

О. КЕЭРБЕРГ, Э. ВЯРК, Х. КЕЭРБЕРГ, Т. ПЯРНИК

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ПЛАСТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ У РАСТЕНИЙ ДВУХ РАЗНЫХ ПО ЗИМОСТОЙКОСТИ СОРТОВ КРАСНОГО КЛЕВЕРА ОСЕНЬЮ

Подготовка к зиме у красного клевера, как и у других зимующих многолетних растений, начинается задолго до окончания периода вегетации. Внешне перестройка жизненных процессов в сторону подготовки к зиме выражается прежде всего в замедлении развития: прекращается формирование генеративных побегов, образуются лишь вегетативные укороченные побеги со сближенными междоузлиями. Сильно тормозится к концу лета и скорость роста надземных органов; рост же корней, главных органов запаса, наоборот, усиливается. К осени черешки листьев зимующих укороченных побегов склоняются к земле, образуя лежащую зимующую розетку. В зависимости от биологических свойств сортов морфологические изменения, характеризующие подготовку к зиме, проявляются раньше или позже. У более зимостойких сортов лежащая зимующая розетка образуется раньше, у менее зимостойких — позже. Слабо зимостойкие сорта к началу зимы иногда не образуют лежащей розетки, а остаются с прямыми кустиками.

Морфологические изменения в период подготовки к зиме связаны с глубокой перестройкой биохимических процессов. К осени у растений красного клевера в зимующих органах (корнях и укороченных побегах) повышается содержание растворимых сахаров и полисахаридов, в частности крахмала. Увеличивается также содержание разных фракций азотсодержащих веществ (Smith, 1950; Jung, Smith, 1961).

Накопление углеводов протекает интенсивнее у более зимостойких сортов (Борзаковская, 1951; Wood, Sprague, 1952; Värk, Keerberg, 1963). Имеются также данные, свидетельствующие о том, что более высокая зимостойкость связана с повышенным содержанием в корнях осенью свободных аминокислот (Копержинский, 1939) и с изменением их состава, что дает основание предполагать существование качественных изменений в синтезе белка (Wilding и др., 19606). Некоторые исследователи считают изменения в азотном обмене наиболее существенными для зимостойкости и связывают повышенную морозостойкость с повышенным содержанием водорастворимого белкового азота (Jung, Smith, 1961; Pauli и др. 1961).

Основным внешним фактором, с которым во второй половине лета связана подготовка растений клевера к зиме, является сокращение длины дня (Якушева, 1954; Душечкин, 1958). Осенью приобретают большое значение также температурные условия, определяющие процессы закалки (Туманов, 1940).

Интенсивность процессов подготовки к зиме зависит в значительной мере от реакции сортов на длину дня. Например, южные культурные раннеспелые клевера для прохождения этих процессов нуждаются в более коротком дне, чем северные позднеспелые. При выращивании южных сортов в северных условиях, где зима начинается при более длинном дне, они не успевают хорошо подготовиться к зиме и имеют пониженную зимостойкость.

Для выяснения биохимических процессов, с которыми связана подготовка клевера к зиме в осенний период, представляло интерес сравнить в условиях Эстонии некоторые особенности углеводного и азотного обмена у местного зимостойкого сорта, сильно реагирующего на короткий день, и у южного сорта, плохо зимующего в местных условиях в связи с более слабой реакцией на сокращение длины дня осенью.

При помощи меченого углерода ^{14}C исследовали передвижение пластических веществ в молодых растениях клевера в фазе кущения и некоторые реакции обмена растворимых сахаров, крахмала и фракций свободных и связанных в белки аминокислот.

Материалы и методика

Для опытов были взяты два сорта культурного клевера 'Йыгева 205' и 'Белоцерковский 3306', различающиеся по зимостойкости в условиях Эстонской ССР.

'Йыгева 205' — районированный в Эстонии сорт, принадлежит к типу северных позднеспелых (однокусных) клеверов, зимует в местных условиях вполне удовлетворительно.

'Белоцерковский 3306' — южный раннеспелый (двукусный) клевер из Киевской области Украинской ССР. Вследствие того, что в конце лета и в предзимний период в Эстонии день длиннее, чем на Украине, этот клевер не может здесь хорошо готовиться к зиме. В конце лета по сравнению с сортом 'Йыгева 205' он позднее прекращает образование генеративных побегов, растет более интенсивно и позднее формирует лежащую зимующую розетку. 'Белоцерковский 3306', как и другие южные раннеспелые клевера, в условиях Эстонии часто погибает зимой.

Чтобы растения 'Белоцерковского 3306' не образовали к осени стеблей и не снижали зимостойкость вследствие перехода в генеративную фазу, посев обоих сортов для опытов проводился довольно поздно — в июле. Растения выращивались по одному в вазонах диаметром 16 см на почве, богатой элементами минерального питания. В сентябре во время опытов растения имели по 3—5 укороченных побегов и по 20—25 листьев.

За 10 дней до начала опытов растения осторожно извлекали из вазонов и корни их тщательно отмывали от почвы. После этого корни погружали в стаканы с питательным раствором Кнопа. Стаканы обвертывали черной бумагой. Затем часть растений помещали в условия короткого 10-часового дня, для чего их закрывали фотопериодической камерой с 17 до 7 часов. Средняя суточная температура, при которой в этот период росли растения, была 13°C.

В день экспозиции растения вместе со стаканами в 7 часов утра переносили в экспозиционные камеры из органического стекла объемом около 13 л, где они выдерживались в атмосфере обычного комнатного воздуха при таких же условиях освещения и температуры, которые создавались в дальнейшем при экспонировании в атмосфере с $^{14}\text{CO}_2$. После двухчасового предварительного выдерживания камеры герметически закрывали и в них генерировали радиоактивный углекислый газ, начальная концентрация которого составляла около 0,34% при удельной радиоактивности 1,34 мкюри/л.

Растения освещались сверху лампой накаливания мощностью 500 вт. Инфракрасная радиация снималась 5-сантиметровым слоем проточной воды. Освещенность на уровне листьев была около 15 тыс. люксов. Температура в камере во время экспозиции поддерживалась на уровне 23—25°. В атмосфере с $^{14}\text{CO}_2$ растения экспонировались в течение 4,5 ч.

В начале и в конце экспозиции торцевым счетчиком определяли радиоактивность углекислого газа в камере. Проверка показала, что раствор Кнопа, находящийся в стакане, практически не поглощал $^{14}\text{CO}_2$. Таким образом, по снижению радиоактивности в камере можно было определить количество CO_2 , поглощенного растениями за время экспозиции.

В одном из вариантов опыта растения непосредственно после экспозиции фиксировались в 96%-ном кипящем этаноле. В другом варианте растения после экспозиции переносили обратно в оранжерею в такие же условия длины дня и температуры, при которых они находились ранее. Эти растения фиксировали спустя 19,5 ч после окончания экспозиции (через 24 ч после начала экспозиции). Перед фиксацией корни отделялись от надземных органов растений и фиксировались отдельно.

Экспозиционная установка состояла из двух одинаковых камер, в которых одновременно экспонировалось по одному растению каждого из сравниваемых сортов. Опыты, в общей сложности, продолжались в течение 12 дней, при этом было подвергнуто экспонированию 24 растения — по 3 растения каждого сорта для каждого варианта опыта по длине и по времени фиксации.

Надземные части растений и корни после фиксации высушивали и определяли их абсолютно сухой вес. После взвешивания материал перетирали в ступке и измеряли его радиоактивность по методу, описанному О. Заленским и др. (1955). Для определения радиоактивности раствора, в котором фиксировали материал, определенное количество этого раствора наносили на алюминиевые чашечки и высушивали. По радиоактивности сухого материала и раствора высчитывалось количество ^{14}C в надземных органах и в корнях.

На основе данных о радиоактивности газа в камере в начале и в конце экспозиции, а также радиоактивности материала, фиксированного непосредственно после экспозиции, рассчитывался соответствующий переходный коэффициент, который позволял определить уменьшение содержания ^{14}C в растениях, фиксированных спустя 19,5 ч после окончания экспозиции.

Для определения распределения ^{14}C в растворимых в спирте веществах, навеску сухого материала (200 мг) экстрагировали 3 раза в 10 мл 80%-ного этанола при 80°. Полученные экстракты сливались и к ним добавляли соответствующее навеске количество раствора фиксации. Этанол из экстрактов испаряли под вакуумом. Сухой остаток растворяли в дистиллированной воде. Для выделения веществ ионного характера полученный водный раствор пропускали последовательно через колонки (размером 1×15 см) катионита Дауэкс 50 в H^+ форме и анионита ЭДЭ-10 в OH^- форме. Проходящий через колонки раствор использовали для определения содержания ^{14}C в сахарах, для чего вначале определяли общую радиоактивность этого раствора. Затем определенная часть сгущенного до 1 мл раствора хроматографировали на бумаге (Ленинградская «Б») в восходящем токе растворителя *n*-бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:5). Сахара на хроматограммах проявляли *p*-аминофенолом.

При помощи широкооконого торцевого счетчика СБТ-10 определяли относительную радиоактивность пяти отдельных сахаров на хроматограммах. На основе этих данных и общей радиоактивности раствора, проходящего через колонки, рассчитывали содержание ^{14}C в отдельных сахарах.

Свободные аминокислоты элюировали 2 н. соляной кислотой из колонки катионита. Извлеченные аминокислоты переводили в водный раствор и устанавливали его радиоактивность. Используя комбинированный хромато-электрофоретический метод (Dingum, 1951), определяли состав аминокислот. Этот метод разделения не позволяет установить присутствие аргинина, гистидина и лизина, поскольку эти аминокислоты обладают высокой электрофоретической подвижностью и удаляются в ванну с электролитом.

Из остатка проб после экстрагирования этанолом выделяли крахмал по методу Хэйнеса в модификации Портера (Porter и др., 1959). Крахмал гидролизовали 1,5 н. серной кислотой при 105° в течение 8 ч. Полученный гидролизат нейтрализовали углекислым барием и хроматографировали на бумаге Ленинградская «Б» в восходящем токе растворителя *n*-бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:5). По радиоактивности глюкозы на хроматограмме рассчитали радиоактивность крахмала.

Для определения связанных аминокислот брали отдельную навеску сухого материала (200 мг) и соответствующее количество раствора фиксации и проводили их гидролиз в 6 н. соляной кислоте при 105° в течение 35 ч. Гидролизат испаряли досуха, остаток растворяли в дистиллированной воде и пропускали через колонку катионита Дауэкс 50. Элюирование и разделение проводили такими же методами, как и при определении свободных аминокислот. Радиоактивность полученного элюата характеризовала общее содержание ^{14}C в связанных и свободных аминокислотах. Вычитая из этой радиоактивности радиоактивность свободных аминокислот, устанавливали содержание ^{14}C в связанных аминокислотах.

Чтобы получить сравнимые для всех вариантов опытов данные, были рассчитаны относительные радиоактивности отдельных фракций и соединений в процентах от общего количества ^{14}C , содержащегося в растениях непосредственно после окончания экспозиции.

Результаты опытов были подвергнуты статистической обработке методами факторного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение ^{14}C между надземными органами и корнями

В табл. 1 приведены данные об относительной радиоактивности целых растений, а также в отдельности их надземных органов и корней сразу после окончания экспозиции (4,5 ч) и утром следующего дня, то есть через сутки (24 ч) после начала экспозиции.

Таблица 1

Содержание ^{14}C в надземной части и корнях растений (в процентах от общего количества ^{14}C , поглощенного растениями во время экспозиции)

| | Естественный день (13 ч) | | | | | | Короткий день (10 ч) | | | | | |
|-----------------|--------------------------|------|-------|-----------------------|------|-------|----------------------|------|-------|-----------------------|------|-------|
| | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | |
| | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± |
| Целое растение | 100,0 | 86,4 | -13,6 | 100,0 | 35,5 | -14,5 | 100,0 | 87,1 | -12,9 | 100,0 | 85,7 | -14,3 |
| В том числе: | | | | | | | | | | | | |
| надземная часть | 87,7 | 69,7 | -18,0 | 86,9 | 72,8 | -14,1 | 89,6 | 64,6 | -25,0 | 87,3 | 70,7 | -16,6 |
| корни | 12,3 | 16,7 | +4,4 | 13,1 | 12,7 | -0,4 | 10,4 | 22,5 | +12,1 | 12,7 | 15,0 | +2,3 |

Примечание. Здесь и в других таблицах в первой графе (4,5) показана относительная радиоактивность в конце экспозиции, продолжавшейся 4,5 ч; во второй графе (24) показана относительная радиоактивность через 24 ч после начала экспозиции (19,5 ч после окончания экспозиции); в третьей графе (±) указано изменение относительной радиоактивности за время выдерживания растений после экспозиции.

За 19,5 ч, в течение которых растения после экспозиции находились в оранжерее, общая их радиоактивность снижалась на 13—15%, что может быть объяснено расходом меченых ассимилятов на дыхание. Заметного различия между затратами на дыхание в условиях естественного дня и при 10-часовом дне не проявилось. Цифры, приведенные в таблице, показывают некоторое превышение расхода на дыхание у растений сорта 'Белоцерковский 3306' по сравнению с 'Йыгева 205', но статистически эти различия не были существенными. Можно отметить, что при проведении опытов более поздно осенью указанное различие между данными сортами в затратах на дыхание проявилось вполне отчетливо (Värk, Keerge, 1963).

За время экспозиции в корни поступало уже довольно значительное количество ^{14}C — от 10 до 13%. К утру же следующего дня содержание ^{14}C в корнях сорта 'Йыгева 205' повышалось как в условиях естественного, так и 10-часового дня, причем в последнем случае это повышение было весьма значительным и составило 12,1%. У сорта 'Белоцерковский 3306' при естественном дне на следующее утро относительная радиоактивность корней оставалась примерно на том же уровне, что и непосредственно после экспозиции, а при коротком дне имело место некоторое увеличение радиоактивности (на 2,3%).

Отмеченное различие между сортами свидетельствует о том, что при естественной длине дня в сентябре в условиях Эстонии у белоцерковского клевера еще не начинается интенсивное перемещение ассимилятов в кор-

ни, в то время как у сорта 'Йыгева 205' ассимиляты уже направляются в корни в значительном количестве. На 10-часовом дне, то есть при той длине дня, при которой у белоцерковского клевера происходит подготовка к зиме в условиях Украины, этот сорт также перемещает значительную часть ассимилятов в корни. На сорт 'Йыгева 205' 10-часовой день оказывает еще более сильное влияние — передвижение ассимилятов в корни у него значительно усилилось.

Эти результаты наших опытов хорошо согласуются с имеющимися в литературе данными о том, что при сокращении длины дня у клевера усиливается рост корней, причем у более зимостойких сортов масса корней возрастает осенью интенсивнее, чем у менее зимостойких (Душечкин, 1958; Kendall, Hollowell, 1959; Umaerus, 1963).

Содержание ^{14}C в сахарах и крахмале

На хроматограммах при разделении растворимых сахаров, выделенных из надземной части и корней, во всех вариантах опыта обнаружили сахарозу, глюкозу, фруктозу, мальтозу и некоторые неидентифицированные сахара в области пентоз, а также в зоне олигосахаридов. Хроматографические пятна только первых трех из указанных сахаров обладали достаточной радиоактивностью, позволяющей провести достоверные измерения.

Таблица 2

Содержание ^{14}C в углеводах корней
(в процентах от общего количества ^{14}C , поглощенного растениями во время экспозиции)

| | Естественный день (13 ч) | | | | | | Короткий день (10 ч) | | | | | |
|------------------------------|--------------------------|-----|------|-----------------------|-----|------|----------------------|------|------|-----------------------|-----|------|
| | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | |
| | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± |
| Растворимые сахара и крахмал | 6,3 | 9,7 | +3,4 | 8,3 | 6,0 | -2,3 | 6,3 | 11,3 | +5,0 | 7,5 | 7,4 | -0,1 |
| В том числе: | | | | | | | | | | | | |
| растворимые сахара | 5,9 | 9,2 | +3,3 | 7,9 | 5,5 | -2,4 | 5,9 | 10,1 | +4,2 | 6,8 | 6,8 | 0,0 |
| из них: сахароза | 5,5 | 7,8 | +2,3 | 7,4 | 5,1 | -2,3 | 5,6 | 8,2 | +2,6 | 6,0 | 5,4 | -0,6 |
| глюкоза | 0,2 | 0,7 | +0,5 | 0,2 | 0,2 | 0,0 | 0,2 | 0,8 | +0,6 | 0,3 | 0,6 | +0,3 |
| фруктоза | 0,1 | 0,6 | +0,5 | 0,1 | 0,1 | 0,0 | 0,1 | 0,5 | +0,4 | 0,3 | 0,3 | 0,0 |
| крахмал | 0,4 | 0,5 | +0,1 | 0,4 | 0,5 | +0,1 | 0,4 | 1,2 | +0,8 | 0,7 | 0,6 | -0,1 |

В корнях, фиксированных непосредственно после экспозиции, не обнаружено существенной разницы в относительной радиоактивности растворимых сахаров и крахмала между сортами, а также вариантами по длине дня (табл. 2). Наибольшей относительной радиоактивностью во всех случаях обладала сахароза. Радиоактивность моносахаридов была очень слабой. Такое распределение метки позволяет заключить, что сахара поступают в корни из листьев в виде сахарозы, которая, по видимому, является основной транспортной формой углеводов у красного клевера.

Через 19,5 ч после окончания экспозиции различия между сортами по радиоактивности углеводов проявлялись довольно отчетливо. Относительная радиоактивность растворимых сахаров в корнях у сорта 'Йыгева 205' утром на следующий день была выше, чем непосредственно после

экспозиции; у сорта 'Белоцерковский 3306' на естественном дне радиоактивность сахаров снизилась, а на коротком дне осталась почти на прежнем уровне.

Данные о радиоактивности сахаров в корнях указывают на то, что у более зимостойкого сорта имеет место более интенсивный отток сахаров из надземных органов в корни, где происходит их накопление. Это явление отмечено рядом авторов (Борзаковская, 1951; Wood, Sprague, 1952). Снижение относительной радиоактивности сахаров к утру следующего дня у сорта 'Белоцерковский 3306' может быть обусловлено, с одной стороны, менее интенсивным, по сравнению с 'Йыгева 205', оттоком меченых сахаров в корни и, с другой стороны, более интенсивным их расходом в корнях на дыхание и превращение в другие соединения.

Из растворимых сахаров наибольшие изменения за период выдерживания растений после экспозиции происходят в относительной радиоактивности сахарозы. В корнях растений сорта 'Йыгева 205' содержание ^{14}C в сахарозе за этот период повысилось на 2,3%, а у растений сорта 'Белоцерковский 3306' понизилась на 2,3%. По-видимому, накопление растворимых сахаров в корнях клевера в период подготовки к зиме происходит главным образом за счет повышения содержания сахарозы. На относительно высокое содержание дисахаридов в корневых шейках растений более зимостойких сортов клевера указано в работе И. Борзаковской (1951).

Относительная радиоактивность крахмала в корнях к утру следующего дня при естественном дне почти не изменилась. По-видимому, при температурных условиях, имевших место при выдерживании растений после экспозиции, не происходило заметных изменений в содержании крахмала в корнях. Это может иметь место, когда скорости синтеза и гидролиза крахмала одинаковы. Следует, однако, иметь в виду, что данные об относительной радиоактивности крахмала не дают возможности судить об абсолютном содержании его в корнях. Возможно, что равновесие между синтезом и гидролизом крахмала достигается при разных уровнях его содержания в корнях разных сортов.

Сокращение длины дня приводит к повышению скорости притока углеводов в корни. У растений 'Йыгева 205' это выражается в дальнейшем увеличении накопления углеводов, в частности крахмала, относительная радиоактивность которого повышается в три раза. В этих же условиях у растений сорта 'Белоцерковский 3306' достигается равновесие между скоростями поступления и расходования меченых углеводов в корнях. Эти результаты соответствуют данным других авторов (Kendall, Hollowell, 1959; Umaerus, 1963) о более высоком содержании углеводов в корнях растений красного клевера, выращенных в условиях короткого дня.

В надземных органах растений, выросших как при естественном, так и при коротком дне, углеводы к концу экспозиции оказались мечеными более интенсивно у сорта 'Йыгева 205' (табл. 3). Это происходит главным образом за счет крахмала, относительная радиоактивность которого у растений сорта 'Йыгева 205' была почти вдвое выше, чем у сорта 'Белоцерковский 3306'. Содержание же ^{14}C в растворимых сахарах было приблизительно одинаковым у обоих сортов. По-видимому, при относительно высоких температурах во время экспозиции скорость синтеза крахмала в листьях 'Йыгева 205' значительно превышала скорость его гидролиза. В этом смысле можно говорить о более высокой «синтезирующей» — в отношении крахмала — способности листьев более зимостойкого сорта 'Йыгева 205' по сравнению с сортом 'Белоцерковский 3306'.

К утру следующего дня, после того как растения находились в течение 19,5 ч при относительно низких температурах, содержание ^{14}C в

Таблица 3

Содержание ^{14}C в углеводах надземных органов
(в процентах от общего количества ^{14}C , поглощенного растениями во время экспозиции)

| | Естественный день (13 ч) | | | | | | Короткий день (10 ч) | | | | | |
|------------------------------|--------------------------|------|-------|-----------------------|------|-------|----------------------|------|-------|-----------------------|------|------|
| | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | |
| | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± |
| Растворимые сахара и крахмал | 35,6 | 25,7 | -9,9 | 31,8 | 20,6 | -11,2 | 36,1 | 21,7 | -14,4 | 30,6 | 21,8 | -8,8 |
| В том числе: | | | | | | | | | | | | |
| растворимые сахара | 21,2 | 22,0 | +0,8 | 23,8 | 16,9 | -6,9 | 22,9 | 16,5 | -6,4 | 21,4 | 17,2 | -4,2 |
| из них: сахара | | | | | | | | | | | | |
| сахароза | 14,3 | 13,5 | -0,8 | 14,2 | 10,2 | -4,0 | 18,6 | 9,9 | -8,7 | 14,5 | 9,2 | -5,3 |
| глюкоза | 2,0 | 2,9 | +0,9 | 3,4 | 2,5 | -0,9 | 1,1 | 2,8 | +1,7 | 3,3 | 5,0 | +1,7 |
| фруктоза | 1,8 | 1,7 | -0,1 | 2,1 | 1,5 | -0,6 | 1,0 | 1,4 | +0,4 | 1,2 | 1,9 | +0,7 |
| крахмал | 14,4 | 3,7 | -10,7 | 8,0 | 3,7 | -4,3 | 13,2 | 5,2 | -8,0 | 9,2 | 4,6 | -4,6 |

крахмале значительно снизилось и стало почти одинаковым у обоих сортов. Из этого следует, что в надземных органах имел место гидролиз крахмала, причем у сорта 'Йыгева 205' этот процесс проходил более интенсивно. В связи с этим суточный расход меченых углеводов на дыхание, на отток в корни и на превращение в другие соединения в условиях опыта у сорта 'Йыгева 205' полностью покрывался за счет крахмала. Относительная радиоактивность растворимых сахаров в надземных органах этого сорта к утру следующего дня даже несколько увеличилась. В то же время у сорта 'Белоцерковский 3306' на указанные процессы частично расходуются и меченые во время экспозиции растворимые сахара — их относительная радиоактивность снизилась на 6,9%.

При коротком дне радиоактивность сахаров к следующему утру снизилась в надземных органах обоих сортов, что является, вероятно, результатом более интенсивного оттока в корни.

Интересно отметить, что при коротком дне уменьшение относительной радиоактивности крахмала происходило менее интенсивно, чем в условиях естественного дня. Более отчетливо это различие между вариантами проявилось у растений сорта 'Йыгева 205'. Очевидно, у этого сорта при коротком дне гидролиз крахмала проходит медленнее как в надземных органах, так и в корнях, что и объясняет некоторое увеличение относительной радиоактивности крахмала в его корнях к утру следующего дня после экспозиции (см. табл. 2).

Результаты, касающиеся радиоактивности сахарозы, указывают на некоторые различия в скорости синтеза этого дисахарида в надземных органах исследуемых сортов. Если считать, что сахароза является транспортной формой углеводов, и предполагать, что ее синтез происходит с одинаковой скоростью в надземных органах обоих сортов, то при выдерживании растений после экспозиции относительная радиоактивность сахарозы должна уменьшаться у растений 'Йыгева 205' значительно больше, чем у сорта 'Белоцерковский 3306', так как передвижение углеводов в корни йыгеваского клевера протекает интенсивнее. В действительности же наблюдается противоположная картина: относительная радиоактивность сахарозы уменьшается существенно только в надземной части белоцерковского клевера — на 4,0%, в то время как у йыгеваского клевера она остается практически неизменной (уменьшение лишь на 0,8%). Это противоречие можно преодолеть, если допустить, что синтез сахарозы, по крайней мере в условиях естественного дня, происходит интенсивнее в над-

земной части растений 'Йыгева 205'. Такое допущение согласуется с выводами, приведенными в работах С. Каспаровой (1948) и И. Борзаковской (1951) о более высокой синтетической активности инвертазы в листьях растений зимостойких сортов красного клевера осенью.

Если попытаться резюмировать приведенные выше рассуждения, то изменения в обмене углеводов растений красного клевера осенью могут быть представлены предположительно следующим образом. В условиях пониженных температур крахмал в листьях быстро гидролизует, что сопровождается синтезом сахарозы. Названные два процесса, протекая интенсивнее в растениях более зимостойких сортов, создают благоприятные условия для перехода углеводов в их транспортную форму, а, следовательно, и для их оттока из листьев и накопления в зимующих органах.

Содержание ^{14}C в аминокислотах

В этаноловых экстрактах надземных органов и корней обоих сортов обнаружили аминокислоты: аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, серин, глицин, аланин, тирозин, валин, лейцин, фенилаланин, пролин и одно неидентифицированное соединение, окрашивающееся нингидрином. Свободный метионин был обнаружен только у сорта 'Йыгева 205'.

В гидролизате белков надземных органов и корней исследованных сортов идентифицировали аспарагиновую и глутаминовую кислоты, серин, глицин, аланин, тирозин, валин, лейцин, фенилаланин, пролин, метионин и треонин.

У растений, выращенных при естественном и 10-часовом дне, качественный состав свободных и связанных аминокислот был одинаков.

Таблица 4

Содержание ^{14}C в аминокислотах
(в процентах от общего количества ^{14}C , поглощенного растениями во время экспозиции)

| | Естественный день (13 ч) | | | | | | Короткий день (10 ч) | | | | | |
|------------------|--------------------------|-----|------|-----------------------|-----|------|----------------------|-----|------|-----------------------|-----|------|
| | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | | 'Йыгева 205' | | | 'Белоцерковский 3306' | | |
| | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± | 4,5 | 24 | ± |
| Корни | | | | | | | | | | | | |
| Аминокислоты | 0,5 | 1,7 | +1,2 | 0,6 | 1,4 | +0,8 | 0,6 | 1,6 | +1,0 | 0,6 | 0,9 | +0,3 |
| В том числе: | | | | | | | | | | | | |
| свободные | 0,5 | 1,1 | +0,6 | 0,6 | 0,9 | +0,3 | 0,5 | 0,8 | +0,3 | 0,3 | 0,4 | +0,1 |
| связанные | 0,0 | 0,6 | +0,6 | 0,0 | 0,5 | +0,5 | 0,1 | 0,8 | +0,7 | 0,3 | 0,5 | +0,2 |
| Надземные органы | | | | | | | | | | | | |
| Аминокислоты | 3,6 | 4,9 | +1,3 | 3,6 | 5,9 | +2,3 | 2,7 | 3,3 | +0,6 | 2,6 | 3,5 | +0,9 |
| В том числе: | | | | | | | | | | | | |
| свободные | 0,6 | 1,4 | +0,8 | 0,8 | 1,2 | +0,4 | 0,8 | 0,7 | -0,1 | 0,4 | 1,4 | +1,0 |
| связанные | 3,0 | 3,5 | +0,5 | 2,8 | 4,7 | +1,9 | 1,9 | 2,6 | +0,7 | 2,2 | 2,1 | -0,1 |

Относительные радиоактивности отдельных аминокислот, разделенных на электрофореграммах, не были определены вследствие их малых удельных радиоактивностей, не позволяющих проведения достоверных измерений. Поэтому в табл. 4 приводятся только данные об общей относительной радиоактивности фракций свободных и связанных в белки аминокислот.

Независимо от длины дня, при которой растения находились перед опытом, в корнях обоих сортов, фиксированных непосредственно после экспозиции, содержание ^{14}C в аминокислотах составляет 0,5—0,6% общего количества ^{14}C , поглощенного растениями во время экспозиции. Основная часть этой радиоактивности сосредоточена в свободных аминокислотах.

При выдерживании растений после экспозиции в естественных условиях относительное содержание ^{14}C в аминокислотах к утру следующего дня возрастало. Повышение относительной радиоактивности аминокислот было большим в корнях сорта 'Йыгева 205', где это превышение достигается в основном за счет свободных аминокислот, прирост радиоактивности которых при естественном дне вдвое превышает соответствующий прирост у сорта 'Белоцерковский 3306'. В то же время включение меченых аминокислот в белки происходит приблизительно с одинаковой скоростью у обоих сортов.

Выдерживание растений после экспозиции в условиях короткого дня существенно уменьшает (по сравнению с вариантом естественного дня) скорость включения ^{14}C в аминокислоты. Особенно четко это выражается у корней белоцерковского клевера. При этом у обоих сортов прежде всего уменьшается прирост радиоактивности свободных аминокислот, в результате чего к концу периода выдерживания относительная радиоактивность связанных аминокислот становится равной или даже превышает относительную радиоактивность свободных аминокислот.

Изложенные выше данные показывают, что при естественном осеннем дне в корнях растений сорта 'Йыгева 205', по сравнению с сортом 'Белоцерковский 3306', равновесие реакций синтеза и гидролиза белка сдвинуто больше в сторону гидролиза. Такой вывод согласуется с данными других авторов о более высоком содержании свободных аминокислот в корнях зимостойких форм клевера (Wilding и др., 1960б) и люцерны (Wilding и др., 1960а). В работе В. Копержинского (1939) указывается, что частичный протеолиз белков, повышая устойчивость протоплазмных коллоидов к коагуляции при замерзании, способствует развитию зимостойкости клевера.

Однако, по нашим данным, протеолиз белков корней значительно подавляется, если растения выдерживать при коротком дне. Наряду с этим, как было отмечено выше, уменьшается и гидролиз крахмала. Изложенные факты дают основание для предположения, что короткий день в некоторой степени противодействует развитию гидролитических процессов, наступающих в зимующих органах под действием низких температур, причем у растений сорта 'Йыгева 205' это подавление проявляется более сильно. Возможно, что слишком короткий день частично нарушает ход процессов подготовки к зиме (Ермилов, 1954).

Во время экспозиции растений, выращенных при естественном дне, включение ^{14}C в аминокислоты надземных органов происходит с одинаковой скоростью у обоих сортов. При этом более высокой относительной радиоактивностью обладает фракция связанных аминокислот, что указывает на быстрое включение синтезированных во время экспозиции аминокислот в состав белков зеленых листьев и стеблей растений. Включение ^{14}C в свободные и связанные аминокислоты продолжается и при выдерживании растений после экспозиции в условиях относительно низких температур. Более высокие приросты относительной радиоактивности аминокислот, в частности связанных аминокислот, получены у сорта 'Белоцерковский 3306'. По-видимому, включение аминокислот в белки надземных органов этого сорта не подавляется низкими температурами. Это обстоятельство, возможно, связано с интенсивным ростом надземных органов

белоцерковского клевера осенью в условиях Эстонии. При коротком дне, когда имеет место снижение скорости включения ^{14}C в аминокислоты (см. табл. 4), рост надземных органов происходит медленнее.

Заклучение

Анализ данных, полученных в опытах, позволяет характеризовать некоторые различия в метаболизме пластических веществ в начале осени при естественном и 10-часовом дне у двух сравниваемых сортов красного клевера.

У более зимостойкого сорта передвижение ассимилятов из надземных органов в корни происходит интенсивнее, чем у менее зимостойкого; при этом в случае короткого дня (10 ч) это различие между сортами проявляется более отчетливо, чем при естественном дне (13 ч).

Накопление сахаров в корнях происходит интенсивнее у более зимостойкого сорта. Короткий день способствует их накоплению. Основной транспортной формой и формой, в которой отлагаются запасы сахаров у красного клевера, является сахароза.

Накопление крахмала в листьях при повышенной температуре протекает интенсивнее у более зимостойкого сорта. При снижении температуры происходит гидролиз крахмала, что сопровождается ускоренным синтезом сахарозы в листьях более зимостойкого сорта.

Синтез аминокислот идет интенсивнее в корнях более зимостойкого сорта, у которого равновесие синтеза и гидролиза белков в корнях сдвинуто в сторону протеолиза. 10-часовой день у местного зимостойкого сорта, вероятно, несколько тормозит гидролиз белка и крахмала.

Синтез аминокислот и их включение в белки в надземных органах растений происходит интенсивнее у менее зимостойкого сорта, что находится в связи с их более интенсивным ростом.

В качественном составе растворимых сахаров, а также свободных и связанных аминокислот у растений, выросших при естественном и коротком дне, различий не проявилось.

ЛИТЕРАТУРА

- Борзаконская И. В., 1951. Обмен веществ и зимостойкость стародавних популяций клевера. В сб.: Науч. тр. Ин-та физиол. растений и агрохимии (4) : 208—219. Изд. АН УССР.
- Душечкин В. И., 1958. Накопление урожая сухого вещества и использование пластических веществ разными сортами красного клевера в год посева. Изв. АН ЭССР, Сер. биол. 7 (3) : 174—186.
- Ермилов Г. Б., 1954. О влиянии короткого дня на рост и зимостойкость красного клевера. ДАН СССР 96 (5) : 1061—1064.
- Заленский О. В., Семихатова О. А., Вознесенский В. Л., 1955. Методы применения радиоактивного углерода ^{14}C для изучения фотосинтеза. Изд. АН СССР, М.—Л.
- Каспарова С. А. (с участием А. М. Христофоровой), 1948. Роль биохимических процессов в определении зимостойкости клевера в Заполярье. Биохимия 13 (5) : 441—448.
- Копержинский В. В., 1939. Значение частичного протеолиза белков в корнях клевера для его зимостойкости. Биохимия 4 (4) : 404—410.
- Туманов И. И., 1940. Физиологические основы зимостойкости культурных растений. М.—Л.
- Якушева Е. И., 1945. Морозостойкость клевера и люцерны в связи с условиями выращивания растений в предшествующий вегетационный период. В сб.: Докл. Всес. совещания по физиол. растений 2 : 147—159. Изд. АН СССР, М.—Л.
- Durrum E. L., 1951. Two-dimensional electrophoresis and ionophoresis. J. Colloid Sci. 6 (3) : 274.

- Jung G. A., Smith D., 1961. Trends of cold resistance and chemical changes over winter in the roots and crowns of alfalfa and medium red clover. I. Changes in certain nitrogen and carbohydrate fractions. *Agron. J.* **53** (6) : 359.
- Kendall W. A., Hollowell E. A., 1959. Effect of stage of development on carbohydrate content, growth and survival of red clover. *Agron. J.* **51** (11) : 685.
- Pauli A. W., Kolp B. J., Stickler F. C., 1961. Relationship of cold-hardiness to soluble-protein-nitrogen content and epicotyl growth rates in winter wheat. *Crop. Sci.* **1** (2) : 137—138.
- Porter H. K., Martin P. V., Bird J. F., 1959. Synthesis and dissolution of starch labelled with ¹⁴carbon in tobacco leaves tissue. *J. Exptl. Bot.* **10** (29) : 264—276.
- Smith D., 1950. Seasonal fluctuations of root reserves in red clover, *Trifolium pratense* L. *Plant Physiol.* **25** : 702—710.
- Umaerus M., 1963. The influence of photoperiod treatment on the overwintering of red clover. *Z. Pflanzenzücht.* **50** (2) : 167.
- Värk E., Keerberg O., 1963. Mõningaid andmeid punase ristiku plastiliste ainete koostisest ja dünaamikast sügisel. Vabariiklik konverents taimefüsioloogia ja -geneetika alal : 14—23. Tallinn.
- Wilding M. D., Stahmann M. A., Smith D., 1960a. Free amino acids in alfalfa as related to cold hardiness. *Plant Physiol.* **35** (5) : 726.
- Wilding M. D., Stahmann M. A., Smith D., 1960b. Free amino acids in red clover as related to flowering and winter survival. *Plant Physiol.* **35** (5) : 733.
- Wood G. M., Sprague M. A., 1952. Relation of organic food reserves to cold hardiness of Ladino clover. *Agron. J.* **44** (6) : 318.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
7/X 1965

O. KEERBERG, E. VÄRK, H. KEERBERG, T. PÄRNİK

MÕNINGATEST ISEÄRASUSTEST PLASTILISTE AINETE METABOLISMIS KAHE ERINEVA TALVEKINDLUSEGA PUNASE RISTIKU SORDI TAIMEDES SÜGISEL

Resümee

Märgitud aatomite (süsiniku isotoop ¹⁴C) meetodil uuriti kahe erineva talvekindlusega punase ristiku sordi noortes taimedes plastiliste ainete (lahustuvad suhkrud, tärklis, vabad ja seotud aminohapped) metabolismi septembris loomuliku päeva (13 tundi) ja kunstlikult lühendatud päeva (10 tundi) tingimustes.

Katsed näitasid, et kohalikul ja ühtlasi talvekindlamal sordil 'Jõgeva 205' liiguvad assimilaadid maapealsetest organitest juurtesse intensiivsemalt kui lõunapoolse (Ukraina) päritoluga ning vähem talvekindlal sordil 'Belotserkovski 3306'. See sortidevaheline erinevus oli lühikese päeva puhul suurem.

Suhkrud liikusid maapealsetest osadest juurtesse ja ladestusid seal peamiselt sahharoosina, kusjuures see protsess toimus talvekindlama sordi taimedel intensiivsemalt. Päeva lühenemine soodustas suhkrute liikumist ja kogunemist juurtesse.

Kõrgematel temperatuuridel (20—25° C) täheldati talvekindlamal sordil intensiivsemat tärglisse kogunemist taime maapealsetesse organitesse. Temperatuuri langedes saavutasid ülekaalu tärglisse hüdrolüüsiprotsessid, millega talvekindlama sordi maapealsetes organites kaasnes intensiivne sahharoosi süntees.

Aminohapete süntees oli intensiivsem talvekindlama sordi juurtes, kusjuures valkude sünteesi- ja hüdrolüüsiprotsesside tasakaal nihkus loomuliku päeva tingimustes proteolüüsi suunas. Lühike päev mõnevõrra pidurdas valkude ja tärglisse hüdrolüüsi talvekindlama sordi juurtes. Taime maapealsetes organites, vastupidi, täheldati aminohapete intensiivsemat sünteesi ja lülitumist valkude koostisse vähema talvekindlusega sordil, mis tõenäoliselt on seoses selle sordi taimede maapealsete organite intensiivsema kasvuga sügisel.

Erinevates päevapikkustingimustes kasvanud taimedest eraldatud lahustuvate suhkrute, vabade ja seotud aminohapete kvalitatiivne koostis osutus samaks.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
7. X 1965

O. KEERBERG, E. VARK, H. KEERBERG, T. PARNIK

SOME CHARACTERISTICS OF THE METABOLISM OF PLASTIC
COMPOUNDS IN PLANTS OF TWO VARIETIES OF RED CLOVER
DIFFERING BY THEIR WINTER SURVIVAL

Summary

The metabolism of plastic compounds (sugars, starch, free and bound amino acids) in young plants of red clover in dependence on day length was investigated by using radioactive carbon ^{14}C . Experiments were carried out in September with two varieties of different winter survival: a local winterhardy variety 'Jõgeva 205' and a less winterhardy Ukrainian variety 'Belotserkovsky 3306'. The plants had grown under normal day length (13 hours) and under a 10-hour photoperiod.

The translocation of plastic compounds from crowns into roots and accumulation of sugars in roots proceeded more intensively in plants of 'Jõgeva 205'. The difference between the two varieties was greater under short day conditions. Sugars were transported and accumulated mainly in the form of sucrose.

The accumulation of starch at higher temperatures ($20-25^{\circ}\text{C}$) was greater in leaves of 'Jõgeva 205'. In both varieties the fall in temperature brought about a hydrolysis of starch. In the winterhardy variety of 'Jõgeva 205' it was accompanied by an intensive synthesis of sucrose.

In the roots of 'Jõgeva 205' amino acids were synthesized more intensively than in those of 'Belotserkovsky 3306'. The hydrolysis of proteins in the roots of 'Jõgeva 205' exceeded their synthesis. A short day somewhat impeded the hydrolysis of starch and proteins in this variety. The synthesis of amino acids and their incorporation into proteins was more intensive in the crowns of 'Belotserkovsky 3306' which grew faster in September than the crowns of 'Jõgeva 205'.

No effect of a photoperiodic treatment on the qualitative composition of sugars, free and bound amino acids was established.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology*

Received
Oct. 7, 1965