

GABRIELA LORENC-PLUCIŃSKA

Pobieranie cukrów przez liście klonu srebrzystego (*Acer saccharinum* L.) i działanie siarczynu*

Lorenc-Plucińska, G. 1993. Sugar uptake into silver maple (*Acer saccharinum* L.) leaves and sulfite action. *Arbor. Kórnickie* 38: 53–64.

Abstract. Mechanism of sugar transport was investigated in tissue discs isolated from silver maple leaves. The uptake of externally supplied glucose was passive. Uptake of exogenous sucrose was composed of two components, saturable and non-saturable. Saturable uptake was inhibited by p-chloromercuribenzenesulfonic acid (PCMBS).

The transport of sucrose was not pH-dependent, and was not stimulated by ionophore valinomycin (Val) nor inhibited by protonophore cyanide m-chlorophenylhydrazine (CCCP), and by the H⁺-ATPase inhibitor sodium orthovanadate.

Sulfite at a concentration from 1.0 to 10.0 mM inhibited the uptake of sucrose. This inhibition was of the noncompetitive type. In contrast to above, the accumulation of glucose in tissue discs was inhibited by sulfite in a statistically insignificant manner.

Additional key words: phloem loading mechanism.

Address: G. Lorenc-Plucińska, Polish Academy of Sciences, Institute of Dendrology, 62-035 Kórnik, Poland.

Accepted for publication, March 1993.

WSTĘP

Jednym z najczęściej stwierdzanych efektów niekorzystnego oddziaływania dwutlenku siarki na rośliny jest obniżenie natężenia fotosyntezy, czemu towarzyszy zmniejszona intensywność translokacji metabolitów z organów asymilacyjnych do łodygi i korzenia. Jednakże hamowanie transportu cukrów przez SO₂ notowano także przy braku zmian w natężeniu fotosyntezy, lub nawet przy jego wzroście (Noyes 1980, Teh i Swanson 1982,

* Praca wykonana w ramach problemu CPBP 04.04 koordynowanego przez Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku.

Lorenc-Plucińska 1984, 1986). Twierdzi się, że zaburzenia transportu sacharozy przez SO_2 spowodowane są hamowaniem aktywnego załadunku cukru do floemu, wskutek zmian w aktywności białkowego nośnika cukru i H^+ -ATPazy obecnej w plazmalemmie (Minchin i Gould 1986, Lorenc-Plucińska i Ziegler 1989, Lorenc-Plucińska i in. 1989, Maurousset i Bonnemain 1990). Stwierdzenie to oparte jest jednak o wyniki uzyskane z eksperymentów na roślinach, w których cukier transportowany jest z komórek mezofilowych do elementów przewodzących floemu przez apoplast; przenoszony jest on w postaci potrójnego kompleksu (białko-cukier-proton), zgodnie z elektrochemicznym gradientem potencjału protonów.

Jak dotąd nie ma natomiast danych o wpływie dwutlenku siarki na transport asymilatów w roślinach, u których cukier przenoszony jest z mezofilu do floemu drogą symplastyczną. U drzew, symplastyczny mechanizm załadunku cukru do floemu proponowany jest dla rodzaju *Acer* (Gamalei 1984, 1990). Dlatego też na tym rodzaju postanowiono zbadać wpływ działania różnych stężeń jonów siarczynowych na transport cukru w tkankach dojrziałych liści.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny stanowiły trzymiesięczne siewki klonu srebrzystego (*Acer saccharinum* L.), rosnące w warunkach szklarniowych w naturalnym świetle dziennym i temperaturze pomiędzy 20 i 25°C. Dojrzałe nasiona klonu zbierano w końcu maja z kilkudziesięcioletnich drzew rosnących w Arboretum Kórnickim. Wysiewano je bezpośrednio po zbiorze do doniczek wypełnionych podłożem złożonym z ziemi leśnej zmieszanej w proporcji 2:1 z torfem. Przed użyciem roślin do eksperymentów, siewki przenoszono na 24 godziny do zaciemnionej kabiny wzrostowej z temperaturą 17°C i wilgotnością względną 80%.

Przygotowanie tkanki liściowej. Całkowicie rozwinięte i o pełnym turgorze liście odcinano i przez około 20 minut moczono w zaciemnionej zlewce z wodą. Przy pomocy korkoboru wycinano z nich krążki o średnicy 8 mm. Krążki umieszczano w naczynku próżniowym, zawierającym mieszaninę składającą się z 0.2 mM MgCl_2 , 0.4 mM CaCl_2 , 250 mM mannitolu w 25 mM buforze MES [2-N (czterowodoro-1,4-oksazyno)etanosulfonowym], pH 5.0. Krążki infiltrowano pod próżnią aż do ich całkowitego zanurzenia. Następnie przenoszono je do świeżej mieszaniny buforowej i inkubowano w 20°C przez 1 godzinę na łaźni wodnej ze słabym wytrząsaniem (80 wstrząsów/min).

Transport cukrów. Pojedynczą próbę eksperymentalną stanowiło 5 krążków pozyskanych z 5 różnych liści. Takie postępowanie miało na celu

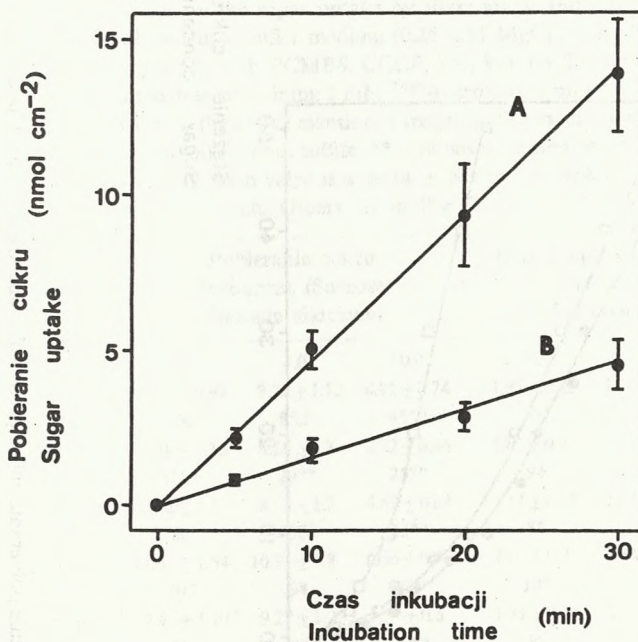
zminimalizowanie różnic występujących pomiędzy poszczególnymi liśćmi. Badania transportu cukrów wykonano z zastosowaniem metod wcześniej opisanych (Lorenc-Plucińska, 1993). Wszystkie szczegóły metodyczne podano w opisach tabel i rycin.

WYNIKI I DYSKUSJA

Charakterystyka mechanizmu pobierania cukrów

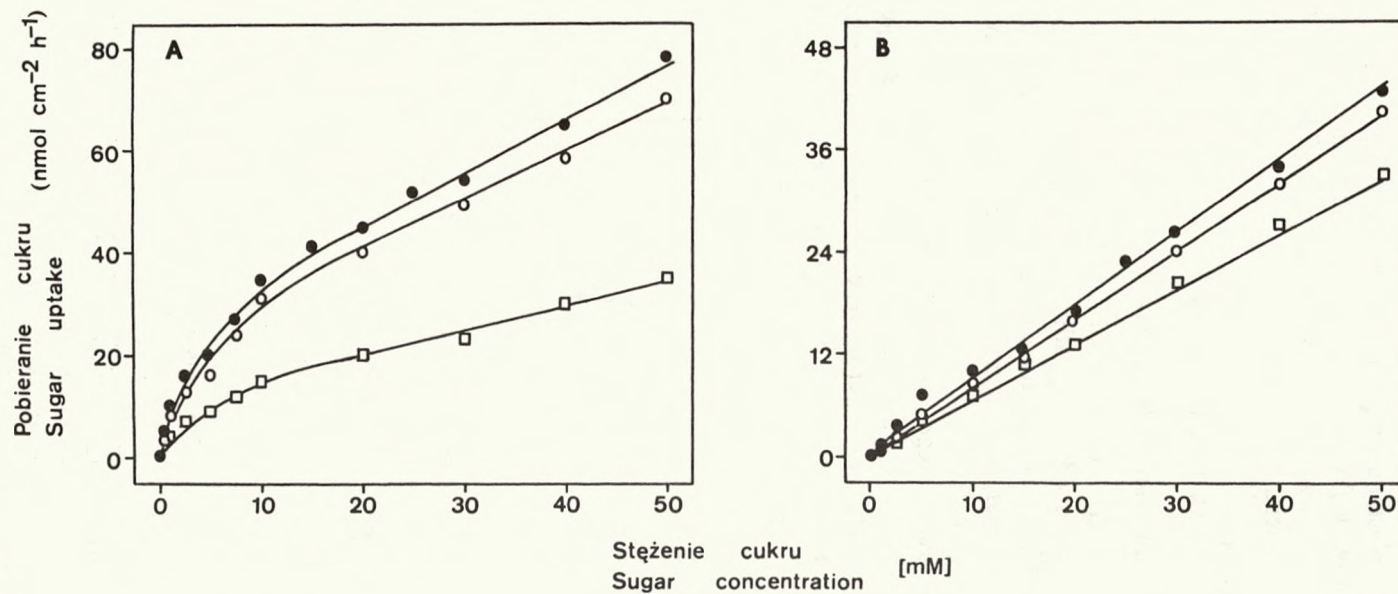
Głównym składnikiem soku floemowego u rodzaju *Acer* jest sacharoza, a w znacznie mniejszej ilości znajduje się rafinoza, stachioza i mezoinozytol (Zimmermann i Ziegler 1975). Można więc z dużym prawdopodobieństwem założyć, że cukrem transportowym z mezofilu do przewodzących elementów floemu będzie sacharoza.

Krażki liściowe klonu srebrzystego pobierają z zewnętrznego środowiska inkubacyjnego prawie trzy i pół raza więcej sacharozy aniżeli glukozy, w liniowej w czasie akumulacji obu cukrów (ryc. 1). Brak fazy opóźnienia w pobieraniu cukrów wskazuje, że zarówno sacharoza jak i glukoza łatwo



Ryc. 1. Kinetyka czasowa pobierania sacharozy (A) i glukozy (B) przez izolowane krażki liściowe z mieszaniny inkubacyjnej składającej się z 0.25 mM MgCl₂, 0.5 mM CaCl₂, 250 mM mannitolu, 5 mM ¹⁴C-sacharozy lub 5 mM ¹⁴C-glukozy w 25 mM MES, pH 5.8. Każda wartość jest średnią ± SD z 4 doświadczeń powtarzanych dwukrotnie.

Fig. 1. Time course of sucrose and glucose uptake into leaf discs from 5 mM of an external sugar solution in an incubation medium (0.25 mM MgCl₂, 0.5 mM CaCl₂, 250 mM mannitol in 25 mM MES, pH 5.8). The values are averages ± SD from 4 experiments replicated twice.



Ryc. 2. Hamowanie pobierania cukru przez izolowane krążki liściowe pod wpływem działania różnych stężeń siarczynu. Krążki inkubowano przez 30 min w różnych stężeniach ^{14}C -sacharozy (A) i ^{14}C -glukozy (B) bez (●---●) lub z siarczynem w stężeniu 1.0 (○---○) i 10.0 (□---□) mM.

Każdy punkt reprezentuje średnią z 4 eksperymentów powtarzanych dwukrotnie. Pozostałe: jak na ryc. 1.

Fig. 2. Inhibition of sugar uptake by sulfite. The leaf discs were incubated for 30 min at various concentrations of ^{14}C -sucrose (A) and ^{14}C -glucose (B) with sulfite at concentrations 1.0 (○---○), 10.0 (□---□) mM or absent (●---●). Each point represents an average from 4 experiments replicated twice. Otherwise: see Fig. 1.

przenikają do wolnej przestrzeni, lub że nie docierają one do tkanek poprzez apoplast.

W pobieraniu glukozy przez krążki liściowe stwierdzono liniową zależność od stężenia zewnętrznego cukru, co wskazuje, że cukier ten transportowany jest pasywnie (ryc. 2). Natomiast transport sacharozy charakteryzował się obecnością kinetyki typu dwufazowego: w niskich stężeniach sacharozy za transport odpowiedzialny był komponent wysycony, a w wysokich stężeniach cukru – komponent niewysycony, liniowy, dyfuzyjno-podobny (ryc. 2). Taki typ transportu sacharozy i glukozy notowano już wielokrotnie u innych gatunków roślin (Giaquinta 1983, Delrot 1989).

Tabela 1

Wpływ różnych związków chemicznych na pobieranie cukru bez i z siarczynem przez krążki liściowe klonu. Krążki liściowe inkubowano wstępnie w mieszaninie buforującej (0.25 mM MgCl₂, 0.5 mM CaCl₂, 250 mM mannitolu w 25 mM MES, pH 5.8) z PCMBS, CCCP, Val lub Van przez 20 min. Następnie krążki przenoszono do mieszanin z ww. odczynnikami oraz z 1 mM ¹⁴C-sacharozą lub 1 mM ¹⁴C-glukozą i siarczynem (1.0 i 10.0 mM) na 30 min. % – procent kontroli (bufor bez siarczynu) ** – wartości istotnie różne od kontroli na poziomie $\alpha=0.01$. Każda wartość jest średnią \pm SD z 3 eksperymentów powtarzanych 4-krotnie. Pozostałe: jak na ryc. 2.

Table 1

Influence of various chemicals on the sugar uptake by silver maple leaf discs with and without sulfite. Discs were preincubated in a buffer medium (0.25 mM MgCl₂, 0.5 mM CaCl₂, 250 mM mannitol in 25 mM MES, pH 5.8) with PCMBS, CCCP, Val, Van for 20 min. Furthermore discs were transferred to a fresh medium containing 1 mM ¹⁴C-sucrose or 1 mM ¹⁴C-glucose and sulfite (1.0 and 10.0 mM) in addition to the above mentioned reagents. The incubation was performed for 30 min. % – percent of control (nil/without sulfite) ** – values were significantly different from the control at a 0.01 confidence level. Each value is a mean \pm SD of 3 experiments replicated 4 times each. Others: as in Fig. 2.

| | | Pobieranie cukru | | | (Sugar uptake) (nmol cm ⁻² h ⁻¹) | | |
|-------|-------------|---------------------|-----------------|-----------------|---|-----------------|-----------------|
| | | Sacharoza (Sucrose) | | | Glukoza (Glucose) | | |
| | | Stężenie siarczynu | | | [Sulfite concentration] [mM] | | |
| | | 0.0 | 1.0 | 10.0 | 0.0 | 1.0 | 10.0 |
| Bufor | (nil) | 10.9 \pm 0.98 | 9.32 \pm 1.12 | 4.91 \pm 0.74 | 1.95 \pm 0.25 | 1.77 \pm 0.19 | 1.5 \pm 0.26 |
| | % | 100 | 85.5 | 45** | 100 | 91 | 77 |
| PCMBS | 500 μ M | 3.38 \pm 0.36 | 3.16 \pm 0.3 | 2.72 \pm 0.46 | 1.83 \pm 0.2 | 1.74 \pm 0.16 | 1.62 \pm 0.24 |
| | % | 31** | 29** | 25** | 94 | 89 | 83 |
| CCCP | 50 μ M | 8.72 \pm 1.3 | 8.72 \pm 1.3 | 4.69 \pm 0.84 | 1.64 \pm 0.16 | 1.74 \pm 0.26 | 1.54 \pm 0.18 |
| | % | 80 | 80 | 43** | 85 | 89 | 79 |
| Val | 1 μ M | 11.4 \pm 1.54 | 10.7 \pm 1.8 | 4.36 \pm 0.4 | 2.0 \pm 0.3 | 1.54 \pm 0.2 | 1.46 \pm 0.26 |
| | % | 105 | 98 | 40** | 103 | 79 | 75 |
| Van | 100 μ M | 9.4 \pm 1.1 | 9.27 \pm 1.2 | 5.2 \pm 0.6 | 1.71 \pm 0.29 | 1.79 \pm 0.28 | 1.54 \pm 0.2 |
| | % | 87 | 85 | 48** | 88 | 92 | 79 |

Kiedy do środowiska inkubacyjnego z krążkami liściowymi dodano PCMBS, to wysycony komponent pobierania sacharozy był redukowany w około 80%. Natomiast w intensywności pobierania glukozy nie stwierdzono żadnych zmian (tab. 1). PCMBS jest nieprzepuszczalnym przez plazmalemę

modyfikatorem grup -SH białek. Na transport cukru wpływa on poprzez zahamowanie aktywności nośnika białkowego cukru (Giaquinta 1983, Delrot 1989). Obniżenie aktywności komponentu wysyconego transportu sacharozy w krążkach liściowych klonu wskazywać może więc, że załadunek tego cukru do floemu zachodzi przy udziale specyficznego białka transportującego, co jest charakterystyczną cechą dla roślin, u których stwierdzono apoplastyczny mechanizm załadunku floemu (Delrot 1989). W mechanizmie tym cukier transportowany jest jednak także w symporcie z protonem, czyli zgodnie z teorią chemiosmotyczną, transport uzależniony jest od występujących po obu stronach plazmalemy gradientu protonów i różnic potencjału elektrycznego (Giaquinta 1983, Serrano 1989). Dla zbadania powyższych zależności, mierzono pobieranie sacharozy i glukozy przez krążki liściowe w obecności rozpręgacza CCCP, który eliminuje gradient pH po obu stronach błony. Natomiast uzależnienie pobierania cukrów od potencjału błonowego testowano w obecności antybiotyku jonoforowego – walinomycyny, działającej jako ruchomy nośnik jonu przez hydrofobową warstwę błony.

Hamowanie pobierania sacharozy przez CCCP i stymulacja pod wpływem walinomycyny były większe w porównaniu do zmian notowanych w pobieraniu glukozy (tab. 1). Jednakże te zaburzenia w transporcie obu cukrów nie były statystycznie istotne. Taki wynik może wskazywać, że transport sacharozy i glukozy nie jest elektrogenny, oba te cukry nie są zdolne do indukowania przepływu protonu. Potwierdzeniem powyższego jest także brak uzależnienia transportu obu cukrów od pH środowiska inkubacyjnego, w którym umieszczono krążki liściowe. W szerokim zakresie pH (od 3 do 8) nie stwierdzono istotnych zmian aktywności badanego procesu (ryc. 4), co dodatkowo świadczyć może o braku wymagań przyłączenia protonu przez któryś z komponentów systemu transportującego (Reinhold i Kaplan 1984).

Ortowanadan sodu jest specyficznym inhibitorem H^+ -ATPazy grającej rolę pompy protonowej (Serrano 1989). Jeżeli transport cukru zachodzi w symporcie z H^+ , wówczas dodanie wanadanu hamuje intensywność jego przepływu przez plazmalemę, wskutek: obniżenia aktywności H^+ -ATPazy, hamowania wymiany H^+/K^+ i natężenia oddychania, obniżenia poziomu ATP i ADP oraz indukcji depolaryzacji różnic międzybłonowego potencjału elektrycznego (Marré i Ballarin-Denti 1985, Sze 1985). W przypadku pobierania glukozy przez krążki liściowe nie notowano zmian pod wpływem wanadanu, a obniżenie akumulacji sacharozy, choć dwudziestoprocentowe, było statystycznie nieistotne (tab. 1), co świadczy o tym, że załadunek obu cukrów nie jest uzależniony od aktywności plazmalemmowej ATP-azy transportującej protony. Ten wynik potwierdza wniosek, że transport sacharozy nie jest aktywny, nie zachodzi we współtransporcie z protonem, chociaż za przemieszczanie cukru w jego niskich stężeniach odpowiedzialny jest wrażliwy na PCMBs komponent wysycony (ryc. 2, tab. 1). Sugeruje to, że sacharoza transportowana może być na drodze ułatwionej dyfuzji. Nie jest to jednak

apoplastyczny mechanizm aktywnego załadunku floemu (Giaquinta 1983, Delrot 1989).

Koncepcja symplastycznego załadunku floemu jest bardzo kontrowersyjna, gdyż nie znany jest jak dotąd mechanizm, który umożliwiłby transport sacharozy strumieniem cytoplazmatycznym przez plazmodesmy wbrew gradientowi stężeń, jako że stężenie cukru w żyłkach mniejszych floemu jest znacznie wyższe aniżeli w komórkach otaczających i kontaktujących się z nimi (Turgeon i Beebe 1991).

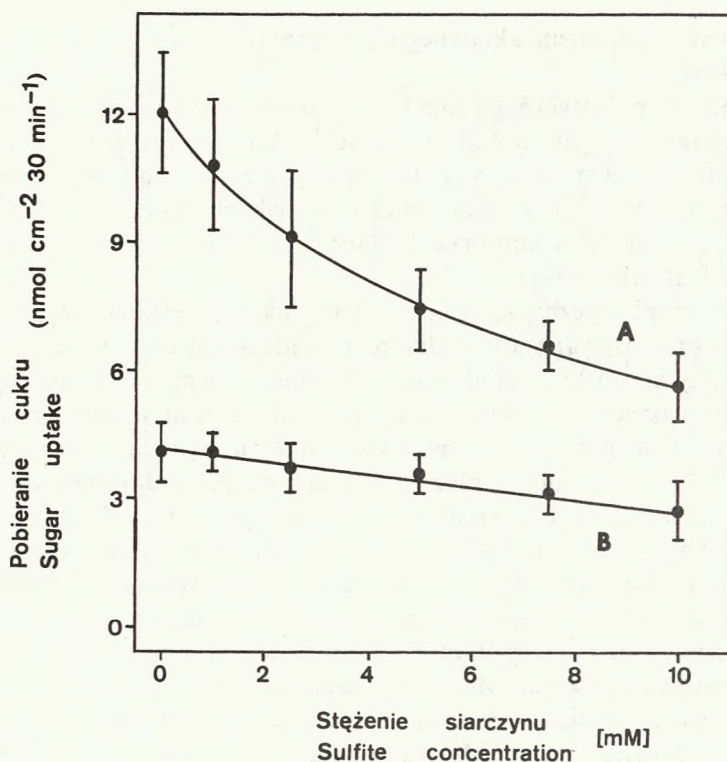
Istnienie symplastycznej drogi załadunku cukru do elementów przewodzących floemu przypisywane jest roślinom posiadającym dużą ilość plazmodesmów pomiędzy komórki mezofilowymi i floemem. Gamalei (1984) sugerował istnienie symplastycznego załadunku cukru do floemu u rodzaju *Acer* na podstawie badań struktury żyłek mniejszych floemu, wykazując, że są one typu otwartego, z licznymi polami plazmodesmalnymi pomiędzy mezofilem i komórkami towarzyszącymi „pośrednimi”. W późniejszej pracy, Gamalei (1989) stwierdza jednak, że u rodzaju *Acer* żyłki mniejsze mogą mieć budowę pośrednią pomiędzy typem żyłek otwartych i zamkniętych, charakteryzującą te ostatnie brakiem plazmodesmów w przestrzeni pomiędzy mezofilem i komórkami towarzyszącymi „pośrednimi” z gładką ścianą wewnętrzną.

Jeżeli jednak w liściach *Acer saccharinum* transport zachodziłby przez symplast, to wówczas nie powinno się notować istnienia w kinetyce pobierania sacharozy wrażliwego na PCMBS komponentu wysyczonego (tab. 1), gdyż PCMBS nie hamuje transportu symplastycznego (Madore i in. 1986). Jego aktywność jest jednak bardzo zaburzana przez alkaliczne (8–9) pH, (Madore i Lucas 1987), czego jednak u klonu srebrzystego nie obserwowano (ryc. 4).

Z drugiej jednak strony nie można wykluczyć, że hamowanie pobierania sacharozy przez PCMBS jest odbiciem różnic w miejscu pobierania, metabolizmu, czy kompartmentacji egzogenego cukru w tkance traktowanej PCMBS (Turgeon i Gowan 1990). Obecność kinetyki typu dwufazowego (Michaelisa-Mentena i liniowej) w pobieraniu sacharozy, przy różnych stężeniach zewnętrznych tego cukru (ryc. 2) może być również odzwierciedleniem ogólnego mechanizmu akumulacji roztworów (*solute retrieval mechanisms*) przez wszystkie typy komórek liścia, w tym także floemu (Wilson i in. 1985).

Wpływ siarczynu na pobieranie cukrów

Dane literaturowe wskazują, że obniżenie załadunku cukru do floemu przez siarczyn jest selektywne. Anion ten hamuje niekompetycyjnie pobieranie cukru, którego transport jest aktywny i zachodzi przy udziale białka nośnikowego we współtransporcie z protonem (Lorenc-Plucińska i Ziegler 1988, Maurousset i Bonnemain 1990). Jeżeli natomiast transport cukru jest pasywny, wówczas siarczyn nie wpływa na jego natężenie (Lorenc-Plucińska i

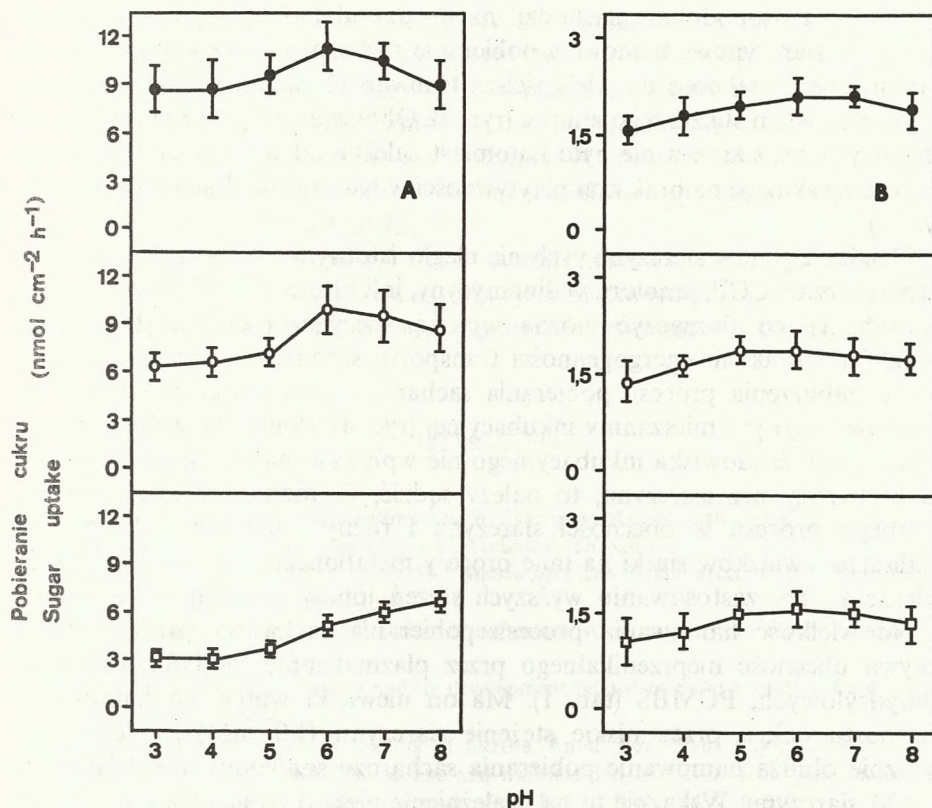


Ryc. 3. Wpływ różnych stężeń siarczynu na pobieranie cukru przez izolowane krążki liści. Siarczyn dodawano do mieszaniny inkubacyjnej składającej się z 0.25 mM $MgCl_2$, 0.5 mM $CaCl_2$, 250 mM mannitolu w 25 mM MES, pH 5.8, razem z 5 mM ^{14}C -sacharozą (A) lub z 5 mM ^{14}C -glukozą (B). Siarczyn przygotowywano bezpośrednio przed użyciem rozpuszczając Na_2SO_3 w buforze MES i doprowadzając HCl do pH mieszaniny inkubacyjnej. Każdy punkt jest średnią \pm SD z 3–5 eksperymentów, powtarzanych trzykrotnie.

Fig. 3. The effect of various sulfite concentrations on sucrose (A) and glucose (B) uptake. The sulfite was prepared directly before use by dissolving Na_2SO_3 in a MES buffer and bringing it to the pH of the incubation medium. The sulfite was supplied to the plants simultaneously with 5 mM ^{14}C -sucrose (A) or 5 mM ^{14}C -glucose (B) in an incubation medium, consisting of 0.25 mM $MgCl_2$, 0.5 mM $CaCl_2$, 250 mM mannitol in 25 mM MES, pH 5.8. The values are averages \pm SD from 3–5 experiments replicated 3 times.

Ziegler 1989, Lorenc-Plucińska i in. 1989). Dotyczy to jednak działania takich stężeń siarczynu, które nie zaburzają ogólnego metabolizmu wszystkich komórek liścia.

Wyniki uzyskane w doświadczeniach z *Acer saccharinum* świadczą także o selektywnym oddziaływaniu jonów siarczynowych na transport cukrów. Pobieranie glukozy przez krążki liścowe było typu pasywnego (ryc. 2 i 4, tab. 1), a jony siarczynowe nie zmieniały aktywności tego procesu (ryc. 2 i 3). Brak istotnego wpływu siarczynu na transport glukozy miał także miejsce w obecności różnych efektorów i inhibitorów załadunku floemu (tab. 1).



Ryc. 4. Wpływ pH i siarczynu na pobieranie cukru. Krążki liściowe inkubowano wstępnie przez 25 min w mieszaninie zawierającej różne bufor: pH 3 i 4 – 10 mM cytrynian i 20 mM fosforan – Na⁺, pH 5 i 6 – 25 mM MES, pH 7 – HEPES (kwas N-2-hydroksyetylopiperazyno-N' -2-etanosulfonowy), pH 8 – Tricin (N-[2-hydroksy-1,1'-dwu(hydroksymetylo)etylo]-glicyna). Następnie inkubowano krążki liściowe przez 30 min w powyższych mieszaninach buforowych z 1.0 mM ¹⁴C-sacharozą (A) lub z 1.0 mM ¹⁴C-glukozą (B) bez (●---●) i z 1.0 (○---○) lub 10.0 (□---□) mM siarczynu. Siarczyn przygotowywano bezpośrednio przed użyciem, rozpuszczając Na₂SO₃ w każdym z zastosowanych buforów i doprowadzając do określonego pH. Każda wartość jest średnią z 3 eksperymentów powtarzanych dwukrotnie.

Fig. 4. Influence of pH and sulfite on sugar uptake. Leaf discs were preincubated for 25 min in a medium containing various buffers: pH 3 and 4 – 10 mM citrate + 20 mM Na⁺-phosphate, pH 5 and 6 – 25 mM MES, pH 7 – 25 mM HEPES (N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'[2-ethanesulfonic acid]), pH 8 – 25 mM Tricine (N-Tris(hydroxymethyl)-methylglycine). After preincubation the discs were incubated for 30 min in the same buffer with 1.0 mM ¹⁴C-sucrose (A), 1.0 mM ¹⁴C-glucose (B) with sulfite at a concentration of 1.0 (○---○), 10.0 (□---□) mM or absent (●---●). Sulfite was prepared directly before use, dissolving Na₂SO₃ separately in the various buffers and bringing it to the pH of the incubation medium. Data are means from 3 experiments replicated twice.

Transport sacharozy w krążkach liściowych klonu srebrzystego nie wykazał uzależnienia od elektrochemicznego gradientu potencjału protonu (tab. 1, ryc. 4) i prawdopodobnie zachodził na drodze ułatwionej dyfuzji. Pomimo tego, jony siarczynowe hamowały pobieranie sacharozy przez krążki liściowe. Hamowanie to zależało od wielkości zastosowanych stężeń siarczynu; wzrastało ze wzrostem stężeń tego anionu (ryc. 3). Obniżenie aktywności pobierania sacharozy przez siarczyn nie było natomiast zależne od stężenia zewnętrznego cukru, co wskazuje na brak kompetytywności w hamowaniu badanego procesu (ryc. 2).

Działanie jonów siarczynowych nie uległo istotnym zmianom w obecności rozpręgacza CCCP, jonoforu walinomycyny, inhibitora H^+ -ATPazy wanadanu (tab. 1), co tłumaczyć można wysoką specyficznością działania tych związków i brakiem energogenności transportu sacharozy. Z drugiej jednak strony, zaburzenia procesu pobierania sacharozy przez siarczyn zależały od zastosowanego pH mieszaniny inkubacyjnej (ryc. 4). Ponieważ stężenie jonów wodorowych środowiska inkubacyjnego nie wpływało na aktywność pobierania sacharozy bez siarczynu, to należy sądzić, że różnice w intensywności badanego procesu w obecności siarczynu i różnym pH spowodowane są działaniem związków siarki na inne procesy metaboliczne (Miszałski 1990), zwłaszcza przy zastosowaniu wyższych stężeń jonów siarczynowych.

Na wielkość hamowania procesu pobierania sacharozy przez siarczyn wpływa obecność nieprzenikalnego przez plazmalemmę modyfikatora grup sulfhydrylowych, PCMBS (tab. 1). Ma on niewielki wpływ na hamowanie transportu cukru przez niskie stężenie siarczynu (1.0 mM), podczas gdy wyraźnie obniża hamowanie pobierania sacharozy spowodowane działaniem 10 mM siarczynu. Wskazuje to na uzależnienie niekorzystnego wpływu jonów siarczynowych na proces transportu cukru od poziomu wolnych grup -SH. Są one bowiem konieczne dla włączenia tego anionu przez nośnik białkowy -SH, w rezultacie czego powstaje kompleks nośnik białkowy -S-SO₃ (Ziegler i Hamp 1977).

PODZIĘKOWANIE

Dziękuję Pani dr S. Pukackiej za udostępnienie próbek nasion do wstępnych badań oraz Pani K. Gąsienicy za znakomitą pomoc w przeprowadzanych doświadczeniach.

STRESZCZENIE

Badano mechanizm pobierania sacharozy i glukozy przez izolowane krążki liściowe klonu srebrzystego. W mechanizmie transportu sacharozy stwierdzono obecność kinetyki typu dwufazowego: w niskich stężeniach cukru za transport

odpowiedzialny był komponent wysycony, a w wysokich niewysycony. Komponent wysycony był wrażliwy na działanie kwasu p-chlorortęciobenzenosulfonowego (PCMBS). Aktywność pobierania sacharozy nie ulegała natomiast istotnym zmianom w obecności antybiotyku jonoforowego wanilomycyny (Val), rozpręgacza karbonylocyjanku m-chlorofenylohydrazonu (CCCP), inhibitora H^+ -ATPazy plazmalemmowej – ortowanadanu sodu (Van), oraz nie była zależna od pH mieszaniny inkubacyjnej. W przeciwieństwie do sacharozy, transport glukozy zachodził pasywnie bez udziału w nim komponentu wysyconego i wrażliwości na PCMBS.

Siarczyn w stężeniu od 1.0 do 10.0 mM hamował pobieranie sacharozy przez krążki liściowe. Inkubacja ta była typu niekompetycyjnego. W działaniu jonów siarczynowych na transport glukozy nie stwierdzono istotnych zmian.

LITERATURA

- Delrot S. 1989. Loading of photoassimilates. W: Transport of photoassimilates. Red. Baker D.A. i Milburn J.A., Longman Scientific and Technical, 167–205.
- Gamalei Ju.V., Pachomova M.V. 1984. Melkie žilki lista dvudol'nych. III. Struktura funkcii, ewolucija. Bot. Žur., 9: 1159–1166.
- Gamalei J. 1989. Structure and function of leaf minor veins in trees and herbs. A taxonomic review. Trees, 3: 96–110.
- Gamalei J. 1990. Phloem loading and its development related to plant evolution from trees to herbs. Trees, 5: 50–64.
- Giaquinta R.T. 1983. Phloem loading of sucrose. Annu. Rev. Plant Physiol., 34: 347–387.
- Lorenc-Plucińska G. 1984. The uptake and translocation of ^{14}C in Scots pine seedlings of differing susceptibility to sulphur dioxide. Eur. J. For. Path., 14: 310–318.
- Lorenc-Plucińska G. 1986. Effect of sulphur dioxide on the partitioning of assimilates in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings of different susceptibility to this gas. Eur. J. For. Path., 16: 266–273.
- Lorenc-Plucińska G., Ziegler H. 1988. Interaction of membrane effectors and sulfite in sucrose uptake of *Ricinus communis* cotyledons. J. Plant Physiol., 133: 96–102.
- Lorenc-Plucińska G., Ziegler H. 1989. Mechanisms of sugar uptake inhibition by sulfite in leaf discs and protoplasts of *Vicia faba* L. Biochem. Physiol. Pflanzen, 184: 107–126.
- Lorenc-Plucińska G., Miszański Z., Ziegler H. 1989. Sugar transport and sulfite action in etioprotoplasts, semietioprotoplasts and green protoplasts of *Avena sativa* L. Botanica Acta, 102: 37–45.
- Lorenc-Plucińska G. 1993. SO_2 modification of sugar movement in source leaves of *Robinia pseudoacacia* L. Arboretum Kórnickie, 38: 65–74.
- Madore M.A., Oross J.W., Lucas W.J., 1986. Symplastic transport in *Ipomoea tricolor* source leaves. Demonstration of functional symplastic connections from mesophyll cells to minor veins by a novel dye-tracer method. Plant Physiol., 82: 432–442.
- Madore M.A., Lucas W.J., 1987. Control of photoassimilate movement in source-leaf tissues of *Ipomoea tricolor* Cav. Planta, 171: 197–204.
- Marré E., Ballarin-Denti A. 1985. The proton pumps of the plasmalemma and the tonoplast of higher plants. J. Bioenergetics and Biomembranes, 17: 1–21.

- Maurousset L., Bonnemain J.-L. 1990. Mechanism of the inhibition of phloem loading by sodium sulfite: effect of the pollutant on the transmembrane potential difference. *Physiol. Plant.*, 80: 233–237.
- Minchin P.E.H., Gould R. 1986. Effect of SO₂ on phloem loading. *Plant Science*, 43: 179–183.
- Miszalski Z. 1990. Fizjologiczne podstawy zróżnicowanej wrażliwości na SO₂. Rozprawa habilitacyjna. *Zeszyty Badań Regionu Tarnobrzieskiego, Kraków-Tarnobrzeg*, 2: 1–101.
- Noyes R.D. 1980. The comparative effects of sulfur dioxide on photosynthesis and translocation in bean. *Physiol. Plant Pathol.*, 16: 73–79.
- Reinhold L., Kaplan A. 1984. Membrane transport of sugars and amino acids. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 35: 45–83.
- Serrano R. 1989. Structure and function of plasma membrane ATPase. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 40: 61–94.
- Sze H. 1985. H⁺-translocating ATP-ases: advances using membrane vesicles. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 36: 175–208.
- Teh K.H., Swanson C.A. 1982. Sulfur dioxide inhibition of translocation in bean plants. *Plant Physiol.*, 69: 88–92.
- Turgeon R., Gowan E. 1990. Phloem loading in *Coleus blumei* in the absence of carrier-mediated uptake of export sugar from the apoplast. *Plant Physiol.*, 94: 1244–1249.
- Turgeon R., Beebe D.U. 1991. The evidence for symplastic phloem loading. *Plant Physiol.*, 96: 349–354.
- Wilson C., Oross J.W., Lucas W.J. 1985. Sugar uptake into *Allium cepa* leaf tissue: an integrated approach. *Planta*, 164, 224–240.
- Ziegler I., Hampp R. 1977. Control of ³⁵SO₄²⁻ and ³⁵SO₃²⁻ incorporation into spinach chloroplasts during photosynthetic CO₂ fixation. *Planta* 137: 303–307.
- Zimmermann M.H., Ziegler H. 1975. List of sugar and sugar alcohols in sieve-tube exudates. W: Transport in plant. I. Phloem transport. Red. Zimmermann M.H., Milburn J.A., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 480–503.