов ксилемы и ситовидных трубок флоэмы, связано с увеличением потребления сахарозы. Это сопровождается увеличением площади донорных органов — листьев БР.

*Выражаем благодарность И.Н. Софроновой и М.Н. Подгорной за помощь в проведении биохимических исследований.*

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского научного центра Российской академии наук (Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук) и при финансовой поддержке Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 16-04-01191 и 16-04-100639\_p\_a).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Novitskaya L.L.* Regeneration of bark and formation of abnormal birch wood // *Trees: Structure and Function*. 1998. V. 13. P. 74–79.
2. *Novitskaya L.L., Kushnir F.V.* The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth // *J. Plant Growth Regul.* 2006. V. 25. P. 18–29.
3. *Новицкая Л.Л.* Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий // Петрозаводск: Verso, 2008. С. 144.
4. *Новицкая Л.Л., Галибина Н.А., Никерова К.М.* Транспорт и запасание сахаров во флоэме *Betula pendula* Roth var. *pendula* и var. *carelica* // Труды КарНЦ РАН. 2015. Серия Экспериментальная биология. № 11. С. 35–47.
5. *Gibson S.I.* Sugar and phytohormone response pathways: navigating a signalling network // *J. Exp. Bot.* 2004. V. 55. P. 253–264.
6. *Koch K.E.* Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2004. V. 7. P. 235–246.
7. *Smeekens S.* Sugar-induced signal transduction in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2000. V. 51. P. 49–81.
8. *Rolland F., Baena-Gonzalez E., Sheen J.* Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2006. V. 57. P. 675–709.
9. *Курсанов А.Л.* Транспорт ассимилятов в растениях // М.: Наука, 1976. С. 647.
10. *Sturm A., Tang G.Q.* The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning // *Trends Plant Sci.* 1999. V. 4. P. 401–407.
11. *Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Красавина М.С., Мощенская Ю.Л.* Активность сахарозосинтазы в тканях ствола карельской березы в период камбиального роста // Физиология растений. 2015. Т. 62. P. 410–419.



12. Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Красавина М.С., Мощенская Ю.Л. Активность инвертазы в тканях ствола карельской березы // Физиология растений. 2015. Т. 62. С. 804–813.
13. Мокронос А.Т. Интеграция функций роста и фотосинтеза // Физиология растений. 1983. Т. 30. С. 868–880.
14. Роньжина Е.С., Мокронос А.Т. Донорно-акцепторные отношения и участие цитокининов в регуляции транспорта и распределения органических веществ в растениях // Физиология растений. 1994. Т. 41. С. 448–459.
15. Антонова Г.Ф., Первозникова В.Д., Стасова В.В. Влияние условий произрастания на структуру годичного слоя древесины и продуктивность сосны обыкновенной // Лесоведение. 1999. № 6. С. 45–53.
16. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigment of photosynthetic biomembranes // Methods Enzymol. 1987. V. 148. P. 331–382.
17. Мощенская Ю.Л., Галибина Н.А., Топчиева Л.В., Новицкая Л.Л. Экспрессия генов, кодирующих изоформы сахарозсинтазы, в ходе аномального ксилогенеза карельской березы // Физиология растений. 2017. Т. 64. С. 301–310.
18. Kozłowski T.T., Clausen J.J. Shoot growth characteristics of heterophyllous woody plants // Can. J. Bot. 1966. V. 44. No. 6. P. 827–843.
19. Николаева Н.Н., Новицкая Л.Л. Структурные особенности ассимиляционного аппарата и формирование аномальной древесины карельской березы // Лесоведение. 2007. № 1. С. 70–73.
20. Дымова О.В., Гриб И., Головки Т.К., Стржалка К. Состояние пигментного аппарата зимне- и летне-зеленых листьев теневыносливого растения *Ajuga reptans* // Физиология растений. 2010. Т. 57. С. 809–818.
21. Николаева Н.Н. Формирование листового аппарата у форм березы повислой (*Betula pendula* Roth) с разной текстурой древесины: Автореф. дисс. канд. биол. наук. СПб: БИН РАН, 2004. С. 25.
22. Zhang C., Han L., Slewinski T.L., Sun J., Zhang J., Wang Z.-Y., Turgeon R. Symplastic phloem loading in poplar // Plant Physiol. 2014. V. 166. P. 306–313.
23. Amor Y., Haigler C.H., Johnson S., Wainscott M., Delmer D.P. A membrane-associated form of sucrose synthase and its potential role in synthesis of cellulose and callose in plants // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 53–57.
24. Coleman H.D., Yan J., Mansfield S.D. Sucrose synthase affects carbon partitioning to increase cellulose production and altered cell wall ultrastructure // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 13118–13123.
25. Ruan Y.-L. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling // Annu. Rev. Plant Biol. 2014. V. 65. P. 33–67.
26. Nguyen Q.A., Luan S., Wi S.G., Bae H., Lee D.-S., Bae H.-J. Pronounced phenotypic changes in transgenic tobacco plants overexpressing sucrose synthase may reveal a novel sugar signaling pathway // Front. Plant Sci. 2016. V. 6. P. 1–15.
27. Nägele T., Henkel S., Hörmiller I., Sauter T., Sawodny O., Ederer M., Heyer A.G. Mathematical modeling of the central carbohydrate metabolism in *Arabidopsis* reveals a substantial regulatory influence of vacuolar invertase on whole plant carbon metabolism // Plant Physiol. 2010. V. 153. P. 260–272.
28. Slewinski T.L. Diverse functional roles of monosaccharide transporters and their homologs in vascular plants: a physiological perspective // Mol. Plant. 2011. V. 4. P. 641–662.
29. Kladnik A., Chamusco K., Chourey P.S., Dermastia M. In situ detection of programmed cell death in the maize caryopsis // Period. Biol. 2005. V. 107. P. 11–16.
30. Patrick J.W., Botha F.C., Birch R.G. Metabolic engineering of sugars and simple sugar derivatives in plants // Plant Biotechnol. J. 2013. V. 11. P. 142–156.