

## Субклітинна локалізація і активність фосфорилази у паренхімних клітинах міні-бульб *Solanum tuberosum* L. при клиноостатуванні

О. М. Недуха, Є. І. Шнюкова

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України  
Вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна

---

Досліджували субклітинну локалізацію і активність фосфорилази (КФ 2.4.1.1) у міні-бульбах *S. tuberosum* L. (сорт Адрета). Міні-бульби формували за умов стаціонарного контролю та при дії клиноостатування, яке імітувало мікрогравітацію. В експериментах використано метод стерильної культури міні-рослин, електронно-цитохімічний метод виявлення локалізації фосфорилази, а також біохімічні методи для визначення вмісту вуглеводів, активності фосфорилази та її ізоферментного складу. Встановлено, що клиноостатування не впливає на субклітинну локалізацію фосфорилази і електрофоретичну рухливість її ізоформ, але спричинює підвищення активності фосфорилази та вмісту крохмалю в запасних органах картоплі.

---

Вступ. Відомо, що в умовах реального космічного польоту та при повільному горизонтальному клиноостатуванні, яке моделює біологічні ефекти мікрогравітації, відбуваються зміни в структурно-функціональній організації гравітаційночутливих тканин і клітин, а також у метаболізмі рослин, насамперед вуглеводному [1, 2]. Під впливом мікрогравітації виявлено такі зміни вуглеводного метаболізму: модифікація структури крохмалю сім'ядолей проростків *Glycine Willd.* [3], зниження вмісту кристалічної целюлози, пектинів і крохмалю у клітинах *Funaria hygrometrica* [2, 4], збільшення кількості крохмальних зерен у хлоропластах листків *Brassica rapa* [5] і зміна активності  $\alpha$ -амілази, ендо- та екзоцелюлаз, які беруть участь у гідролізі полісахаридів [4, 6]. Встановлено кореляцію між інтенсивністю змін у рівні вуглеводного метаболізму та тривалістю впливу мікрогравітації [1]. Питання про зміни вмісту вуглеводів у запасних органах рослин при дії мікрогравітації лишається відкритим. Ми припустили, що зміни у метаболізмі запасних вуглеводів рослин в умовах реального космічного польоту є наслідком змін активності ферментів, пов'язаних із синтезом первинного і

вторинного крохмалю. Одним із таких ферментів є фосфорилаза (КФ 2.4.1.1), яка бере участь в обміні крохмалю, синтезуючи амілозу шляхом глюкозильного переносу з глюкозо-1-фосфату [7]. Традиційно фосфорилаза рослин розглядається як фермент, який гідролізує крохмаль [8, 9]. За останні роки показано, що  $\alpha$ -поліглюкан може функціонувати не лише як донор глюкозних залишків, але і як акцептор, і тоді фосфорилаза діє як глюкан-синтезувальний фермент, збільшуючи співвідношення ортофосфату до глюкозо-1-фосфату [10].

Метою нашої роботи було вивчення ефектів клиноостатування (2 об/хв) на ріст крохмаль-запасних органів міні-бульб картоплі, субклітинну локалізацію та активність фосфорилази (КФ 2.4.1.1), а також на вміст крохмалю, моно- і дисахаридів у міні-бульбах картоплі. Біла картопля (*S. tuberosum*) — один із восьми видів культурних рослин, що запропоновано програмою БСЖЗ (Біологічна система життєзабезпечення) для підтримки життя астронавтів у космосі при тривалих польотах [11].

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були 10- і 30-добові міні-бульби картоплі (*S. tuberosum* L., сорт Адрета). Материнські міні-рослини картоплі вирощували в стерильних умовах у куль-

турі на агаризованому середовищі Мурасіге і Скуга (МС) [12] протягом 6 тижнів при температурі 24 °С та добовому освітленні лампами денного світла 80 мМ·м<sup>2</sup>·с<sup>-1</sup> (5000 лк). Для утворення міні-бульб материнську рослину розрізали на сегменти (висотою до 4 см з одним листком), які пересажували на модифіковане агаризоване середовище МС з наступними добавками (мг/л): вітамін В<sub>1</sub> — 0,1; вітамін В<sub>6</sub> — 0,5; вітамін В<sub>5</sub> — 0,5; аскорбінова кислота — 3,0; індолілоцтова кислота (ІОК) — 1,0—3,0; кінетин — 2,5; абсцизова кислота (АБК) — 0,5—1,5; аденін — 0,25; мезоінозит — 10,0; гліцин — 2,0. Для формування міні-бульб на столонах використовували такі умови: 8 год освітлення лампами холодного денного білого світла 80 мМ·м<sup>2</sup>·с<sup>-1</sup> (5000 лк), 16 год — темрява; температура: 18 °С — уночі і 24 °С — удень.

Повторність дослідів чотириразова. У кожному досліді в стаціонарному контролі та при клиностауванні використано по 105 рослин. Половину пробірок із столонами ставили на горизонтальний клиностаат (2 об/хв), другу половину (стаціонарний контроль) — поряд з клиностаатом. Для дослідів використовували 10- і 30-добові бульби, які збирали через 4 год після початку освітлення, їх зважували, фотографували і фіксували для електронно-цитохімічного виявлення локалізації фосфорилази [13]. Зрізи серединної частини міні-бульб товщиною біля 1 мм фіксували у 2,5 %-му розчині глутарового альдегіду у 0,5 М фосфатному буфері, рН 7,4, протягом 1 год при 4 °С. Далі матеріал промивали 0,22 М розчином сахарози в ідентичному буфері і проводили інкубацію при 37 °С протягом 30—40 хв у розчині такого складу (мМ): глюкозо-1-фосфат — 5, аденозин-5-фосфат — 0,3, сахароза — 0,44, NaF — 20, Рb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> — 3,6, ацетатний буфер — 80, рН 5,8. Після інкубації матеріал промивали, дофіксували 2 %-м розчином OsO<sub>4</sub>, обезводжували етиловим спиртом і ацетоном та заливали у суміш епоксидних смол (епон/аралдит) за методикою [10]. Для контролю цитохімічної реакції до інкубаційного середовища додавали 5 мМ флоризин або ж 1 мМ Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Ультратонкі зрізи одержували на ультрамікросомі LKB. Неконтрастовані зрізи вивчали за допомогою електронного мікроскопа JEM-1200EX.

Активність фосфорилази у міні-бульбах визначали за методом [14]; кількість фосфору — за методом Родіонова та ін. [15]; характеристику ізоферментного складу фосфорилази — за методом Гербранді та Верлеура [16]; вміст вуглеводів —

антроновим методом [17], білок — за Лоурі [18]. Для цитологічних та біохімічних експериментів використовували хімічні реактиви фірми «Sigma» (США). Одержані дані обробляли статистично.

**Результати і обговорення.** *Стаціонарний контроль.* Фенологічне спостереження показало, що міні-бульби картоплі утворювалися з пазушних бруньок та зрідка — на столоні. Формування бульб починалося на 9—10-ту добу після пересадки на модифіковане поживне середовище. Відсоток сформованих бульб був високим (табл. 1), на частині столонів (20 %) бульби не утворювалися. 10-денні міні-бульби були кулястими і мали зелений колір.

Світлова мікроскопія поперечних зрізів серединної частини бульби показала наявність ззовні перидерми (4—5 шарів, включаючи епідерміс), за якою розміщувалася крохмаль-запасна паренхіма (44,6±2,1 шарів) з амілопластами. Електронно-цитохімічне дослідження локалізації фосфорилази у крохмаль-запасних клітинах першого—третього шарів паренхіми виявило наявність преципітату реакції у пластидах та цитоплазмі, а саме: у стромі, на поверхні крохмальних зерен (рис. 1, а, б) або на всьому зерні крохмалю амілопластів, а також в ендоплазматичному ретикулумі (рис. 1, в). Продукт цитохімічної реакції представлений невеликими гранулами фосфату свинцю розміром від 2 до 15 нм; розподіл преципітату за розмірами по субструктурах амілопластів був гетерогенним (табл. 2). Іноді спостерігали «пилевидний» продукт реакції, пов'язаний з периферією крохмалю або із стромою. У паренхімних клітинах виявлено гетерогенність цитохімічної реакції: в одній частині амілопластів відмічено наявність преципітату, у другій — продукт цитохімічної реакції був відсутнім (табл. 3). Така гетерогенність амілопластів, очевидно, свідчить про те, що синтез вторинного крохмалю в амілопластах відбувається у різних пластидах неодноразово, навіть в одній клітині. Причини подібного феномену поки лишаються нез'ясованими. У контролях цитохімічної реакції на активність фосфорилази, інкубованих з додаванням флоризину чи Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, преципітат цитохімічної реакції був відсутнім.

Встановлено, що вміст крохмалю у міні-бульбах був досить високим (табл. 1), тоді як вміст моно- і дисахаридів був у 8 разів меншим, ніж крохмалю (табл. 1). Активність фосфорилази у бульбах 10-добового віку була високою (табл. 1). У 10-денних міні-бульбах виявлено два ізоферменти фосфорилази (рис. 2, б). У гель-системі, яка місти-

Таблиця 1  
Ростові та біохімічні показники 10- і 30-добових міні-бульб картоплі

Показник	Стационарний контроль		Клиноштатування, 2 об/хв	
	10 діб	30 діб	10 діб	30 діб
Відсоток сформованих міні-бульб	80,00±2,40	80,00±2,40	97,70±2,90	97,70±2,90
Розмір міні-бульб, мм:				
довга вісь	2,68±0,36	5,88±0,49*	3,00±0,33	6,72±0,61*
коротка вісь	2,06±0,24	3,27±0,28*	2,75±0,25	3,20±0,16
Сира маса, кг	18,87±2,94	40,38±6,24**	23,75±2,71	33,67±2,78***
Кількість клітинних шарів на серединний зріз бульби	44,60±2,10	56,33±3,71**	55,30±3,85	67,70±2,28***
Вміст вуглеводів у бульбах, мг/г сухої маси:				
крохмаль	460,02±7,20	572,70±10,90*	659,60±9,50	709,00±14,90**
моно- і дисахариди	58,30±1,20	50,10±2,40**	76,10±0,90	32,00±1,60*
Вміст вуглеводів у бульбах, мг/г сирої маси:				
крохмаль	127,10±5,90	176,90±3,40*	151,00±7,90	199,50±5,40*
моно- і дисахариди	16,70±0,40	15,40±0,70	18,30±0,10	8,90±0,50*
Активність фосфорилази:				
мкМ Р · г сирої маси <sup>-1</sup> · хв <sup>-1</sup>	0,830±0,036	1,498±0,078*	1,121±0,048	2,644±0,073*
мкМ Р · г сухої маси <sup>-1</sup> · хв <sup>-1</sup>	4,129±0,171	6,651±0,359*	5,290±0,227	9,372±0,260*
мкМ Р · г білка <sup>-1</sup> · хв <sup>-1</sup>	0,158±0,008	0,065±0,003*	0,168±0,008	0,113±0,004*

\*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,005.



Рис. 1. Локалізація фосфорилази у фрагментах паренхімних клітин міні-бульб картоплі, утворених у стаціонарному контролі: а—в — 10-добові бульби; г, д — 30-добові бульби. Преципітат цитохімічної реакції показано стрілками; А — амілопласт; Е. р. — ендоплазматичний ретикулум; К. з. — крохмальне зерно; Об — оболонка клітини; С — строма

ла крохмаль або глікоген як затравку, одна анодна смуга з  $R_f = 0,36$  характеризувалася вищою фосфорилазною активністю, ніж друга, менш просунута до аноду, із  $R_f = 0,14$ .

За період із 10-ї по 30-ту добу колір бульб перетворився на зелено-жовтий або жовтуватий. Форма бульб не змінилася, вона була кулястою та видовженою. Розмір міні-бульб збільшився у 1,5 разу, а сира маса — вдвічі (табл. 1), число шарів запасної паренхіми — в 1,3 разу.

Локалізація продукту цитохімічної реакції на фосфорилазу лишилася незмінною: продукт реакції виявлявся у стромі та на крохмальних зернах (рис. 1, г, д). Щільність продукту реакції в амілопластах збільшилася (табл. 3). Біохімічним методом також встановлено підвищення активності фосфорилази (табл. 1) та виявлено два ізоферменти, які за  $R_f$  не відрізнялися від ізоферментів у 10-добових бульбах (рис. 2, г).

Клиноштатування (2 об/хв.) Утворення міні-бульб в умовах горизонтального клиноштатування починалося на 2—3 доби раніше, ніж у контролі. Відсоток утворених міні-бульб був більшим і становив 97. Міні-бульби утворювалися як із пазушної бруньки, так і на столоні, за аналогією до контролю. 10-денні міні-бульби, як і в контролі, були кулястими, іноді витягнутими, проте забарвлені

Таблиця 2

Вміст цитохімічного преципітату, який маркував фосфорилазу у різних субструктурах пластид міні-бульб картоплі, сформованих у контролі

Вік міні-бульб, дні	Амілопласти, у субпродуктах яких виявлено преципітат цитохімічної реакції, %			
	У стромі	На периферії зерна крохмалю	На всій поверхні зерна крохмалю	Пластиди, у яких преципітат відсутній, %
10	36	40	3	21
30	32	36	6	26

Таблиця 3

Щільність цитохімічного преципітату, який маркував фосфорилазу в амілопластах паренхіми міні-бульб картоплі, сформованих у контролі

Вік міні-бульб, дні	Щільність преципітату, який маркував активність фосфорилази у різних субструктурах пластиди, од/0,5 мкм <sup>2</sup> поверхні		
	У стромі	На периферії зерна крохмалю	На всій поверхні зерна крохмалю
10	7,368±0,989	2,850±0,534	12,158±0,672
30	9,182±1,126	7,450±0,769	15,111±0,768

лише в зелено-жовтий колір. Ростові показники цих бульб відрізнялися від таких у контролі більшими розмірами і більшою кількістю клітинних шарів (табл. 1). Структура перидерми та запасної паренхіми нагадувала таку у контролі. Субклітинна локалізація фосфорилази у клітинах крохмаль-запасної паренхіми була ідентичною її локалізації у клітинах стаціонарного контролю. Преципітат виявлявся у стромі та на крохмалі пластид, зрідка — в цитоплазмі (рис. 3, а, б). Підрахунок гранулярного преципітату показав, що його щільність перевищувала такий у клітинах контролю (табл. 4, 5). Необхідно також відмітити, що позитивна цитохімічна реакція відбувалася не в усіх амілопластах. Біохімічне визначення вмісту крохмалю у бульбах показало його зростання порівняно з контрольними зразками (табл. 1). Тоді як вміст моно- і дисахаридів був низьким. Активність фосфорилази була вищою, ніж у відповідному контрольному матеріалі. Нами відмічено збільшення інтенсивності забарвлення двох ізоферментів фосфорилази (рис. 2, а) у порівнянні з такою в контрольних зразках, що свідчило про інтенсивніший синтез лінійного глюкану — амілози з глюкозо-10-фосфату.

У клиностатованих 30-добових міні-бульбах (табл. 1) відмічено такі зміни. Розмір та сира маса міні-бульб, як і кількість шарів клітин, у них збільшилися, майже всі бульби були жовтого кольору. Присутність фосфорилази виявлено у стромі

пластид, по периферії крохмальних зерен або ж на всій поверхні крохмалю (рис. 1, в, г), у цитоплазмі продукт реакції виявлявся дуже рідко. Преципітат був відсутній у частині амілопластів (табл. 4). Щільність цитохімічного преципітату у стромі амілопластів була вищою в шість разів у порівнянні з відповідним контролем, по периферії крохмалю — у 10 разів і по всій поверхні крохмальних зерен — у шість разів (табл. 5).

Визначення вмісту крохмалю показало також його підвищення, тоді як пул моно- і дисахаридів зменшився удвічі порівняно з бульбами, утвореними в умовах стаціонарного контролю (табл. 1). Біохімічний аналіз виявив суттєве (удвічі) зростання активності фосфорилази у порівнянні з такою у 10-денних клиностатованих міні-бульбах. Встановлено підвищення інтенсивності забарвлення двох ізоферментних зон фосфорилази з  $R_f$  0,14 і 0,36 у міні-бульбах 30-добового віку порівняно з 10-денними (рис. 2).

Таким чином, порівняльний аналіз ростових показників міні-бульб, сформованих в умовах контролю та при 30-добовому горизонтальному клиностатуванні, свідчить про те, що в умовах скаляризації вектора гравітації відбувається прискорений ріст запасних органів картоплі за рахунок збільшення кількості клітинних шарів. Можливо, це могло бути наслідком прискореного поділу клітин та/або прискореного росту клітин розтягненням. Подібні дані описані Дж. Пербалем із співавт., які

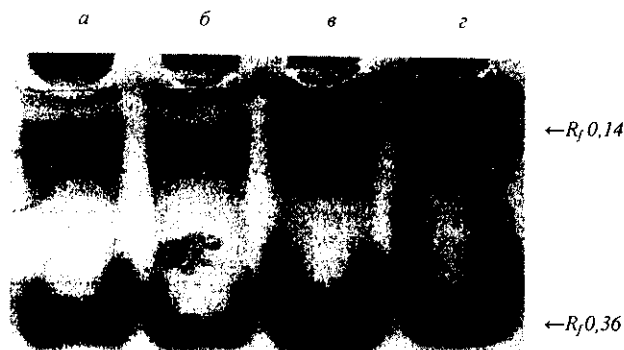


Рис. 2. Ізозимні спектри фосфорилази, виявлені електрофоретичним методом у міні-бульбах картоплі, які сформувалися при клиностагуванні (а, в) та в стаціонарному контролі (б, г); а, б — 10-добові бульби; в, г — 30-добові бульби

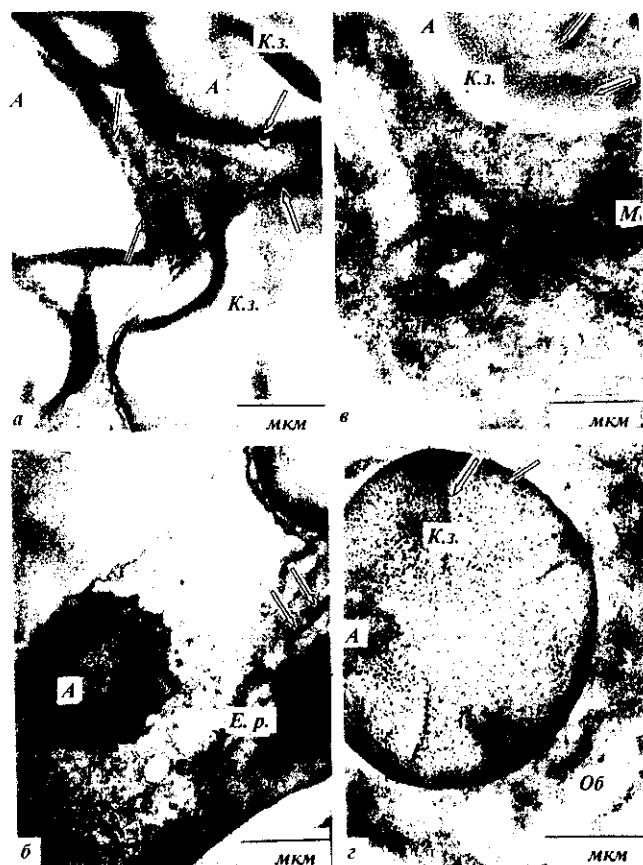


Рис. 3. Локалізація фосфорилази у фрагментах паренхімних клітин міні-бульб картоплі, утворених при клиностагуванні: а, б — 10-добові бульби; в, г — 30-добові бульби. Преципітат цитохімічної реакції узказано стрілками; А — амілопласт; Е. р. — ендоплазматичний ретикулум; К. з. — крохмальне зерно; М — мітохондрія; Об — оболонка клітини; С — строма

виявили підвищення мітотичного індексу коренів чечевиці, що зростала в умовах реального космічного польоту [19].

Одержані нами дані стосовно збільшення вмісту крохмалю, підвищення активності фосфорилази та зниження вмісту моно- і дисахаридів у клиностагованих міні-бульбах свідчать про суттєві зміни вуглеводного метаболізму у запасних органах картоплі при тривалій дії зміненої гравітації. Зв'язок метаболізму сахарози із синтезом крохмалю у бульбах картоплі в умовах *in vivo* відомий. Кореляцію прискореної мобілізації сахарози із збільшенням синтезу крохмалю раніше виявлено в [20] при порівнянні синтезу крохмалю у бульбах дикого виду картоплі та картоплі, в яку трансформували пірофосфатазний ген з *Escherichia coli*.

Відомо, що ріст бульб картоплі відбувається з одночасним відкладанням вторинного крохмалю у крохмаль-запасній паренхімі. Крім цього, є свідчення того, що бульби картоплі формуються і ростуть з участю фітогормонів (гіберелінової кислоти, ІОК та АБК), які індукують прискорений ріст запасних органів і синтез вторинного крохмалю [21, 22]. Можна припустити, що тривале клиностагування викликає суттєві зміни фітогормонального балансу при формуванні запасних органів картоплі.

Електронно-цитохімічне дослідження субклітинної локалізації фосфорилази у міні-бульбах картоплі показало наявність фосфорилази не лише у пластидах, а й у цитоплазмі. Аналогічну локалізацію фосфорилази описано і у фотосинтезувальних клітинах рослин [13, 23]. Відомо, що вищі рослини містять два типи фосфорилази: перша — пластидна, друга — цитозольна. Альбрех із співавт. методом імунної мікроскопії листків і бульб картоплі показали, що під час нагромадження крохмалю у запасних органах відбувається експресія відповідних генів *Ph1a* та *Ph2b* [23]. Зважаючи на ці дані, а також на результати, одержані нами по збільшенню активності фосфорилази у паренхімі, яка запасає крохмаль, ми припустили, що при тривалій імітації невагомості експресія генів *Ph1a* та *Ph2b* може прискорюватися. Крім цього, враховуючи дані літератури про те, що синтез вторинного крохмалю залежить від швидкості синтезу моно- та дисахаридів у фотосинтезувальних органах та експорту сахарози у запасні органи [24] і одержані нами результати стосовно зниження вмісту моно- і дисахаридів у клиностагованому матеріалі, можна припустити, що при тривалому клиностагуванні відбуваються суттєві зміни у швидкості не лише

Таблиця 4

Вміст цитохімічного преципітату, який маркував фосфорилазу у різних субструктурах пластид міні-бульб картоплі, сформованих при клиностауванні

Вік міні-бульб, дні	Амілопласти, у субпродуктах яких виявлено преципітат цитохімічної реакції, %			
	У стромі	На периферії зерна крохмалю	На всій поверхні зерна крохмалю	Пластиди, у яких преципітат відсутній, %
10	93	33,3	18,3	20
30	32	36	6	26

Таблиця 5

Щільність цитохімічного преципітату, який маркував фосфорилазу в амілопластах паренхіми міні-бульб картоплі, сформованих при клиностауванні

Вік міні-бульб, дні	Щільність преципітату, який маркував активність фосфорилази у різних субструктурах пластиди, од/0,5 мкм <sup>2</sup> поверхні		
	У стромі	На периферії зерна крохмалю	На всій поверхні зерна крохмалю
10	46,42±9,15	68,90±9,55	112,62±6,23
30	55,87±5,41	70,50±8,64	98,15±10,13

синтезу моно- і дисахаридів, але й транспортування сахарози у міні-бульби картоплі.

*O. M. Nedukha, E. I. Schnyukova*

Subcellular localization and activity of phosphorylase in parenchyma cells of *Solanum tuberosum* L. minitubers at clinorotation

#### Summary

The subcellular localization and the phosphorylase (EC 2.4.1.1) activity in parenchyma cells of *Solanum tuberosum* L. (sv Adreta) minitubers have been investigated. The minitubers were formed in the stationary control and under influence of horizontal clinorotation, which imitated microgravity. The next methods used in the experiments: i) the method of sterial culture of miniplants, ii) electronic cytochemical method, and iii) biochemical methods for the determination of carbohydrates content, phosphorylase activity, and isoenzyme composition of phosphorylase. It is established that clinorotation does not influence the subcellular localization of phosphorylase and the electrophoretic mobility of phosphorylase isoforms; however, the clinorotation increases the phosphorylase activity and starch content in potato storage organs.

*E. M. Недуха, Е. И. Шнюкова*

Субклеточная локализация и активность фосфорилазы в паренхимных клетках мини-клубней *Solanum tuberosum* L. при клиностауванні

#### Резюме

Исследована субклеточная локализация и активность фосфорилазы (КФ 2.4.1.1) в мини-клубнях *S. tuberosum* L. (сорт Адрета). Мини-клубни формировали в условиях стационарного контроля и при воздействии клиностаування, имитирующего микрогравитацию. В экспериментах использовали метод стерильной культуры мини-растений, электронно-цитохимический метод выявления локализации фосфорилазы, а также биохимические методы для определения содержания углеводов,

активности фосфорилазы и ее изоферментного состава. Установлено, что клиностаування не влияет на субклеточную локализацию фосфорилазы и электрофоретическую подвижность ее изоформ, однако вызывает повышение активности фосфорилазы и содержания крахмала в запасящих органах картофеля.

#### ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kordyum E. L. Biology of plant cells in microgravity and under clinostating // Int. Rev. Cytol.—1997.—171.—P. 1—78.
2. Сытник К. М., Кордюм Е. Л., Недуха О. М., Фомичева В. М. Растительная клетка при изменении геофизических факторов.—Киев: Наук. думка, 1984.—134 с.
3. Kuznetsov O., Brown Ch., Levine H., Sanwo M., Hasenstein K. Space-grown plants show modified starch structure: Abstr. of 33rd COSPAR 2000 (Warsaw, 16—28 July).—Warsaw, 2000.—P. 631.
4. Nedukha O. M. Effect of microgravity on the structure and function of plant cell wall // Int. Rev. Cytol.—1996.—170.—P. 39—77.
5. Jiao S., Hilaire E., Paulsen A., Guikema J. Ultrastructural observation of altered chloroplast morphology in space-grown *Brassica rapa* cotyledon // J. Gravit. Physiol.—1999.—6, N 1.—P. 93—94.
6. Popova A. F., Kordyum E. L., Shnyukova E. I., Sytnik K. M. Plastid ultrastructure, fractional composition and activity of amylases in *Chlorella* cells in microgravity // J. Gravit. Physiol.—1995.—N 2.—P. 159—160.
7. Smith A., Denyer K., Martin C. The synthesis of starch granule // Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.—1997.—48.—P. 67—87.
8. Steup M., Peavey D. G., Gibbs M. The regulation of starch metabolism by inorganic phosphate // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1976.—72.—P. 1554—1561.
9. Heldt H., Chu C., Maronde D., Herold A., Stankovic Z. S. Role of orthophosphate and other factors in the regulation of starch formation in leaves and isolated chloroplasts // Plant Physiol.—1977.—59.—P. 1146—1155.

10. Watson K., McCleverty C., Geremia S., Cottoz S., Driguez H., Johnson L. Phosphorylase recognition and phosphorolysis of its oligosaccharide: answers to long outstanding questions // EMBO J.—1999.—18.—P. 4619—4632.
11. Croxdale J., Cook T., Tibbits T., Brown C. S., Wieeler R. M. Structure of potato tubers formed during space flight // J. Exp. Bot.—1997.—48.—P. 2037—2043.
12. Murashige T., Skoog F. A. A revised medium of rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plantar.—1962.—43, N 1.—P. 20—25.
13. Недуха Е. М. Локализация активности фосфорилазы в клетках протонемы фунарии влагомерной // Цитология.—1977, № 9.—С. 1062—1064.
14. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П., Перуанский Ю. В., Луковников Г. А., Иконникова М. И. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова.—Ленинград: Агропромизд, 1987.—430 с.
15. Родионова В., Холопцева М. Определение фосфолипидов листьев двухмерной хроматографией в тонкослойном силикагеле // Физиология растений.—1974.—6, № 2.—С. 201—204.
16. Gerbrandy S., Verleur J. Phosphorylase isozymes localization and occurrence in different plant organs in relation to starch metabolism // Phytochemistry.—1971.—10.—P. 261—266.
17. Болотова В. Ц., Саханен Е. И., Лесиовская Е. Е., Пастушенков Л. В. Спектрофотометрический метод определения содержания полисахаридов в листьях *Tilia cordata* // Растительные ресурсы.—2001.—37, № 3.—С. 109—112.
18. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.—1951.—193, N 1.—P. 265—275.
19. Perbal G., Driss-Ecole D., Rutin J., Salle G. Gravid perception of lentil seedlings roots grown in space (Spacelab D1 Mission) // Physiol Plantar.—1987.—70.—P. 119—126.
20. Geinberger P., Hajirezaei M., Geiger M., Deiting U., Sonnewald U., Stitt M. Overexpression of pyrophosphatase leads to increased sucrose degradation and starch synthesis, increased activities of enzymes for sucrose-starch interconversions, and increased levels of nucleotides in growing potato tubers // Planta.—1998.—205.—P. 428—432.
21. Xu X., van Lammeren A., Vermeer E., Vreugdenhil D. The role of gibberellins, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro* // Plant Physiol.—1998.—117.—P. 575—581.
22. Vreugdenhil D., Struik P. An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*) // Physiol. Plantar.—1989.—75.—P. 525—531.
23. Albrecht T., Koch A., Lode A., Greve B., Schneider-Mergener J., Steup H. Plastidic (pho-1-type) phosphorylase isoforms in potato (*Solanum tuberosum* L.) plants: expression analysis and immunochemical characterization // Planta.—2001.—213.—P. 602—613.
24. Курсанов А. Л. Транспорт ассимилятов в растении.—М.: Наука, 1976.—646 с.

УДК 577.152.9; 581.151; 582.926.2  
Надійшла до редакції 12.11.03