ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

ЧАСТИНАІ

Навчальний посібник

Київ 2023

Прилуцька С.В.,Бабицький А.І.,Нестерова Н.Г.,
Ткаченко Т.А.,Дрозд П.Ю.

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

ЧАСТИНА І

Навчальний посібник

Київ 2023

УДК 581.1(075)
Ф 48

Рекомендовано до видання рішенням вченої ради
Національного університету біоресурсів і природокористування України
Протокол № 3 від 27 вересня 2023 року

***Рецензенти**:*

КляченкоО.Л.,доктор сільськогосподарських наук, професор, професор кафедри екобіотехнології та біорізноманіттяНаціонального університету біоресурсів і природокористування України;

Пида С.В.,доктор сільськогосподарських наук, професор, завідувач кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка;

Таран Н.Ю.,доктор біологічних наук, професор, професор кафедри біології рослинНавчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Ф 48Фізіологія рослин : навчальний посібник / С.В. Прилуцька, А.І. Бабицький,Н.Г. Нестерова, Т.А. Ткаченко, П.Ю. Дрозд. – Київ: НУБІП України, 2023. – 224 с.

ISBN

Навчальний посібник містить теоретичний та практичний матеріал по основних розділах навчальної програми з дисципліни «Фізіологія рослин» для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Зміст навчального посібника відповідає навчальній програмі дисципліни «Фізіологія рослин». Розглянуто такі розділи класичної фізіології рослин як «Історія становлення фізіології рослин як науки», «Фізіологія рослинної клітини», «Фотосинтез», «Живлення рослин» та «Фізіологія стресу у рослин та адаптації до біотичних та абіотичних умов навколишнього середовища. Механізми стійкості у рослин».Для покращення засвоєння теоретичного і практичного матеріалуй закріплення знань у кінці кожного розділу наведено контрольні запитання. Основною метою навчально-методичного видання є розширення теоретичних знань і формування практичних навичок у студентів під час вивчення загального курсу «Фізіологія рослин».

Для підготовки фахівців освітнього ступеня «Бакалавр» за спеціальністю162 «Біотехнології та біоінженерія». Посібник буде корисний студентам, аспірантам і викладачам закладів вищої освіти.

УДК 581.1(075)

©Прилуцька С.В., Бабицький А.І.,Нестерова Н.Г.,
Ткаченко Т.А., Дрозд П.Ю., 2023
©НУБІП України

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Прилуцька Світлана Володимирівна
Доктор біологічних наук, професор. Випускниця кафедри біохімії біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Завідувач кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Національного університету біоресурсів і природокористування. Викладає дисципліни «Біохімія», «Клітинна біоенергетика», «Вступ до фаху», «Фізіологія рослин з основами біохімії». Автор та співавтор понад 200 наукових праць, серед яких 5 колективних монографій (3 видані за кордоном), 96 статей представлені у наукометричній базі Scopus, більшість з яких опубліковані у міжнародних високорейтингових наукових фахових виданнях квартилів Q1 і Q2, 7 патентів України на винахід, 2 навчальних посібників.Наукові інтереси пов’язані з вивченням біологічних властивостей та використанням наноматеріалів у біомедицині та агротехнологіях, а також регуляції біохімічних механізмів стресостійкості у рослин. Електронна адреса: **physiol.biochem2021@gmail.com**

Бабицький Андрій Ігорович
Кандидат біологічних наук, доценткафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики НУБіП України. Викладає дисципліни«Фізіологія рослин», «Фізіологія рослин з основами біохімії», «Екофізіологія», «Об’єкти біотехнологічних виробництв». Автор та співавтор понад 150 наукових праць, з яких 1 монографія. Наукові інтереси пов’язані з вивченням розвитку стійкості рослинних організмів проти шкідників. Електронна адреса: andriybabytskiy@gmail.com

Нестерова Наталія Георгіївна
Кандидат сільськогосподарських наук, доцент. Доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Національного університету біоресурсів і природокористування. Викладає дисципліни «Біометрія», «Вторинний метаболізм рослин», «Фізіологія рослин», «Фізіологія рослин з основами біохімії». Автор та співавтор понад 70 наукових праць, серед яких 1 монографія, 3 статті представлені у наукометричній базі*Scopus*, 1 патент України на винахід, 5 навчально-методичних рекомендацій. Наукові інтереси пов'язані із вивченнямфізіологічних аспектів стійкості рослин до посухи та водного дефіциту. Електронна адреса: natalianesterova@nubip.edu.ua

Ткаченко Тетяна Анатоліївна
Кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики. Викладає дисципліни «Біохімія», «Біобезпека», «Біоенергетичні основи біотехнологічних процесів», «Фізіологія рослин з основами біохімії», «Біологія клітини». Автор та співавтор понад 60 наукових праць, в тому числі 3 монографій, 1 підручника, 1 навчального посібника, 1 термінологічного словника, 2 патентів на корисну модель. Наукові інтереси пов'язані з вивченням біохімічних механізмів впливу важких металів на живі організми.Електронна адреса: **physiol.biochem2021@gmail.com**

Дрозд Петро Юрійович
Кандидат історичних наук, доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики. Викладає дисципліни «Вступ до фаху», «Об'єкти біотехнологічних виробництв», «Проектування біопроцесів», «Фотобіотехнологія». Автор та співавтор понад 50 наукових праць, в тому числі 1 підручника, 14 статей у фахових виданнях, 10 методичних рекомендацій, 2 рекомендації виробництву. Наукові інтереси пов'язані з вивченням впливу світла на ріст і розвиток рослин.Електронна адреса: **petro.drozd@gmail.com**

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ 10
ПЕРЕДМОВА 11
РОЗДІЛ 1. ІСТОРІЯ СТАНОВЛЕННЯ ФІЗІОЛОГІЇ РОСЛИН ЯК НАУКИ 13
Питання для обговорення та самоперевірки 44
РОЗДІЛ 2. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ 45
Тема 2.1. Загальні основи будови рослинної клітини 45
Тема 2.2. Похідні протопласту 59
Тема 2.3. Клітинний сік і вакуолі 61
Тема 2.4. Клітинна стінка 64
Тема 2.5. Онтогенез клітин рослин 66
Лабораторна робота № 1. Визначення явища плазмолізу і деплазмолізу в клітинах цибулі 67
Лабораторна робота № 2. Визначення потенційного осмотичного тиску клітинного соку плазмолітичним методом 69
Лабораторна робота № 3. Визначення проникності живого і мертвого протопласту для клітинного соку 71
Лабораторна робота № 4. Визначення сисної сили (водного потенціалу) тканин рослин за зміною їх розмірів (метод Уршпрунга) 73
Питання для обговорення та самоперевірки 75
РОЗДІЛ 3. ФОТОСИНТЕЗ 76
Тема 3.1. Загальне поняття про фотосинтез 76
3.1.1. Значення процесу фотосинтезу у природі і житті людей
3.1.2. Історія дослідження фотосинтезу
Тема 3.2. Структури та хімічні сполуки, що забезпечують фотосинтез 82
3.2.1. Листок, як основний орган фотосинтезу
3.2.2. Хлоропласти
3.2.3. Фотосинтетичні пігменти
Тема 3.3. Світлозалежна (світлова) фаза фотосинтезу 91
3.3.1. Фотофізичний етап
3.3.2. Фотохімічнийетап
3.3.3. Синтез АТФ під час фотосинтетичного фосфорилування
Тема 3.4. Світлонезалежна(темнова) фаза фотосинтезу 99
3.4.1. C_3-шлях фотосинтезу (Цикл Кальвіна)
3.4.2. C_4-шлях фотосинтезу (Цикл Хетча-Слека)
3.4.3. САМ (МОКТ)
3.4.4. Фотодихання
3.4.5. Продукти фотосинтезу. Синтез крохмалю
Лабораторна робота № 5.Визначення кількості та відносних розмірів продихів методом целюлозних реплік М.Г. Молотковського 117
Лабораторна робота № 6.Хімічні властивості пігментів фотосинтезу 119
Лабораторна робота № 7. Оптичні властивості фотосинтетичних пігментів 122

Лабораторна робота № 8. Розподіл пігментів методом одномірної паперової хроматографії 124
Питання для обговорення та самоперевірки 125
126
РОЗДІЛ 4. ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН 127
Тема 4.1. Мінеральний обмін у рослин 127
4.1.1. Нітроген 135
4.1.2. Фосфор 135
4.1.3. Сульфур 137
4.1.4. Магній 139
4.1.5. Кальцій 142
4.1.6. Калій 143
4.1.7. Силіцій (кремній) 144
4.1.8. Ферум 146
4.1.9. Манган 147
4.1.10. Цинк 149
4.1.11. Купрум 151
4.1.12. Молібден 153
4.1.13. Нікель 155
4.1.14. Бор 156
4.1.15. Хлор 157
4.1.16. Кобальт 158
4.1.17. Селен 159
Тема 4.2. Транспортування елементів живлення в рослинах 160
Тема 4.3. Метаболізм азотуу рослин 166
Тема 4.4. Гетеротрофне та симбіотичне живлення рослин 174
Лабораторна робота № 9. Мокре озолення рослинного матеріалу 175
Лабораторна робота № 10. Вплив мінеральних елементів на процеси життєдіяльності рослини 177
Лабораторна робота № 11. Дослідження впливу різного складу солей на процес поглинання катіонів та аніонів 179
Лабораторна робота № 12. Визначення мікрохімічних показників золи 180
Лабораторна робота № 13. Антагоністична дія іонів на процеси росту й розвитку рослин 181
Лабораторна робота № 14. Оцінювання фізіологічної ролі B та Mn для рослинного організму 182
Лабораторна робота № 15. «Виявлення антагонізму K та Ca за їх дії на цитоплазму клітин» 184
Лабораторна робота № 16. Якісне визначення нітратів в тканинах рослин 185
Лабораторна робота № 17. Дослідження прикореневої та ризосферної мікрофлори рослин 185
Питання для обговорення та самоперевірки 186

РОЗДІЛ 5. ФІЗІОЛОГІЯ СТРЕСУ У РОСЛИН ТА АДАПТАЦІЇ ДО

БІОТИЧНИХ ТА АБІОТИЧНИХ УМОВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА. МЕХАНІЗМИ СТІЙКОСТІ У РОСЛИН 187
Тема 5.1. Поняття стресу і чинники, які його спричиняють у рослинному організмі 187
Тема 5.2. Основні ознаки стресових реакцій у рослин 187
5.2.1. Пошкодження рослин за дії стресорів 190
5.2.2. Стійкість рослин 191
Тема 5.3. Специфічні і неспецифічні стресові реакції 193
Тема 5.4. Загальні поняття про адаптацію, класифікація адаптацій 196
Тема 5.5. Головні напрямки адаптацій рослини до стресорів 197
Тема 5.6. Акліматизація та аклімація 198
Тема 5.7. Пристосування і стійкість рослин 198
5.7.1. Стійкість до посухи та вододефіцит 198
5.7.2. Стійкість рослин до холоду і морозу 199
5.7.3. Солестійкість 200
5.7.4. Газостійкість 201
5.7.5. Радіостійкість 201
5.7.6. Стійкість рослин до хвороб і шкідників та механізми розвитку фітоімунітету 202
Лабораторна робота № 18.Оцінка показників дефіциту води в організмі рослини 203
Лабораторна робота № 19.Дослідження водоутримуючого потенціалу рослин (за Арландом) 205
Лабораторна робота № 20.Оцінка жаростійкості рослин (за Ф. Ф. Мацковим) 206
Лабораторна робота № 21.Стійкість рослин до гіпертермії і її оцінка за показником в’язкості цитоплазми 207
Лабораторна робота № 22.Визначення холодостійкості рослин в ранніх періодах їх розвитку 208
Лабораторна робота № 23.Морозостійкість плодових культур та її визначення за кількістю кислоторозчинних флавоноїдних метаболітів 209
Лабораторна робота № 24.Вивчення газостійкості рослин 211
Лабораторна робота № 25. Оцінка пероксидазної активності в клітинах рослин 212
Лабораторна робота № 26.Метод О.М. Бояркіна: оцінка поліфенолоксидазної активності тканин рослини 214
Лабораторна робота № 27. Оцінка життєздатності клітин внаслідок дії токсикантів за використання вітального барвника 217
Питання для обговорення та самоперевірки 219

Список використаної літератури 220

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АДФ – аденозиндифосфат
АМФ – аденозинмонофосфат
АТФ – аденозинтрифосфат
АФК – активні форми кисню
БТШ – білки теплового шоку
НАДФ – нікотинаміддинуклеотид
САМ – *Crassulaceae*acidmetabolism
МОКТ – Метаболізм органічних кислот у товстолистих
ФАД – флавінаденіндинуклеотид
ФАР – фотосинтетично активна радіація
ФС1 – фотосистема 1
ФС2 – фотосистема 2
ФСО – фотосинтетична одиниця

ПЕРЕДМОВА

Фізіологія рослин (від грецького «*physis*» – природа і «*logos*» – вчення) – це наука, яка вивчає процеси життєдіяльності та функції рослинного організму.

Метою вивчення курсу фізіології рослин є формування комплексного знання у студентів промеханізми протікання головних фізіологічних функцій у різних органах рослин та їхня інтеграція на рівні цілісного організму, а також набуття практичних навичок керування продукційними процесами у рослинних біосистемах.

Сучасна фізіологія рослин – це міждисциплінарна інтегративна наука про функціональну активність рослинних організмів і механізми процесів рослинних систем різних рівнів їхньої організації – від цілісного рослинного організму до його окремих частин.

Фізіологія рослин поділяється на:

Класичну – досліджує процеси та функції у рослині.

Прикладну – використовуючи знання класичної фітофізіології, яказаймається розробкою найоптимальніших методів вирощування та догляду за корисними для людини рослинами.

Предметомфізіології рослин є*функції* живих рослинних організмів, їхніх органів, тканин, клітин і клітинних компонентів, регуляція та пристосування рослинних біосистем до навколишнього середовища, їхнє становлення у процесі еволюції й індивідуального розвитку,а такожпізнання механізмів інтеграції фізіологічних функцій на рівні цілісного рослинного організму.

Метою фізіології рослин є пізнання закономірностей життєвих функцій рослин, розкриття їхніх механізмів, формування уявлення про структурно-функціональну організацію рослинних систем різних рівнів і вироблення шляхів керування рослинним організмом.

Завданняфізіології рослинполягають у пізнанні закономірностей життєвих функцій, розкритті їхніх механізмів, формуванні уявлення про структурно-функціональну організацію рослинних систем різних рівнів; одержанні й узагальненні нових знань про фізіологічні функції рослинного організму та можливості керування продукційним процесом фітоценозів задля створення теоретичної бази раціонального використання й захисту рослинного світу.

У класичній фізіології рослин розрізняють 6 принципово важливих **напрямків**:

Біохімічний напрям. Розглядає функціональне значення різноманітних органічних речовин, які утворюються в рослинах у процесі фотосинтезу та дихання. Виявляє закономірності мінерального живлення рослин, шляхи біосинтезу органічних сполук з найпростіших мінеральних речовин (вуглекислий газ, вода, аміак, нітрати, сірчана і фосфорна кислоти, магній, кальцій, калій, мікроелементи). Розглядає роль мінеральних речовин як регуляторів стану колоїдів і каталізаторів біохімічних реакцій, а також їхню участь у синтезі органічних сполук у клітині.

Біофізичний напрям. Вивчає питання енергетики клітини, електрофізіології рослини, фізико-хімічні закономірності її функцій (водного режиму, кореневого живлення, росту, подразнення, фотосинтезу і дихання рослин).

Онтогенетичний напрям. Досліджує вікові закономірні зміни розвитку рослин, які залежать від внутрішніх біохімічних і біофізичних процесів, морфогенез і можливі способи керування розвитком рослин (фотоперіодизм, яровизація, світлокультура, загартування рослин та ін.).

Еволюційний, або порівняльний напрям. Виявляє фізіологічні особливості філогенезу виду загалом чи окремих рослинних організмів. Встановлює особливості індивідуального розвитку рослин за певних зовнішніх умов. Досліджує онтогенез, як функцію генотипу, яка склалася у процесі філогенезу, а також вікові зміни рослин, які залежать від спадкової конституції і впливу зовнішніх умов.

Екологічний напрям. Досліджує внутрішні процеси рослинного організму залежно від умов зовнішнього середовища.

Кібернетичний напрям. Застосовує математичне моделювання та програмування процесів, що протікають у рослинних організмах з метою прогнозування реакцій фітосистем на зовнішній вплив і зміни умов навколишнього середовища.

Дисципліна «Фізіологія рослин» є загальною згідно навчального плану для підготовки фахівців освітнього ступеня «Бакалавр» за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». Навчальний посібник складається із п’яти розділів: «Історія становлення фізіології рослин як науки» (Дрозд П.Ю.), «Фізіологія рослинної клітини» (Нестерова Н.Г.), «Фотосинтез» (Бабицький А.І.), «Живлення рослин» (Ткаченко Т.А.)та «Фізіологія стресу у рослин та адаптації до біотичних та абіотичних умов навколишнього середовища. Механізми стійкості у рослин» (Прилуцька С.В., Ткаченко Т.А.).

У навчальному посібнику «Фізіологія рослин» до кожного розділу наведено вичерпний теоретичний матеріал, після якого подано лабораторні роботи, загальна кількість яких складає27.Після кожного розділу наведено перелік питань для самоконтролю.

Пропонований навчальний посібник «Фізіологія рослин» є оригінальним навчальним виданням, підготовленим для фахівців-біотехнологів і має на меті сформувати у студентів комплекснерозуміння фізіологічних процесів, що протікають у рослинних біосистемах різних рівнів організації.

РОЗДІЛ 1. ІСТОРІЯ СТАНОВЛЕННЯ ФІЗІОЛОГІЇ РОСЛИН ЯК НАУКИ

Фізіологія рослин – наука, яка вивчає закономірності життя рослин, досліджує взаємозв'язок між ними і навколишнім середовищем, а також розробляє шляхи керування рослинними організмами з метою оптимізації продуктивності культурних рослин, збереження довкілля та для моніторингу біосферних процесів. Предметом фізіології рослин є дослідження функцій рослинних організмів, а також органів, тканин та клітинних компонентів вивчення причин та наслідків різноманітних проявів їх життєдіяльності. Її складовими частинами є фізіологія живлення рослин та їх росту і розвитку; фізіологія і екологія фотосинтезу та стійкість рослин до несприятливих факторів середовища. Фізіологія рослин є джерелом для розробки передових біотехнологічних процесів на основі використання фототрофних керованих біосинтезів, створення ресурсозберігаючих рослинних організмів, зокрема шляхом генної інженерії. Як будь-яка самостійна наука фізіологія рослин пройшла складний шлях становлення та розвитку.

Фундатором фітофізіологічних досліджень в Україні був професор О.В. Баранецький (1843–1905, рис. 1.1), учень відомого вченого А.С. Фамінцина. Його основні наукові праці присвячені проблемам росту, водного режиму та анатомії рослин. Будучи з 1903 р. деканом фізико-математичного факультету Університету святого Володимира у Києві, організував лабораторію фізіології й анатомії рослин.

Рис. 1.1. ОсипВасильовичБаранець

Вагомий внесок у розвиток фізіології рослин в Україні належить академіку ВУАН Є.П. Вотчалу (1864–1937, рис. 1.2). У дебютній праці він уперше запропонував гістохімічний метод визначення соланіну і проаналізував його значення для рослин.

У 1893–1898 рр. учений працював ад'юнкт-професором кафедри фізіології та мікробіології рослин Новоолександрійського інституту сільського господарства і лісівництва (м. Пулава, Польща), де розробив програми курсів з фізіології рослин, адаптовані саме для сільськогосподарських вищих навчальних закладів, та відкрив новий кабінет фізіології рослин. У магістерській дисертації «О движении пасоки (воды) в растении» Є.П. Вотчал виклав теорію про те, що в транспортуванні води і розчинених у ній речовин важливе значення має функціонування кінцевих двигунів – кінчиків коренів та хлорофілоносної паренхіми листків рослин. За цю роботу вчений отримав відразу ступінь доктора ботаніки, що підкреслює її вагомість.

У 1898 р. він очолив кафедру фізіології рослин та мікробіології Київського політехнічного університету (нині кафедра фізіології, біохімії рослин та біоенергетики НУБіП України), а у 1920 р. його обрали деканом сільськогосподарського факультету цього закладу, на базі якого згодом створено Київський сільськогосподарський інститут (один із попередників НУБіП). Є.П. Вотчал очолив кафедру фізіології рослин новоствореного закладу, де розгорнув масштабну науково-педагогічну діяльність.

Рис. 1.2. Євген Пилипович Вотчал

У грудні 1921 р. Є.П. Вотчала обрано дійсним членом новоствореної Кафедри біології сільськогосподарських культур та лісових рослин при ВУАН, де вчений очолив комісію з вивчення методів підсочування сосни та її впливу на дерева (1926) та комісію Всеукраїнської академії наук з вивчення сортів сільськогосподарських рослин (1927). Ним ініційовано унікальні підходи до оцінки сортів з точки зору їх посухостійкості, а не ксероморфності, а також запропоновано визначення «фізіологічних рас» як основи селекційної роботи з чистих ліній.

Варто зазначити, що при Кафедрі біології сільськогосподарських культур та лісових рослин ВУАН створено урожайно-насіннєву комісію, яка досліджувала найважливіші фізіологічні процеси (асиміляції, дихання, транспірації) рослин у природних умовах, фізіологічну природу посухостійкості сільськогосподарських культур. Вчені комісії вперше в УСРР розробили методику визначення інтенсивності фотосинтезу, яка зв’язувала фотосинтез, водний режим, тепловий баланс, дихання і врожайність при врахуванні провідних фізичних чинників.

Є.П. Вотчал був одним із засновників Наукового інституту селекції (1922), реорганізованого у 1930 р. у Всесоюзний науково-дослідний інститут цукрових буряків, у якому до 1937 р. керував фізіологічним відділом. Ним започатковано фізіологічно-екологічний напрям досліджень з фотосинтезу: встановлено нерівномірність фотосинтезу протягом дня і наявність так званої депресії цього процесу в період найвищої інсоляції; встановлено, теоретично обґрунтовано і сформульовано фізіологічні поняття «транспіраційна втома», «транспіраційний коефіцієнт асиміляції», «депресія асиміляції» та ін.; досліджено динаміку накопичення і пересування цукрів у тканинах коренеплодів цукрового буряка. Одночасно запропоновано агротехнічні заходи, спрямовані на пом’якшення стресової дії посухи та створення безперебійного водозабезпечення рослин.Науковець зробив значний внесок у формування теоретичних основ створення нових сортів цукрових буряків з високою цукристістю Йому належать ґрунтовні праці, присвячені фізіології деревних рослин, руху соків у деревині, розподілу смоляного тиску в стеблі сосни та смоловиділенню.

Є.П. Вотчал створив власну еколого-фітофізіологічну наукову школу (В.Р. Заленський, В.К. Залеський, В.В. Колкунов, А.С. Оканенко,

І.М. Толмачов, О.О. Табенцький). Є.П. Вотчал та його наукова школа зуміли зміцнити взаємозв'язок теоретичної фізіології рослин з практикою сільського господарства, започаткувавши новий напрям – польову фізіологію сільськогосподарських культур.

Учень Є.П. Вотчала В.Р. Заленський (1875–1923 рр.) є одним із засновників екологічної фізіології рослин в Україні. Досліджуючи анатомічну будову листка та взаємозв'язок структурної організації цього органа і його функціональної ролі, він відкрив залежність анатомічної будови листка від місця розташування його на стеблі (закон Заленського); встановив, що листки верхніх ярусів більш ксерофільні, ніж нижні, і, відповідно, стійкіші до водного дефіциту.

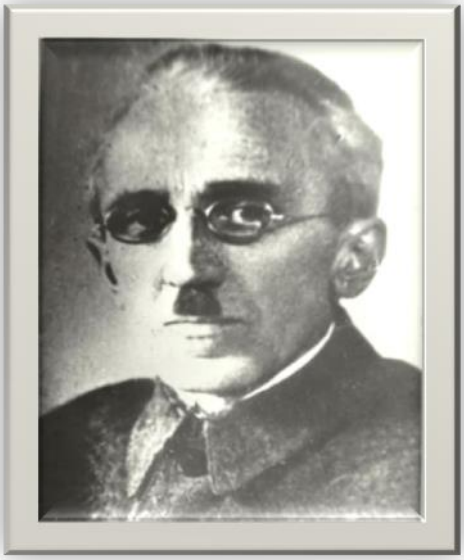
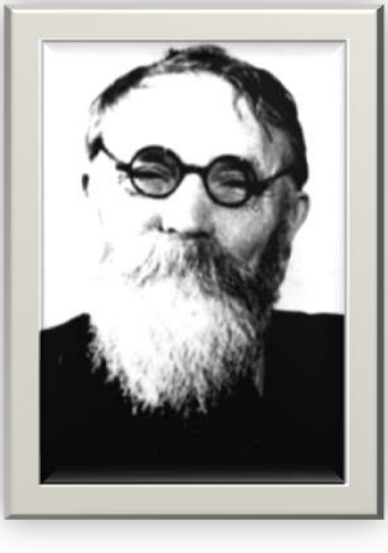


Рис. 1.3. Олександр Олександрович Табенцький

Під керівництвом іншого учня Є.П. Вотчала – О.О .Табенцького (1890–1964, рис. 1.3) у 1922 р. розпочато вивчення фізіології та анатомії цукрового буряка, показано можливість корегування фотосинтезу за допомогою добрив та агротехнічних засобів. Результатом цих досліджень став перший атлас «Анатомія цукрового буряка». Працюючи на посаді професора Київського політехнічного інституту, завідувача кафедри ботаніки Київського агроінженерного інституту, завідувача кафедри ботаніки Білоцерківського сільськогосподарського інституту, О.О. Табенцький провів багато оригінальних дослідів з фізіології рослин, особливо стосовно структури та функцій хлоропластів в онтогенезі.

Рис. 1.4. В'ячеслав Костянтинович Залеський

Член-кореспондент АН УСРР В.К. Залеський (1871–1936, рис. 1.4) очолював кафедри фізіології рослин Харківського університету (1903–1936) та Новоолександрійського інституту сільського господарства і лісівництва, де досліджував синтез білкових речовин у рослинах, участь сполук фосфору і заліза в обміні речовин рослинного організму. Учений встановив можливість утворення вищими рослинами білкових речовин з нітратів та вуглеводів без участі сонячної енергії, а також уперше виділив фермент карбоксилазу у вищих рослин.



І.М. Толмачов (1889–1979, рис. 1.5), який читав курс фізіології рослин у Білоцерківському

сільськогосподарському інституті (1935–1941), зробив значний науковий внесок у питаннях розвитку хлорофілоносного апарату рослин. Ще у 1925 р. він вперше виявив виділення вуглекислоти із зеленого листка на світлі. Згодом винайшов респіраційний апарат для визначення дихання у рослин та прилад для аналізу фотосинтетичного газообміну рослин в польових умовах (1940).

В.В. Колкунов (1866–1937, рис. 1.6) свої перші праці присвятив вивченню фізіології рослин у період посухи. Він розробив популярну у свій час теорію анатомо-фізіологічної кореляції посухостойкості рослин, підтвердив зв'язок посухостійкості з особливостями будови (дрібноклітинністю) рослин. Учений висунув ідею про добір посухостійких рослин на основі вивчення анатомічних пристосувань проти посухи,започаткувавши новий напрям в селекції, пов'язаний з проблемами посухостійкості. Згодом був обраний першим директором Наукового інституту селекції (нині Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН) (1922) та директором наукової частини Всесоюзного інституту махоркової промисловості (1930).У 30-х рр. В.В. Колкунов та П.О. Оселедець розробили заходи щодо попередження загибелі озимих культур.

Рис. 1.5. Іван Михайлович Толмачов

Рис. 1.6. Володимир ВолодимировичКолкунов

Вагомий внесок у створення фітофізіологічних лабораторій в Харкові, Києві, Криму (Нікітський ботанічний сад) здійснив один з найбільш видатних ботаніків-фізіологів світового значення довоєнного періоду академік АН УРСР В.М. Любименко (1873–1937, рис. 1.7).Учений першим в українській фітофізіології висловив уявлення про формоутворення як складову частину росту. В.М. Любименко займався вивченням фотосинтезу і хлорофілу, явища фотоперіодизму, біосинтезу вторинних метаболітів, адаптації організмів до умов довкілля, оригінальних уявлень відносно процесів росту та розвитку рослин.Він запропонував гіпотезу еволюції способів живлення від хемосинтезу до фотосинтезу. Учений визначив вміст хлорофілу у понад 600 видів рослин різних географічних широт, зокрема у понад 400 тропічних видів, які досліджував під час відрядження в Австралію та на острови Ява, Суматра, Сулавесі (1913). В.М. Любименко сприяв дослідженню хлорозу, пов'язаного з дефіцитом заліза (Є.Д. Буслова), впливу світла різного спектрального складу на ростові процеси та обмін речовин (Л.Л. Кузьменко, В.Д. Тихвинська), вивченню продуктивності сільськогосподарських культур залежно від густини посіву та вологості ґрунту (Ф.П. Мацков, М.А. Любинський).

Новий виток розвитку фізіологія рослин отримала з початком роботи

Рис. 1.7. Володимир МиколайовичЛюбименко

Інституту ботаніки ВУАН, створеного у 1931 р. шляхом об'єднання науково-дослідної кафедри ботаніки, Гербарію та Ботанічного кабінету (рис. 1.8). У 1934 р. у зв'язку з реорганізацією ВУАН та переходом установи у підпорядкування Раднаркому УСРР, в інституті було виділено сектор фізіології рослин, котрий об'єднав три відділи: фізичної фізіології (завідувач М.Г. Холодний), хімічної фізіології (очолив В.М. Любименко) та біології сільськогосподарських рослин (керівник – Є.П. Вотчал). Участь у роботі інституту відомих учених сприяла становленню його як теоретичного й методологічного центру розвитку ботанічної науки у країні.

Рис. 1.8. Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного

Світове визнання української фізіології рослин принесли роботи академіка АН УРСР М.Г. Холодного (1882–1953, рис. 1.9). Навчаючись у Київському університеті під впливом професора С.Г. Навашина обрав своєю спеціальністю фізіологію рослин та виконав перші роботи у цьому напрямі. Діапазон наукових інтересів М.Г. Холодного досить широкий: з його іменем пов'язані фундаментальні і теоретичні розробки з проблем росту й розвитку рослин; учений опублікував низку праць з анатомії, екології рослин та ґрунтової мікробіології; разом з тим учений займався філософськими питаннями природознавства, тому його правомірно вважають продовжувачем ідей Ч. Дарвіна та К.А. Тімірязєва.

Рис. 1.9. Микола Григорович Холодний

М.Г. Холодний – автор капітальної монографії «Фитогормоны» (1939) та основоположник загальновизнаної гормональної теорії ростових явищ, відомої під назвою теорії Холодного-Вента, на якій базується сучасне уявлення про хімічну природу активації і гальмування ростових процесів у рослин. Це дало можливість розвинути функціональні напрями у фітології і фітоембріології рослин, анатомії, гістології, мікробіології, знайшло практичне застосування в сільському і лісному господарствах.

Ідеї М.Г. Холодного сприйняті цілою плеядою українських дослідників, яким належить подальша розробка гормональної теорії та застосування її в рослинництві.

Ще в 30-ті рр. в його лабораторії досліджено вплив фітогормонів на ріст і розвиток плодів (О.С. Серейський), проаналізовано гормональні речовини пилку (М.М. Слудська), проведено «гормонізацію» посівного матеріалу (насіння цукрового буряка) (О.Ф. Маринчик).

Важливе значення у поширенні фітофізіологчних знань має діяльність В.І. Палладіна (1859–1922, рис. 1.10) – засновника і першого керівника кафедри фізіології та анатомії рослин Харківського університету (1889–1897), згодом – директора Нікітського ботанічного саду. Підручник професора з фізіології рослин тривалий час залишався єдиним навчальним посібником для студентів університетів і сільськогосподарських інститутів з цієї проблеми, про що свідчить його дев'ятиразове перевидання. В.І. Палладін досліджував процеси дихання рослин та участі ферментів в окислювальних процесах. Дослідник приділяв увагу новому на той час питанню – фізіологічним основам етіоляції. В.І. Палладін – засновник наукової школи з біохімічного напряму фізіології рослин, до якої належать академіки АН СРСР С.П. Костичев, М.О. Максимов, член-кореспондент АН СРСР С.Д. Львов та ін.

Рис. 1.10. Володимир Іванович Палладін

Значимими у цей період є роботи вченого-фізіолога, засновника Ботанічного саду Подільського державного аграрно-технічного університету Н.Т. Гаморака (1892–1937, рис. 1.11), репресованого і «забутого» в часи СРСР. У 1919–1930 рр. учений працював у навчальних закладах м. Кам'янець-Подільський (професор Українського державного університету, завідувач кафедри ботаніки Інституту технічних культур, директор Кам'янець-Подільського ботсаду), а з 1930 р. на запрошення М.Г. Холодного перейшов у відділ фізіології Інституту ботаніки ВУАН та читав лекції на кафедрі фізіології рослин Київського інституту професійної освіти. Н.Т. Гаморак провів оригінальні дослідження продихового апарату й транспірації рослин, створив низку нових приладів та методів для фізіологічних досліджень, зокрема транспірограф для вимірювання транспірації рослин.

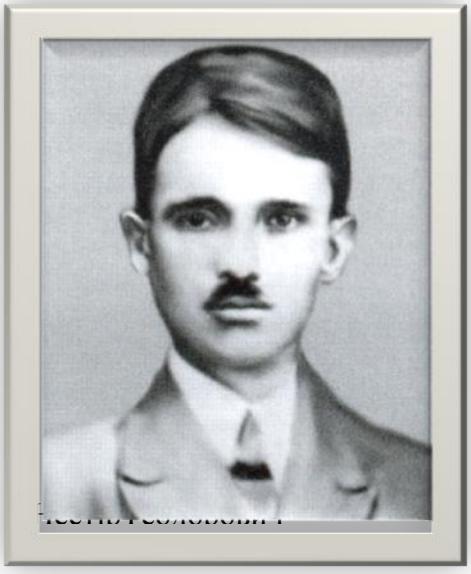


Рис. 1.11. Нестір ТеодоровичГаморак

Перший період розвитку фізіології рослин називають університетським, адже багато учених, які поєднували викладацьку діяльність з роботою наукових установах, виховали цілу плеяду майбутніх ботаніків. Одним з осередків

значного наукового потенціалу в довоєнні роки, був Київський університет. У 1834 р. у складі філософського факультету Імператорського університету Святого Володимира (нині Київський національний університет імені Тараса Шевченка) засновано кафедру ботаніки, у складі якої згодом виокремилися відділення «Морфологія і систематика рослин» та «Анатомія і фізіологія рослин». Впродовж 1873–1898 рр. курс анатомії і фізіології рослин читав вищезгаданий організатор першої зіфіологічної лабораторії О.В. Баранецький. У 1894 р. на її базі створено кафедру анатомії та фізіології рослин, яку впродовж 16 років очолював К.А. Пурієвич (1866–1916). Він досліджував перетворення в рослинах органічних кислот, явищ пов'язаних з проростанням насіння, коефіцієнтів використання сонячної енергії при фотосинтезі, обладнав найкращу в колишній імперії фітофізіологічну лабораторію.

У 1906–1933 рр. тут працював М.Г. Холодний, який очолив новостворену кафедру мікробіології (1933). Кафедру фізіології та біохімії рослин очолив О.М. Льовшин (1875–1946). Саме він запропонував оригінальну гіпотезу процесу фотосинтезу, розширив уявлення про водний режим рослин. Під його керівництвом на кафедрі фізіології рослин проводились дослідження з біохімії фотосинтезу, екологічних проблем, розроблялись методи польових та експедиційних дослідів, велика увага приділялась конструюванню приладів (Н.І. Вакуленко).

Значний внесок у розвиток фізіології і біохімії рослин в 30-ті роки внесли також Ф.М. Порадко (Одеський університет ім. І.І. Мечникова), О.О. Шаталова-Залеська, О.М. Кухаренко (Харківський університет ім. О.М. Горького). У цей період розпочато дослідження фізіолого-біохімічної ролі мікродобрив, які пізніше послужили теоретичною основою для створення нових видів добрив з добавками мікроелементів (П.А. Власюк). У 1933 р. М.Ф. Бугаєвським запропоновано метод визначення життєздатності озимих, який широко використовується і в наш час.

Член-кореспондент АН УРСР Ф.П. Мацков (1897–1977), працюючи в наукових установах та навчальних закладах Харківщини (сільськогосподарська дослідна станція, Український інститут прикладної ботаніки, сільськогосподарський інститут, науково-дослідні інститути агролісомеліорації та лісового господарства й рослинництва, селекції та генетики), досліджував агрофізіологію та фотоперіодизм рослин. Він автор посібника для студентів аграрних вузів, розробляв способи позакореневого живлення культур. Учений обґрунтував важливість якості (спектрального складу) світла для формування фотоперіодичної пристосованості рослин; довів можливість керування процесом формування типу рослин короткого або довгого дня.

Слід відмітити, що школи Є.П. Вотчала, В.М. Любименка, М.Г. Холодного, засновані в Україні в довоєнний період, нагромадили комплекс теоретичних знань про життєдіяльність рослинного організму, що дозволяє поставити їх в один ряд з передовими науковими школами світу. Але розвиток досліджень у галузі фізіології рослин в Україні був призупинений в роки Другої світової війни. Величезна шкода, заподіяна війною, затримала розгортання наукової роботи в цій галузі і в перші повоєнні роки. Незважаючи

на матеріальні збитки, уже в перші повоєнні роки почали відновлювати роботу наукові установи, створюватись нові університети та інститути.

Вагомою віхою розвитку фізіології рослин було створення 15 травня 1946 р. на базі

Рис. 1.12. Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

відділу фізіології живлення рослин і агрохімії Інституту ботаніки АН УРСР профільної установи – Інституту фізіології рослин і агрохімії АН УРСР (рис. 1.12, постанова № 1692 від 20 жовтня 1945 р. Ради народних комісарів УРСР і ЦК КП(б)У). Першим директором інституту (1946–1953) був академік АН УРСР О.І. Душечкін (1874–1956, рис. 1.13), організатор першої в Радянському Союзі кафедри агрохімії (нині Кафедра агрохімії та якості продукції рослинництва ім. О.І. Душечкіна НУБіП). Він обґрунтував теорію і практику живлення рослин, динаміку перетворення поживних речовин у ґрунті, що дозволило розробити ефективні способи використання добрив, впровадив заходи з підвищення родючості піщаних ґрунтів Полісся. Створив потужну наукову школу: академік ВАСГНІЛ П.А. Власюк, професори В.С. Денісієвський, П.А. Гірко, І.Л. Колоша, І.С. Миронівський та ін.

Від початку інститут мав лише чотири відділи, а згодом їх стало шість: агрохімії (керівник А.І. Душечкін); фізіології живлення (П.А. Власюк); рослинництва і агромеліорації (Н.А. Тюлєнєв); росту і розвитку рослин (Т.Т. Демиденко); фізіології стійкості рослин (А.Г. Михайловський); біохімії рослин (А.С. Оканенко). З появою окремих структурних підрозділів у фізіології рослин як науці почали оформлюватися певні напрями досліджень.

Рис. 1.13. Олександр ІвановичДушечкін

Рис. 1.14. Петро АнтиповичВласюк

Можна стверджувати, що потужний виток установа, а разом з нею і фітофізіологічні дослідження отримали з призначенням у 1953 р. на посаду директора академіка АН УРСР та ВАСГНІЛ П.А. Власюка (1905–1980, рис. 1.14) –

видатного українського вченого XX ст. у галузі фізіології живлення рослин, агрохімії, ґрунтознавстава, біохімії, мікробіології, якому належить низка фундаментальних наукових праць з питань кореневого і некореневого живлення рослин, застосування добрив. Він по праву вважається основоположником вчення про роль мікроелементів у розвитку рослин в Україні. П.А. Власюком проведено вивчення біологічної ролі мікроелементів (марганцю, молібдену, цинку та інших) в життєдіяльності рослин та їх застосуванні у сільському господарстві. Особливу роль приділяв створенню нових більш ефективних і економічно вигідних добрив з мікроелементами. Під його керівництвом велися масштабні дослідження біологічної ролі мікроелементів на організменному, клітинному, субклітинному та молекулярному рівнях. Науковий доробок академіка налічує 40 монографій, навчальних посібників, брошур і понад 1000 статей, тез у наукових збірниках, журналах тощо.

Уперше в Україні і одним із перших на території колишнього СРСР П.А. Власюк застосував радіоізотопний метод. Він є автором або співавтором, як співучасник багатьох наукових розробок: «Агрофизиологические основы питания растений», «Микроэлементы и радиоактивные изотопы в питании растений» (1956), «Физиология питания растений» (1966), виданих не тільки в СРСР, але і інших країнах світу.

П.А. Власюк створив наукову школу висококваліфікованих спеціалістів, зокрема підготовлено 27 докторів і 150 кандидатів наук. Серед них З.М. Климовицька, В.І. Івченко, М.Ф. Охріменко, П.П. Кибаленко, Е.В. Рудакова, Л.М. Кузьменко та інші.

Глибокі теоретичні дослідження П.А. Власюка та його колег сприяли створенню способів та норм внесення мікроелементів як елементів живлення з метою отримання найбільшого ефекту від їх застосування. Під його керівництвом в 1950–1956 рр. та 1962–1964 рр. обстежено та проаналізовано ґрунти в усіх областях України. У результаті проведених досліджень в 1964 р. створено перші в Україні картограми щодо вмісту мікроелементів в ґрунтах різних кліматичних зон України та встановлено гранично допустимі концентрації важких металів як елементів техногенного забруднення. Ці питання висвітлено у збірнику наукових праць «Микроэлементы в окружающей среде» (1980) під редакцією П.А. Власюка.

У 1955 р. за ініціативою і під керівництвом П.А .Власюка створено відділ фізіології і біохімії мікроелементів, а в 1956 р. під керівництвом член-кореспондента АН УРСР професора А.С. Оканенка – відділ фізіології і екології фотосинтезу. У 1956–1962 рр. установа під назвою Український науково-дослідний інститут фізіології рослин входила до складу Української академії сільськогосподарських наук, яку очолював П.В. Власюк. З 1962 р. інститут підпорядковується Академії Наук УРСР (НАН України) під назвою Інститут фізіології рослин (нині Інститут фізіології рослин і генетики – ІФГР).

Із метою розширення фундаментальних теоретичних досліджень було створено нові відділи: у 1962 р. – відділ біофізики і радіобіології (на базі лабораторії застосування радіоактивних ізотопів) (очолив Д.М. Гродзинський) і

відділ взаємовідносин рослин і нижчих мікроорганізмів (А.В. Манорик); у 1964 р. – відділ біохімії фотосинтезу (створений під керівництвом професора Л.К. Островської); у 1966 р. – відділ фізіології дії гербіцидів (Є.Ю. Мережинський); у 1968 р. – відділ водного режиму рослин (С.І. Слухай).

За ініціативою П.А. Власюка з 1969 р. в Інституті фізіології рослин розпочалося видання журналу «Физиология и биохимия культурных растений», головним редактором якого був директор інституту. Одночасно П.А. Власюк був членом редколегій багатьох інших журналів, керував Науковою радою з проблеми «Мікроелементи» при АН УРСР, що координувала наукові дослідження в цій галузі в Україні та Молдові.

З 1973 по 1974 рр. директором інституту був член-кореспондент АН УРСР А.В. Манорик, завідувач відділу взаємовідносин рослин та нижчих організмів (з 1975 року – відділ симбіотичної азотфіксації). Основні його праці стосуються проблеми біологічного зв'язування молекулярного азоту симбіотичними системами бобових.

У 1974–1986 рр. інститутом керував академік АН УРСР Д.М. Гродзинський. У цей час в інституті налічувалось уже 13 відділів, тематика яких охоплювала всі основні напрями фізіологічної науки. Це перш за все, відділи фізіології живлення рослин, відділи фізіології росту і розвитку рослин та фізіології дії гербіцидів, фізіології стійкості та біохімії рослин, біофізики і радіобіології, симбіотичної азотфіксації (створений у 1985 р. на основі відділу взаємовідносин рослин і нижчих мікроорганізмів), фізіологічної адаптації рослин, фізіологічних основ селекційного процесу, біохімії фотосинтезу, а також фізіології і екології фотосинтезу, у 1980 р. організовано лабораторію фізіологічних основ селекційного процесу.

Рис. 1.15. Аркадій Семенович Оканенко

Серед наукових робіт співробітників інституту насамперед слід відзначити роботи А.С. Оканенка (1894–1982, рис. 1.15) – послідовника наукових традицій Є.П. Вотчала та засновника наукової школи з фізіології та екології фотосинтезу. Разом з Л.К. Островською (1913–1998) та Х.М. Починком розробив теоретичні основи оптимізації фотосинтетичної продуктивності та цукристості цукрового буряка. Під керівництвом А.С. Оканенка досліджено шляхи підвищення інтенсивності і продуктивності фотосинтезу в онтогенезі рослин, використання ними сонячної енергії, розроблено способи прискорення формування урожаю цукрового буряка та промислову технологію вуглекислого підживлення рослин на теплично-овочевих комбінатах. Безпосередню участь у виконанні цих робіт приймали Х.М. Починок, Б.Й. Берштейн, Б.І. Гуляєв, Б.О. Митрофанов та ін. За розробку теоретичних основ підвищення фотосинтетичної продуктивності та цукристості цукрового буряка, узагальнених в монографії «Фізіологічні основи підвищення

цукристості цукрових буряків» (1966 р.), А.С. Оканенку в 1968 р. присуджено Державну премію СРСР].

Заслуговують на увагу досягнення в галузі біофотохімії, спектроскопії, електронної мікроскопії та препаративної біохімії хлоропластів та їх фрагментів, які містять компоненти фотохімічних систем. Показана складність організації фотохімічних систем, що включають різні спектральні форми хлорофілу, встановлено два реакційних *центри* фотосистеми І, висвітлена роль ліпідних компонентів в адаптаційних перебудовах структури хлоропластів залежно від умов існування рослин (Л.К. Островська, С.М. Кочубей, М.С. Гамаюнова, С.В. Мануїльська, Г.М. Яковенко, Т.О. Рейнгард, А.І. Ширяєв, А.М. Силаєва, М.Ю. Григора). Підсумки цих досліджень узагальнено у монографіях «Фотохимические системы хлоропластов» та «Организация пигментов фотосинтетических мембран как основа энергообеспечения фотосинтеза».

С.М. Кочубей, яка у 1984–2001 рр. очолювала відділ біохімії фотосинтезу, а також громадську організації «Українське товариство фізіологів рослин», зробила низку важливих досліджень з цієї проблеми та зареєструвала патенти на вимірювач азоту польовий для бездеградаційного визначення вмісту загального азоту в рослинах (1996), спосіб дистанційного визначення вмісту хлорофілу в листках монокультури рослин (1996), спосіб бездеградаційного експрес-визначення азоту в листках злаків (1997), польовий спектрометр для тестування стану рослинності (2012).

У 1990-рр. великого значення набули методи дистанційного моніторингу стану посівів, впровадження яких у сільськогосподарське виробництво створило можливість для прогнозування майбутнього урожаю. Для вирішення цього питання С.М. Кочубей та Т.М. Шадчиною запропоновано принципово нові методичні підходи, які базуються на використанні експрес-визначення вмісту хлорофілу та загального азоту в листках пшениці за допомогою відносних параметрів відбиття люмінесценції.Здійснена їх інструментальна реалізація.

С.М. Кочубей, О.Г. Воловик встановили механізм, завдяки якому за участю фосфопротеїнів світлозбирального хлорофіл а/в комплексу здійснюється регулювання розподілу світлових квантів між двома фотосистемами, що забезпечують реалізацію первинного процесу фотосинтезу. Фосфопротеїни комплексу фотосистеми ІІ в свою чергу беруть участь у специфічному регулюванні стехіометрії первинних продуктів АТФ і НАДФ.

У 1990-ті роки С.М. Кочубей, Д.Ю. Корнєєв, Л.В. Порубльова, Г.І. Куфрик запропонували принципово нову модель організації тилакоїдів гран, яка базується на уявленнях про зустрічні градієнти концентрацій комплексів фотосистем І і ІІ в латеральному напрямку в мембранах, а також про регульовану щільність стикування тилакоїдів в грані. Динамічні зміни цих структурних характеристик можуть бути спрямовані на регуляцію первинного процесу фотосинтезу. С.К. Ситник виділив та ідентифікував різні ділянки фотосинтетичної мембрани, дослідив їх пігмент-білковий та білковий склад.

Ученими ІФГР НАН України показано, що фосфорилювання білків

фотосинтетичних мембран та їх латеральна міграція між фотосистемами і одним з найважливіших механізмів регуляції фотосинтезу. За участю цього процесу відбувається зміна між електронними потужностями двох фотосистем, підвищення швидкості повного електронного транспорту і утворення відновлювача НАДФ-Н в хлоропластах, що є запорукою високої ефективності фотосинтезу за умов дії несприятливих зовнішніх чинників (О.Г. Воловик).

Спільними дослідженнями ІФРГ НАН України (Т.О. Рейнгард, О.Г. Воловик, Н.А. Зайцева) та Інституту органічної хімії НАН України (О.О. Ясніков) вивчені молекулярні механізми біоенергетичних процесів у хлоопластах, висвітлено низку сторін регуляції фотофосфорилювання та зв'язок цього процесу з роботою протонного насосу. Сформульована гіпотеза щодо існування в хлоропластах двох типів механізму світлозалежного транспорту протонів.

Завідувач відділу фізіології та екології фотосинтезу (1984–1989) Б.І. Гуляєв (1929–2020) вивчав принципи інтеграції і механізми регуляції фотосинтезу, дихання, фотодихання та розподілу асимілятів у донорно-акцепторній системі рослин у зв'язку з продуктивністю та стійкістю генотипів сільськогосподарських культур до дії стресових чинників. Зокрема, у видів рослин із необмеженим типом росту інтенсивність фотосинтезу та ріст окремих органів в донорно-акцепторній системі на рівні цілісного організму знаходяться в непрямій залежності одне від одного, що забезпечує ефективну авторегуляцію складових всієї системи при змінах запиту на асиміляти (А.А. Кірізій).При цьому процес фотодихання (у С-3 видів рослин) відіграє регуляторну роль у донорно-акцепторній системі рослинних організмів в забезпеченні стійкості фотосинтетичного апарату до дії абіотичних стресів (О.О. Стасик).

Ученими показано, що генотипи кукурудзи мають неспецифічну стійкість до дії стресових чинників, пов'язану зі стійкістю до дії стресів фотосинтетичного апарату(Н.О. Уманець). Неспецифічна стійкість фотосинтетичного апарату різних генотипів вищих рослин залежить від ступеня детермінованості, їх вегетативного росту та здатності до тимчасового резервування ситуативно виникаючого надлишку асимілятів в тканинах пагону та кореня (Б.І. Гуляєв).

З'ясовано закономірності онтогенетичного протікання темнового дихання як суми двох складових – дихання росту та дихання підтримки у різних культур. Найбільша інтенсивність дихання кожного органу рослини спостерігалась на ранніх етапах його росту (К.М. Голик).Отримано дані про роль калію в процесах фотосинтезу і дихання та про специфічність перетворення цього елементу в реакціях фосфорилювання (А.С. Оканенко, Б.Й. Берштейн).

Вивчення шляхів міграції енергії в фотофізичній базі фотосинтезу та кінетики взаємозв'язку між фотосинтетичними циклами вуглеводню та іншими біохімічними циклами були основними завданнями біофізичного спрямування досліджень фотосинтезу в ІФГР (Д.М. Гродзинський, М.І. Бідзіля, І.І. Рожко, Б.І. Гуляєв) [38, 92]. Основні досягнення науковців висвітлено в монографічних виданнях «Методика измерения фотосинтетически активной радиации»,

«Темновое дыхание растений» та колективних працях«Фотосинтез и продукционный процесс»,«Фотосинтез, продукционный процесс и продуктивность растений», «Оптимизация возделывания озимой пшеницы по интенсивной технологии».

Дослідженню фотосинтезу як інтегрального процесу присвячені роботи науковців й інших установ, зокрема Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Української сільськогосподарської академії (тепер НУБіП), Одеського університету ім. І.І. Мечникова та ін. Л.О. Ейнором (Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України) проведено роботу з реконструювання енергетичних механізмів фотосинтезу на основі досліджень електронно-транспортних ланцюгів при фотосинтезі, процесів акумуляції енергії, функції пігмент-білкових комплексів, виділених із хлоропластів, показана їх роль в утворенні АТФ і НАДФ-Н.

В Одеському університеті ім. І.І. Мечникова, а пізніше в Українській сільськогосподарській академії на кафедрі фізіології рослин С.І. Лебедєвим (1902–1989) досліджено вплив умов живлення, освітлення та температури на структуру хлоропластів, біосинтез пігментів і енергетичні особливості сільськогосподарських культур. Ученицею С.І. Лебєдєва О.Г.Судьїною та її співробітниками В.М. Парниковим, В.М. Костланом, Г.І. Лозовою та ін. вивчено стан пігментів хлорофілу та каротину, функціонування ферменту хлорофілази. Порушення наливної структури мембран хлоропластів змінювало стан хлорофілу та його функціональну активність (Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України). Ці дані увійшли в монографію «Основы эволюционной биохимии растений».

Співробітниками кафедри ботаніки Мелітопольського державного педагогічного університету імені Богдана Хмельницького вивчено особливості фотосинтезу та продукційного процесу рослин за умов посухи на півдні України (Є.О. Казаков, Т.Є. Христова, С.М. Казакова). Показано, що посуха змінює характер росту міжвузлів стебла кукурудзи, уповільнюючи приріст міжвузлів, що починають ріст, та припиняючи тих, що закінчують. Вивчено ультраструктуру та фотохімічну активність хлоропластів гібридів кукурудзи, які різняться ступенем репродукційного гетерозису (Ю.Г. Масікевич; Т.Л. Шкабара).

На основі вивчення продуктивності фотосинтезу плодових виявлено групу скороспілих високопродуктивних сортопідщепних комбінацій яблуні, груші, черешні, сливи, персика (В.І. Сєнін, Т.Ф. Ковальова – Мелітопольська дослідна станція садівництва імені М.Ф. Сидоренка НААН).

Заслуговують на увагу і комплексні дослідження з фотохімії хлорофілу, зокрема в галузі елементарних процесів фотохімії хлорофілу та механізми міграції енергії, механізми окремих стадій фотосинтетичного процесу та здійснення їх у присутності органічних каталізаторів, вияснення процесів фотохімічної фази фотосинтезу та механізму сенсибілізації фотохімічних процесів пігментами. Це має значення для розкриття загальних закономірностей процесів, необхідних для створення теорії фотохімічної фази

фотосинтезу (В.Я. Даін, І.І.Ділунг – Інститут фізичної хімії ім. Л.В. Писаржевського НАН України).

Для української фітофізіології традиційною стала розробка проблем фізіології росту та розвитку рослин. У повоєнні роки цей напрям розроблявся в ІФГР, Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного та у Львівському державному (нині національному) університеті імені Івана Франка та ін.

В ІФГР дослідження з фізіології росту і розвитку рослин були розпочаті в 1946 р. Т.Т. Демиденком (1891–1959), який з 1946 по 1950 рр. очолював відділ фізіології росту і розвитку. Під його керівництвом встановлено критичні етапи в онтогенетичному розвитку цукрового буряка, щодо потреб в елементах живлення, досліджена роль кореневої системи та особливості її формування як передумова підвищення продуктивності цієї культури та інших сільськогосподарських рослин.

З 1949 р. у відділі під керівництвом Ф.Л. Калініна (1918–2003, рис. 1.16), який очолював відділ у 1951–1988 рр., розпочато вивчення хімічної регуляції росту і розвитку та продуктивності рослин, вперше в Україні та СРСР започатковано дослідження культури рослинних клітин invitrota використання її в фізіологічних дослідженнях. Ученими проведено вивчення первинних реакцій клітинного поділу, росту та диференціації, фізико-хімічних та біохімічних умов переходу клітин у пухлинний стан внаслідок внесення в клітину чужорідної клітинної інформації, простежено зміни в енергетиці клітини, метаболізмі нуклеїнових кислот, білків, регуляторів росту, ліпідів мембран у зв'язку з пухлинною трансформацією клітини (Ф.Л. Калінін, В.В. Сарнацька, В.Є. Поліщук, Л.В. Желтоножська, Г.О. Гладун).

Рис. 1.16. Федір ЛеонтійовичКалінін

Встановлено періодичність генної експресії при індукції росту й поділу, клітини та модифікуючу дію фітогормонів на структурний і функціональний стан хроматину. Обґрунтовано на біохімічному та молекулярному рівнях участь аденілатциклазної системи у формуванні захисних реакцій рослин до температурного стресу. Розроблено технологію боротьби з бактеріальним раком винограду, досліджено особливості росту калюсу люцерни invitro (Ю.П. Мельничук, В.М. Троян, В.К. Яворська, В.К. Мусіяка, І.В. Драговоз, І.М. Гвоздяк). Досліджено роль двох систем попередників – цАМФ та Ca^{2+}-кальмодуліну в реалізації дії зовнішніх сигналів (регуляторів росту, світла, температури) на різних рівнях структурно-функціональної організації клітин (В.К. Яворська, І.В. Драговоз).

У 1988 р. відділ очолив Ю.П. Мельничук (1935–1994), а з 1997 р. цю посаду займала В.К. Яворська. У цей час відділ здійснював пошук джерел фізіологічно активних речовин (полісадаридної чи пептидної природи, фітогормонів тощо) та займався створенням на їх основі препаратів з

рістстимулюючою, протипухлинною та антимутагенною дією. На базі відходів спиртодріжджевої промисловості та продуктів їх переробки (кормова бактеріальна біомаса, продукти термофільного метанового бродіння) розроблено способи отримання гормональних препаратів з високою фізіологічною активністю (С.В. Савинський, І.В. Драговоз, В.К. Яворська). Результати науково-технічної перевірки свідчили про перспективність їх застосування в сільськогосподарському виробництві. З цією ж метою проаналізовано культуральні рідини, що використовуються для промислового виробництва лужної протеази та пекарських дріжджів(В.В. Сарнацька, Г.О. Гладун,В.К. Мусіяка). Виявлено пептиди з певною молекулярною масою та полісахариди, які проявляли антипухлинну та антамутагенну дію. Проводилося всебічне вивчення цих речовин з метою розробки технологій їх застосування для боротьби з бактеріальним раком винограду, підвищення стійкості геному до мутагенної дії різних стресових чинників.

У цьому ж відділі досліджували молекулярні механізми дії фітогормонів (АБК та етилену). Ученими запропоновано антиоксидантний механізм дії АБК, який розглядає зростання, ендогенного рівня цього фітогормона як реакцію захисних антиоксидантних систем живих організмів на інтенсифікацію окиснювальних процесів стресових умовах (Б.О. Курчій). Результати цих досліджень узагальнено в монографії «Чторегулируют регуляторы роста».

Основні досягнення з даної проблеми висвітлено в одноосібних та колективних монографіях: «Эмбриональное развитие растений», «Регуляторы роста растений», «Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений» (удостоєна премії ім. М.Г. Холодного),«Биохимия регуляции онтогенеза растительной клетки», «Вилияние ионов кадмия на клеточное деление и рост рост растений», «Технология микроклонального размножения растений»,«Физиологические аспекты опухолевого роста»,«Клітинний цикл рослин та його регуляція», «Физиологическая роль циклического 3,5-аденозитмонофосфата в растительной клетке».

Дослідниками ІФГР запропоновано низку заходів, що мають важливе практичне значення: вершкування та пасинкування тютюну (В.К. Борейко), засіб знищення злісного бур'яну гірчака рожевого (А.М. Міхно, В.К. Мусіяка), запобігання виляганню озимої пшениці та жита (М.І. Ястрембович, М.С. Шалабай, Б.О. Курчій, Г.В. Іванюк), зменшення витрат цукру у коренеплодах цукрового буряка в процесі їх зберігання (В.П. Лобов, В.З. Чирятьєва та інші).

До досліджень фізіології росту і розвитку рослин безпосередньо прилучалися роботи, спрямовані на вияснення механізмів генетичного контролю онтогенезу. Ці питання знаходились у центрі наукових інтересів відділубіохімії рослин, створеного в 1946 р. під керівництвом А.С. Оканенка, який пізніше очолювали Л.К. Островська, І.Г. Вивально, В.П. Лобов. Ученими досліджено органоспецифічність популяцій мРНК в онтогенезі цукрових буряків і соняшника, особливості регуляції експресії генів на посттранскрипційному рівні (І.А Петров, О.М. Тищенко). Дана біохімічна і імунологічна характеристики ключового ферменту, метаболізму сахарози –

сахарозосинтази та вивчена можливість регуляції сахарозофосфатсинтази в листках і коренеплодах цукрового буряка за допомогою фізіологічно активних речовин в зв'язку цукроонакопиченням (В.Д. Сакало). Встановлено зв'язок транскрипції генів і сайт-специфічного метилування ДНК при реалізації генетичних програм в онтогенезі культурних рослин. Показана участь посттранскрипційних змін РНК у формуванні наборів мРНК рослин, що транслюються (О.М. Тищенко).

Значний внесок у вирішення проблем росту і розвитку рослин зроблено вченими Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Фізіологія процесів росту рослин, їх окремих органів, а також проблема корелятивних відношень між ними вивчались у відділі фізіології рослин (на сьогодні фітогормонології) цього інституту під керівництвом директора Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (1970–2003) академіка НАН України К.М. Ситника (1926–2017) і завідувачки відділу фізіології рослин цього інституту, член-кореспондента НАН України Л.І. Мусатенко (1936–2018) (О.Б. Бойчук, Я.А. Дудинський, Р.Ф. Процко). Результати цих досліджень узагальнені в монографії «Физиолого-биохимические основы роста и развития растений» (1966).

Інтегративний підхід до вивчення росту та метаболізму окремих органів рослин, властивий саме українським ботанікам-фізіологам, дозволяє зробити висновок про специфічність обміну речовин на різних етапах ростового процесу, яка проявляється у зміні динаміки нуклеїнових кислот, амінокислот, білків та фітогормонів. Цей же підхід застосовано при вивченні морфології, структури та фізіологічних функцій кореневої системи. Висвітленню даної проблеми присвячена монографія «Физиология корня», відзначена премією ім. М.Г. Холодного.

Результатом наукового аналізу, систематизації і узагальнення власних досліджень листка в процесі його росту створена монографія «Физиология листа», яка, як і попереднязаслужила визнання широкого кола фітофізіологів. Співробітником відділу фітогормонології В.А. Негрецьким запропоновано нові уявлення щодо механізмів індукції цвітіння рослин, здійснено глибокий аналіз гормональної регуляції онтогенетичного розвитку рослин (Л.І. Мусатенко, В.М. Генералова). Проведено дослідження комплексу фітогормонів морських водоростей, сапрофітних та патогенних грибів, а також інфікованих нимирослин пшениці (Л.І. Мусатенко, А.О. Падун, В.А. Васюк, А.Н. Нестерова, В.М. Генералова, Н.П. Вєдєнічева). Показано, що фітопатогенні гриби є активними продуцентами ІОК, АБК, та ГК, що свідчить про перспективність створення на їх основі гормональних препаратів та екологічно чистих добрив для сільськогосподарських рослин. Розроблено хімічні засоби боротьби з втратами цукру при зберіганні коренеплодів цукрового буряка (Р.Ф. Процко, В.Б. Варшавська). Логічним продовженням цих робіт було вивчення особливостей морфології, структурної організації і обміну речовин при дозріванні та проростанні насіння, молекулярних механізмів росту та фітогормонального статусу в явищах росту та розвитку рослин (Л.І. Мусатенко, Г.Г. Мартин, Т.Л. Богданора, В.М. Троян та ін.). Нині відділ фітогормонології

(перейменований у 1994 р.) під керівництвом І.В. Косаківської займається вивченням фітогормонів відділу Polypodiophyta, досліджує участь фітогормонів у регуляції онтогенезу, здійснює пошук сполук і механізмів, які регулюють перехід рослин зі стану спокою до активного росту та розвитку, проводить ультраструктурний аналіз хлоропластів, визначення складу та вмісту пігментів у листках водної папороті *Salvinia natans*, з'ясовує клітинні механізми адаптації різних сортів пшениці та сої до дії високої та низької температур і посухи тощо.

Вагомий внесок у розвиток фізіології росту та розвитку рослин належить професору С.О. Гребінському (1905–1987), який очолював кафедру фізіології рослин Львівського державного (нині національного) університету імені Івана Франка у 1945–1974 рр. Під його керівництвом досліджувались фізіолого-біохімічні основи росту рослин та різні способи його стимуляції з метоюпідвищення врожаю і отримання продукції вищої якості. Розроблено рекомендації щодо застосування гербіцидів у парковому господарстві. Ним та його учнями (О.І. Терек) встановлено, що активація ростового процесу при виході бруньок зі стану спокою супроводжується підвищенням вмісту вільних форм фітогормонів (ауксинів та гіберелінів), а зупинка росту – високим вмістом інгібіторів (АБК та фенольних сполук). Відомою є капітальна праця С.О. Гребінського «Рост растений» (1961), яка і сьогодні не втратила актуальності.

Дослідження, започатковані С.О. Гребінським, успішно продовжувалися на кафедрі фізіології рослин під керівництвом професора О.І. Терек (завідувачка кафедри фізіології та екології рослин цього університету з 1992 р.). Зокрема, вивчався вплив регуляторів росту природного та синтетичного походження на ріст і розвиток рослин, їх стійкість до стресових чинників (важких металів тощо) (В.І. Баранов, Н.В. Воробець, Н.Д. Романюк.,О.К. Сех). Велика увага приділяється пошуку речовин з протекторною дією, зокрема таких, що послаблюють вплив важких металів, в умовах техногенного забруднення.

Одна з важливих загальнобіологічних проблем – полярність у процесах росту і розвитку рослин – упродовж багатьох років приваблювала увагу учня Н.Т. Гаморака професора Г.Х. Молотковського (1899–1985), який працював на кафедрі ботаніки Кам'янець-Подільського інституту народної освіти та в ботанічному саду Кам'янця-Подільського, завідував кафедрою фізіології рослин і мікробіології Житомирського сільськогосподарського інституту (1933–1941), а з 1945 р. – кафедрою фізіології рослин Чернівецького університету. Він першим сформулював закон полярності розвитку рослин, обґрунтував поняття коефіцієнтів полярності і ступінчастості, що характеризують життєву активність органів рослин. Разом з тим з'ясував, для клітин і органів нижньої частини притаманні кореневі властивості, а для верхньої – листостебельні.

Його послідовник ректор університету у 1987–2001 рр., професор С.С. Костишин (1932–2022), на основі цього вчення сформулював концепцію кількісної поліфункціональності гетерозису кукурудзи, яка дозволяє конкретизувати існуючі уявлення про природу гібридної «сили» і є важливою для створення загальнобіологічної теорії гетерозису рослин. Не залишаються

поза увагою фітофізіологів цього університету екологічні проблеми, зокрема вплив важких металів на ріст і розвиток рослин у різних кліматичних та ґрунтових зонах України.

Питанням, пов'язаним з полярністю рослин, ярусному розподілу води та різних метаболітів у зв'язку з цим явищем, присвячені також роботи директора Ботанічного саду імені академіка Олександра Фоміна (1961–1975) професора Київського державного (нині національного) університету імені Тараса Шевченка І.П. Білоконя (1914–1975).

Дослідження механізмів індивідуального розвитку рослин, зокрема морфофункціональної організації архегоніат, дозволило професору О.Т. .Демківу (Інститут екології Карпат НАН України) сформувати новий напрям – експериментальну бріологію. Під його керівництвом проведено оригінальні дослідження, присвячені регуляції морфогенезу, тропізмів, полярності, мембранного транспорту, запропоновано модель росту і розвитку рослин.

У розвиток фізіології водоростей та гідрофітів суттєвий внесок зробили вчені Інституту гідробіології НАН України. На базі багаторічних досліджень еколого-фізіологічних особливостей формування фітопланктону річок Дніпра, Дністра, Дунаю та їх водосховищ Л.Я. Сіренко із співробітниками проаналізували закономірності формування альгоценозів під впливом техногенного забруднення. Ними виділено загальні біологічні та фізіолого-біохімічні реакції, що зумовлюють адаптацію і виживання водоростей в екстремальних умовах. Ученими доведено доцільність використання водоростей як джерел кормових, харчових та енергетичних ресурсів, біологічно активних сполук і технічної сировини, а також як основної ланки для очищення стічних вод.

Фізіологами Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН на підставі вивчення фізіологічних параметрів завершено паспортизацію генофонду цукрових буряків, встановлено сортову специфічність засвоєння мінерального азоту за активністю нітратредуктази, глютамінсинтетази та накопичення азотних сполук в органах рослин (В.О. Борисюк, В.І. Левковський, В.І. Клячко). Досліджено фізіологічну роль ферментів, що контролюють завершальні етапи первинного синтезу сахарози (Є.В. Лещенко). У цьому ж інституті (пізніше в ІФГР НАН України) Л.О. Лісневич вивчено електрофоретичні і імунохімічні спектри запасних білків ліній і гібридів цукрового буряка. Відомі також роботи Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків із застосування регуляторів росту різного спрямування у буряківництві – для підвищення врожайності та цукристості коренеплодів, поліпшення умов їх зберігання та якості насіння (В.С. Доля, В.О. Борисюк). Великий обсяг робіт проведено з культурою ізольованих тканин цукрового буряка та стевії (І.І. Ільєнко, Т.К. Яворська).

У Таврійському національному університеті імені В.І. Вернадського під керівництвом завідувача кафедри фізіології рослин і біотехнології, професора М.К. Мананкова (1932–2004) розроблено способи впровадження гібереліну для підвищення урожайності винограду (М.К. Мананков, С.І. Чмельова), виявлено

стабілізуючу дію цитокініну (БАП) на проникність мембран та розвиток різних культур в умовах холоду та сольового стресу (В.Г. Блохін, С.О. Мельничук, С.М. Кабузенко).

Велике значення надавалося практичному застосуванню регуляторів росту в сільськогосподарському виробництві для оптимізації продукційного процесу зернових, зернобобових та овочевих культур. Науковцями Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії імені В.П. Кухаря НАН України, ІФГР НАН Украйни і Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України проводилися комплексні дослідження регуляторів росту рослин від створення і всебічного вивчення до розробки технологій їх застосування у виробництві. Створено низку нових індивідуальних препаратів на основі N-оксидів похіднихпіридину та їх композицій з регуляторами росту природного походження. Нові препарати при мінімальних витратах сприяли підвищенню врожаю та покращенню якості продукції (С.П. Пономаренко, Г.С. Боровикова, В.Д. Сакало). З цією ж метою регулятори росту застосовувалися у Харківському університеті (В.В. Жмурко, Ю.А. Садовниченко),Інституті овочівництва і баштанництва НААН (С.Я. Ледовський, В.О. Горбовцов), Уманському національному університеті садівництва (З.М. Грицаєнко, А.С. Меркушина).

Екологічними аспектами застосування фізіологоактивних речовин і біостимуляторів в агрофітоценозах займалися науковці Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААН (О.І. Шевченко. Л.О. Турченюк, Я.О. Шевченко) [110].Вплив синтетичних регуляторів росту на продуктивність цукрового буряка та активність інвертази досліджував професор А.А. Булах (1939–2022), який у 1965–1991 рр. працював в ІФГР, а в 1992–1999 очолював кафедру фізіології рослин та біотехнології в НУБіП. Корекція біометричних показників розсади в маточних насадженнях полуниці за допомогою ХХХ, проводилася в Миколаївському національному аграрному університеті (Т.Г. Самойленко, Н.А. Самойленко).

Багаторічними дослідженнями вчених Дніпровського державного аграрно-економічного університету доведено екологічну роль гумінових речовин, їх позитивний вплив на ґрунтову родючість і зменшення токсичної дії екотоксикантів на біокомпоненти екосистем, теоретично обґрунтовано їх практичне застосування для екологізації сільськогосподарського виробництва й охорони навколишнього середовища (А.І. Горова, Д.С. Орлов, О.В. Шербенко, Л.К. Ткаченко, Т.В. Філіпова, Л.А. Христєва).

Рис. 1.17. Андрій МихайловичГродзинський

Великий колектив фітофізіологів займався дослідженням видільної функції рослин та їх хімічноївзаємодії між собою. Цьому питанню присвячені визнані у світовій науці праці академіка АН УРСР А.М. Гродзинського (1926–1988, рис. 1.17) – основоположника сучасної алелопатії. Дослідження цієї проблеми він розпочав в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного АН УРСР,

продовживши їх в Центральному ботанічному саду (нині Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України), який він очолював до 1988 р. Учений розглядав алелопатію як кругообіг фізіологічно активних речовин у біогеоценозі, що відіграє роль регулятора внутрішніх та зовнішніх взаємозв'язків і є причиною рівноваги, стійкості та зміни рослинних угруповань. Він вважав алелопатію самостійною біологічною проблемою, розробка якої надзвичайно важлива для фізіології та біохімії рослин, геоботаніки та рослинництва в цілому. А.М. Гродзинським визначено роль алелопатичної взаємодії рослин та гібридів у природних та штучних ценозах, перетворення колінів, розроблено методи регулювання польової токсичності. Разом з тим учений сприяв використанню рослин для створення фітодизайну, в медицині, космічній біології, активно займався питаннями інтродукції і акліматизації рослин, був координатором з питань розвитку фізіології і біохімії рослин в Україні.

Започаткований А.М. Гродзинським напрям активно розвивається учнями і послідовниками цього неординарного і надзвичайно багатогранного вченого. Співробітниками Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України вивчені алелопатичні особливості польових, плодових, лісових, декоративних рослин та деяких бур'янів (Н.Н. Дзюбенко, П.А. Мороз, Л.І. Крупа, Г.Г. Баранецький, Н.І. Прутенська, В.Я. Мар'юшкіна), досліджено їх роль в алелопатії вищих рослин, грибів і бактерій (Е.А. Головко, О.Ю. Кострома), розробляються методи регулювання ґрунтової токсичності (С.О. Горобець) Дослідження алелопатичних властивостей плодових культур дозволило з'ясувати причини виснаження ґрунтів, яке проявляється в пригніченні росту та зниженні продуктивності молодих дерев, висаджених на місці викорчуваних старих при ремонті чи відновленні насаджень.

Ученими ботанічного саду виявлено в цибулі стероїдні глікозиди і вивчено їх хімічні властивості (Е.А. Головко, Л.С. Ахов, О.І. Дзюба); досліджено дію біологічно активних речовин звіробою, на їх основі створено лікарські препарати з антидепресивною дією (Л.П. Лебеда, О.Ю. Маковецька).

Одним із важливих напрямів фізіології рослин, пов'язаних з регуляцією росту і розвитку, є вивчення фізіологічної дії гербіцидів. Цими питаннями займається відділ фізіології дії гербіцидів ІФГР, створений в 1966 р. під керівництвом к.б.н. Ю.Г. Мережинського. За більш ніж 30-літній період існування відділу його співробітниками вивчено механізм фітотоксичної дії похідних хлораліфатичних, хлорфеноксіоцтових кислот та інших сполук, поведінка токсикантів у рослинах при внесені сумішей препаратів та їх комплексів з мінеральними добривами (Т.В. Лапіна, Й.Ш. Кофман, О.М. Соснова). На цій основі вперше розроблено ефективні комплекси гербіцидів проти двосім'ядольних і злакових бур'янів, які впроваджено у виробництво на посівах цукрових буряків, кукурудзи, соняшника, картоплі (Ю.Г. Мережинський, О.Г. Семенов, О.М. Соснова, В.М. Іваніщев). Розроблено хімічні та хроматографічні методи визначення в рослинах та ґрунті залишкових кількостей похідних сульфонілсечовини, арилоксифеноксипропіонової кислоти та інших сполук (Т.А. Макарчук, В.В. Швартау), що дає можливість

контролювати рівні токсикантів у рослинах і ґрунті. Створено унікальний «Довідник по гербіцидах» (1971). Запропоновано екологічно безпечні, енергозберігаючі технології застосування гербіцидів у комплексі з фунгіцидами на посівах основних сільськогосподарських культур, що дозволило зменшити кількість обробок токсикантами і знизити норми внесення гербіцидів у 2–3 рази. Знайдено ефективні синергісти, які сприяють зниженню доз при застосуванні ептаму та інших тіокарбаматів (Ю.Г. Мережинський, Є.Ю. Мордерер, В.В. Швартау).

Механізми дії гербіцидів досліджувалися і в інших установах та навчальних закладах України. Зокрема, в Сумському національному аграрному університеті досліджувалася стійкість культурних рослин та бур'янів до гербіцидів класу сульфонілсечовини (В.Д. Чіванов), в Інституті агроекології та біотехнології НААН – можливість використання хлоропластів та білків тилакоїдних мембран для визначення концентрації гербіцидів у розчині (О.О. Созінов, О.В. Пілецька, М.Ф. Лаврик, С.А. Пілецький). Фізіологічні аспекти дії гербіцидів (амідиму, діадему та базаграну) вивчалися в Уманському національному університеті садівництва (О.Г. Малишев, З.М. Грицаєнко, А.С. Меркушина). Проблемі хімічної боротьби з бур'янами в поєднанні з хімічними засобами багато зусиль віддав І.В. Веселовський, завідувач кафедри НУБіП. Він є автором багатьох посібників з цієї проблеми, ним складено атлас бур'янів України та розроблено заходи, направлені на їх знищення.

Розв'язанням проблеми, пов'язаної з біологічною фіксацією азоту, займалися співробітники відділу взаємовідносин рослин і нижчих організмів (симбіотичної азотфіксації). Велика увага приділялась фізіолого-біохімічним особливостям взаємозв'язку рослин та мікроорганізмів (А.В. Манорик, Н.І. Белима, К.П. Гродзинська, В.М. Крикунець, Ю.П. Старченков, В.М. Желюх, Н.Ю. Лісова). Встановлено, що місцем локалізації азотфіксуючої активності в симбіотичних системах бобових є бактероїди (А.В. Манорик, Ю.П. Старченков, В.К. Даценко).

У 1974–1997 рр. під керівництвом Ю.П. Старченкова розпочалася селекційно-генетична робота, направлена на отримання високоактивних вірулентних штамів бульбочкових бактерій, менш чутливих до несприятливих екологічних факторів. Отримано більше ніж 200 клонів транскон'югантів бульбочкових бактерій люцерни, вики, конюшини, сої (Ю.П. Старченков, М.М. Нічик, Н.М. Мандровська). Один із штамів бульбочкових бактерій (М4), виявився більш резистентним до мінерального азоту ґрунту, помітно впливав на утворення бульбочок, азотфіксуючу активність, інтенсивність фотосинтезу та продуктивність рослин (Ю.П. Старченков, М.М. Нічик, С.Я. Коць). Роботи цього відділу узагальнено в колективній монографії під редакцією д.б.н. Ю.П. Старченкова «Связывание молекулярного азота клубеньковыми бактериями в симбиотических и культуральных условиях» (1984), а в 1998 р. цикл наукових праць Ю.П. Старченкова, С.Я. Коця та М.М. Нічик «Фізіолого-біохімічні особливості симбіотичних взаємовідносин бобових рослин і нових штамів бульбочкових бактерій» відзначено премією ім. М.Г. Холодіного. Шляхом транспозонового мутагенезу з використанням в якості донора Тп 5

плазміди psup 2021 одержано ауксотрофний по лейцину мутантний штам, який втратив здатність формувати азотфіксуючий симбіоз з люцерною (В.М. Єрко, Ю.П. Старченков). Досягнено успіху у підборі партнерів за їх комплементарністю, що являє собою великий науковий і практичний інтерес (С.М. Маліченко, О.В. Кириченко, Ю.П. Старченков).

З 1999 р. відділ очолює член-кореспондент НАН України С.Я. Коць. Роботи, що виконуються під його керівництвом, спрямовані на вивчення взаємозв'язку азотфіксації, фотосинтезу і дихання, впливу мінерального азотного живлення та регуляторів росту на інтенсивність цих процесів у бобових культур. Знайдено концентрації мінерального азоту, які не пригнічують функцію нітрогенази, а сприяють азотфіксації та засвоєнню нітратів (О.Д. Кругова, Н.М. Мандровська). Щорічно на основі створених у відділі ефективних конкурентоспроможних штамів бульбочкових бактерій виготовляються різні форми бактеріальних препаратів для інокуляції основних багаторічних бобових трав, зернобобових і зернових культур на площі 25–50 тис. га.

Важливою проблемою фізіології рослин є стійкість рослинних організмів до екологічних стресів. Тому одним із перших відділів новоствореного Інституту фізіології рослин і агрохімії був відділ фізіології стійкості рослин, яким з 1946 року керував О.Г. Михайловський, а з 1957 р. – професор Д.П. Проценко (1899–1980). Вивчались різні аспекти стійкості рослин до несприятливих умов середовища: морозостійкість озимої пшениці, холодостійкість гібридів і сортів кукурудзи, посухостійкість озимої і ярої пшениці та стійкість озимих культур до надлишкової вологи та льодяної кірки. Велика увага приділялась стану пігментів, азотному обміну, інтенсивності дихання, змінам в ультраструктурі хлоропластів, а також розвитку і стану кореневої системи у зв'язку з перезимівлею озимих культур. У 1974 р. відділ фізіології стійкості очолив О.І. Колоша. Під його керівництвом досліджувалися фізіолого-біохімічні характеристики рослин в зимовий період, активність ферментних систем енергетичні процеси та стан мітохондрій в зв'язку з адаптацією до дії холоду (П.С. Мішустіна, Н.В. Шевчук, О.В. Петрова, В.О. Рябокляч, В.С. Кравець та інші).

Ученими встановлено, що у мітохондріях озимих злаків період адаптації рослин до низьких температур інтенсивність енергообміну не лімітується мітохондріальними дегідрогеназами і знаходиться під аденілатним контролем. Показано зростання адаптаційної ролі ліноленової кислоти у сортів м'якої пшениці порівняно з дикорослими видами, виявлено зміни жирнокислотного складу мембран в процесі загартування; при цьому морозостійкі сорти пшениці відрізнялися вищим рівнем абсцизової кислоти порівняно з маломорозостійкими (В.С. Кравець, Т.П. Буколова, Т.Д. Хілько). З 1968 р. формується новий науковий напрям – кріофізіологія, основним завданням якого є пошук шляхів керування адаптивними процесами за допомогою кріопротекторів, хімоадаптантів і інших сполук, що забезпечують виживання рослинного організму в екстремальних умовах. Запропоновано низку кріопротекторів, які значно підвищували стійкість озимої пшениці, винограду,

томатів і інших культур до низьких пошкоджуючих температур, забезпечуючи високу і стабільну врожайність (О.І. Колоша, В.О. Рябокляч, Н.В. Шевчук). Розроблено дистанційну діагностику з використанням авіації для оцінки стану озимих у ранньовесняний період.

У 1993–1997 рр. відділом стійкості рослин керував В.С. Кравець. У цей період основним напрямом роботи було дослідження шляхів трансдукції сигналів, індукованих дією низьких температур та вивчення ролі молекулярних шаперонів у формуванні стійкості рослин до морозів. Вперше виявлено зміни пулу поліфосфатидилінозитол 4,5-бісфосфату до інозитол-1,4,5-трифосфату та диацилгліцеролу при дії холодового шоку (В.С. Кравець, К.П. Нохріна).Показано роль молекулярних шаперонів у підтриманні функцій клітин при низьких температурах, забезпеченні стійкості клітин до дії холоду. В електрофоретичних спектрах новосинтезованих білків мітохондрій і цитоплазми проростків пшениці та кукурудзи, що зазнали впливу холоду, виявлено біжи з молекулярними масами 90 і 70 кД, а також 17-38 кД з функціями молекулярних шаперонів. У тканинах проростків морозостійких сортів озимої пшениці ідентифіковано поліпептид з молекулярною масою 120 кД, синтез якого слабо виражений у сортів з низьким рівнем морозостійкості (В.С. Кравець, П.С. Майор). З'ясовано характер формування альтернативного шляху транспорту електронів у клітинах меристеми, показано зростання його ролі у дозрілих клітинах. Виявлено зміни активності цитохромного та альтернативного дихання в процесі розвитку зародків та активацію альтернативної оксидази в мітохондріях клітин, стійких до дії холоду ліній кукурудзи під впливом низьких температур (В.С. Кравець).

З 1934 р. питаннями морозостійкості плодових культур та пошуком шляхів її підвищення в Інституті садівництва НААН займалась професор М.О. Соловйова, яка керувала лабораторією зимостійкості, пізніше – відділом фізіології і зимостійкості плодових. Нею показано роль живлення та водного режиму у житті плодових культур, з'ясовано значення фізіологічно активних речовин у їх стійкості до температурного фактора. Дослідницею разом з учнями (Г.П. Біличенко, В.В. Грохольським, М.І. Гойса, О.І. Катаєвою) розроблено методи функціональної діагностики деревних рослин, що визначають ступінь підготовки до зими, запропоновано засоби підвищення їх комплексної стійкості. Під керівництвом М.О. Соловйової досліджено дію етрела, ХХХ, ДМСО та інших препаратів на ріст, проходження окремих етапів онтогенезу та регенераційні процеси при ушкодженні плодових рослин морозом (А.В. Капля, Т.О. Мороз, О.В. Брайон). У 2000-х рр. у лабораторії фізіології рослин і мікробіології Інституту садівництва НААН основним напрямом досліджень було вивчення впливу екологічних чинників (перш за все екстремальних температур) та агротехнічних заходів на функціонування системи донорно-акцепторних відносин («джерело-стік») у плодових культур (А.М. Силаєва).

Виявлено зворотний зв'язок між холодостійкістю генотипу та питомою електропровідністю витяжок (В.М. Мусіч – Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення). Важливі фізіологічні дослідження проводилися в Інституті рослинництва ім. В.Я. Юр'єва та

Миронівському інституті пшениці ім. В.М. Ремесла (Д.А. Долгушин, Ф.Г. Кириченко, П.П. Гаркавий, О.П. Сисоєв, В.М. Мусіч, В.І. Бабенко, Ю.П. Шалін, С.В. Вовчук та інші). Вивчалися вплив світла, температури та яровизації на загартування сортів озимої пшениці, формування стійкості рослин до відлиги.

Проводилися дослідження морозо- та посухостійкість зернових, донорно-акцепторні відносини в період формування врожаю та вплив регуляторів росту, що підвищують продуктивність, стійкість до стікання та попереджують проростання зерна у колосі (Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН – О.Ю. Шалін, В.І. Дубовий). Розроблено метод оцінки посухостійкості пшениці за темпами розвитку бічного пагона та показана можливість проходження стадії яровизації в дозріваючих колосках озимої пшениці.

Належна увага приділялася також питанням водного режиму. Ще в кінці 40-х років в Інституті фізіології рослин і агрохімії АН УРСР під керівництвом Т.Т. Демиденко виконано низку робіт, присвячених водному режиму та посухостійкості рослин, зокрема вивчалось надходження елементів мінерального живлення при різній їх вологозабезпсченості. У 1959 р. розпочато дослідження стійкості озимої пшениці до посухи у зв’язку з сортовою специфічністю (П.А. Власюк, Д.П. Проценко, І.Г. Шматько, О.А. Рубанюк, В.М. Ходос, Е.Д. Остаплюк), а в 1968 р. під керівництвом С.І. Слухая створено відділ водного режиму рослин. Основним напрямом роботи відділу було вивчення водною режиму рослин у зв’язку з різним забезпеченням їх елементами живлення в богарних умовах та дослідження особливостей формування врожаю пшениці в умовах зрошування в залежності від доз та способів внесення азотних добрив (С.І. Слухай, І.П. Григорюк, О.Ю. Шведова, К.С. Ткачук, Н.І. Петренко). Розроблено технологію одержання високих врожаїв кормових культур на осушених торф’яних ґрунтах (М.Н. Шевченко).

У 1973 р. відділ очолив І.Г. Шматько, який зацікавився генотиповими особливостями водообміну культурних рослин. Застосування сучасних методів досліджень (ЯМР-спектрометрія, використання дейтерованої і трітісвої води, міченого азоту, визначення параметрів водного потенціалу при стресових впливах на рослину) дозволило отримати важливу інформацію про стан води в зернівках і меристематичних тканинаху нормі та за дії несприятливих чинників, про взаємозв’язок водообміну з метаболітичними процесами. Великого значення надавав І.Г. Шматько вивченню механізмів стійкості рослин до водного і високотемпературного стресів, розробці способів підвищення посухостійкості за допомогою фізіологічно активних речовин.

Ученими відділу запропоновано нові методи оцінки і підвищення стійкості рослин озимої пшениці та картоплі до посухи. Досліджено генотипні особливості складу вільних амінокислот і амідів у листках гібридів кукурудзи та теосинте при різному водозабезпеченні, особливості функціонування продихового апарату пшениці за умов дії високої температури, електрофізіологічні реакції озимої пшениці при водному і температурному стресах, дію і післядію водного стресу на пігментний комплекс озимої пшениці (І.Г. Шматько, Н.І. Петренко, О.Ю. Шведова). Розроблено технологію

застосування полімерних біологічно активних речовин для підвищення продуктивності та стійкості озимої пшениці і картоплі до повітряної та ґрунтової посухи (І.П. Григорюк).

У 1998–2005 рр. відділ фізіології водного режиму рослин очолював член-кореспондент НАН І.П. Григорюк (1941–2022, рис. 1.18), який згодом продовжив дослідження на кафедрі фізіології, біохімії рослин та біоенергетики НУБіП України (2011). І.П. Григорюк – фундатор наукової школи в Україні з вивчення регуляторних систем водообміну, фізіологічних, молекулярно-біологічних і популяційно-генетичних механізмів регуляції, стійкості й адаптації культурних рослин до стресових чинників середовища. Ним та співробітниками відділу досліджено системи регуляції і механізмів стійкості рослин до водного і високотемпературного стресів. З'ясовано, що формування механізмів стійкості рослин до водного і високотемпературного стресів обумовлене характером кристалізації і деструкції полярних ліпідів у мембранах хлоропластів, станом пластидного апарату, динамічними перебудовами водного, енергетичного та фітогормонального балансу (І.П. Григорюк). Вперше оцінено величини пулу функціонуючих фітогормонів і активність кожного із них у процесі адаптації рослин до водного стресу (В.І. Ткачов). Вивчено онтогенетичні особливості адаптивного водообміну і метаболізму азоту гібридів і ліній кукурудзи в умовах водного та високотемпературного стресів (О.Ю. Шведова). Виявлено взаємозв'язок між водним- і поверхневим, біопотенціалами та продуктивністю використання води при формуванні адаптивного потенціалу рослин за умов обмеженого водозабезпечення (Н.І. Петренко). Оцінено вклад проліферативної складової клітинного росту в адаптивні і відновлювальні процеси в апікальних і інтеркалярних меристемах рослин за дії дефіциту води та підвищених температур (О.І. Жук).

Рис. 1.18. Іван ПанасовичГригорюк

Фізіологічні особливості озимої пшениці, жита і кукурудзи при різній їх водозабезпеченості в 1958–1973 рр. вивчались у Всесоюзному науково-дослідному інституті кукурудзи (А.І. Задонцев, Г.Р. Пікуш, В.І. Бондаренко, М.Я. Трегубенко, В.І. Непомнящий, Г.Л. Філіпов), багаторічних деревних культур – в Нікітському ботанічному саду (Г.М. Єремєєв, Є.Я. Яблонський). Вивчення посухо- та жаростійкості рослин здійснювалось і в Київському національному університеті імені Тараса Шевченка (Д.П. Проценко, М.М. Мусієнко, П.С. Славний).

У відділі фізіології рослин Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ з'ясовано роль генетичної різнорідності популяцій рослин у становленні механізмів стійкості і стабільності екосистем на прикладі вивчення водного режиму степових ксерофітів (К.М. Ситник, А.В. Городецький). Дослідженнями встановлено, що на півдні України за умов пізньої посухи мають перевагу ті сорти озимої пшениці, що швидко накопичують суху речовину в зернівці та

повільно зменшують її вологість. При цьому коефіцієнт наливу у посухостійких сортів змінюється менше при меншій вологозабезпеченості (А.К. Ляшок, Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення).

Вивчення морозостійкості, а також посухи і жаростійкості рослин проводилося також у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка на кафедрі фізіології рослин, яку очолював професор Д.П. Проценко, одночасно керуючи відділом стійкості ІФГР. Він та співробітники кафедри (С.Я. Мінінберг, Л.К. Поліщук, А.В. Капля) досліджували вплив несприятливих факторів середовища на продуктивність зернових та плодових культур, звертали увагу на необхідність правильного добору та районування сортів для отримання, високих врожаїв навіть при несприятливих погодних умовах. Д.П. Проценком встановлено зв'язок між морозостійкістю плодових культур, походженням сорту та умовами його розвитку, особливостями ростових процесів і тривалістю періоду спокою, водним режимом тощо. Багато уваги він приділяв також питанням солестійкості та зимостійкості зернових культур, а в останні роки зосереджувався на вивченні природи посухо- та морозостійкості рослин взагалі і пшениці зокрема. Результати цих досліджень були узагальнені у багатьох монографіях, написаних у співавторстві з П.А. Власюком, М.А. Гурильовою, О.І. Колошею, В.М. Ремеслом, В.І. Мусічем, Ф.Г. Кириченком, М.М. Мусієнком та П.С. Славним.

Талановитий дослідник, відданий науці вчений Д.П. Проценко створив одну з найавторитетніших шкіл у галузі фізіології стійкості рослин. Його учні та послідовники і сьогодні працюють у багатьох наукових і навчальних закладах України та інших держав. З 1980 р. кафедрою фізіології рослин більше 10 років керував професор А.В. Капля (1922–1994), а у 1990–2004 рр. кафедру очолював академік НААН М.М. Мусієнко (нині об'єднана з кафедрою ботаніки у новий структурний підрозділ – кафедру біології рослин). Головним науковим напрямом кафедри у 1990–2000-х рр. було вивчення природи стійкості рослин до несприятливих умов довкілля та дослідження можливості регуляції адаптивного потенціалу сільськогосподарських культур (М.М. Мусієнко). Вивчено метаболічну активність клітин кореневої системи в процесах загартування до низьких температур і дію ретардантів на ріст і продуктивність плодових рослин (А.В. Капля, Ю.Ю. Мережиuський, Т.О. Мороз, О.В. Брайон та інші), специфічні та неспецифічні зміни у складі ліпідних компонентів, білків і пігментів фотосинтетичних мембран при формуванні температурного стресу (О.А. Оканенко, Н.Ю. Таран), виявлено можливість використання функціонального складу рослин (О.В. Брайон). Досліджено динаміку ростової реакції проростків пшениці на підвищену температуру. Встановлено зв'язок між ростовою реакцією на високу температуру та проліферативною активністю листкової меристеми (М.М. Мусієнко, О.В. Харламов, А.М. Косян). Головні наукові досягнення науковців кафедри висвітлено в монографіях та підручниках: Мусієнко М.М. «Фотосинтез», «Практикум з фізіології рослин», «Біологія: основні терміни і поняття»,та колективних – «Жаростойкость озимой

пшеницы и ее диагностика» (Мусиенко Н.Н., Капля А.В. (1995)), «Біологія» (Мусієнко М.М, Вервес Ю.Г., Славний П.С. (1999)).

Питаннями впливу промислових відходів на розвиток рослин, а також патогенезом хвойних при ураженні деревних рослин кореневою губкою займалися науковці Запорізького національного університету (В.П. Безсонова, С.О. Яковлєва, Л.М. Фендюр), Донецького національного університету імені Василя Стуса, Криворізького державного педагогічного університету (І.А. Давидов), Інституту зернових культур НААН, Дніпровського державного аграрно-економічного університету. З метою підбору порід, стійких до забруднення, з'ясовувався механізм проникнення, накопичення та включення фітотоксикантів у метаболізм рослинної клітини, пилозахисні можливості рослини та їх використання в умовах шкідливого виробництва. Досліджувалися фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні аспекти адаптації рослин до дії фітопатогенів, гербіцидів, промислових біотоксикантів, а також малих доз радіоактивного випромінювання. Розроблено біотести для оцінки стану рослин в умовах комплексного забруднення навколишнього середовища (О.М. Вінниченко, В.С. Феденко, В.С. Стружко, Л.П. Мицик, І.О. Філоник, Н.П. Коцюбинська, Н.І. Штеменко).

Дослідження фізіології стійкості до промислових викидів підприємствами і транспорту проводились у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України. Результати цих досліджень, а також практичні рекомендації до підбору рослин при вирощуванні в умовах міст і промислових підприємств наведенні в монографії Г.М. Ількуна «Газоустойчивость растений».

Важливе місце в становленні фізіології рослин, як науки, відводиться проблемі живлення рослин. Перші дослідження в цьому напрямі започатковані в 1939 р. в найстарішому відділі – відділі живлення рослин, який знаходився в Інституті ботаніки АН УРСР. До 1955 р. відділом живлення (уже в структурі Інституту фізіології рослин) керував академік АН УРСР і ВАСГНІЛ П.А. Власюк, у 1955–1958 рр. – І.А. Сіроченко, у 1958–1966 рр. П.П. Мельничук, у 1966–1980 рр. О.Д. Хоменко, у 1981–1986 рр. І.М. Гудков, у 1987–2000 рр. К.С. Ткачук, 2001–2003 рр. – Ж.З. Гуральчук, 2003–2005 рр. – М.Ф. Михальський. З 2005 р. відділ очолює член-кореспондент НАН України В.В. Швартау. За цей період вивчалися фізіолого-біохімічні основи використання різних видів мікродобрив, механізми надходження в рослини елементів живлення, вивчались фізіологічні механізми живлення рослин при використанні комплексних мінеральних добрив, вплив умов живлення на фізіологічні процеси, продуктивність і якість врожаю. Опрацьовувалися фізіологічні критерії, використання яких дозволяло оцінювати потребу рослин в окремих елементах живлення. Науковцями відділу розроблено інтеграційно-біологічний метод оптимізації мінерального живлення культурних рослин. Академіком П.А. Власюком та його співробітниками підготовлені монографії, в яких висвітлено фізіологічну роль марганцю та інших мікроелементів в рослинному організмі. Це, зокрема, П.А. Власюк, А.В. Манорик «Обогащенные компосты», П.А. Власюк «Марганцеве живлення і удобрення рослин», П.А. Власюк, З.М. Климовицкая «Физиологическое значение марганца для

роста и развития растений», П.А. Власюк «Биологические элементы в жизнедеятельности растений» та інші. Заслуговують на увагу праці І.А. Сіроченка щодо ролі калію в поліпшенні якості буряка за умов реутилізації елементів живлення його ростучими частинами.

Великий внесок у розвиток фізіології живлення належить А.В. Манорику, О.Д. Хоменку, А.П. Кибаленку, М.Н. Зражевському, С.І. Слухаю, П.П. Мельничуку, Е.В. Рудаковій, М.Ф. Охріменку, В.І. Івченку, М.О. Харченку та багатьом іншим. Вони дослідили роль активних і пасивних процесів транспорту іонів і солей в клітинах рослин, експериментально підтвердили гіпотезу подвійного механізму поглинання іонів і солей коренями інтактних рослин. З 1981 р. відділ фізіології живлення рослин спрямовував свої зусилля на вивчення функціональної ролі мікроелементів, досліджував умови живлення рослин на меліорованих землях, впроваджував у виробництво борні добрива (А.П. Кибаленко, М.Ф. Охріменко, В.П. Ніжко, М.В. Приходько, М.О. Харченко). Значне місце в цих роботах займала проблема транспорту в рослині макро- та мікроелементів та пошук речовин, здатних цілеспрямовано замінювати транспортні потоки елементів живлення. Створено спеціалізовані системи мінерального живлення для нетрадиційних видів рослин, які можуть бути використані як джерело кормового та харчового білку.

Розроблено засоби вдосконалення систем живлення рослин шляхом застосування збагачених мікроелементами чи фізіологічно активними речовинами новостворених комплексних добрив, що сприяють підвищенню врожайності культур та підвищенню якості споживчої продукції за вмістом нітратів, білку, клейковини і цукру (К.С. Ткачук, Л.М. Кузьменко, Ж.З. Гуральчук). З 1987 р. основним напрямом відділу були дослідження механізмів і розробка способів підвищення ефективності використання елементів живлення рослин з різним типом метаболізму. Вивчено реакцію іонтранспортних систем клітин коренів рослин на зміну умов азотного, фосфорного і калійного живлення у зв'язку з синтезом і акумуляцією в них стресових сполук (низькомолекулярні білки, стіми) і ефективністю використання елементів живлення (К.С. Ткачук). Вивчено вплив літію на азотний обмін озимої пшениці та обґрунтовано дози і способи його внесення (Т.З. Богдан). Створено поживні суміші та добрива для кореневого та позакореневого підживлення рослин, що сприяють підвищенню врожайності та якості рослинної продукції (К.С. Ткачук, М.Л. Лясковський, Т.З. Богдан, М.О. Харченко). Досліджено регуляцію енергозабезпечення транспортних процесів у клітинах вищих рослин за участю Н-АТФази (Т.О. Палладіна).

Не залишились осторонь цієї проблеми і інші підрозділи інституту. Зокрема, велику увагу азотному живленню рослин приділяла лабораторія біохімії рослин (А.С. Оканенко, Л.К. Островська, Б.І. Берштейн). Л.К. Островській належать важливі праці з питань фізіологічної ролі міді, хлорозу рослин і способів його подолання. За розробку нових засобів для подолання хлорозу (застосування комплексонів в боротьбі з вапняковим хлорозом) Л.К .Островській в 1978 р. присуджено Державну премію СРСР.

Активно вивчалися ці питання і в інших установах. Так в Білоцерківському національному аграрному університеті розроблялися оптимальні норми добрив, досліджувалися строки і засоби їх застосування на різних сортах картоплі з метою зниження накопичення в бульбах нітратів та обмеження надходження радіонуклідів (М.Ю. Власенко, Л.Д. Вельянінов). У НУБіП вивчався вплив органічних та мінеральних добрив на формування врожаю та якість кормових культур (Б.М. Мойсеєнко). Створено нове органічне добриво – вермикомпост (М.М. Городній, І.К. Богдан, А.В. Бикін, М.А. Карпенко). Встановлено, що використання вермикомпосту оптимізує умови живлення овочів і кукурудзи на силос, інтенсифікує проходження фізіологічних процесів, які зумовлюють підвищення продуктивності культур та покращення біологічної цінності отриманої продукції.

Фізіологами Інституту зернових культур НААН (В.С. Столяренко, В.Ю. Коваленко та ін.) досліджено вплив вермикультури на вміст хлорофілу, нітратів та продуктивність кукурудзи, продемонстровано позитивний вплив продуктів переробки органічних відходів на ріст, розвиток та вміст хлорофілів.

Окремі дослідження з цього питання проводилися в Національному Львівському університеті імені Івана Франка (Л.О. Люкова), Науково-дослідному інституті біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (М.Д. Тімашов, В.В. Рапота), Уманському державному педагогічному університеті імені Павла Тичини, Поліському національному університеті, Інституті овочівництва і баштанництва НААН, Інституті рослинництва ім. В.Я. Юр'єва.

Центром дослідження в галузі радіобіології ще з 50-х років також був ІФГР. У 1962 р. під керівництвом Д.М. Гродзинського (рис. 1.19) у відділі біофізики і радіобіології вивчалися радіобіологічні реакції рослинних організмів, дія іонізуючої радіації на пігментні системи пластид, окислювально-відновні ферменти, природна радіоактивність рослин і ґрунтів, механізми захисної дії радіопротекторів та відновлення рослин при променевому ураженні (І.М. Гудков, О.Д. Коломієць, А.А. Булах, М.І. Бідзіля, М.Г. Голубкова, О.П. Голікова, Ю.О. Кутлахмедов, О.П. Дмітрієв, Н.В. Зезіна та ін.). Великою особистою заслугою академіка Д.М. Гродзинського є розробка теорії надійності рослинних систем. Вперше, на різних ступенях організації рослин – від молекулярного рівня до рівня організму, проаналізовано загальні фізіологічні та специфічні реакції рослин на дію іонізуючої радіації і започатковано дослідження з проблеми позиційної інформації і клітинної взаємодії в морфогенезі рослин. Найважливіші результати в галузі біофізики і радіобіології узагальнено в монографіях Д.М. Гродзинського «Биофизика растений», «Надёжность растительных систем»,а також в монографіях колективу авторів цього відділу «Системы надёжности клетки», «Формы пострадиационного восстановления растений»,

«Формирование радиобиологической реакции растений» та інші.

У зв'язку з аварією на Чорнобильській АЕС та екологічними проблемами, які вона викликала, відділом біофізики і радіобіології (нині структурний підрозділ Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України) з'ясовувалися процеси поглинання та розподілу радіонуклідів у рослинних організмах та ґрунтах, вплив хронічного опромінення на ріст і розвиток рослин. Встановлено, що хронічне опромінення при малих потужностях доз підвищує радіостійкість рослин, при цьому в зоні відчуження формуються популяції з досить високою стійкістю (Д.М. Гродзинський).

З 1986 р. ІФГР очолює академік НАН України В.В. Моргун, відомий фундаментальними дослідженнями в галузі генетики та селекції рослин. Нині до складу ІФГР входять наукові відділи: генетичного поліпшення рослин (завідувач – академік НАН України В.В. Моргун); генетичної інженерії (завідувач – к.б.н. С.І. Михальська); симбіотичної азотфіксації (завідувач – член-кореспондент НАН України С.Я. Коць); фізіології дії гербіцидів (завідувач – д.б.н. Є.Ю. Мордерер); фізіології живлення рослин (завідувач – член-кореспондент НАН України В.В. Швартау); фізіології та екології фотосинтезу (завідувач – член-кореспондент НАН України О.О. Стасик). Пріоритетними напрямами дослідження основ продукційного процесу є з'ясування механізмів метаболізму макро- й мікроелементів та їх взаємодії з агрохімікатами для створення високоефективних систем живлення й захисту рослин; біофортифікації та збереження родючості ґрунтів. Дослідження відділу фізіології та екології фотосинтезу спрямовані на розробку способів поліпшення продуктивності фотосинтезу, оптимізації продукційного процесу і підвищення врожайності сільськогосподарських культур з використанням комплексних мікродобрив, регуляторів росту рослин, агропрепаратів біостимулювальної і стреспротекторної дії. Відділ фізіології дії гербіцидів займається вивченням механізмів взаємодії гербіцидів у комплексах, механізмів індукованого гербіцидами патогенезу, розробкою ефективних та екологічно безпечних технологій застосування гербіцидів.

Рис. 1.19. Дмитро МихайловичГродзинський

Одночасно до складу інституту включено 4 відділи генетичного спрямування, що розширило коло наукових зацікавлень співробітників і сприяло поєднанню інтересів фізіологів рослин і генетиків. На шляху такого поєднання розробляються проблеми фізіологічної генетики, біотехнології та генетичної інженерії (В.В. Моргун, К.А. Ларченко, В.Ф. Логвиненко, А.М. Бондаренко, Б.О. Левенко, Л.О. Лісневич, Ю.П. Старченков, С.Я. Коць, І.А. Шевцов, Т.В. Чугункова та інші). Дослідження В.В. Моргуна і його наукового відділу пов'язані з розробкою та розвитком теорії індукованої мутаційної мінливості рослин, генетичної інженерії, біотехнології та фізіологічної генетики.

Фізіологами рослин Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича розроблено безпестицидну технологію підвищення стійкості картоплі до грибних захворювань (А.Г. Должицька, Н.Л. Кондурацька,

С.С. Пуденко, О.С. Деревенко). Науковцями Мелітопольської дослідної станції садівництва імені М.Ф. Сидоренка НААН (В.С. Бленда), Інституту агроекології і природокористування НААН (О.О. Созінов, А.В. Бленда), Інституту садівництва НААН (І.В. Бартік, В.І. Корховий, С.М. Меркулов, В.П. Копань) розроблено технологію мікроклонального розмноження перспективних сортів яблуні, груші та інших плодових культур.

Фізіологами рослин Ужгородського національного університету вивчаються фізіолого-біохімічні особливості адаптації винограду до умов вирощування в Закарпатті, виконуються комплексні дослідження з метою створення препарату проти бактеріальних захворювань картоплі, огірків, кукурудзи (В.І. Ніколайчук, В.Й. Белчгазі, І.І. Бубряк, П.П. Білик).

За участю українських вчених-фізіологів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України підготовлено та оброблено матеріали фітобіологічних експериментів, проведених на штучних супутниках Землі, космічних кораблях, орбітальних станціях, а також при виконанні міжнародних космічних біологічних програм (К.М. Ситник, Є.Л. Кордюм та ін.). Вперше в космічній біології проведено дослідження ультраструктури рослинної клітини, доведено інформативність та надійність даного показника для оцінки впливу факторів космічного польоту на функціонування живих систем, встановлено ефект зміни структурно-функціональної організації клітин в таких умовах.

Комплексним дослідженням фотосинтетичного апарату рослин за програмою спільного українсько-американського експерименту «Шатл-97» проведено дослідження впливу мікрогравітації на фотосинтетичний апарат вищих рослин (В.В. Моргун, С.М. Кочубей, О.Г. Воловик – ІФРГ НАН України, Є.Л. Кордюм, К.С. Ситник, Л.І. Мусатенко – Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України). Уперше в умовах реальної мікрогравітації в космічному польоті встановлено, що процеси морфогенезу та диференціювання клітин бічних коренів відбуваються без суттєвих відхилень від норми, що дає уявлення про природу дії тривалої невагомості в космосі. Визначено показники для оцінки впливу мікрогравітації на ріст та розвиток вищих рослин на організменному, клітинному та молекулярному рівнях.

У 1988 р. засновано Українське товариство фізіологів рослин (УТФР), першим президентом якого був В.П. Лобов, а з 1993 р. – академік НАН України В.В. Моргун. Працюють 15 обласних відділень товариства, членами якого є більше 5000 фізіологів рослин.

Історія фізіологічних досліджень в Україні свідчить про те, що українські вчені досягли значних успіхів у розробці теоретичних питань фізіології рослин.

Головним завданням фізіології рослин в майбутньому має стати вивчення молекулярних і фізіолого-біохімічних процесів, що відбуваються у рослині, з'ясування принципів інтеграції фізіологічних процесів у рослинному організмі. Результати цих досліджень мають бути спрямовані на вирішення питань, пов'язаних з підвищенням продуктивності сільськогосподарських культур, розв'язання екологічних проблем, охорону навколишнього середовища та його раціонального використання. Увагу наукових працівників слід зосередити також на проблемах техногенного забруднення атмосфери та ґрунту,

негативних наслідків інтенсивної хімізації в рослинництві, Чорнобильської катастрофи та воєнний дій.

Фізіологія рослин не вичерпала своїх можливостей і у розв'язанні таких проблем як оптимізація продуктивності фотосинтезу, збалансування елементів живлення, регуляція росту і розвитку рослин фізіологічно активними речовинами. Подальший приріст урожайності може бути забезпечений за рахунок підвищення стійкості рослин до фітопатогенів та шкідників, екстремальних температур; а також підвищення фотосинтетичної активності листкового апарату і ефективності функціонування кореневої системи. Тому актуальними питаннями залишаються оптимізація мінерального живлення рослин, створення регуляторів росту на основі природної сировини та їх комплексів з елементами мінерального живлення і розширення сфери їх практичного застосування, дослідження систем регуляції та саморегуляції важливих фізіологічних процесів у рослинах, розподілу пластичних речовин та формування врожаю, транспорту метаболітів регуляторних аспектів формування комплексної стійкості, розробка загальної теорії продукційного процесу, поглиблення досліджень у галузі біологічної фіксації атмосферного азоту.

Питання для обговорення та самоперевіркидо Розділу

1. Основні етапи становлення «»Фізіології рослин» як науки.
2. Вклад українських вчених в розвиток фізіології рослин у ХХ столітті.
3. Видатні вчені фізіологи України.
4. Перспективи розвитку фізіології рослин в Україні.

РОЗДІЛ 2. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Тема 2.1. Загальні основи будови рослинної клітини

Клітина – це основна структурна і функціональна одиниця усіх представників царства Рослини – одноклітинних, колоніальних, багатоклітинних, якій притаманні всі властивості живої системи, оточена напівпроникною мембраною і здатна до самовідтворення. Типова рослинна клітина, яка виконує всі життєві функції організму, характерна тільки для одноклітинних водоростей, а у вищих рослин клітини виконують лише певні функції, тому вони сильно різняться за формою та будовою. Зазвичай клітини мають форму чотирнадцятигранників, у яких вісім граней – шестикутники та шість – чотирикутники. Однак зустрічаються клітини, форма яких не піддається визначеному геометричному опису. Розмір рослинних клітин варіюється від 10 до 100 мкм. Різноманітність форм рослинних клітин логічно звести до двох основних типів: паренхімним і прозенхімним клітинам (рис. 2.1).

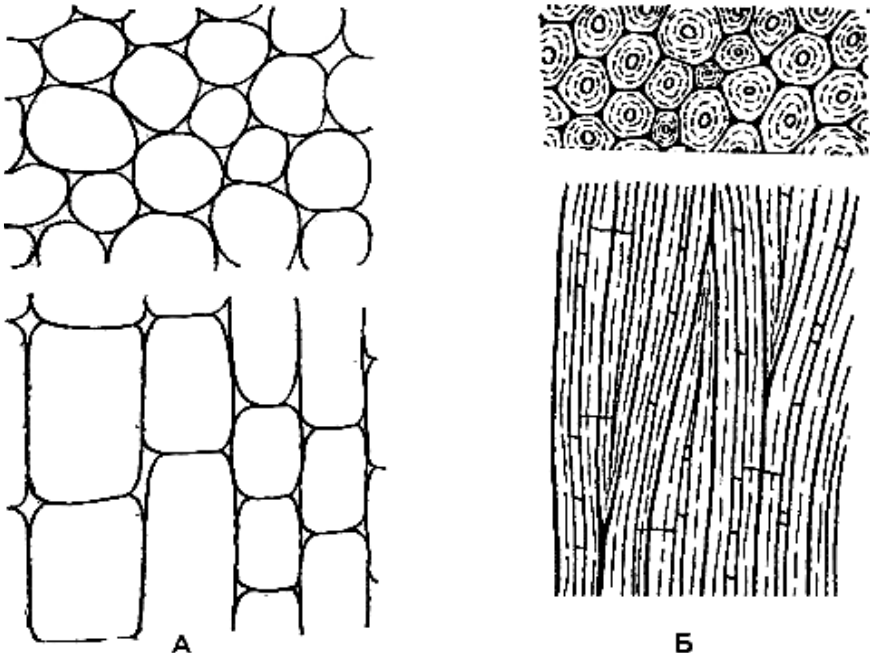


Рис. 2.1. Паренхімні (А) та прозенхімні (Б) клітини на поперечному (вгорі) та поздовжньому (внизу) зрізах

Паренхімні клітини є ізодіаметричними, оскільки всі їхні діаметри приблизно однакові. Паренхімні клітини, в яких відкладаються запасні речовини, дещо більшого розміру. Наприклад, клітини запасаючої тканини плодів апельсина, кавуна, томата можуть досягати розмірів понад 1 мм. Прозенхімні клітини зазвичай витягнуті у довжину, яка перевищує їхню ширину у понад 5 разів. Прикладом прозенхімної клітини може слугувати волосок бавовнику, який за довжини 5-6 см має діаметр всього 50 мкм. Типовими прозенхімними клітинами є волокна конопель, кропив, льону.

Незважаючи на велику різноманітність клітин вищих рослин, всі вони тією чи іншою мірою являють собою видозмінені варіанти єдиного типу

організації, що успадкований від попередників – зелених водоростей. Насамперед ці клітини еукаріотичні, тобто мають чітко сформоване ядро. Основні відмінності рослинної клітини від клітин інших еукаріотичних організмів – грибів і тварин:

- наявність жорсткої целюлозо-пектинової клітинної стінки;
- наявність пластид;
- добре розвинена система вакуолей із клітинним соком;
- відсутність центріолей при поділі;
- використання у якості запасаючої речовини крохмалю;
- утворення молекул АТФ у хлоропластах в процесі фотосинтезу.

Живий вміст рослинної клітини – протопласт, включає ядро і цитоплазму (рис. 2.2). Саме в ньому проходять основні процеси обміну речовин, а продуктами його життєдіяльності є клітинна стінка, фізіологічно активні речовини; продукти обміну речовин.

Протопласт є складною колоїдною системою. Речовини, з яких складається жива клітина і які вона виділяє у процесі життєдіяльності, надзвичайно різноманітні. Ці речовини можна розділити на конституційні, тобто ті, що входять до складу живої матерії та беруть участь в обміні речовин (метаболізмі); запасаючі (тимчасово виключені з обміну) та брак (кінцеві його продукти). Запасаючі речовини та брак сумісно часто називають ергастичними компонентами клітини. Основними класами конституційних органічних речовин є білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди та вуглеводи.

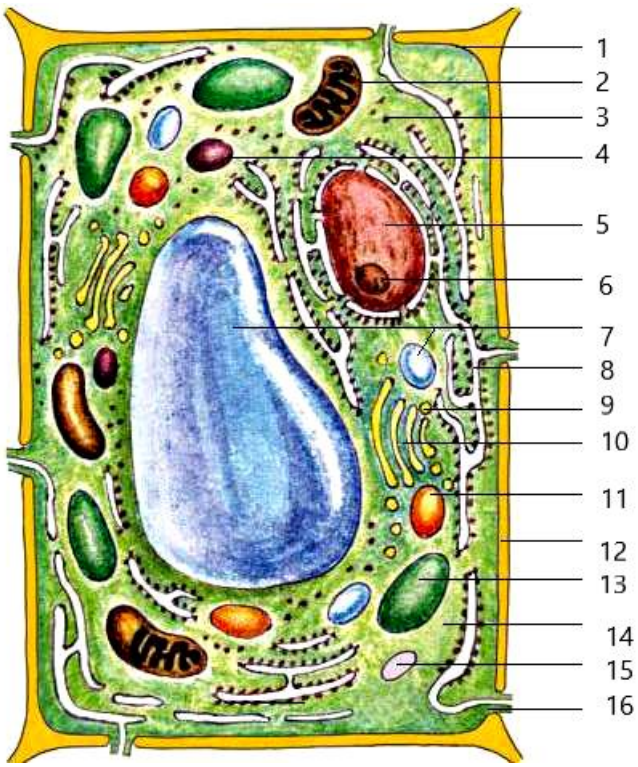


Рис. 2.2. Схема будови рослинної клітини.

1 – плазмалема; 2 – мітохондрія; 3 – рибосома; 4 – включення; 5 – ядро; 6 – ядерце; 7 – вакуоля; 8 – ендоплазматична сітка; 9 – лізосома; 10 – комплекс

Гольджі; 11 – хромопласт; 12 – клітинна стінка; 13 – хлоропласт; 14 – цитозоль; 15 – лейкопласт; 16 – плазмодесма

Білки – речовини, що визначають будову та властивості живої матерії. Вони беруть участь у формуванні структури та функцій усіх органел. Білки є не лише будівельним матеріалом протопласту, а й у якості ферментів регулюють життєві процеси. Окрім ферментативної функції, білки можуть виконувати скорочувальну та транспортну, а в деяких випадках вони служать джерелами енергії. Білки можуть бути і ергастичними компонентами, відкладаючись як запасаючі речовини у певні фази розвитку клітини.

Нуклеїнові кислоти – ДНК і РНК – становлять другу найважливішу групу біополімерів протопласту. Хоча вміст їх незначний (1-2 % маси сирого протопласту), роль їх величезна, оскільки вони є речовинами, що зберігають та передають спадкову інформацію, необхідну для синтезу білків та інших речовин протопласту. Основну кількість ДНК зосереджено в ядрі клітини, а РНК зустрічається як у ядрі, так і в цитоплазмі.

Ліпіди характеризуються відносною нерозчинністю у воді та добре розчиняються в органічних розчинниках. Протопласт рослинної клітини містить прості ліпіди (жирні масла), полімерні ліпіди (віск, кутин, суберин) та складні ліпіди (ліпоїди або жироподібні речовини). До ліпоїдів відносяться фосфо-і гліколіпіди та деякі пігменти (каротиноїди). Вони є структурними компонентами клітини, бо входять до складу мембран клітини. У водному середовищі ліпіди утворюють найтонші (мономолекулярні) плівки. Частина ліпідів є власне запасаючими речовинами.

Вуглеводи також входять до складу протопласту будь-якої клітини у вигляді простих розчинних у воді цукрів (наприклад, глюкоза та фруктоза) і складних нерозчинних полісахаридів (наприклад, целюлоза – основний компонент клітинної стінки, крохмаль – найважливіша запасаюча речовина). У клітині вуглеводи відіграють роль джерела енергії для реакцій обміну речовин. Цукри рибоза та дезоксирибоза входять до складу РНК та ДНК. Склад вуглеводів рослинних клітин значно більший та різноманітніший, ніж тваринних клітин. З усіх хімічних сполук жива клітина найбільше утримує води (60–90 %), у якій розчинна більшість інших речовин. Це пояснюється тим, що хімічні реакції в клітині проходять лише у водних розчинах, тому вода – універсальний розчинник.

До складу рослинної клітини входять також неорганічні речовини, здебільшого іони мінеральних солей. Неорганічні іони відіграють важливу роль у створенні осмотичного тиску, необхідного для надходження у клітину води; деякі з них забезпечують активність ферментів.

Всі компоненти протопласту рослинних клітин зазвичай безбарвні, за винятком пластид, які можуть бути зеленого чи оранжевого кольорів. За фізичними властивостями протопласт являє собою колоїдний розчин, оскільки біологічні макромолекули і деякі ліпіди є типовими колоїдами. Тому протопласт у цілому має слизову консистенцію, що нагадує консистенцію яєчного білка.

Від продуктів своєї життєдіяльності протопласт відокремлений біологічними мембранами: від клітинного соку – тонопластом, а від клітинної стінки – плазмалемою. Біологічні мембрани відіграють важливу роль в організації та функціонуванні протопласту (у найактивніших клітинах вони становлять до 90% їх сухої маси). Біологічні мембрани складаються із ліпідів та білків, але до їх складу також можуть входити полісахариди та пігменти (рис. 2.3).

Вода складає 30% маси мембрани. Вона визначає структурну орієнтацію молекул речовин, що входять до складу мембран та сприяє перенесенню через мембрану гідрофільних речовин.

Мембрана є найтоншою плівкою (5 – 10 нм), основу якої складає бімолекулярний шар фосфоліпідів. Неполярні гідрофобні кінці молекул фосфоліпідів розкладаються всередині мембрани, а їх полярні гідрофільні групи орієнтовані назовні. Молекули мембранних білків мозаїчно розташовані по обидва боки ліпідного шару або частково занурені у нього на різну глибину; деякі з них пронизують мембрану наскрізь (транспортні, тунельні білки), забезпечуючи перенесення через мембрану певних речовин.

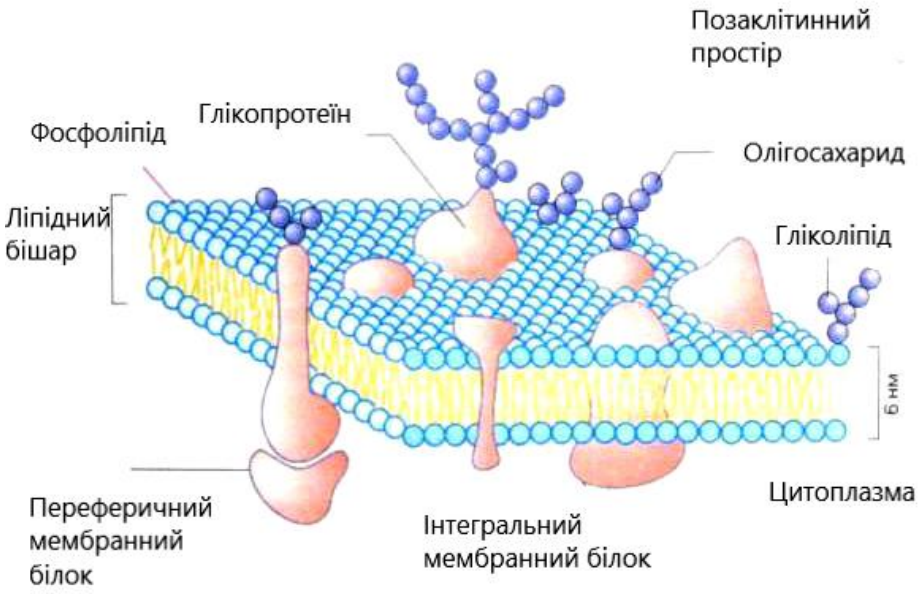


Рис. 2.3. Схема молекулярної організації біологічної мембрани

Набір ліпідів і білків, їх співвідношення і розташування у різних мембран визначається їх функціями. Більшість мембранних білків – це ферменти. Різні сторони мембрани можуть відрізнятися складом білків та його функціями.

Найважливіша властивість біологічних мембран – напівпроникність, тобто вони здатні пропускати одні речовини і затримувати інші. Завдяки такій вибірковій проникності мембрани мають можливість пропускати речовини навіть проти градієнту концентрації, якщо вони необхідні клітині. Ця

властивість дозволяє найбільшим мембранам клітини – плазмалемі та тонопласту – здійснювати бар'єрну функцію для протопласту в цілому.

Виконуючи роль локалізатора біологічно активних речовин (ферментів, світлосприймаючих пігментів), мембрани забезпечують синтез багатьох життєво важливих речовин, наприклад утворення АТФ на мембранах мітохондрій та хлоропластів. Найбільша мембрана клітини – плазмалема – не тільки регулює проникність речовин в клітину, але і забезпечує полімеризацію та орієнтацію молекул целюлози для формування клітинної стінки. Мембрана вакуолі – тонопласт, відіграючи бар'єрну роль, багато в чому визначає перебіг фізіологічних процесів у клітині. За допомогою біологічних мембран, що утворюють оболонки органел протопласту, досягається дискретність (самостійність) останніх. Мембрани також поділяють протопласт на окремі ізольовані відсіки, в яких незалежно один від одного можуть проходити різні біохімічні процеси. Таким чином, мембрани забезпечують компартментацію протопласту – розподіл функцій між його ділянками та органелами, тобто поділ функцій на субклітинному рівні.

Цитоплазма – основна частина протопласту клітини, у якій проходять усі процеси внутрішньоклітинного обміну речовин, окрім синтезу нуклеїнових кислот, що відбувається у ядрі. Основу цитоплазми, її безструктурний матрикс називають гіалоплазмою. Гіалоплазма – безбарвна колоїдна система, що характеризується ферментативною активністю та забезпечує взаємодію всіх органел цитоплазми. Гіалоплазму пронизують мікротрубочки і мікрофіламенти, сукупність яких становить цитоскелет рослинної клітини. Цитоскелет впливає на переміщення внутрішньоклітинних структур та визначає форму клітини, що росте. Мікротрубочки – надмолекулярні агрегати довжиною в кілька мікронів з упорядкованим розміщенням молекул білка тубуліну. Здатні до самоскладання та саморозпаду. Беруть участь у внутрішньоклітинному транспорті речовин, а також у формуванні джгутиків, вій, ахроматинового веретена поділу. Мікрофіламенти – нитки білка актину, здатні до скорочення. Утворення та розпад мікротрубочок та мікрофіламентів викликають оборотні переходи ділянок цитоплазми із золю в гель. З гіалоплазмою пов'язана важлива властивість цитоплазми – здатність руху, що регулює обмін речовин. Швидкість рухів цитоплазми – 1-2 мм/сек. З підвищенням інтенсивності діяльності цитоплазми швидкість її руху збільшується. Розрізняють два типи руху цитоплазми: струменевий (у молодих клітин) і обертальне, або кругове (у старіших клітин з більшою вакуолею по центру). Різноманітні функції цитоплазми клітини виконують відокремлені структури, що розміщені у гіалоплазмі – органели (органоїди). Цитоплазма однієї рослинної клітини може містити до 220 пластид, 700 мітохондрій, 400 диктіосом, 500 тис. рибосом. Усі органели клітини можна поділити на три групи: одно мембранні, двох мембранні та не мембранні.

До органел, які не мають мембранної будови, відносяться рибосоми – універсальні органели, що містяться у всіх клітинах. Функція рибосом – біосинтез білка. Кожна рибосома складається із двох субодиниць – великої та малої (рис. 2.4). До складу рибосом ядерних організмів входять чотири

молекули рибосомальної РНК (рРНК) та білки (до 100 видів). Утворення субодиниць рибосом відбувається у ядрі. Виходячи із ядра, вони надходять до цитоплазми, де на молекулі інформаційної РНК (іРНК) відбувається їх складання безпосередньо у рибосому. Одні рибосоми за допомогою специфічних білків зв'язуються великою субодиницею з ендоплазматичною стікою. Вони синтезують білки, які через ендоплазматичну сітку надходять в апарат Гольджі та видаляються за межі клітини (секретуються). Інші рибосоми, що знаходяться в гіалоплазмі і не пов’язані з ендоплазматичною сіткою, синтезують білки, необхідні самій клітині. Сукупність рибосом (від 4 до 40), що розміщені на одній молекулі іРНК, називають полі рибосомою або полісомою. Чим активніше проходить у клітині синтез білка, тим більше у ній полісом.

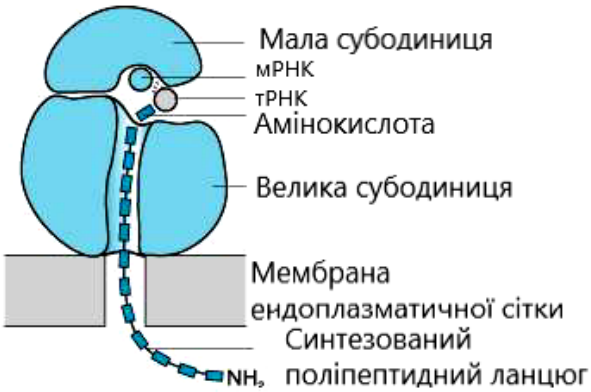


Рис. 2.4. Рибосома на мембрані ендоплазматичної сітки

Ендоплазматична сітка (ЕПС) або ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) – тривимірна система субмікроскопічних цистерн, канальців і бульбашок, відокремлених від гіалоплазми елементарною мембраною та заповнених безструктурною енхілемою. Канальці ЕПС безпосередньо переходять у зовнішню мембрану ядерної оболонки, завдяки чому здійснюється зв'язок ядра із цитоплазмою (рис. 2.5). Канальці ЕПС, що переходять з однієї клітини в іншу і які забезпечують зв'язок між ними, називають плазмодесмами. Таким чином, ендоплазматична сітка забезпечує транспорт речовин як всередині клітини, так і між клітинами.

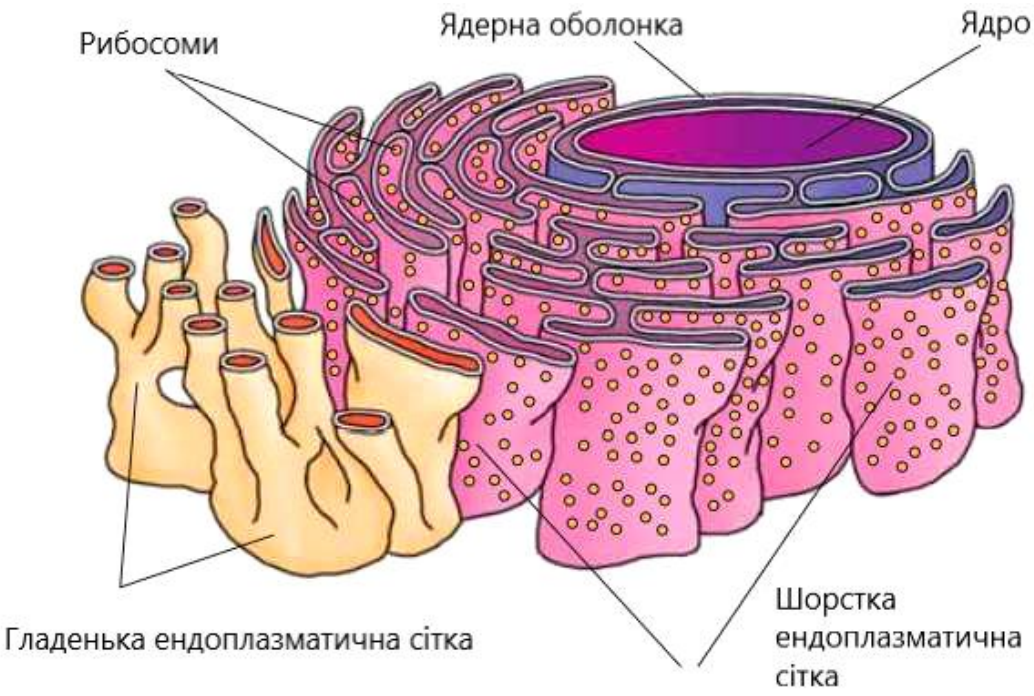


Рис. 2.5. Будова ендоплазматичної сітки (ЕПС)

Довгі канальці з гладкою поверхнею (гранулярна або гладенька ЕПС) приймають участь у синтезі вуглеводів, жирів, ефірних масел, смол, каучуку, стероїдних гормонів, а також в накопиченні та виведенні токсичних речовин. Цистерни, короткі канальці та бульбашки, на поверхні яких розташовуються рибосоми називаються гранулярною або шорсткою ЕПС. Її головна функція – транспорт і накопичення білків, синтезованих рибосомами.

Апарат Гольджі отримав свою назву на честь першовідкривача органели італійського вченого К. Гольджі. Апарат Гольджі складається з окремих диктіосом (тілець Гольджі) та бульбашок Гольджі (рис. 2.6). Диктіосоми це стопки плоских круглих цистерн (5-7, іноді до 20), відокремлених від гіалоплазми однією мембраною та заповненими матриксом. По краях цистерни переходять в сітку, що складається з трубочок, від якої відокремлюються бульбашки Гольджі. Диктіосоми мають два полюси. З одного їх боку (формувального) відбувається постійне утворення нових цистерн з канальців ЕПС; з іншого (секреторного) – старі цистерни розпадаються на бульбашки Гольджі, які прямують до плазма леми або тонопласту – двом приграничним мембранам клітини.

Рис. 2.6. Схема будови апарату Гольджі

У цистернах диктіосом завершуються багато обмінних реакцій, що проходять у клітині. У них, зокрема, накопичуються, конденсуються та упаковуються для транспортування речовини, які необхідно видалити з цитоплазми, наприклад токсичні – бульбашки Гольджі переносять їх у вакуолі. Одна з найважливіших функцій апарату Гольджі – синтез полісахаридів (пектинів, геміцелюлоз, слизу), що надходять для побудови клітинної стінки. Запаковані в бульбашки, ці речовини доставляються до плазмалеми. Мембрани бульбашок вбудовуються в плазмалему, забезпечуючи її поверхневе наростання, а їх вміст, виходячи за межі плазмалеми, використовується для побудови клітинної стінки. Надважливою є роль бульбашок Гольджі при утворенні нових плазмалем і клітинних стінок після поділу клітини.

Лізосоми – одномембранні органели округлої форми, у матриксі яких містяться гідролітичні ферменти – гідролази, здатні розщеплювати органічні речовини, у тому числі біополімери. На відміну від грибів та тварин у клітинах рослин лізосоми зустрічаються рідше. У рослинній клітині гідролітичні ферменти можуть знаходитися в різних її органелах та зонах, утворюючи так званий лізосомний клітинний компартмент.

Основна функція лізосом – внутрішньоклітинне перетравлення, автоліз: руйнування окремих ділянок цитоплазми власної клітини, закінчуючи утворенням на їх місці цитоплазматичної вакуолі. Лізосоми очищають клітину від органел, що вже не працюють. Утворювані у процесі лізису низькомолекулярні сполуки, можуть знову використовуватися у процесі обміну речовин, підтримуючи життєздатність клітини. Гідролітичні ферменти лізосом здатні очищувати порожнину клітини після відмирання протопласту.

Пероксисоми (мікротільця) зустрічаються у більшості типів клітин рослин та грибів. Це дрібні (0,2–1,5 мкм) одномембранні органели сферичної форми. Їх щільний матрикс складається в основному з окисно-відновних ферментів. Функції визначаються типом клітин, у яких вони знаходяться, наприклад, при проростанні насіння пероксисоми, що містяться в клітинах, запасають тканини, що забезпечують перетворення жирних олій у цукри; у

клітинах фото синтезуючих тканин – у них проходять реакції світлового дихання – поглинання кисню, виділення двоокису вуглецю, синтез амінокислот.

Органели цитоплазми двомембранної будови – мітохондрії та пластиди.

Мітохондрії – органели округлої, циліндричної або ниткоподібної форми, що постійно переміщаються. Відносно великий їх розмір (довжина – до 10 мкм, діаметр – 0,2-1 мкм) дозволяє спостерігати їх під світловим мікроскопом. Число, розташування, форма та розміри мітохондрій постійно змінюються. Сукупність мітохондрій клітини називається хондріомом. Внутрішня мембрана мітохондрії утворює виступаючі в її матрикс трубкоподібні вирости – кристи, що збільшує внутрішню активну поверхню органели. У матриксі знаходяться кільцеві молекули мітохондріальної дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК), специфічні іРНК та тРНК та рибосоми прокаріотичного типу, що відрізняються від цитоплазматичних меншими розмірами (рис. 2.7). Це дозволяє мітохондріям самостійно синтезувати білки для своїх мембран. Мітохондрії – енергетичний центр клітини. На поверхні внутрішньої мембрани, у матриксі та міжмембранному просторі проходять процеси внутрішньоклітинного дихання – окислення органічних речовин киснем повітря до діоксиду вуглецю та води. Значна частина енергії, що виділяється при цьому, накопичується в синтезованих молекулах аденозинтрифосфату (АТФ) – універсального акумулятора та переносника енергії у живих клітинах. Утворення АТФ відбувається в результаті приєднання залишку фосфорної кислоти до молекули аденозиндифосфату (АДФ) Молекули АТФ переносять енергію у місця найактивнішого обміну речовин, де вона вивільняється при від'єднанні залишку фосфорної кислоти та перетворення молекули АТФ знову на молекулу АДФ. При від'єднанні від АТФ залишку фосфорної кислоти розриваються фосфорно-кисневі зв'язки, внаслідок чого вивільняється значна кількість енергії і тому ці зв'язки називають макроергічними.

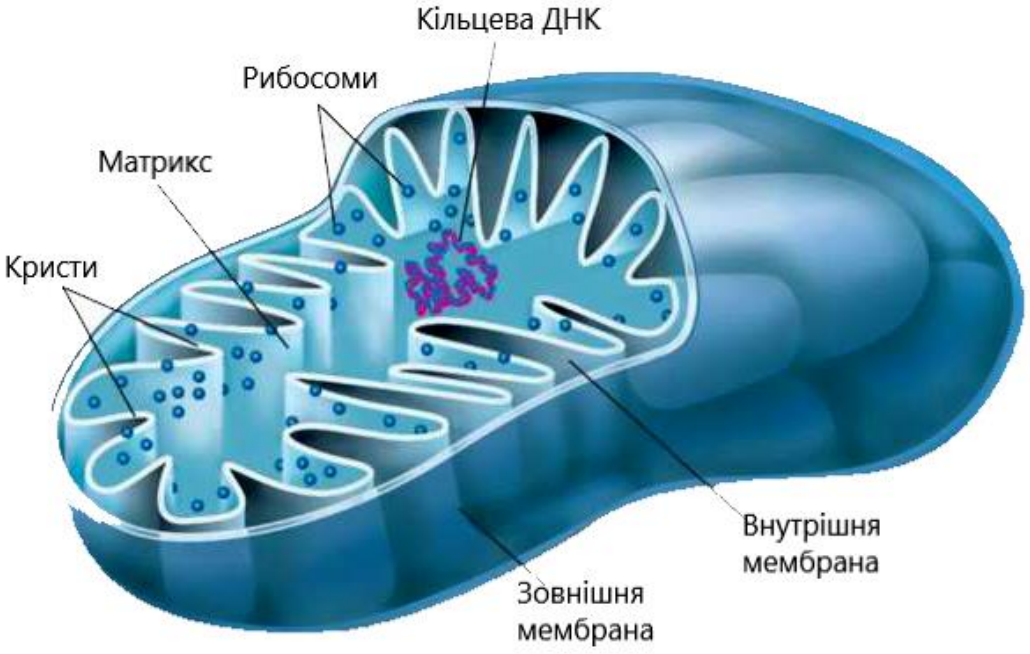


Рис. 2.7. Схема будови мітохондрії

У мітохондріях хімічна енергія метаболітів трансформується в енергію макроергічних фосфатних зв'язків АТФ та АДФ, яка використовується клітиною у процесі життєдіяльності. У клітині мітохондрії зазвичай розташовуються біля ядра, хлоропластів, джгутиків, тобто там, де особливо значні витрати енергії.

Збільшення числа мітохондрій в клітині відбувається в результаті поділу перешнурівкою по кристам, якому передує ріст цих органел та самоподвоєння їх ДНК. Незважаючи на те, що у мітохондріях є власна ДНК, діяльність їх знаходиться під контролем ядра клітини.

Пластиди – двомембранні органели, що зустрічаються в будь-якій рослинній клітині. За кольором і будовою виділяють три типи пластид: безбарвні – лейкопласти, зелені – хлоропласти і жовті, оранжеві чи червоні – хромопласти. Сукупність всіх пластид клітини називається пластидомом. Форма, розміри та будова пластид кожного типу відрізняються. Зазвичай у клітині локалізовано лише один тип пластид.

Пластиди утворюються з пропластид – двомембранних округлих структур, заповнених матриксом. У матриксі містяться кільцева ДНК та дрібні рибосоми прокаріотичного типу. Пропластиди передаються в новий рослинний організм через яйцеклітину, тобто від материнського організму. Зазвичай вони містяться у клітинах зародка та утворювальних тканинах і можуть ділитися. З них, власне і утворюються всі три типи пластид. На світлі в клітинах листків, стебел, плодів із пропластидів формуються хлоропласти. У клітинах запасаючих тканин із пропластидів утворюються лейкопласти. Хромопласти зазвичай утворюються із хлоропластів і лейкопластів, але іноді можуть формуватися безпосередньо з пропластид.

Хлоропласти містяться у всіх клітинах рослини, що знаходяться на світлі. Особливо багато їх у клітинах листків та незрілих плодів, де вони можуть займати основний обсяг клітини. Основна функція хлоропластів – фотосинтез – процес, що проходить за рахунок використання енергії світла, в результаті якого з діоксину вуглецю і води утворюються вуглеводи і виділяється вільний кисень. Хлоропласти вищих рослин мають форму двоопуклої лінзи. Їх розмір можна порівняти з розміром мітохондрій: довжина 5-10 мкм, діаметр 2-4 мкм. Кількість хлоропластів у клітинах вищих рослин сильно варіюється – від 5 до 100 і більше. Різноманітніші за формою, розмірами та набором пігментів хлоропласти водоростей називаються хроматофорами. Положення хлоропластів у цитоплазмі залежить від ступеня освітленості – при прямому сонячному світлі вони переміщаються до бічних стінок клітини і повертаються до джерела світла ребром. Хлоропласти містять воду (до 75%), білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти, ферменти. Вони містять зелений пігмент хлорофіл, що існує у кількох формах, а також пігменти з групи каротиноїдів: жовтий ксантофіл і помаранчевий каротин. Каротиноїди хлоропластів, а також сині, червоні та бурі пігменти хроматофорів водоростей називають допоміжними ферментами, тому що вони можуть передавати поглинену світлову енергію молекулам хлорофілу.

Хлорофіл поглинає енергію синьо-фіолетової та червоно-жовтогарячої частини світлового спектру, а каротиноїди – синьо-фіолетовий.

У процесі еволюції хлоропласти набули досить складної будови (рис. 2.8). За умови їх розвитку з пропластид відбувається утворення великої кількості добре виражених випинань або складок їхньої внутрішньої мембрани, так званих тилакоїдів. Система тилакоїдів складається з гран – стопок дископодібних тилакоїдів і окремо сплющених канальцеподібних тилакоїдів строми, що сполучають грани між собою. Хлорофіл та каротиноїди знаходяться тільки в тилакоїдах, що входять до складу гран.

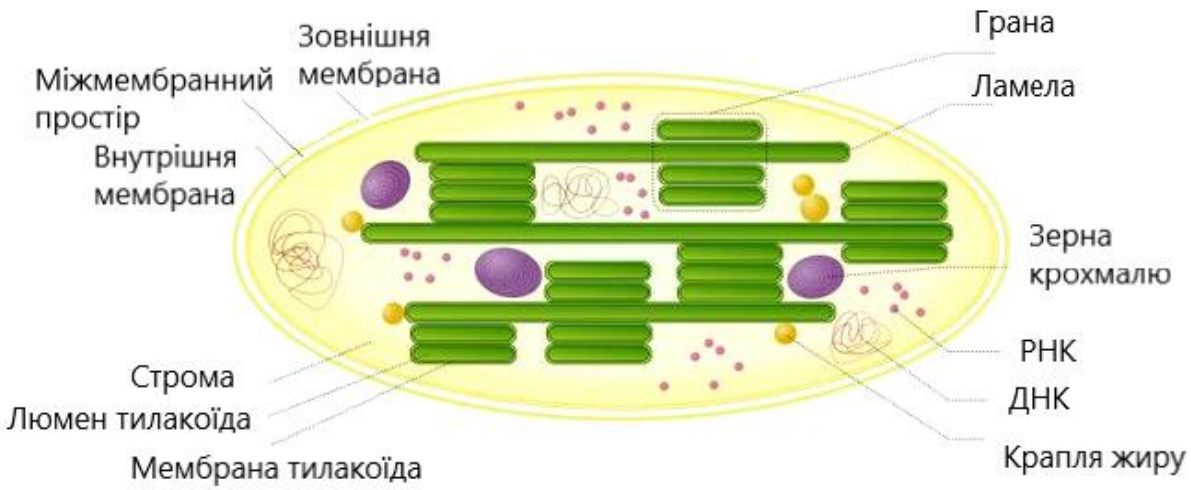


Рис. 2.8. Схема будови хлоропластів

У стромі (матриксі) хлоропластів є кільцева ДНК і прокаріотичні рибосоми, тобто пластиди здатні самостійно синтезувати власні білки, необхідні для росту тилакоїдної системи. Окрім цього, у стромі хлоропластів зустрічаються пластоглобули – включення жирів, зерна первинного крохмалю, білкові кристали.

Хлорофіл та каротиноїди хлоропластів поглинають енергію світла, що забезпечує проходження як світлозалежних (світлова фаза фотосинтезу), так і темнових (темнова фаза фотосинтезу) реакцій. У світловій фазі на мембранах тилакоїдів гран здійснюється перетворення енергії світла у хімічну енергію макроергічних зв'язків АТФ та відновленого НАДФ*Н. Також проходить фотоліз води – розщеплення її молекули на водень та кисень.

Водень приєднується до універсального переносника енергії – НАДФ, відновлюючи його, а кисень виділяється в атмосферу. Темнова фаза проходить у стромі хлоропластів, де за рахунок енергії, накопиченої у світловій фазі в молекулах АТФ і НАДФ*Н, відбувається відновлення CO_2 до глюкози, а потім синтез крохмалю. У процесі фотосинтезу можуть утворюватися жирні кислоти, амінокислоти, органічні кислоти.

Лейкопласти – безбарвні пластиди сферичної форми, у яких накопичуються запасаючі поживні речовини. За будовою лейкопласти подібні до пропластидів, з яких вони утворюються. Тилакоїди, утворені внутрішньою мембраною, розвинені дуже слабко. Крім ДНК і рибосом, у стромі лейкопластів

містяться також ферменти, що здійснюють синтез та розщеплення (гідроліз) запасаючих речовин, переважно крохмалю. У лейкопластах запасний крохмаль синтезується з водорозчинних вуглеводів, що утворюються у хлоропластах у процесі фотосинтезу. Лейкопласти, у яких синтезується і запасається крохмаль, називають амілопластами або крохмальними зернами; білки – протеїнопластами; олії – олеопластами. Лейкопласти є звичним утворенням у клітинах запасаючих тканин бульб, кореневищ, насіння.

Хромопласти характерні для клітин пелюсток, плодів, коренеплодів, осінніх листків Це пластиди оранжево-червоного та жовтого кольорів, що утворюються з лейкопластів та хлоропластів у результаті накопичення в їхній стромі каротиноїдів. Нагромаджуючись у великих кількостях, каротиноїди здатні кристалізуватися і такі кристали розривають двомембранну оболонку, і хромопласти приймають їх форму: зубчасту, голкоподібну, пластинчасту, ромбічну тощо. У хромопластах клітин осінніх листків утворюються великі пластоглобули, у жирних оліях яких розчинені каротиноїди. Значення хромопластів полягає у залученні тварин для запилення квітів та поширення плодів та насіння.

Згідно із історичними аспектами розвитку (філогенезу) вихідним типом пластид були саме хлоропласти, з яких у зв'язку з диференціацією органів рослин за функціями (їхньою спеціалізацією) сформувалися лейкопласти та хромопласти. В індивідуальному розвитку пластид (онтогенезі) реальні взаємоперетворення пластид виглядають інакше (рис. 2.9). Зазвичай хлоропласти перетворюються на хромопласти під час дозрівання плодів та осінньому пожовтінні листків. Зміна забарвлення осінніх листків із зеленого на жовте або помаранчево-червоне пояснюється руйнуванням у хлоропластах хлорофілів під дією короткого дня і низьких температур, внаслідок чого він перестає маскувати каротиноїди. Лейкопласти можуть перетворюватися на хлоропласти (позеленіння на світлі бульб картоплі) та у хромопласти.

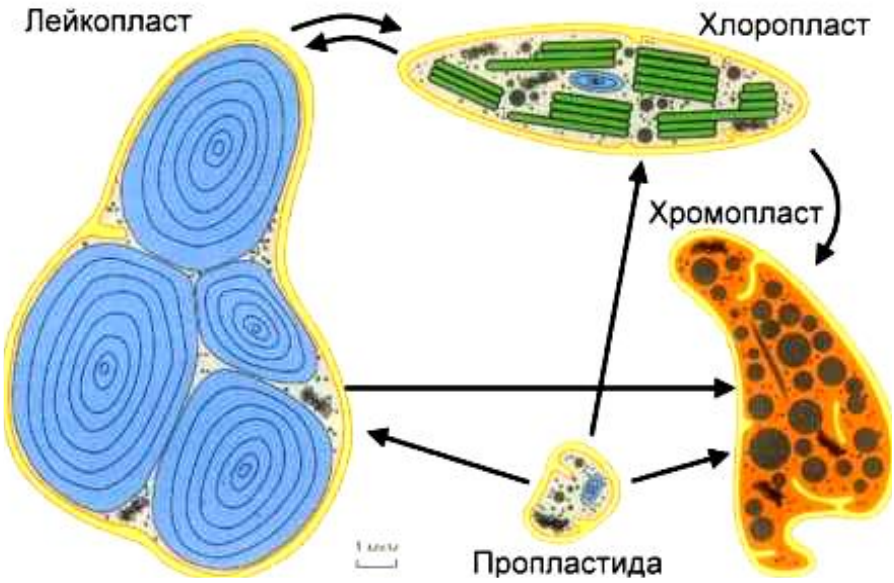


Рис. 2.9. Взаємоперетворення пластид у процесі онтогенезу рослинної клітини

Хлоропласти можуть трансформуватися в лейкопласти у процесі переміщення рослин у темряву. Трансформація пластид супроводжується змінами їх розмірів та набору пігментів, перебудовою їхньої внутрішньої структури, але хромопласти – кінцевий етап розвитку пластид.

Ядро – центральна органела клітини, що регулює усі процеси її життєдіяльності. У ядрі знаходиться і відтворюється спадкова інформація, зашифрована в хромосомах і така, що визначає усі ознаки як клітини, а й усього організму в цілому. Ядро контролює роботу всіх органел клітини, визначає інтенсивність і напрям обміну речовин, що проходить в ній. Все життя клітини залежить від складу та кількості ферментів, а оскільки всі вони – білки, то передача спадкових ознак та властивостей від клітини до клітини полягає у передачі інформації саме про ті білки, які клітині доведеться синтезувати протягом життя. Серед органел клітини напівавтономними є лише мітохондрії та пластиди, що здатні виконувати частину своїх функцій незалежно від ядра. При видалення ядра клітина гине.

Зазвичай у клітині знаходиться тільки одне, оточене цитоплазмою, ядро. Розмір його залежить від типу клітини, виду рослини та варіюється в межах 10-25 мкм. Ядро, як і цитоплазма, являє собою колоїдну систему, але в'язчої консистенції. За хімічним складом воно значно відрізняється від інших органел клітини дуже високим (15-30%) вмістом ДНК, оскільки воно містить 99% ДНК клітини. У ньому знаходяться також рибонуклеїнові кислоти: рибосомальна РНК (рРНК), що входить до складу ядерця і утворюється в ядрі субодиниць рибосом; інформаційна РНК (іРНК) несе інформацію про будову молекул білків клітини. Функція синтезованої в ядрі транспортної РНК (тРНК) – доставка амінокислот, необхідних для синтезу молекул білка. У ядрі багато білків, з якими ДНК утворює сполуки – дезоксирибонуклеопротеїди. Будова ядра однакова для всіх ядерних організмів і складається із ядерної оболонки, ядерного соку (каріолімфи, або нуклеоплазми), ядерця та хроматину (рис. 2.10).

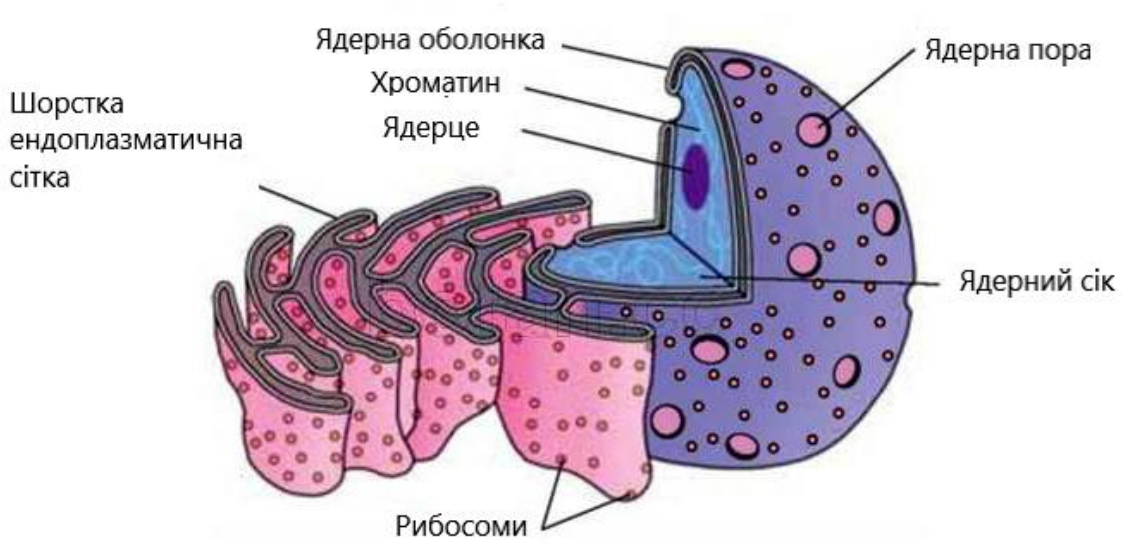


Рис. 2.10. Схема будови ядра

Ядерна оболонка складається з двох мембран, між якими знаходиться перинуклеарний простір, заповнений матриксом. Зовнішня мембрана ядерної оболонки, до якої часто прикріплюються рибосоми, сполучена з канальцями ЕПС, завдяки чому ядро виявляється пов'язаним не тільки з цитоплазмою, але і з іншими клітинами. Ядерна оболонка не суцільна, а уривчаста – в ній є ядерні пори. Ці пори можуть відкриватися та закриватися, регулюючи зв'язок між ядром та цитоплазмою (каріолімфою та гіалоплазмою). Кількість відкритих пір залежить від інтенсивності процесів синтезу, що відбуваються у клітині. Ядерний сік (каріолімфа, нуклеоплазма) – це активний компонент ядра, в якому безпосередньо функціонують і інші компоненти ядра. Це прозорий колоїдний розчин, що містить ферменти, необхідні для синтезу всіх трьох видів РНК, а також для створення субодиниць рибосом.

Найважливіша частина ядра – хроматин, який є молекулами ДНК, що укладені у специфічні білкові футляри. Скручування цих структур (дезоксирибонуклеопротеїдів) у спіраль дозволяє розміщуватися в ядрі дуже довгим (до 2 см) молекулам ДНК. Хроматин являє собою деспіралізовані та гідратовані хромосоми, що зберігають при цьому свою індивідуальність. Тобто, хроматин – це особлива конформація існування хромосом або їх функціонально активна форма. Хромосоми можна спостерігати у клітині лише під час її поділу, коли проходить спіралізація ниток (фібрил) хроматину, в результаті чого хромосоми стають товщими, але коротшими і стають значно помітнішими.

Перед поділом клітини (наприкінці інтерфази) кожна хромосома складається з двох половинок – хроматид. Хромосома має звужену частину – первинну перетяжку, яка поділяє її на два плеча. Якщо перетяжка знаходиться посередині, хромосому називають рівноплечою, а якщо вона зміщена вбік – різноплечовою. У деяких хромосом на одному з плечей виражена вторинна перетяжка, що відокремлює невелику її ділянку – супутник. Такі хромосоми називають супутниковими. Сукупність всіх хромосом ядра називають хромосомним набором. Він може бути гаплоїдним – одинарним (n), коли в ядрі знаходиться тільки по одній хромосомі однакового розміру, форми, складу ДНК; диплоїдним (подвійним) – коли таких хромосом по дві ($2n$); триплоїдним – по три ($3n$) і т.д. Організми з триплоїдним і вищим набором хромосом називають поліплоїдними. Хромосомний набір є сталим для кожного виду організмів. У клітинах рослин (соматичних клітинах) він частіше диплоїдний ($2n$), а у статевих клітинах (гаметах) – гаплоїдний (n). Наприклад, у статевих клітинах пшениці по 14 хромосом, а у соматичних – 28; у суниці лісової у гаметах по 7 хромосом, а у клітинах організму – по 14. Парні хромосоми називають гомологічними хромосоми. Сукупність усіх ознак хромосомного набору (число, форма і розмір хромосом), типова для виду, називають каріотипом.

Ядерце – щільне сферичне тільце, що зазвичай утворюється в області вторинної перетяжки супутникових хромосом. У ядрі міститься від одного до кількох ядерець діаметром 1-3 мкм. Розмір ядерець залежить від інтенсивності процесу біосинтезу білка. Головна функція ядерця – синтез рРНК. Сполучаючись з білками, що надходять з гіалоплазми, рРНК утворює

субодиниці рибосом, які через пори в ядерній оболонці переміщаються у цитоплазму, де з них на молекулах іРНК відбувається самоскладання рибосом. Саме тому, ядерця відіграють важливу роль у біосинтезі білків клітини. Під час поділу клітини, коли хроматин трансформується у хромосоми, ядерця розпадаються, а після закінчення поділу формуються знову.

Тема 2.2. Похідні протопласту

Похідними протопласту називається сукупність всіх продуктів його життєдіяльності. Основна їх частина зосереджена в цитоплазмі і лише деякі, наприклад, клітинна стінка, відкладаються за її межами. Продукти життєдіяльності протопласту представлені:

1. фізіологічно активними речовинами (білками, ферментами, фітогормонами, вітамінами тощо);
2. продуктами обміну речовин – клітинними включеннями (крохмальними зернами, кристалами та ін.) та речовинами клітинного соку;
3. клітинною стінкою.

Ріст і розвиток клітини, як і всієї рослини в цілому, регулюється групою речовин, що створюються протопластом. Ці речовини представлені ферментами, вітамінами, фітогормонами, фітонцидами, які можуть перебувати в протопласті або видалятися за його межі. Найважливішою особливістю усіх цих речовин – здатність зберігати свою активність за межами клітини під час її руйнування, що дозволяє широко використовувати їх у медицині та промисловому виробництві.

У рослин, на відміну від тварин, немає спеціалізованих органів виділення. Тому кожній клітині рослинного організму доводиться зберігати в собі (у гіалоплазмі, органелах, вакуолі і також клітинній стінці) всі продукти обміну речовин: як тимчасово виведені з обміну (запасні речовини), так і кінцеві його продукти (непотрібний «брак»). Надмірне накопичення таких речовин супроводжується їх відкладенням в аморфному вигляді або у вигляді кристалів – клітинних включень. Запасаючі поживні речовини – продукти первинного обміну, решта – вторинного. Вони відкладаються в клітині у вигляді крохмальних та білкових (алейронових) зерен, крапель жиру. Як правило, вони накопичуються в клітинах запасаючих тканин плодів, насіння, кореневищ, пагонових та кореневих бульб, цибулин, бульбоцибулин тощо.

Основна запасна речовина рослин – крохмаль, що запасається у всіх органах рослини. Легко розщеплюючись до розчинних у воді цукрів, які у вигляді розчину можуть перемішатися по всьому організму крохмаль широко використовується рослиною для синтезу інших органічних речовин та як джерело енергії. Розрізняють асиміляційний (первинний) та запасаючий (вторинний) крохмаль. Первинний крохмаль синтезується в хлоропластах із молекул глюкози, запасаючий – відкладається у лейкопластах. Крохмаль, гідролізується до цукрів і у такому вигляді переміщається по рослині та має назву транзиторного. Заповнені вторинним крохмалем лейкопласти називають амілопластами, або крохмальними зернами. Виділяють три типи крохмальних зерен: прості, напівскладні та складні.

У простих зернах – один центр крохмалоутворення, навколо якого і відкладаються шари крохмалю. У напівскладних зернах декілька центрів, навколо кожного з яких утворюються спочатку індивідуальні шари крохмалю, а пізніше – загальні. У складних зернах кожен центр має лише свої шари крохмалю – загальних немає. Прості крохмальні зерна є типовими для кукурудзи, пшениці, жита; складні для гречки, вівса, рису. Натомість, у клітинах загасаючої тканини бульби картоплі можна зустріти всі три типи крохмальних зерен. Особливо велике значення у житті людини відіграє крохмаль, що міститься в зернівках злаків (кукурудза, пшениця, рис, жито), запасаючих тканинах бульб картоплі і батату, плодів банана тощо.

Жири (ліпіди) – другий за значимістю для рослин тип запасаючих речовин. Оскільки жири вдвічі калорійніші за білки і вуглеводи, то вони представляють найенергетичнішу (вигідну) групу органічних речовин і переважають у запасаючих клітинах – насіння, рідше – плодів. Жири як основна запасаюча речовина містяться в насінні рослин переважної кількості видів (близько 90 %) покритонасінних. Наприклад, насіння арахісу може містити понад 40% масел від маси сухої речовини, соняшнику та маслини – 50 %. Жири відкладаються у цитоплазмі, як правило, у вигляді ліпідних крапель, які іноді розглядають як одномембранні органели і називають у цьому випадку сферосомами, вони можуть відкладатися і в лейкопластах (олеопластах).

Запасаючі білки (протеїни) зазвичай зустрічаються у вигляді алейронових зерен (білкових тілець). Алейронові зерна мають різну форму і розміри (від 0,2 до 20 мкм) і являють собою численні дрібні висохлі вакуолі, заповнені білками, що знаходилися в аморфній та кристалічній формах. Алейронові зерна бувають простими і складними. Прості алейронові зерна містять тільки аморфний білок і є типовими для бобових рослин, гречки, кукурудзи, рису. Складні алейронові зерна містять аморфний білок альбумін, в який занурені кристалоїди білка глобуліну та глобоїди фітину – речовини, що містить важливі для рослини йони фосфору, калію, магнію та кальцію. Такі алейронові зерна утворюються в клітинах запасаючих тканин насіння льону, гарбуза, соняшнику.

Частина кінцевих продуктів обміну речовин може накопичуватися в спеціалізованих клітинах або в спеціальних судинах. Серед них найпоширенішими є ефірні олії, смоли, оксалат кальцію та ін. Ефірні масла є сумішшю органічних безазотистих летких сполук (терпенів та їх похідних – альдегідів, кетонів, спиртів). Вони містяться в тканинах квітів, листків, насіння, плодів, але при цьому не беручи участі в обміні речовин. Нараховують близько 3 тис. видів рослин, що безпосередньо утворюють ефірні олії.

Смоли – комплексні сполуки, що накопичуються у вигляді крапель у цитоплазмі або клітинному соку, але вони можуть виділятися і за межі клітин. Оскільки вони є непроникними для води та володіють антисептичними властивостями, смоли виконують і функцію захисту рослин. Рослинні смоли використовують у промисловості та медицині. Особливо цінною є скам’яніла смола вимерлих хвойних рослин – бурштин. Оксалат кальцію кристалізується у клітинному соку. На відміну від кристалів органічних речовин, він вже не включається в обмін речовин, а є його кінцевим продуктом. Утворюючи

оксалат кальцію, рослина виводить з обмінних процесів надлишки кальцію. Кристали оксалату кальцію представлені: одиночними багатогранниками (сухі луски цибулини цибулі), рафідами – пучками дрібних голчастих кристалів (листки винограду), друзами – шаровидними структурами, що утворені зрощеними кристалами (кореневище ревеню, бульба батату), кристалічним піском (листки пасльонових).

Також у клітинах рослин можна зустріти цистоліти – гроновидні утворення, що утворюються на виступах клітинної стінки та являють собою кристали карбонату кальцію (типові для кропиви і тутових).

Тема 2.3. Клітинний сік і вакуолі

Клітинний сік – водний розчин різних речовин. В цілому це продукти життєдіяльності протопласту, що з'являються і зникають на різних етапах життєдіяльності клітини. Хімічний склад та концентрація клітинного соку залежать від виду рослини та типу тканини, до якої належить клітина. Зазвичай клітинний сік має кислу реакцію. До його складу входять водорозчинні органічні та неорганічні речовини, запасаючі поживні речовини: прості білки і водорозчинні вуглеводи; речовини, що забезпечують захист клітини та її контакти з іншими організмами: алкалоїди, глікозиди, пігменти; осмотично активні сполуки: солі неорганічних та органічних кислот. Тут же ізолюються непотрібні протопласту кінцеві продукти обміну речовин.

Спектр речовин, що входять до складу клітинного соку, найповніше представлений водорозчинними вуглеводами. Особливе значення мають цукри: глюкоза, фруктоза, сахароза. Вони є основними джерелами енергії в клітині і є типовими запасаючими речовинами. У вакуолях клітин запасаючих тканин топінамбура і стахіса Зібольда накопичується багато водорозчинного полісахариду інуліну, що значно підвищує концентрацію клітинного соку, запобігає його замерзанню в зимовий період і дозволяє бульбам зимувати безпосередньо в ґрунті.

Водночас, роль глікозидів, що містяться в клітинному соку (ефіроподібних моносахаридів зі спиртами та іншими речовинами) є не зовсім зрозумілою. Деякі з них, безумовно, можуть захищати рослину від поїдання тваринами внаслідок токсичної дії (амигдалін, дигіталін), гіркого смаку (синигрин) або неприємного різкого запаху (кумарин). Пігменти клітинного соку, що відносяться до глікозидів забезпечують забарвлення квітів та плодів, сприяючи відповідно їх запиленню та поширенню. Найбільший інтерес становлять пігменти антоціани, здатні змінювати забарвлення залежно від реакції клітинного соку: у кислому середовищі воно червоне, у нейтральному – фіолетове, у лужному – синє. Саме цими пігментами зазвичай обумовлене настільки різноманітне забарвлення квітів (васильок, герань, дельфініум, мак, півонія, шипшина) та плодів (виноград, вишня, слива, смородина). Червоно-фіолетовий пігмент бетаїн забарвлює листки та коренеплоди столових буряків.

Дубильні речовини, що накопичуються в клітинному соку, володіють антисептичними властивостями та захищають рослини від патогенних бактерій

і грибів. Дуже багато дубильних речовин міститься у корі дуба та листках чаю (до 20 %). Здавна дубильні речовини використовуються для дублення шкіри.

Алкалоїди (органічні основи, що містять нітроген) знаходяться у клітинному соку у вигляді солей органічних кислот. Сильно токсичні і пекучі на смак, вони, очевидно, як і глікозиди, захищають рослини від травоїдних тварин. Широко застосовуються в медицині у якості ліків різного спектру дії: болезаспокійливі (кокаїн, морфін), антималярійні (хінін), судинорозширюючі (атропін) та ін. Інсектицидними властивостями володіють анабазин і нікотин.

Клітинний сік накопичується у вакуолях – порожнинах, утворених цистернами ЕПС. В утворенні вакуолей приймає участь і апарат Гольджі, в диктіосомах якого ізолюються продукти вторинного обміну. За допомогою бульбашок Гольджі вони доставляються до вакуолі, де вміст бульбашки поповнює склад клітинного соку, а мембрана бульбашки забезпечує поверхневий ріст мембрани вакуолі – тонопласту. У процесі життєдіяльності клітини численні дрібні вакуолі зливаються між собою, утворюючи одну велику центральну вакуолю. У зрілій клітині вона займає до 70-90 % її обсягу (протопласт розташовується в такій клітині пристінно).

Вакуоля – не лише місце зберігання різноманітних речовин, а й органела, що відіграє важливу роль у підтримці клітини у стані тургору та регуляції водно-сольового обміну. При достатній обводненості клітини вода надходить у вакуоль шляхом дифузії – руху молекул з області їх високої концентрації в область низької, тобто за градієнтою концентрації. При вирівнюванні концентрації рух молекул зупиняється і дифузію води через мембрану за градієнтом концентрації називають осмосом (рис. 2.11). В результаті осмосу молекули води переміщуються з розчину із низькою концентрацією розчинених речовин (гіпотонічного) в розчин з вищою їх концентрацією (гіпертонічний) до тих пір, поки концентрації розчинів не зрівняються (вони стануть ізотонічними).

Провідну роль у реалізації осмосу в рослинній клітині відіграють вакуолі. Якщо концентрація клітинного соку вище, ніж у гіалоплазми, то вода з неї надходитиме у вакуолю. Збільшуючись при цьому в розмірах, вакуоль починає давити на протопласт, притискаючи його до клітинної стінки і тим самим створюючи тургорний тиск. Досить пружна клітинна стінка чинить у цьому випадку зворотний тиск на протопласт – тургор ний натяг, що збільшується по мірі надходження води у клітину. Надходження води у клітину лімітується еластичним розтягом клітинної стінки – при досягненні її межі вода перестає поступати у клітину. Напружений стан клітинної стінки, що створюється внутрішньоклітинною рідиною називається тургором. Клітина у стані тургору має найбільший обсяг, але найменшу концентрацію клітинного соку та максимальний тургорний натяг.

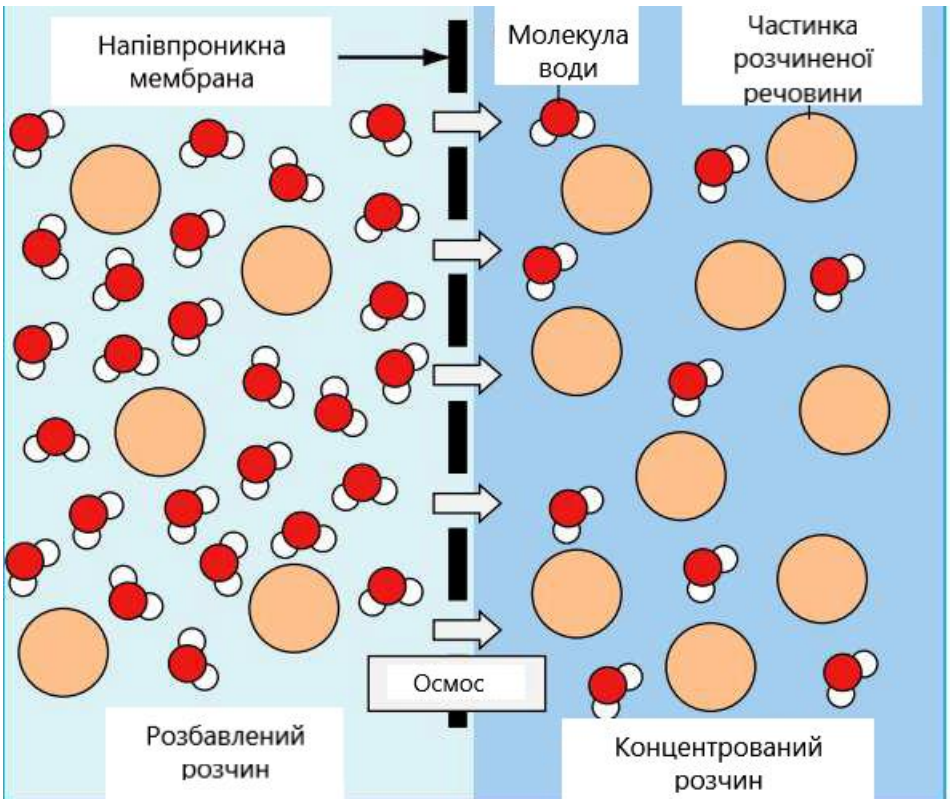


Рис. 2.11. Схема проходження процесу осмосу

Стан тургору – нормальний фізіологічний стан клітини. Він відіграє величезну роль у житті рослини. Завдяки тургору органи рослини підтримують свою форму і зберігають оптимальний фізіологічний стан у просторі, протистоять різним механічним впливам. При переміщенні клітини, що знаходиться в стані тургору, розчин з вищою концентрацією, ніж концентрація її клітинного соку (з вищим осмотичним тиском), вода почне швидко виходити з клітини. Зменшення обсягу вакуолі призводить до зниження її тиску на протопласт, а останнього – на клітинну стінку. Скорочення поверхні клітинної стінки призводить до зменшення розміру власне клітини. Коли розмір клітини досягає мінімуму, а зменшення обсягу протопласту через втрату води продовжується, то, стискаючись, він може спочатку локально – місцями, а потім і повністю відокремитися від клітинної стінки. Такий протилежний тургору стан клітини називають плазмолізом (рис. 2.12). Якщо клітину в стані плазмолізу помістити у чисту воду, то вона може повернутись у стан тургору, тобто відбудеться деплазмоліз. У цьому випадку має місце оборотний плазмоліз. Коли протопласт через втрату води повністю відокремлюється від клітинної стінки, клітину у стан тургору повернути вже неможливо – настає необоротний плазмоліз, внаслідок якого протопласт гине. Наслідки плазмолізу можна спостерігати при недостатньому поливі рослин – їх листки опускаються і в'януть.

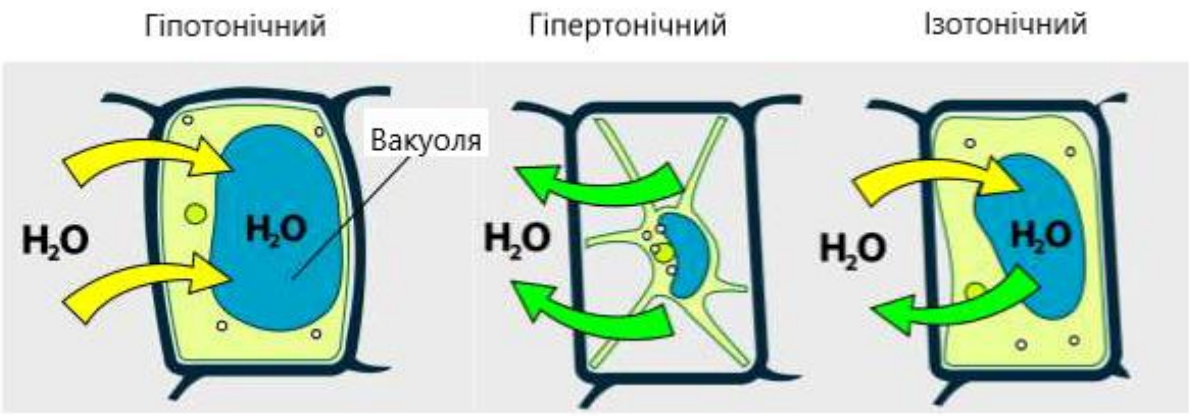


Рис. 2.12. Схема плазмолізу: клітина у стані тургору, повний плазмоліз, деплазмоліз

Тема 2.4. Клітинна стінка

Клітинна стінка є похідним протопласту, тобто формується в процесі його життєдіяльності. Вона надає клітині визначеної форми, захищає протопласт і протистоїть внутрішньоклітинному тиску, що запобігає розриву клітин. Виконуючи функції внутрішнього скелета рослини, стінки клітин надають його органам необхідну механічну міцність. Клітинні стінки добре пропускають сонячне світло, за ними легко переміщуються вода і розчинені в ній мінеральні сполуки. Між стінками сусідніх клітин знаходиться серединна перетинка – пектиновий прошарок, що є міжклітинною речовиною, що скріплює між собою стінки сусідніх клітин. У тих місцях, де клітинні стінки сусідніх клітин не сполучаються, то утворюються заповнені водою міжклітинники. Процес руйнування міжклітинної речовини, в результаті якої стінки сусідніх клітин роз'єднуються, називається мацерацією. Природну мацерацію можна спостерігати в перезрілих плодах яблуні, горобини, дині, а штучну мацерацію проводять наприклад, при вимочуванні стебел льону для відділення з них луб'яних волокон; відбувається вона також і за термічної обробки плодів.

До складу клітинної стінки входять полісахариди: пектини, геміцелюлоза та целюлоза. Дуже довгі молекули целюлози упорядковано розташовані паралельно один одному (по 40-60 шт), утворюючи міцели. Міцели зібрані в пучки – мікрофібрили і являють собою основну структурну одиницю целюлози. Завдяки пектинам та геміцелюлозі клітинна стінка є високопроникною для води – вода і розчинені в ній речовини легко пересуваються нею від клітини до клітини.

Клітинна стінка прилягає зовні до плазмалеми, яка приймає активну участь у її рості. Молекули пектинів, геміцелюлози, целюлози та інших речовин синтезуються і накопичуються в цистернах диктіосом апарату Гольджі. Бульбашки апарату Гольджі доставляють їх до периферії протопласту – до плазмалеми. Наростання клітинної стінки здійснюється за рахунок ферментативної діяльності плазмалеми. Стінки клітин, що діляться і ростуть, називають первинними. Вони містять багато води (60-90 %), а у їх сухій речовині переважають пектини та геміцелюлоза – целюлози у них не більше 30 %.

У первинній клітинній стінці спочатку є тонші ділянки, де фібрили целюлози розташовуються у рихлі первинні порові поля, які у двох сусідніх клітин зазвичай збігаються. Тут із однієї клітини до іншої проходять канальці ЕПС – плазмодесм. Шляхи, якими плазмодесми проходять з однієї клітини до іншої називають плазмодесмовими канальцями. Через ці канальні з'єднуються між собою і гіалоплазми сусідніх клітин. По плазмодесмам здійснюється міжклітинний транспорт речовин (гормонів, амінокислот, АТФ, цукрів та ін.). Об'єднані в єдине ціле за допомогою плазмодесм протопласти клітин організму називають симпластом, відповідно і транспорт речовин по плазмодесмам називають симпластним. Сукупність клітинних стінок, серединної пластинки та міжклітинників називають апопластом і ними йде апопластний транспорт речовин. Після завершення росту клітини її стінка може залишатися тонкою первинною або починати наростати у товщину. Наростання клітинної стінки в товщину називається вторинним потовщенням. Вторинне потовщення клітинної стінки відбувається нерівномірно. Ділянки вторинної клітинної стінки у місцях розташування первинних порових полів зазвичай залишаються не потовщеними і саме їх називають порами.

У стінках клітин, що проводять воду, окрім пор, можуть утворюватися – наскрізні отвори (членики судин, водозапасаючі клітини моху сфагнуму тощо).

Залежно від виконуваних клітиною функцій її стінка може видозмінюватися завдяки відкладання у ній будь-яких речовин. Формалізовані її видозміни:

- здеревнення;
- коркування;
- кутинізація;
- мінералізація;
- ослизнення.

Здеревніння клітинної стінки, або лігніфікація, відбувається внаслідок відкладення у міжміцелярні проміжки лігніну – речовини ароматичної природи зі складною хімічною будовою. Міцність і твердість стінки при цьому зростає, але еластичність її зменшується. Така стінка може пропускати воду та повітря. У дерев'яній клітинній стінці протопласт клітини може залишатися живим, але зазвичай відмирає. У деяких деревних рослин у деревині накопичується до 30% лігніну. Лігнін може накопичуватися і в стінках клітин старіючих пагонів трав, що значно знижує їхню кормову цінність і визначає терміни заготівлі сіна.

Коркування або суберинізація, – відкладання у клітинну стінку стійкої жироподібної аморфної речовини суберину (гідрофобного полімеру). Корковані стінки клітини є непроникними для газів та води, що викликає загибель протопласту. Клітини з коркованими стінками надійно захищають рослини від втрат води, екстремальних температур, патогенних бактерій та грибів.

Кутинізація – відкладання у стінках клітин кутину (речовини, близької за хімічним складом до суберину). Кутин зазвичай відкладається у поверхневих шарах зовнішніх стінок клітин і на їх поверхні. У вигляді плівки – кутикули – він покриває, наприклад, поверхня клітин покривних тканин – епідерми.

Мінералізація стінки клітини відбувається завдяки відкладанню у ній солей кальцію та кремнезему. Ці речовини надають стінці твердості та крихкості. Особливо добре виражений процес мінералізації в стінках клітин епідерми пагонів злаків, осок, хвощів.

Ослизнення – перетворення целюлози та пектинів клітинної стінки в спеціальні полісахариди – слиз і камедь, що здатні до сильного набухання при зіткненні з водою. Ослизнення стінки спостерігається у клітин шкірки насіння, наприклад у айви, льону, огірка, подорожника. Клейкий слиз може сприяти поширенню насіння (подорожник); при проростанні насіння слиз, поглинаючи і утримуючи воду, захищає їх від висихання. У кореневому чохлику слиз відіграє роль мастила, що полегшує проходження кореня між грудочками ґрунту. Слиз і камедь можуть утворюватися в значних кількостях при розчиненні клітинних стінок внаслідок їх пошкодження. У вишні та сливи часто спостерігається виділення камеді при пораненні гілок та стовбуру. Так званий вишневий клей є застигаючою у вигляді напливів камедь, що вкриває поверхню ран, морозобоїн, запобігаючи проникненню у них інфекцій. Ослизнення такого характеру називають гумозом і вважають явищем патологічним.

Тема 2.5. Онтогенез клітин рослин

У багатоклітинного рослинного організму клітини, які утворилися у процесі мітозу мають однаковий набір генів, тобто, проявляють однакові спадкові властивості. З кожної з них може розвинутися цілісний організм. Властивість клітин реалізовувати всю генетичну інформацію, що міститься в хромосомах, яка забезпечує їх диференціювання, тобто здатність ставати клітиною будь-якої тканини організму, і навіть розвиток до цілого організму називається тотипотентністю. Завдяки тотипотентності із зиготи в ході свого онтогенезу (життєвого циклу) розвивається багатоклітинна рослина з багатьма типами різних за будовою та виконуваних клітинами функцій.

Онтогенез (життєвий цикл) клітини – це розвиток клітини від її виникнення до наступного поділу чи відмирання. В ньому можна виділити основні фази: ініціальну, фазу росту, фазу диференціації, фазу зрілості, фазу старіння та фазу відмирання клітини. В ініціальній фазі знаходяться клітини меристем, онтогенез яких збігається із мітотичним циклом. Серед них виділяють ініціальні клітини, які постійно зберігають здатність до поділу та похідні ініціальних клітин, поділ яких обмежується певною кількістю разів. У фазу росту переходять клітини, що перестали ділитися і залишилися в пресинтетичному періоді інтерфази. Обсяг таких клітин значно збільшується (іноді в 100 разів) в основному за рахунок збільшення обсягу вакуолей і формування однієї центральної вакуолі, оточеної цитоплазмою. Ядро регулює діяльність клітини за допомогою білків-ферментів. У клітин, що вступили у фазу диференціації, починають утворюватися структури, специфічні для клітин будь-якої постійної тканини рослини, у складі якої клітина буде функціонувати і надалі. У клітинах фотосинтезуючої тканини розвиваються хлоропласти, а у клітин механічної тканини значно потовщуються вторинні клітинні стінки. Клітини, що знаходяться у фазі зрілості, мають яскраво виражені особливості

будови, що відображаються на їх функціях. Тривалість цієї фази різна у клітин різних тканин. Клітини поглинальної тканини кореня (ризодерми) живуть всього кілька днів, клітини покривної тканини бруньок (епідерми) – один вегетаційний період, а клітини запасаючих тканин можуть прожити кілька років. Фаза старіння клітини характеризується ослабленням протікання життєвих процесів і прогресуючим спрощенням будови. Обсяг цитоплазми зменшується, а число органел скорочується у результаті їх само лізису (функціонує лізосомний клітинний компартмент). Зрештою протопласт повністю відмирає і в результаті автолізу зникає – від клітини залишається тільки її стінка.

Таким чином, клітина рослини, як і будь-яка інша жива система, народжується, росте, набуває специфічної будови, функціонує та відмирає у визначені терміни. Вихід рослинної клітини з мітотичного циклу, її диференціація та функціонування як клітини постійної тканини можуть бути тимчасовими. У разі потреби (при пошкодженні органів рослини) клітини постійних тканин дедиференціюються: у них зникає центральна вакуоля та специфічні органели (наприклад пластиди). Ці клітини переходять у синтетичний період інтерфази і повністю проходять свій клітинний цикл, утворюючи дочірні клітини, тобто повертаються в ініціальну фазу онтогенезу. Завдяки роботі цих клітин нанесені рослині пошкодження та поранення заростають новими постійними тканинами. Здатність до дедиференціації – важлива властивість рослинних клітин, що забезпечує регенерацію рослини (відновлення з будь-якої окремої частини) та її вегетативне розмноження.

Лабораторна робота № 1.

Визначення явища плазмолізу і деплазмолізу в клітинах цибулі

Наразі явище плазмолізу широко використовується в експериментальній цитології та фізіології рослин для визначення осмотичного потенціалу, в'язкості цитоплазми, клітинної проникності, доведення життєздатності рослинних клітин тощо. Для спостереження явища плазмолізу клітини поміщають у розчин плазмолітика, наприклад, угіпертонічний сольовий розчин (коли концентрація зовнішнього розчину вища за концентрацію клітинного соку). У цьому випадку виникає осмотичний тік води з клітин, що призводить до зменшення об’єму протопластів і їх відокремлення від клітинних стінок (власне плазмоліз). Еластична цитоплазма поступово скорочується за вакуолею, а клітинна оболонка лише втрачає напружений стан, але не скорочується, тому між нею і протопластом виникає проміжок, що заповнюється зовнішнім розчином. Плазмоліз, процес характерний тільки живим клітинам, є оборотним. Отже, **плазмоліз**– це зменшення об’єму протопласту живої клітини з подальшим відставанням цитоплазми від оболонки, що відбувається за дії гіпертонічних розчинів.

Час плазмолізу– це проміжок часу від занурення клітин у гіпертонічний розчин до появи опуклого плазмолізуу понад половини клітин у полі зору мікроскопа. Час плазмолізу знаходиться у прямій залежності від в'язкості

цитоплазми. Чим нижче в'язкість, тим легше цитоплазма відстає від клітинної оболонки і проміжний, увігнутий плазмоліз швидше переходить в опуклий, тобто час плазмолізу менше (рис.2.13).

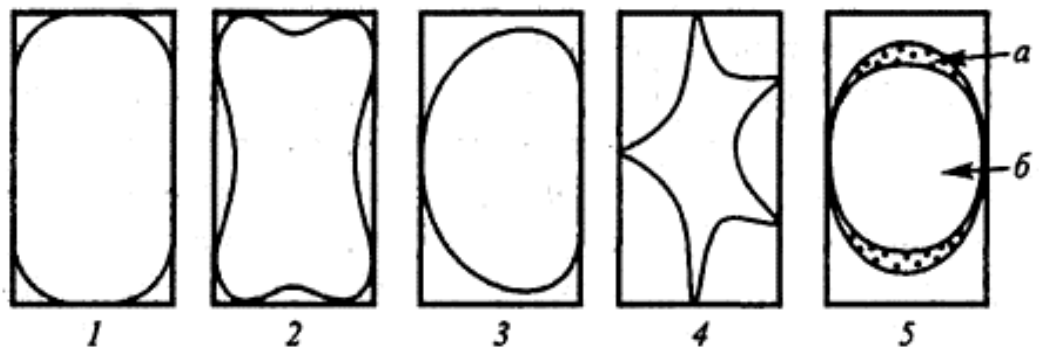


Рис. 2.13.Форми плазмолізу: 1 − кутовий; 2 − увігнутий; 3 − опуклий; 4 − спазматичний; 5 − ковпачковий (а − цитоплазма, б − вакуоля).

У разі створення гіпотонічного розчину(коли концентрація зовнішнього розчину нижча за концентрацію клітинного соку)за допомогою води, градієнт водного потенціалу змінює свій напрямок, вода починає надходити з розчину у вакуоль, тобто у клітині відбувається **деплазмоліз**− відновлення протопластом попереднього стану, порушеного плазмолізом.

Однак подібне явище може виникати і в тому випадку, коли клітина знаходиться в розчині плазмолітика тривалий час, а розмір його молекул невеликий (наприклад, гліцерин і сечовина), вони проникають через пограничні мембрани цитоплазми (плазмалему і тонопласт), накопичуються у вакуолі, підвищують концентрацію клітинного соку і викликають зворотний тік води у клітину, тобто відбувається явище самовільного деплазмолізу.

У зів’ялих рослин плазмоліз не відбувається, натомість спостерігається явище **циторизу**, коли плазмалема не відокремлюється від оболонки і клітина зморщується. Плазмоліз доцільно спостерігати у рослин із забарвленим клітинним соком, тому що сама цитоплазма безбарвна.

Мета роботи: визначити особливості проходження явища плазмолізу і деплазмолізу у рослинних клітинах.

*Предмети і матеріали.*Скляні палички, препарувальні голки, бритви чи скальпелі, пінцети, мікроскоп, фільтрувальний папір, предметні та покривні скельця,1 М розчин NaCl, цибулина *Allium cepa*, у клітинах епідермісу якої міститься антоціан.

Хід роботи:

1. Відокремити шматочок тонкої зовнішньої плівки досліджуваного об'єкта (зріз нижнього епідермісу листка традесканції та епідерміс опуклої сторони луски синьої цибулі). Помістити на предметне скло у краплю води, накрити накривним склом і розглянути початковий стан клітин під мікроскопом.

2. З однієї сторони препарату фільтрувальним папером відтягнути воду, а з протилежного нанести піпеткою краплину 1 М розчину NaCl. Поступово плазмолітик почне надходити у клітину − настає плазмоліз.

3. Піпеткою біля накривного скла нанести воду і фільтрувальним папером протягнути воду крізь препарат. Вода поглинається клітинами і внутрішній вміст поступово заповнює всю клітину, яка повертається до свого попереднього стану − деплазмоліз, а стан клітини називається тургесцентним.

4. Результати роботи занести у таблицю 2.1 (зробити малюнки клітин у стані плазмолізу та деплазмолізу, відзначити час їх настання).

Таблиця 2.1

Розчин	**Загальний вид клітини (малюнок)**		**Час плазмолізу, хв**		**Час деплазмолізу, хв**	
	Традесканція (1)	Синя цибуля (2)	(1)	(2)	(1)	(2)
1 М NaCl						
Вода						

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Що міститься між оболонкою клітини і плазмолізованим протопластом?
2. Чому плазмоліз спостерігається тільки в живих клітинах?
3. Які осмотично активні речовини містить вакуолярний сік?
4. Чи можна спостерігати плазмоліз у тваринних клітинах і чому?
5. Яку роль у клітинах при плазмолізі відіграють цитоплазматичні мембрани?

Лабораторна робота № 2.

Визначення потенційного осмотичного тиску клітинного соку плазмолітичним методом

Клітинний сік− водний розчин різних органічних і неорганічних речовин. Потенційне значення осмотичного тиску залежить від числа частинок, що знаходяться у цьому розчині, тобто від концентрації і ступеня дисоціації розчинених молекул. Потенційний осмотичний тиск виражає максимальну здатність клітини втягувати воду. Величина цього показника вказує на можливість рослини зростати на ґрунтах різної водоутримуючої сили. Підвищення осмотичного тиску за дії посухи служить критерієм зневоднення рослин і необхідності негайного поливу. Даний метод заснований на підборі такої концентрації зовнішнього розчину, яка викликає найбільший початковий (кутовий) плазмоліз у клітинах досліджуваної тканини. В цьому випадку

осмотичний тиск розчину приблизно дорівнює осмотичному тиску клітинного соку. Такий зовнішній розчин називають **ізотонічним**.

Залежно від в'язкості цитоплазми у клітинах луски синьої цибулі осмотичний тиск має значення, як правило, від 300 до 1300 кПа. Потенційний осмотичнийтиск визначається за **формулою Вант-Гоффа:**

$$P = R \cdot T \cdot c \cdot i, \text{де}$$

R − універсальна газова стала, 8,314 Дж/моль · К;

Т − абсолютна температура К (273+ t^oC);

с − ізотонічна концентрація розчину, М;

і − ізотонічний коефіцієнт Вант-Гоффа.

Коефіцієнт Вант-Гоффа характеризує іонізацію розчинів:

$$I = 1 + \alpha \cdot (n - 1), \text{ де}$$

α − ступінь дисоціації розчину даної концентрації;

n −кількість іонів, на яку дисоціює сіль.

Так як неелектроліти **не дисоціюють**, для сахарози і = 1. Ступінь дисоціації NaCl різної концентрації становить:

Концентрація	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Коефіцієнт Вант-Гоффа	0,65	0,71	0,74	0,76	0,79	0,83

Мета роботи: визначити осмотичнийтиск клітинного соку синьої цибулі плазмолітичним методом.

Предмети і матеріали.Скляні палички, препарувальні голки, бритви чи скальпелі, пінцети, мікроскоп, фільтрувальний папір, предметні та покривні скельця,1 М розчин NaCl, цибулина *Allium cepa*, у клітинах епідермісу якої міститься антоціан.

Хід роботи:

1. Приготувати 6 розчинів NaClпо 10 мл з концентрацією від 0,6 до 0,1 моль/л. Для цього необхідно взяти 1 М розчин NaCl і розбавити необхідною кількістю дистильованої води, щоб отримати відповідні концентрації (табл. 2.2). Розчини ретельно перемішати, закрити пробками, щоб попередити випаровування і залишити на лабораторному столі у порядку зниження концентрації.

Таблиця 2.2

Концентрація розчину, моль/л	**1 М розчин NaCl, мл**	**Дистильована вода, мл**
0,6	6	4
0,5	5	5
0,4	4	6
0,3	3	7
0,2	2	8

0,1	1	9

2. Зробити 6 зрізів епідерми луски синьої цибулі розміром до 25 мм^2 з середньої оптимально забарвленої ділянки. Зрізи одрази помістити у відповідні пробірки з розчинами різних концентрацій починаючи з найвищої, щоб зразки не підсихали на повітрі.

3. Через 15 хвилин зрізи дістати у тій послідовності, в якій вони поміщалися у пробірки по черзі. Помістити зразки на предметне скло у краплю того розчину у якому вони містилися, накрити покривним і розглянути під мікроскопом. Визначити стадію плазмолізу клітин і знайти ізотонічну концентрацію, якабуде мати середнє значення між концентрацією, при якій плазмоліз тільки почався, і концентрацією, яка вже не викликає плазмолізу.

4. Результати занести у таблицю 2.3, зробити відповідні малюнки, на основі визначеної ізотонічної концентрації розрахувати осмотичний тиск.

Таблиця 2.3

Концентрація розчину, моль/л	**Ступінь плазмолізу**	**Малюнок**	**Тип розчину**
0,6			
0,5			
0,4			
0,3			
0,2			
0,1			

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Чому розчини електролітів мають вищий, порівняно з неелектролітами, осмотичний тиск?
2. Чи можна відібрати воду від плазмолізованої клітини?
3. Чому під час тривалих дощів плоди абрикосу та вишні розтріскуються?

Лабораторна робота № 3.

Визначення проникності живого і мертвого протопласту для клітинного соку

Мембрани − система динамічних спеціалізованих структур, що відокремлюють клітину від зовнішнього середовища та утворюють у клітині відсіки, відносно ізольовані один від одного. Мембрани складають 2/3 сухої маси клітини і складаються, переважно, з білків та ліпідів згідно з рідинно-мозаїчною теорією розвитку.

Проникність протопласта пов'язана з його структурною різноякісністю. У протопласті живої клітини є три обмежених шари: **зовнішній**, що прилягає до целюлозної оболонки клітини − плазмалема, **середній** − мезоплазма і **внутрішній**, який являє собою мембрану вакуолі − тонопласт. Плазмалема і тонопласт мають мембранну будову і володіють властивістю напівпроникності. Проникність протопласта непостійна, вона залежить від зовнішніх чинників і фізіологічного стану самої клітини. Таким чином, живий протопласт здатний регулювати транспорт речовин і утримувати деякі з них у складі клітинного соку всередині вакуолі. При пошкодженні протопласт втрачає властивість вибіркової проникності, і тому речовини, що містяться у клітинному соку, вільно виходять з клітини. **Коагуляцію або згортання протопласта** викликають такі чинники як високі і низькі температури, наркотичні речовини, активні хімічні сполуки, отрути тощо.

*Мета роботи:*визначити проникність протопласту клітини столового буряка за дії температури та хімічних речовин

*Предмети і матеріали.*Скляні палички, скальпелі, пінцети, свердла, фільтрувальний папір, водяна баня, 30-% оцтова кислота, 50-% етиловий спирт, 50-% гліцерин, ацетон, 75-% перекис водню, 50-% ТХО (3-хлороцтова кислота), концентрована соляна кислота, коренеплід столового буряка.

Хід роботи:

1. Із свіжого коренеплоду столового буряка нарізати пластинки товщиною 0,5 − 0,8 мм, а потім свердлом вирізати квадрати 0,5*0,5 мм і аналогічно зробити квадрат з коренеплоду, що 24 години знаходився у морозильній камері. Ретельно промити отримані зразки водою для вимивання β-аланінів із пошкоджених клітин.

2. Отримані зразки помістити у 10 пробірок, до яких додати:

- 1 пробірка − 6 мл дистильованої води зі свіжим зразком (контроль);
- 2 пробірка − 6 мл дистильованої води зі зразком з морозильної камери;
- 3 пробірка − 6 мл дистильованої води і нагріти на водяній бані, гарячу воду злити і залити холодною;
- 4 пробірка − 6 мл 30-% оцтової кислоти;
- 5 пробірка − 6 мл 50-% етилового спирту;
- 6 пробірка − 6 мл 50-% гліцерину;
- 7 пробірка − 6 мл ацетону;
- 8 пробірка − 6 мл 75-% перекису водню;
- 9 пробірка − 6 мл 50-% ТХО (3-хлороцтової кислоти);
- 10 пробірка − 6 мл концентрованої соляної кислоти.

3. Через 10 хвилин пробірки перемішати, порівняти колір рідини і заповнити таблицю 2.3.

Таблиця 2.3

Варіант досліду	Інтенсивність забарвлення рідини
Контроль	
Вода + ↓ температура	
Вода + ↑ температура	
30-% оцтова кислота	
50-% етиловий спирт	
50-% гліцерин	
Ацетон	
75-% перекис водню	
50-% ТХО	
Соляна кислота (конц.)	

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Які чинники, окрім визначених, впливають на проникність мембран?
2. Чому після перших морозів змінюється колір листків і пелюсток у жоржини та інших квітів?

Лабораторна робота № 4.

Визначення сисної сили (водного потенціалу) тканин рослин за зміною їх розмірів (метод Уршпрунга)

Сила, з якою клітина у даний момент втягує воду, називається **сисною**. Сисна сила клітини (S) залежить від її фізіологічного стану та від зовнішніх умов. У насінні, що знаходиться у стані спокою та меристематичних клітинах вона обумовлена, переважно, тиском набухання колоїдів протоплазми і пектинових речовин клітинних оболонок. У клітинах, які припинили ріст і мають велику центральну вакуолю, сисна сила у значній мірі визначається **величиною осмотичного тиску клітинного соку Р** і **тургорного тиску Тт**, що в свою чергу залежить від еластичності клітинної оболонки і вмісту води у клітині.

Осмотичний тиск навколишнього розчину (Р) дорівнює: Р = R · Т· С ·і.Сисна сила клітини зазвичай дорівнює різниці осмотичного тиску клітинного соку і тургорного тиску: **S кл. = Р –Тт або Р**(в ізотонічному розчині)**.**

Залежно від насичення клітини водою величина тургорного тиску буде змінюватися, а відповідно зміниться і сисна сила клітини.Водообмін між клітиною і навколишнім середовищем визначається співвідношенням сили, що визначає сисну силу клітини і осмотичним тиском зовнішнього розчину. Поглинання або віддача води клітинами супроводжується зміною як їх розмірів і ваги, так і концентрації навколишнього розчину. При зануренні шматочка тканини рослин у розчин з високим осмотичним тиском вода з клітини надходить у розчин і розміри шматочка зменшуються (Тт = 0, отже, S = Р). Якщо сисна сила клітини вища, ніж Р навколишнього розчину, та клітина втягує воду і шматочок тканини збільшується. У випадку рівного розподілу сили, що втягує тканина і Р навколишнього розчину між виходом і надходженням води в клітину, встановлюється рівновага, і розміри шматочка тканини не змінюються. Тому, завдання роботи зводиться до того, щоб із серії розчинів знайти такий, осмотичний тиск якого був рівний сисній силі клітин тканини. Знаючи, що Sкл. = Ррозч., легко знайти осмотичний тиск і розрахувати його, знаючи молярну концентрацію.

Однак сьогодні для характеристики **енергетичного рівня молекул води** (їх здатності дифундувати або випаровуватися) використовується термодинамічний показник − **водний потенціал**, який для чистої води прийнятий за нуль ($\Psi_{H2O} = 0$), а для будь-якого розчину − менше нуля. При заміні осмотичних показників (Sкл. = Ркл.соку - Тт) на термодинамічні, це рівняння прийме наступний вигляд:

$$-\Psi_{H2Oкл} = -\Psi р + \Psi гп, \text{ де}$$

$\Psi_{H2Oкл}$ − водний потенціал клітини;

Ψр − осмотичний потенціал клітинного соку;

Ψгп − гідростатичний потенціал.

З рівняння видно, що осмотичний потенціал знижує водний потенціал клітини, а потенціал тиску підвищує його. Як правило, Ψ_{H2O} клітини є негативним, і лише при повному насиченні клітини водою, коли Ψгп = Ψр, цей показник дорівнює нулю.

При зануренні рослинної клітини у будь-якої розчин водообмін між ними визначається співвідношенням їх водних потенціалів: вода переміщається в сторону нижчого водного потенціалу, тобто в бік більшої сисної сили.

Мета роботи: визначити сисну силу, осмотичний тиск та ступінь тургору клітин рослинних тканин картоплі та столового буряка.

*Предмети і матеріали.*Скляні палички, препарувальні голки, бритви чи скальпелі, пінцети, лінійка, фільтрувальний папір, предметні та покривні скельця,1 М розчин NaCl, бульба картоплі та коренеплід столового буряка

Хід роботи:

1. Приготувати 6 розчинів NaClпо 10 мл з концентрацією від 0,6 до 0,1 моль/л. Для цього необхідно взяти 1 М розчин NaCl і розбавити необхідною кількістю дистильованої води, щоб отримати відповідні концентрації (див. табл. 2.1). Розчини ретельно перемішати, закрити пробками, щоб попередити випаровування і залишити на лабораторному столі у порядку зниження концентрації.

2. Вирізати з бульби картоплі і коренеплоду буряка (впоперек поздовжньої осі) пластинку товщиною 3-4 мм у формі прямокутника розміром 30х40 мм.За допомогою леза і лінійки розрізати підготовлену пластинку на 6 однакових смужок величиною 3х40 мм (нарізати смужки слід швидко, не допускаючи усихання). Надлишки клітинного соку, що утворюються при розрізаннітканини, видалити фільтрувальним папером. Підготовлені смужки одразу занурити у відповідні розчини. Значення довжин смужок до досліду записати у таблицю (табл. 2.4).

3. Через 15 хвилин дістати смужки і повторно виміряти їх довжину. Дані після досліду занести у таблицю і розрахувати сисну силу, осмотичний тиск та ступінь тургору клітин.

Таблиця 2.4

Концентрація NaCl, моль/л	**Смужки ДО досліду, мм**	**Смужки ПІСЛЯ досліду, мм**	**Осмотичний тиск, Па**	**Ступінь тургору**
Картопля				
0,6				
0,5				
0,4				
0,3				
0,2				
0,1				
Столовий буряк				
0,6				
0,5				
0,4				
0,3				
0,2				
0,1				

Визначення осмотичного тиску і сисної сили (розраховується тільки для ізотонічної концентрації):

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Яке значення матиме водний потенціал, якщо клітина буде повністю насичена водою?

2. Що станеться з хлоропластом, якщо помістити його у дистильовану воду і чому?

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу

1. Особливості будови рослинної клітини. Функціональна роль органоїдів клітин, типових для рослин (пластиди, вакуоля, клітинна стінка). Симбіотична теорія походження пластид та мітохондрій.

2. Немембранні та мембранні структури клітини. Фізіологічна роль мембран та проникність клітин для різних сполук.

3. Хімічний склад рослинної клітини. Органічні та неорганічні речовини рослинної клітини. Нуклеїнові кислоти, ліпіди та вуглеводи, функції, біологічна роль.

4. Мінеральний склад клітини.

5. Подразливість, неспецифічні реакції клітини на зовнішні впливи, їх використання для діагностики стану рослин.

6. Рослинна клітина як осмотична система. Явище плазмолізу та тургору.

РОЗДІЛ 3. ФОТОСИНТЕЗ

Тема 3.1. Загальне поняття про фотосинтез

3.1.1. Значення процесу фотосинтезу у природі і житті людей

Фотосинтез є єдиним процесому біосфері, котрий призводить до збільшення вільної хімічної енергії за рахунок зовнішнього її джерела. Енергія, яка утворюється у продуктах фотосинтезу складає основну частину (90 %) енергії, яку використовує людство і всього лише 10 % припадає на енергію річок, вітру і невідновлювальних джерел. У результаті фотосинтезу, щорічно на Землі утворюється майже 150 мільярдів тон органікий виділяється близько 200 мільйонів тон молекулярного кисню. Кругообіг вуглецю, кисню та інших хімічних елементів, що беруть участь у фотосинтезі, підтримує сталий газовий склад атмосфери, необхідний для підтримання життя на планеті Земля. Процес фотосинтезу попереджує підвищення концентрації CO_2, чим запобігає зростання температури на поверхні планети та в атмосфері Землі унаслідокрозвитку парникового ефекту, а також падінню рівня pH водойм через розчинення надлишку вуглекислого газу у воді з утворенням кислоти HCO_3.

Оскільки рослини – це безпосереднє чи опосередкованеджерело живлення усіх гетеротрофних організмів, фотосинтез забезпечує їжею усі живі організми на нашій планеті. Цей процес є найважливішою основою сільського і лісового господарств. Можливості впливу на ефективність протікання фотосинтезулюдиною не значні, але все ж таки підвищення продуктивності рослинних організмів все ж можливе.Так, за збільшення концентрації вуглекислого газу повітря теплиць до 0,1 % (від 0,03% в атмосфері) вдалося б підвищити врожайність помідорів чи огірків утричі.

Відомо, що квадратний метр листкової поверхні упродовж однієї години продукує приблизно1 г глюкози,а отжеусі рослини планетизв'язують з атмосфери від 100 до 200 мільярдів тон вуглецюза рік. Близько 60% цієї кількості поглинають ліси, що займають 30% поверхні суходолу, не вкритого льодовиками, 32% –орні землі, а 8%–степи і пустелі, а також зелені насадження міст і населених пунктів.

Виділення і накопичення кисню в атмосфері забезпечує не лише можливість аеробного окиснення органічних речовин і утворення енергії, що підтримує життя організмів, а й захищає їхні молекули ДНК від руйнування внаслідок дії шкідливого космічного випромінювання, оскільки молекулярний кисень O_2 в периферійній зоні атмосфери унаслідок фотодисоціації його молекул за дії сонячної радіації, перетворився в озон O_3, що сформував захисний озоновий екран.

3.1.1. Історія дослідження фотосинтезу

Здавна люди вважали, що розвиток рослин пов'язаний із виключно кореневим живленням, оскільки саме через корені надходятьусі необхідні для рослинного організму речовини з ґрунту. Цеприпущення перевірив

експериментально голландський дослідник Ян Батіст Ван-Гельмонт на початку XIX століття. Для цього учений провів оригінальний експеримент – він посадив паросток верби у горщик з землею, попередньовизначивши вагу землі. Протягом 5 років учений поливав вербу, а після закінчення цього терміну, Ван-Гельмонт висушив землю з горщика, зважив її, а також визначив вагу рослини. Верба важила 75 кг, але вага субстрату змінилася лише на кілька сотень грам. Із результатів,Ван-Гельмонтдійшов висновку, що поживні речовини у рослинунадходять перш за все з води, а не з ґрунту.

Ця теорія отримала назву теорії водного живлення рослин і панувала в науці упродовж 2 століть. Згідно цієї теорії, листки виконують лише допоміжну функцію, забезпечуючи транспірацію надлишку води у рослинному організмі.

До найнеочікуванішого, та найвірнішого припущення щодо живлення рослин із повітря,учені дійшли лише на початку XIX ст. У розумінні такого живлення важливу роль зіграло відкриттяанглійськогодослідника Джозефа Прістлі, здійсненеу 1771 р. У результаті проведення своїх експериментів учений виявив, що«рослини очищують повітря і роблять його придатним для дихання».

Експеримент Прістлі полягав у тому, що дослідник у закриту посудину помістив гілку м’яти і поставив туди запалену свічку. Свічка незабаром погасла, але через кілька днів Джозеф Прістлі запалив її знову і побачив, що свічка продовжує горіти. Пізніше Прістлі провів інший дослід, котрий полягав у тому, що на вікні, яке добре освітлювалося сонцем, скляним ковпаком він накрив живу мишу. Через кілька годин миша задихнулася. Коли Прістлі помістив під ковпак разом із мишею гілку м’яти, миша залишалася живою упродовж тривалішого часу, аніж у попередньому варіанті досліду (рис. 3.1). За своє відкриття вчений був нагороджений Лондонським королівським товариством золотою медаллю Коплі та був обраний почесним членом Петербурзької академії наук. Відкриття Прістлі викликало великий інтерес до живлення рослин із повітря у тогочасних дослідників, але виявилося, що дослід виходив далеко не завжди навіть у самого Прістлі.

У 1779 році інший голландський дослідник Ян Інгенгауз (1730–1799) доповнив дослід Прістлі відкриттям, що рослини можуть«очищати» повітря лише на сонячному світлі. Інгенгауз припустив, що під час процесу «очищення повітря» вуглекислий газрозщеплюється на C і O_2, карбон поглинається рослиною, а кисень виділяється в молекулярній формі O_2в атмосферу. Згодом було встановлено, що співвідношення кількості атомів водню, вуглецю та кисню углюкозі та крохмалю таке: 1 атом вуглецю припадає на 1 молекулу води. Це співвідношення й дало назву цим речовинам –«вуглеводи». Спершу вчені припумкали, що вуглеводи утворюються з вуглецю і води, а кисень виділяється саме внаслідок розщеплення вуглекислого газу. Ця теорія вважалася загальноприйнятою, але, як виявилося пізніше, була зовсім не вірною. Швейцарський ботанік Жан Сенеб’є у 1772 році встановив, що рослини удень на сонячному світлі виділяють молекулярний кисень. Сенеб’є довів, що рослина „очищує” повітря не тому, що вона дихає, а в зв’язку з фіксацією

вуглецю. Цей процес у 1887 році отримав назву фотосинтезу, тобто утворення речовин на світлі, запропоновану Вільгельмом Пфеффером.

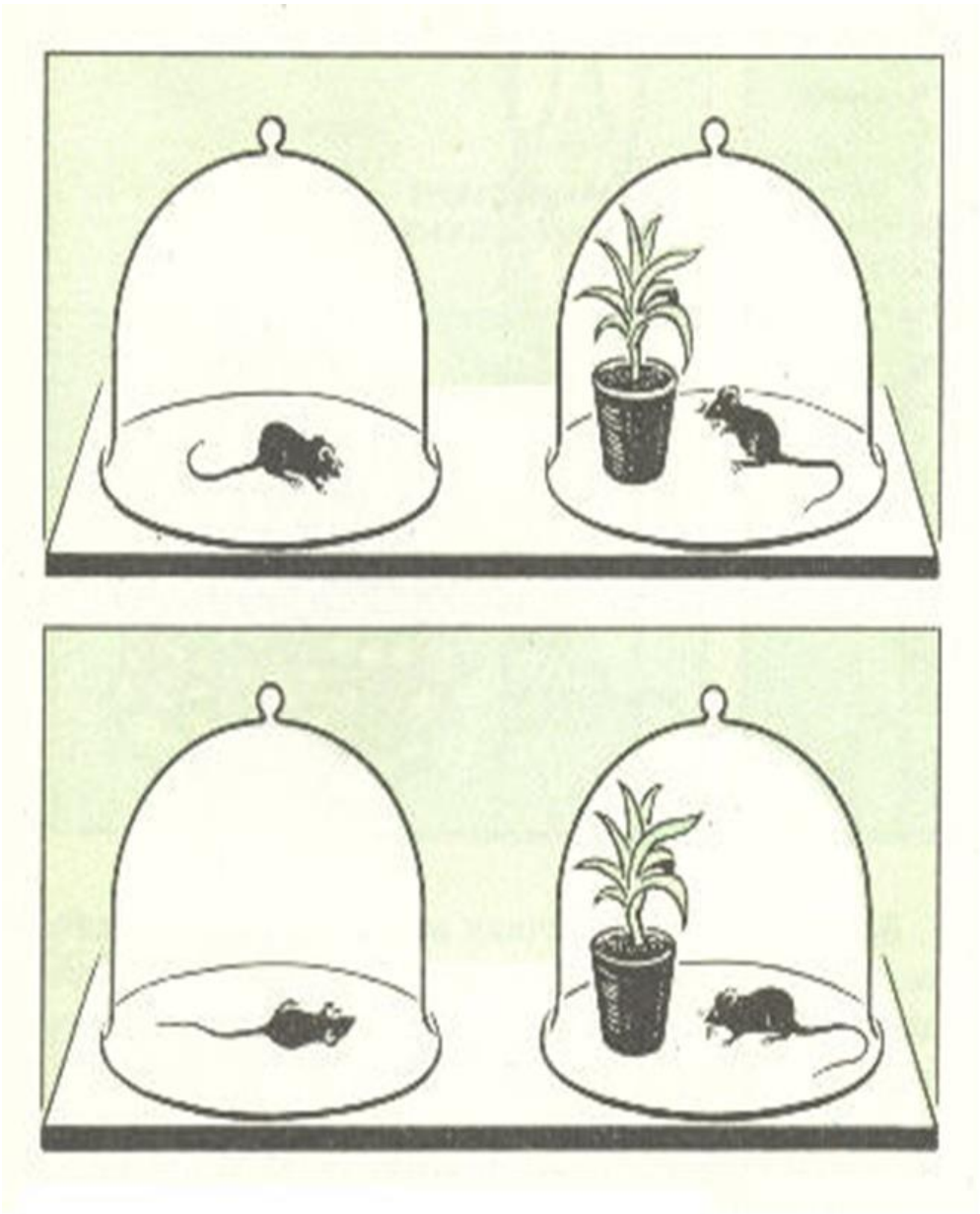


Рис. 3.1. Дослід Дж. Прістлі. Миша під скляним ковпаком: зверху – на початку досліду; знизу – через 5 годин.

Дослідником, котрий спростував теорію Інгенгауза, став Корнеліус ван Ніль із Стенфордського університету, котрий ще у студентські роки, коли виконував дипломний проект івивчав метаболізм бактерій, здатних до процесу фотосинтезу. З'ясувалось, що пурпурові сіркобактерії відновлюють карбон вуглекислого газу до вуглеводівне виділяючикисню, зате цим бактеріям для забезпечення фотосинтезу потрібний сірководень. Під час фотосинтезу всередині клітин бактерійнакопичуютьсямолекули сірки. Корнеліус Ван Ніль встановив, що для таких бактерій загальна схема фотосинтезу відповідає такому рівнянню:

$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow{світло} (CH_2O) + H_2O + 2S$$

За даними своїх досліджень, Корнеліус Ван Ніль запропонував такусхему фотосинтезу:

$$CO_2 + 2H_2A \xrightarrow{світло} (CH_2O) + H_2O + 2A$$

Уній H_2A – це вода, чи якась іншасполука, що окиснюється, до прикладу сірководень чимолекулярнийводень. У рослин і водоростей H_2A – це H_2O. Отже,ученийприпустив, що самевода, а не вуглекислий газ, розкладається під час фотосинтезу. Цюгіпотезудовели експериментально пізніше, коли дослідники, користуючись методом ізотопів,прослідкували шлях кисню відзв'язаного стану у молекулі води до вільного газоподібного стану:

$$CO_2 + 2H_2{}^{18}O_2 \xrightarrow{світло} (CH_2O) + H_2O + {}^{18}O_2$$

Тому для водоростей і рослин, у котрих вода є донором елекронів, загальну схему протікання фотосинтезу можна записати так:

$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow{світло} C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O$$

Отже, з'ясування природи фотосинтезу почалося ще в часи зародження сучасної хімії. Праці Дж. Прістлі (1772 рік), Я.Інгенхауза (1780 р.), Ж.Сенеб'є (1782р.), а також хімічні дослідження А.Лавуаз'є (1775, 1781 рр.) дозволили зробити висновок, що рослини перетворюють вуглекислий у кисень і для цього процесу необхідне світло. Роль води залишається невстановленою до тих пір, поки на неї не вказав у 1808 році Н.Соссюр. У своїх експериментах він виміряв приріст сухої речовини рослин, а також визначав об'єм поглинутого двоокису вуглецю і виділеного кисню. Соссюр підтвердив, що увесь вуглець, котрий використовує рослина для синтезу органічних речовин походить від вуглекислого газу. Також він встановив, що приріст сухої речовини перевищує різницю між вагою поглинутого CO_2 і вагою виділеного кисню. Оскільки, вага ґрунту в горщикусуттєво не змінилася, єдиним можливим джерелом збільшення ваги є вода.

Значення фотосинтезу, як одного з процесів де відбувається перетворення енергії, оцінено належним чином лише після формування поняття***хімічноїенергії***. У 1845 році Р.Майер дійшов висновку, що під час фотосинтезу енергія світлаперетворюється у хімічну потенціальну енергію, яка накопичується у продуктах фотосинтезу.

Наразі з'ясовано, що процес фотосинтезупроходить у дві фази, але лише одна з них залежить від світла. Докази існування двох фаз уперше отримані в 1905 році англійським фітофізіологом Фредеріком Блекменом, котрий досліджував вплив світла і температури на інтенсивність фотосинтезу.

На основі експериментів Блекмендійшов до трьох основних висновків:

1. Фотосинтез розпочинається за слабкого освітлення, але зі зростанням інтенсивності світлового потоку, ефективність фотосинтезу зростає.
2. Зростання температури за слабкого освітлення не впливає на ефективність фотосинтезу.
3. За одночасного підвищення температури та інтенсивності освітлення, ефективність фотосинтезу зростає значно більше, порівняно з підвищенням лише однієї інтенсивності освітлення.

Ґрунтуючись на результатах свої досліджень, Фредерік Блекмен поділив процес фотосинтезу на дві фази – світлозалежну, або світлову (lightdependentreactions)та світлонезалежну (lightindependentreactions), яку ще називають «темновою». На світловій фазі відбувається трансформація енергії світла на енергію хімічних зв'язків, а отже ця фаза напряму залежить від світла, а на світлонезалежній – протікає синтез глюкози з використанням доступної для цього хімічної енергії, утвореної на попередній фазі. Таким чином, темнова фаза – це низка хімічних реакцій, котрі напряму від світла не залежать, хоча потребують продуктів світлової фази, а регулюються температурою, оскільки, згідно закону Вант-Гофа, зі зростанням температури середовища на 10 °С швидкість хімічних реакцій підвищується у 2–4 рази. Проте, інтенсивність темнових реакцій фотосинтезу зростає зі збільшенням температури лише до межі 30 °С, а вище починає спадати, що вказує на те, що ці реакції каталізуються ферментами.

Дещо пізніше, у другій половині XX століття, ученими розшифровано послідовність протікання біохімічних реакцій темнової фази фотосинтезу. Уперше це вдалося американському біохіміку Мелвіну Кальвіну у 1957 році, котрий, використовуючи метод мічених атомів карбону CO_2 радіоактивними ізотопами, відкрив механізм фіксації CO_2 рослинами в процесі фотосинтезу. Первинними продуктами цього шляху були трикарбонові кислоти, за що Мелвін Кальвін назвав його C_3-шлях фотосинтезу, а пізніше він отримав назву циклу Кальвіна. У 1961 р. Мелвін Кальвін був удостоєний Нобелівської премії з хімії.

Проте, з'ясувалося, що темнові реакції мають не однин варіант протікання. Для окремих тропічних і субтропічних рослин було виявлено особливий шлях фіксації вуглецю. Цей шлях дозволяє рослинам здійснювати фотосинтез навіть за закритих продиху жаркий період доби, коли вони закриваються для зменшення втрат вологи через випаровування. Первинними продуктами цього шляху виявилися чотирикарбонові кислоти, за що він отримав назву C_4-шлях фотосинтезу. Відкриття цього шляху відбувалося поступово, але суть його вперше описали у 1966 році австралійські вчені Хетч і Слек. На їхню честь, цей шлях фотосинтезу ще називають циклом Хета і Слека.

Ключові імена й дати в історії дослідження фотосинтезу:

Джозеф Прістлі (1733 – 1804) – у **1771** році встановив, що рослини «покращують повітря і роблять його придатним для життя».

Ян Інгенхауз (1730 – 1799) – у **1779** році виявив, що зелені рослини виділяють молекулярний кисень тільки на світлі.

Юліус Роберт фон Маєр (1814 – 1878) – у **1841** р. на основі закону збереження енергії встановив, що зелені рослини перетворюють енергію сонячного світла на енергію хімічних зв'язків.

Вільгельм Пфеффер (1845 – 1920) – у **1887** році запропонував термін «фотосинтез».

П'єр Джозеф Пельтьє (1788 – 1842) та Джозеф Бьєнеме Каванту (1795 – 1877) – у **1818** р. вперше виділили суміш хлорофілів.

Михайло Семенович Цвєт (1872 – 1919) – винайшов метод розділення сумішей – хроматографію, за допомогою якого розділив пігменти й вивчав їх окремо.

Корнеліс ван Ніль (1897 – 1985) – встановив окиснювально-відновну суть фотосинтезу, тобто виявив, що кисень під час фотосинтезу утворюється лише з води.

Мелвін Кальвін (1911 – 1997) – використовуючи метод мічених ізотопів вуглецю наприкінці 1940-х розкрив суть процесу асиміляції CO_2 і розшифрував послідовність реакцій циклу трикарбонових кислот (у **1957** р.), за що у **1961** році був удостоєний Нобелівської премії.

Тема 3.2. Структури та хімічні сполуки, що забезпечують фотосинтез

3.2.1. Листок, як основний орган фотосинтезу

У процесі еволюції фотосинтезуючі рослини виробили спеціальні органи, які відповідають за цей процес. Такими органами є листки. Головною роллю листкової поверхні, яка досягає інколи величезної площі, є процес асиміляції вуглецю та випаровування води. Асиміляція вуглецю залежить відсонячної енергії, тому для найоптимальнішого її вловлювання, листки розміщуються у певному порядку, набувають різних форм тощо.

У більшості рослин листки відходять від вузлів по одному, то таке листкорозміщення називається почерговим або спіральним. Якщо на вузлі знаходиться один проти одного два листка – це супротивне листкорозміщення; водночас, у більшості випадків, листки двох сусідніх пар відходять у взаємо перпендикулярних площинах так, що листки верхньої пари не затіняють нижні. Коли ж від вузла відходить більше аніж два листки, то таке листкорозміщення має назву мутовчастого і в сусідніх мутовках листки розміщуються за звичай також не один над одним, а в проміжках між листками мутовок, що розміщенні вище і нижче.

Загальна листкова поверхня культурних рослин помірної зони, розміщених на 1 га орногополя, може сягати 5 га, а в південних районах з нормальним зволоженням –10–15.

Отже, розміщення, величина і частково форма листків є пристосуванням до умов освітлення. Якщо дивитись у напрямку падаючих променів на пагін вкритий листками, то видно, що взаємне розміщення листків нагадує розміщення камінців у мозаїці. Це досягається неоднаковою довжиною та вигинами черешків, скручуванням їх, а також міжвузлів стебла, не однаковими розмірами та асиметрією листків тощо. У таких листкових мозаїках листки не затіняють один одного; вони найефективніше можуть використовувати простір та сонячні промені, що дає можливість підвищити ефективність фотосинтезу.

Анатомічна будова листка також підпорядкована головній його функції (рис. 3.2). Уся поверхня листка вкрита епідермісом, що складається із одного шару щільно зімкнутих клітин, без міжклітинників. Зовнішні стінки цих клітин сильно потовщені та вкриті кутикулою. Клітини епідермісу живі, як правило, не містять хлорофілових зерен. Також, переважно на нижній стороні листка, в епідермісі розміщенні продихи.

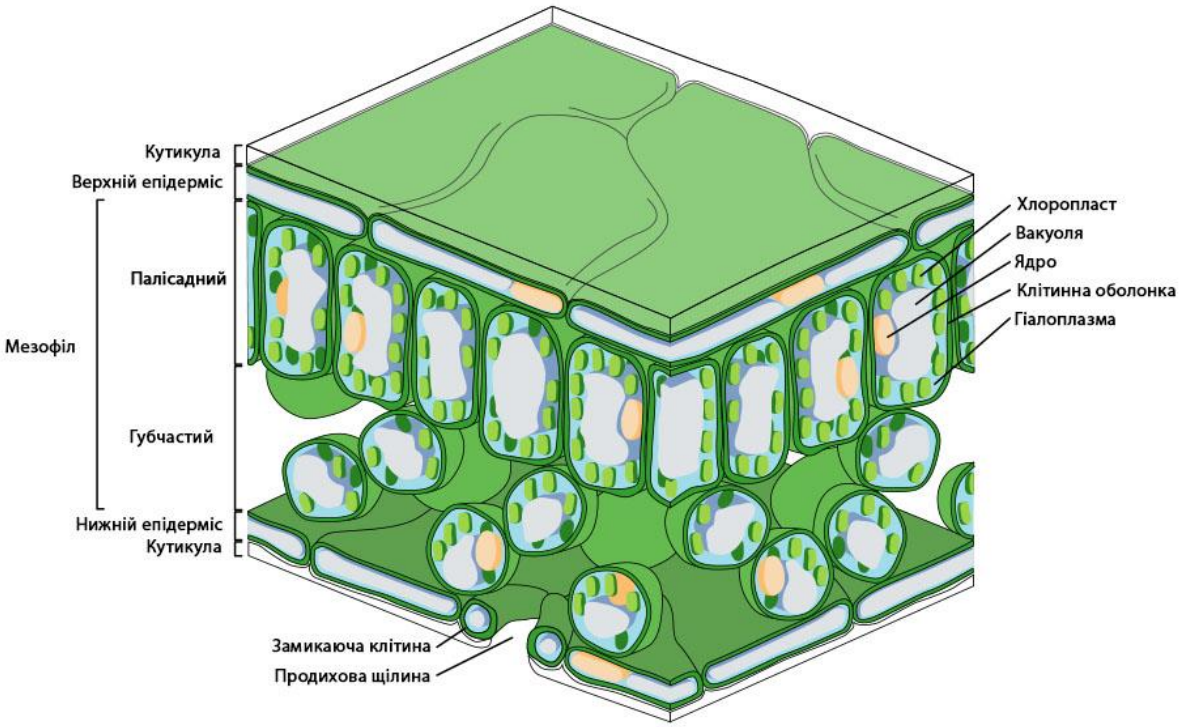


Рис. 3.2.Анатомічна будова листка.
http://surl.li/hbgch

На поверхні листка клітини епідермісу не скрізь однакові: ті з них, що вкривають нижню (***абаксіальну***) сторону листка, зазвичай дрібніші і їхні стінки звивистішіаніж клітини верхнього (***адаксіального***) епідермісу. Звивистість стінок клітин, що вкривають і верхню, і нижню сторони листка, за підвищення вологості повітря, в якому розвивається листок, збільшується. Верхній епідерміс відрізняється від нижнього ще й більшою кривизною зовнішніх стінок клітин та товщиною, яка більша в клітин розміщених зверху листка. Також потужність шару воску, якщо він утворюється, шарів кутикули у клітин верхнього епідермісу зазвичай набагато більша ніж в клітин нижнього. Волоски в опущених листків розміщуються переважно на нижній стороні. Клітини епідермісу, що розміщені над провідними пучками або над тяжами механічних тканин, витягнуті та спрямовані паралельно пучку або тяжу, а також слабо звивисті.

Верхній потовщений шар стінок клітин епідермісу зливається в суцільну плівку – кутикулу, яка вкриває всю поверхню листка. Кутикула непроникна для води і газів, добре захищає листок від випаровування. Уокремих рослин верхня оболонка клітин епідермісу просякнута різними мінеральними речовинами, які надають їй більшої міцності (наприклад, кремнеземом у хвощів чи злаків). Інколи на кутикулі відкладається шар воску, зазвичай у вигляді тонкої плівки, але, наприклад, у воскової пальми *Ceroxylon* – її товщина може сягати до 5 мм.

Клітини епідермісу живі, містять протопласт, але хлорофілові зерна трапляються тут зрідка, наприклад в епідермісі водяних рослин, а також у рослин, що розвиваються в затінених місцях, наприклад, у лісових папоротей. Кутикулярний шар, окрім регуляції випаровування води з листка, покращує оптичні властивості епідермісу й забезпечує конденсацію світлових променів, що сприяє кращому постачанню світлової енергії на розташований нижче мезофіл.

У більшості дерев і чагарників помірної кліматичної зони, продихи утворюються лише на нижній стороні листків. У гігрофітів продихи містяться, зазвичай, і на верхній, і на нижній стороні листка, але зверху їх значно менше. У рослин, листкові пластинки котрих плавають на поверхні води, продихи заходятьсяна верхньому епідермісі, а у занурених – продихів часто немає взагалі. Кількість продихів на 1 мм^{2}листкової поверхні у різних рослин різна і залежить від ступня їхньої ***ксерофітизації*** чи ***мезофітизації***.

У процесі еволюції усі живі організми пристосовувалися до перенесення несприятливих чинників зовнішнього середовища. В умовах різного зволоження рослини розвивали певні адаптації, які є спільними для тих чи інших екологічних груп. До таких адаптацій належать особливості анатомічної будови продихів, а саме їхні розміри та кількість на одиницю поверхні.

Ксерофіти – це рослини, що адаптувалися до зростанняу посушливих місцезростань, а ***мезофіти*** – помірно зволожених. ***Ксерфітизація*** – це набуття рослинами ознак характерних для ксерофітної групи, а ***мезофітизація*** – відповідно мезофітної. Для ксерофітів характерні продихи дрібних розмірів, проте на одиницю площі листкової поверхні їх багато, а для мезофітів – навпаки, продихи великі, але їх мало. Така особливість позволяє ксерофітним рослинам швидше закривати продихові щілини в умовах нестачі вологи адже для закривання великих продихів мезофітів потрібна втрата великої кількості води з листка. Так, у пшениці кількість продихів на 1 мм^{2}листкової поверхні становить 50 – 70, а у яблуні та сливи – 250.

Упродовж дня рослина засвоює такийобсягвуглекислого газу, котрий міститься у шарі повітря висотою від 30 до 60 метрів. Для утворення 1грама вуглеводів потрібноприблизно 1,47г вуглекислого газу, тобто таку його кількість, котранаявна у 2500 літрах повітря. Постійне постачання вуглекислого газу до продихових щілин забезпечує турбулентний рух повітря довкола листкових пластинок, що спричинене вітром і нерівномірним нагріванням їхніх поверхоньенергією сонячних променів.

Та частина молекул води, що використовуються у процесі фотосинтезу для для фотолізу і слугують джерелом гідрогену, складаєдуже незначну частину тієї кількості води, яку рослина поглинає з ґрунту, а потів затрачає у процесі транспірації. Розвиток водного дефіциту дійсно знижує інтенсивність фотосинтезу, проте лиш опосередковано – у зв’язку із спричиненим дегідратацією закриттям продихових щілин, оскільки цепогіршує або й зовсім перешкоджає доступу вуглекислого газу до хлоренхіми листків. Окрім того, кисень, котрий виділяється під час фотосинтезу унаслідок фотодеструкції молекул води, також потрапляє удовколишнє середовище крізь продихові

щілини. Тому припинення газообміну унаслідок розвитку водного дефіциту впливає на інтенсивність фотосинтезу, особливо у рослин C_3-типу.

Основну тканину листка займає асиміляційна тканина, що називається***мезофілом***. У рослин з тонкими листковими пластинками він складається із зеленої тонкостінної паренхіми – ***хлоренхіми***. У більшості дводольних хлоренхіма диференційована на палісадну або стовпчасту та губчасту. Зазвичай, до верхнього епідермісу приєднується палісадна тканина, а до нижнього – губчаста. Клітини палісадного мезофілу розміщенні перпендикулярно до епідермісу, довгі, вузькі, у них багато хлоропластів. Шар стовпчастої паренхіми, що знаходиться глибше, складається з клітин ширших за формою, коротших та бідніших хлоропластами. Не рідко групи з 2–3 клітин палісадного шару прикріплюються поперечними перегородками до однієї клітини шару, що розміщений глибше, а найглибше розміщенні палісадні клітини кріпляться до верхніх клітин губчастого мезофілу. Своєрідна форма та розміщення клітин палісадної хлоренхімиє пристосуванням до відведення продуктів фотосинтезу у флоему по найкоротшому***симпластному*** шляхута до постачання палісадної паренхіми водою із ксилеми провідних пучків, що сприяє підвищенню ефективності фотосинтезу.

Палісадна хлоренхіма містить у своїх клітинах більше хлоропластів,аніж губчаста, котрі зерна розміщенні, зазвичай, вздовж поздовжніх стінок стовпчастих клітин. Завдяки цьому світло, потрапивши в клітину, розподіляється по ній рівномірно, освітлюючи усі хлоропласти. Залежно від інтенсивності сонячного освітлення та напрямку світлових променів,хлоропласти можуть переміщуватися всередині клітин – за інтенсивного освітлення вони пересуваються на поперечні стінки стовпчастого мезофілу, оскільки яскраве світло руйнує хлорофіл. Тому палісадний мезофіл відповідає за трансформацію енергії світла на енергію хімічних зав’язків, асиміляцію вуглекислого газу і синтез глюкози.

Губчастий мезофіл складається з 2–7 шарів клітин округлої або звивистої форми. У ній, як правило, потужна система міжклітинників, що проходять через губчасту тканину у всіх напрямках. Губчастиймезофілзазвичай переважає за сумарною товщиною стовпчастий, але за кількістю хлоропластів і вмістом хлорофілу – поступається йому.

На будову губчастого мезофілусуттєво впливає функція транспірації – випаровування води в атмосферу крізь продихи з листків. Цю функціюзабезпечує губчастий мезофіл. Наявність міжклітинників слід вважати відповідною рисою пристосування. На межі між палісадною та губчастою тканинами проходять дрібні провідні пучки.

Отже, розподіл мезофілу на стовпчастийі губчастий шари для процесу фотосинтезу відіграє важливу роль. Стовпчаста паренхіма вловлює велику кількість світлової енергії завдяки наявності у ній хлорофілу, одночасно губчаста постачає вуглекислий газ і виводить кисень завдяки міжклітинникам. Проте, не всі рослини мають таку „стандартну” схему поділу мезофілу. У деяких листках хлоренхіма на обох сторонах пластинки – адаксіальній (морфологічно верхній) та абаксіальній(морфологічно нижній) – подібна. Це

характерно для рослин, листки яких розміщенні у вертикальній площині (наприклад, у нарцисів). Утаких листках, зазвичай, на обох сторонах подібні також і епідерміс, і продиховий апарат.

У більшості однодольних і багатьох голонасінних рослин мезофіл однорідний, тобто усі клітини його мають приблизно одинакову будову. Це може бути звичайний або недиференційований мезофіл з паренхімних клітин, майже ізодіаметричних (наприклад у злаків), витягнутих уздовж листкової пластинки (у гладіолусів) чи впоперек (в ірисів). Трапляються випадки, коли усі клітини мезофілу складчасті (у сосни) або палісадні.

На верхній частині губчаста тканина переходить у так звані ***збираючіклітини***. Їхньою функцією є сприймання асимілянтів від палісадних клітин і передача їх у ситовидні трубки провідних пучків.

Провідні пучки в листках, як правило, колатеральні. Ксилема знаходиться в морфологічно верхній, а флоема в морфологічно нижній частинах. Пучки в листкових пластинках, зазвичай, закриті. У деяких трав і деревних рослин великі провідні пучки відкриті, але камбій у них функціонує слабко. У рослин, котрі мають біколотеральні пучки у стеблі, найбільші провідні пучки листків біколотеральні також. У низки рослин судини із мезофілом безпосередньо не контактують – вони завжди, наче чохлом, оточені клітинами обкладки – одним шаром тонкостінних, щільно зімкнутих паренхімних клітин. Ці клітини витягнуті вздовж пучків, не містять хлоропластів. Продукти асиміляції із губчастого мезофілу поступають в клітини обкладки, а потім по них переносяться до флоеми більших пучків.

Судинно-волокнисті пучки входять до складу жилок. Жилки листків, окрім провідної тканини, містять механічні тканини, а саме коленхіму та склеренхіму, що надають листку міцності.

Отже, функція ксилеми судинно-волокнистих пучків полягає у постачанні води та мінеральних речовин, а флоеми – у забезпечені відтоку продуктів фотосинтезу. Проте, прямого контакту між клітинами флоеми та кожною клітиною паренхіми немає, а це свідчить про те, що внутрішнє транспортування всього необхідного для фотосинтезу, як і відтік його продуктів від клітин мезофілу до судин здійснюється шляхом радіального транспортування, тобто по***симпласту*** і ***апопласту***.

3.2.2. Хлоропласти

Хлоропласти – це пластиди зеленого кольору, основною функцією яких є фотосинтез. Їхня кількість у клітині – від 1 до 100. Форма – двоопукла лінза; довжина – 3–10 мкм, діаметр – 2–3 мкм. Ззовні хлоропласт оточений оболонкою, побудованою з двох мембран – зовнішньої і внутрішньої, між якими є ***перипластидний простір***. Всередині заповнений безбарвним матриксом – ***стромою***. Внутрішня мембрана утворює вгинання всередину хлоропласта – інвагінації – які формують внутрішню мембранну систему, що складається з плоских дисків, оточених одношаровою мембраною – ***тилакоїдів*** (ламел). Ці мембрани несуть хлорофіл, каротиноїди, білки, що беруть участь у фотосинтетичних реакціях. Тилакоїди, накладаючись один на одного,

утворюють ***грани*** – структури подібні до стопок монет. Грани між собою з'єднані поодинокими тилакоїдами. Тилакоїди, що входять до складу гран, називаються ***тилакоїдами гран***, а ті, що їх з'єднують – ***тилакоїдами строми***. Існують ще ***пригранні тилакоїди***. У гранах виявлено перфорації, крізь які мембрани гран поєднуються, а отже і їхній внутрішньо-тилакоїдний простір сполучається за допомогою вузеньких трубочок – ***фрет***. У стромі хлоропластів містяться також окремі крохмальні зерна. У стромі хлоропластів відбуваються реакції темнової,або світлонезалежної фази фотосинтезу, а на тилакоїдах – світлової, або світлозалежної (рис. 3.3).

Хлоропласти містять власну білок-синтезуючу систему у вигляді хлоропластної ДНК, рибосомальної РНК та малих рибосом з коефіцієнтом седиментації 70S, тобто ці органели здатні до напівавтономного від ядра самовідтворення. Це дало підставу для висунення симбіотичної теорії походження хлоропластів, за якою вони виникли в результаті симбіозу якогось автотрофного мікроорганізму (ціанобактерії) з гетеротрофною клітиною, оскільки білок-синтезуючим системам прокаріот характерна наявність малих 70Sрибосом, на відміну від еукаріот з великими 80Sрибосомами.

Рис. 3.3.Внутрішня організація хлоропласта.
https://diapason.com.ua/chi-e-hloroplasti-v-klitinah-korenja-morkvi-shho/

Хімічний склад хлоропласта:
30 – 60 % сухої маси – білки;
20 – 40 % сухої маси – ліпіди;
5 – 9 % сухої маси – хлорофіли;
4 – 5 % сухої маси – каротиноїди;
0,01 – 0,02 % сухої маси – ДНК;
0,5 – 3,5 % сухої маси – РНК;
6 – 10 % сухої маси – мінеральні речовини;

Окрім того, хлоропласти містять 80 % усього заліза рослинної клітини, 65 – 70 % цинку, 50 % міді та фотосинтетичний апарат – ферменти і пігментний комплекс, що локалізований на мембранах.

3.2.3. Фотосинтетичні пігменти

Для процесу фотосинтезу може використовуватися не увесь спектр сонячної радіації, що потрапляє на рослини, а лише його частина в ділянці від 380 до 750 нм, що становить 2 – 5 % від усієї сонячної радіації. Ця частина спектру випромінювання Сонця називається видимим світлом, або**фотосинтетично активною радіацією (ФАР)**. Трансформована енергія ФАР використовується для утворення органічних зв'язків у молекулі глюкози, електрони яких займають вищий енергетичний рівень ніж у неорганічних. Отже, під час фотосинтезу відбувається перебудова хімічних зв'язків: замість неорганічних С–О та Н–О виникають органічні С–С і С–Н. Для утворення однієї молекули глюкози поглинається 962 кКал енергії, асимілюється 6 молекул вуглекислого газу і 12 молекул води, проте 6 молекул води ресинтезуються, тобто затрата води становить 6 молекул.

Проте, не уся фотосинтетично активна радіація використовується для утворення хімічної енергії. Як і всі фізичні тіла, листок, що є основним органом фотосинтезу, відбиває, поглинає і пропускає падаючі на нього промені світла, а для асиміляції використовується лише 1–2 % ФАР. Якщо врахувати, що ФАР становить лише 2–5 % від загального світлового спектру, то виходить, що у процесі фотосинтезу використовується лише від 0,02 – 0,1 % усієї сонячної радіації, що потрапляє на листок. Така вибіркова здатність рослин поглинати окремі лише частини світлового спектру, та й не усю ФАР, визначається наявністю у них певних фотосинтетичних пігментів.

У пластидах вищих рослин і водоростей трапляються пігменти, що належать до 3 класів: хлорофіли, каротиноїди і фікобіліни.

Хлорофіли – основні пігменти фотосинтезу. Мають зелене забарвлення, оскільки відбивають зелені промені світла, а поглинають червоні. За хімічною природою – це магнієві комплекси різних тетрапіролів.

Основу молекули хлорофілу становить ***порфіринове ядро***, що складається з 4 ***пірольних кілець*** (рис. 3.4). У центрі порфіринового ядра знаходиться ***атом магнію***, який з'єднаний з 4 ***атомами азоту*** пірольних кілець. Між собою пірольні кільця з'єднані метиновими містками. Окрім того, у молекулі присутнє додаткове циклопентанне кільце, яке містить кето групу. Порфіринове ядро з'єднане з двома спиртовими хвостами – довгим фітольним ($COOC_{20}H_{39}$) та коротким метальним ($COOCH_3$). Загалом, молекула хлорофілу є полярною – містить полярну гідрофільну «голівку» (порфіринове ядро) і неполярний гідрофобний «хвіст» (спиртові хвости). Така конфігурація молекули хлорофілу відповідає будові молекул фосфоліпідів, що є компонентами біологічних мембран, і тому здатна розташовуватись поміж ними, утворюючи світлопоглинальні ансамблі всередині мембран. Коли з молекули хлорофілу видалити довгий фітольний хвіст, утворюєтьсягідрофільний хлорофілід. У

випадку заміщення атома магнію воднем,отримаємо феофітин, що має буре забарвлення.

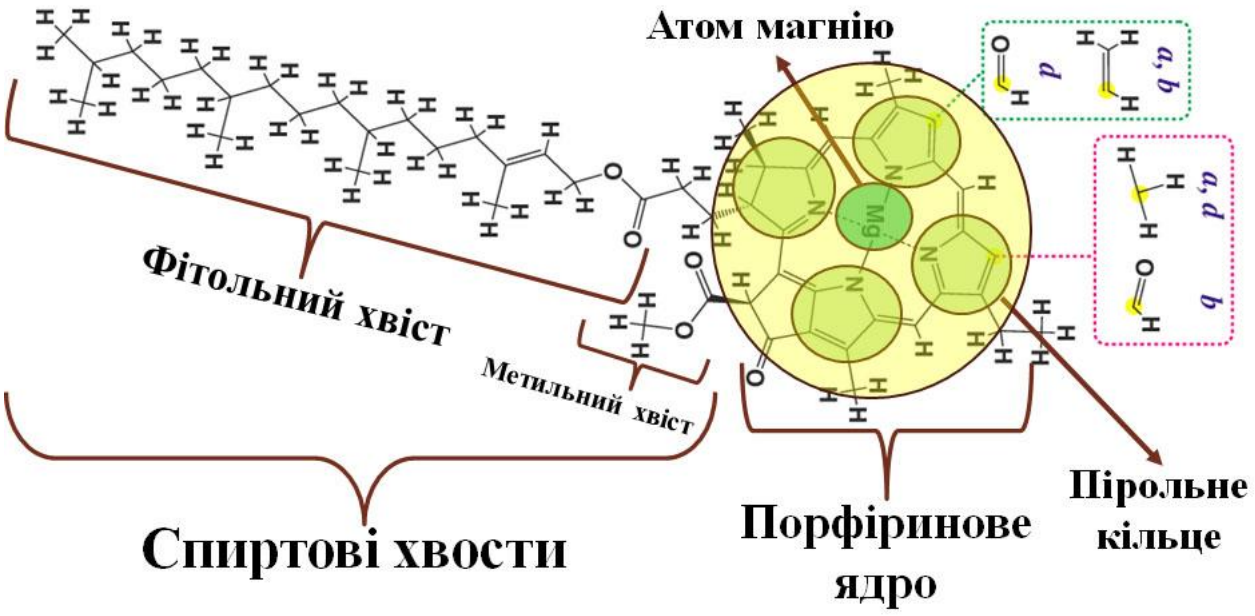


Рис. 3.4.Організація молекули хлорофілу.

Хлорофіл здатний поглинати світло довжиною від 380 до 730 нм, проте найкраще цим пігментом поглинається синя і червона частина світлового спектру. Ці довжини називаються ***максимумами поглинання*** і поділяються на: ***довгохвильовий максимум*** поглинання хлорофілу у **червоній** ділянці спектру (650–700 нм) і ***короткохвильовий максимум*** поглинання хлорофілу у синій ділянці спектру (430–450 нм).

Молекула хлорофілу у синглетному стані є електрично нейтральною, оскільки подвійний позитивний заряд атома магнію (Mg^{2+}) компенсований двома надлишковими електронами, що розподілені поміж чотирма атомами азоту у пірольних кільцях.

Хлорофіли добре розчинні у жиророзчинниках, взаємодіють із кислотами (унаслідок чого утворюється феофітин), лугами. Здатні до флуоресценції (короткочасне світіння червоним світлом) і фосфоресценції (довготривале світіння). Зеленого забарвлення хлорофілам надає атом Mg^{2+}, який відбиває зелену частину світлового спектру.

Найпоширенішими хлорофілами є такі:

Хлорофіл a – це складний ефір (етер) дикарбонової кислоти хлорофіліну, укотрої одна з карбоксильних груп заміщена залишком метилового спирту (CH_3OH), а інша – залишком фітолового спирту ($C_{20}H_{39}OH$). Синьо-зеленого забарвлення, спектри поглинання: 435, 670, 680, 700 нм. Загальна формула: $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$.

Хлорофіл b – від хлорофілу а відрізняється тим, що в другому пірольному кільці одна метильна група (CH_3) замінена альдегідною (CHO). Основна функція: перенесення поглинутої енергії на хлорофіл а. Співвідношення між

хлорофілом a і хлорофілом b становить 3:1. Жовто-зеленого забарвлення, спектри поглинання: 480, 650 нм. Загальна формула: $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$.

Хлорофіл c – входить до складу хлоропластів бурих, діатомових і золотистих водоростей.

Хлорофіл d – входить до складу хлоропластів червоних водоростей.

Бактеріохлорофіли – пігменти фотосинтезуючих бактерій, відомо 4 види.

Каротиноїди – це найпоширеніші у рослин жиророзчинні пігменти оранжевого, червоного, жовтого та інших яскравих кольорів. Хімічна природа: полімери вуглеводню і складають ланцюги із 40 вуглецевих атомів, похідні ізопрену (побудовані із 8 ізопренових залишків). Ці сполуки є ненасиченими вуглеводнями, тому містять значну кількість подвійних зв'язків чим зумовлена їхня оптична активність. Довжина їхніх ланцюгів складає 3 нм і часто їхні карбонові скелети закінчуються шестичленними циклами. За наявністю (і кількістю) чи відсутністю шестичленних циклів на кінцях молекул каротиноїди бувають ациклічними (без циклів на кінцях молекули), моноциклічними (з шестичленним циклом тільки з одного боку молекули) і дициклічними (з шестичленними циклами на обох кінцях молекули).

Окиснені форми каротиноїдів називаються ***ксантофілами***, а не окиснені – ***каротинами***, їхнє співвідношення – 50:50. Поміж каротинами, найпоширенішими є β-каротин та α-каротин ($C_{40}H_{56}$), а поміж ксантофілами – лютеїн ($C_{40}H_{56}O_2$) і віолаксантин ($C_{40}H_{56}O_4$).

Функції каротиноїдів:

1. Поглинаючи промені синьої та зеленої частин спектру довжиною від 400 до 550 нм, відіграють роль додаткових світлозбиральних пігментів, оскільки вловлюють слабко доступне для хлорофілів світло.Передають енергію збудження на хлорофіл a. Це особливо важливо для водних екосистем, куди проникають кванти синього і зеленого світла і відмічається дефіцит квантів червоного світла, необхідних для збудження молекули хлорофілу.
2. Відіграють роль фотопротекторів – захищають хлорофіл від фотоокиснення на дуже яскравому світлі, оскільки здатні взаємодіяти зі збудженими молекулами кисню і хлорофілу, перебираючи енергію їхнього збудження, а потім розсіюючи її у вигляді тепла.

Фікобіліни – це пігменти синьо-зелених і червоних водоростей. За хімічною природою – це тетрапіроли, але 4 залишки піролу в них утворюють незамкнутий, витягнутий чи згорнутий ланцюг з системою кон'югованих подвійних зв'язків. Фікобіліни є хромофорною частиною глобулярного білка ***фікобіліпротеїну***, тобто це єдині фотосинтетичні пігменти білкової природи. На відміну від хлорофілів і каротиноїдів, котрі, завдяки своїм хімічним властивостям, інтегруються у ліпідний каркас мембран, фікобіліни асоційовані з їхнім білковим шаром.

Найпоширеніщими фікобілінами є:

- ***Фікоеритрин*** – червоного кольору з максимумом поглинання 498 – 598 нм;

- ***Фікоціаніни*** – група синьо-блакитних фікобілінів з максимумом поглинання 585 – 630 нм;
- ***Алофікоціаніни*** (аф) – група синіх фікобілінів з максимумом поглинання 500 – 650 нм.

Фікобіліпротеїни здатні до агрегації один з одним, внаслідок чого утворюються особливі впорядковані ансамблі на поверхні мембран – ***фікобілісоми***. Фікобілісоми локалізовані на поверхні мембран, або у стромі хлоропластів.

Функції фікобілінів:

1. Сенсибілізатори та фоторецептори.
2. Додаткові фотосинтетичні пігменти.
3. Зумовлюють явище хроматичної адаптації водоростей у вертикальній зональності:

- Червоні промені не проходять глибше 34 м
- Жовті – 177 м
- Зелені – 322 м
- Сині і фіолетові – 500 м

Завдяки пігментній групі, наявній у відповідних груп водоростей, вони займають відповідні їм екологічні горизонти водойм: біля поверхні води зростають зелені водорості, глибше – синьо-зелені, ще глибше – червоні.

Тема 3.3. Світлозалежна (світлова) фаза фотосинтезу

У 1905 р. англійський вчений Фредерік Блекмен встановив, що фотосинтез відбувається у 2 фази: світлову, реакції якої протікають лише на світлі, та темнову, реакції якої не потребують енергії світла. Світлова фаза проходить на тилакоїдах хлоропластів, а темнова – у стромі. Світлова фаза, у свою чергу, поділяється на фотофізичний та фотохімічний етапи.

У зарубіжній літературі ці два етапи виділяють вкрай зрідка, проте вітчизняна практика диференціації світлозалежних реакцій на фотофізичний і фотохімічний етапи, на нашу думку, оправдана з точки зору пізнання світлової фази фотосинтезу. Загалом, ці два етапи – це не окремі процеси, що протікають послідовно, як реакції темнової фази, а швидше аспекти єдиного процесу – ланцюга фотоіндукованих окисно-відновних реакцій. Фотофізичний етап пояснює ці реакції з точки зору фізики і розкриває механізми індукції світлових реакцій енергією квантів світла. Фотохімічний – це увесь процес протікання окисно-відновних перетворень учасників електрон-транспортних ланцюгів фотосистем, тобто власне це і є світлові реакції.

3.3.1. Фотофізичний етап

Первинні процеси фотосинтезу розпочинаються з поглинання енергії Сонця пігментами, її стабілізації у вигляді електричного збудження та міграції.

В основі поглинання світла молекулою хлорофілу лежить те, що світло має подвійну природу: ***хвильову*** (поширюється у вигляді хвиль) і ***корпускулярну*** (складається з елементарних частинок – ***фотонів*** або ***квантів***, і може поглинатись порціями). Енергія одного кванта світла дорівнює добутку

його частоти на константу Планка і виражається в Ейнштейнах. Один Ейнштейн – це така енергія, при певній довжині хвилі, яка повинна поглинутися 1 молем речовини, для того щоб кожна її мелекула вступила у фотохімічну реакцію.

Фотон– це квант світла (або електромагнітного випромінювання загалом), є елементарною частинкою, котравиступає носієм електромагнітної взаємодії. У свою чергу, ***квант*** – це елементарна дискретна неподільна частка якоїсь певної фізичної величиничи будь-якого фізичного утворення, яке бере участь у взаємодії, тобто є загальною назвою мінімальних і уже неподільних порцій фізичних величин. У випадку світла, квант відповідатиме фотону, оскільки фотон є неподільним і елементарним носієм його енергії.

Фотон є безмасовою частинкою, що здатна існувати у вакуумі лише рухаючись із швидкістю світла. Електродинаміка описує фотон як електромагнітну хвилю, а на думку квантової механіки, фотону як квантовій частинці, притаманний корпускулярно-хвильовий дуалізм, тобто він проявляє одночасно властивості як частинки, так і хвилі. Загалом, фотон – це частинка взаємодії і належить до бозонів.

Як відомо, усі речовини побудовані з атомів. Атом – найменша, електронейтральна, хімічно неподільна частинка речовини. Атом складається з щільного ядра побудованого з позитивно заряджених протонів та електрично нейтральних нейтронів, яке оточене набагато більшою хмарою негативно заряджених електронів. Коли кількість протонів відповідає кількості електронів, то атом є електрично нейтральним, а коли ця рівновага порушується – набуває відповідного заряду й перетворюється на йон. Кожен електрон розташовується відносно ядра на певній орбіталі, яка відповідає певному енергетичному рівню – чим ближче електрон до ядра, тим нижчий його енергетичний рівень. Також для електронів характерний певний напрямок руху навколо своєї осі, що називається ***спіном***. На одній орбіталі, згідно правилу Паулі, може знаходитись не більше 2 електронів з антипаралельними спінами. Сумарний спін всіх електронів молекули дорівнює нулю.

Склад ядра є стабільним і незмінним (змінюватись ядра можуть під впливом дуже великих температур у процесі т. зв. ядерних синтезів, коли відбувається утворення самих елементів). На відміну від ядра, склад електронної хмари може змінюватись і тому саме від кількості електронів у хмарі буде залежати заряд атома. Позитивно заряджене ядро притягує негативно заряджені електрони, але через наявність у них вільної кінетичної енергії, електрони не падають на ядро, а рухаються навколо нього на певній відстані по колу (орбіталі) величина якої залежатиме від заряду електрона, тобто величини його кінетичної енергії. Саме заряд електрона й визначатиме його енергетичний рівень, тобто розмір орбіталі. Такий стан електрона, коли його заряд відповідатиме енергетичному рівню, тобто коли величина кінетичної енергії та відстань від орбіталі електрона перебувають у рівновазі, називається ***станом спокою*** або ***основним синглетним станом*** (S_0). Проте існує інший стан електрона – стан ***збудження***, який виникає внаслідок набуття електроном екстра енергії, що перевищує наявний його енергетичний рівень, але одночасно

є недостатньою для переведення електрона на вищу орбіталь, тобто на наступний енергетичний рівень. Розрізняють 3 рівні збудження електронів у молекулі хлорофілу:

- ***перший синглетний*** (S_1) – електрон не змінює напрям свого спіну, триває 10^{-12} с;
- ***другий синглетний*** (S_2) – електрон не змінює напрям свого спіну, триває 10^{-8} с;
- ***триплетний*** (Т) – електрон змінює свій спін на протилежний, триває $10^{-2} – 10^{-4}$ с.

Стан збудження не може тривати довго й електрон повертається до основного синглетного стану, а при цьому виділяється енергія, що може втрачатись шляхом флуоресценції (короткочасного світіння) чи фосфоресценції (довготривалого світіння) або виділення тепла, може переноситись на інші молекули (стікати) або використовуватися у фотохімічних реакціях.

Незбуджена молекула хлорофілу перебуває у рівновазі, тобто сумарний спін усіх її електронів дорівнює нулю. Такий стан молекули хлорофілу називають ***основним*** (S_0). У такому стані валентні електрони молекули перебувають у стані спокою і займають найнижчі орбіталі, окрім того, згідно з правилом Паулі, на одному енергетичному рівні перебуває не більше двох електронів з антипаралельними спінами. Сумарний спін усіх електронів такої молекули, або вектор їхніх магнітних моментів, рівний нулю. Після поглинання кванту світлової енергії, електрон у молекулі хлорофілу отримує екстра енергію і переходить на вищий коливальний енергетичний підрівень, одночасно не змінюючи свого спіна. Оскільки, електрон не змінює свій спін, то він так і залишається протилежно спрямованим (антипаралельним) до спіна електрона своєї пари, що залишився на попередньому (не збудженому) енергетичному рівні. Спіни обох електронів зрівноважують один одного як в основному стані спокою, так і в збудженому стані, хоча й на різних енергетичних рівнях, тобто вони залишаються спареними. Молекула, у котрої усі електронні спіни врівноважені, тобто електрони спарені, не володіє магнітним моментом і її називають ***синглетною***. Тому стан спокою електронів і молекули хлорофілу (основний стан), а також стан збудження, що не призводить до зміни спіну електрона, називають теж ***синглетним***. Хлорофіл має два максимуми поглинання – довгохвильовий червоний і короткохвильовий синій, котрі несуть різні порції (корпускули) енергії. Енергія першого максимума становить $4{,}62\times10^{-19}$ Дж і після її поглинання, електрон переходить у перший синглетний стан (S_1), а другого – $3{,}00\times10^{-19}$ Дж й переводить електрон у другий синглетний стан (S_2). Якщо ж під час переходу на вищий енергетичний підрівень, електрон змінює свій спін на протилежний, тобто спіни в спарених електронів із антипаралельних стають паралельними, сумарний спін електронів такої молекули буде рівний одиниці, а її стан збудження називатиметься ***триплетним***.

Як ми уже з’ясували, молекула хлорофілу має здатність поглинати червоний і синій максимуми, тобто отримувати, відповідно, різну кількість енергії зі світлової хвилі й переходити у синглетний перший чи синглетний

другий стани збудження. Проте, у який би стан збудження вона не перейшла, електрон швидко втрачає надлишкову енергію й повертається назад у основний синглетний стан, тобто стан спокою, а енергія передається сусідній молекулі пігментів (якщо хлорофілів, то така передача називатиметься ***гомогенним перенесенням***, якщо ж каротиноїдів – ***гетерогенним перенесенням енергії***). Молекули пігментів антенного комплексу передають енергію фотозбудження своїх електронів між собою у напрямку димерів реакційного центру, тобто уся «зібрана» енергія антенного комплексу «стікає» на молекули хлорофілу в реакційний центр.

Отримавши велику порцію енергії від антенного комплексу, електрон у реакційному центрі змінює свій заряд і переходить на вищий енергетичний рівень у хмарі. Таким чином, сумарний заряд хмари (тобто, негативний) збільшується і змінює окисно-відновний потенціал реакційного центру у негативний бік, тобто підвищує його здатність до окиснення (тобто віддавати електрони). Саме зміна окисно-відновного потенціалу молекули хлорофілу у реакційному центрі й індукує першу окисно-відновну реакцію електрон-транспортного ланцюга.

3.3.2. Фотохімічний етап

До фотохімічного етапу світлової фази фотосинтезу входять реакції, в яких енергія світла перетворюється на енергію хімічних зв'язків, у першу чергу в енергію фосфорних зв'язків АТФ. Поглинання квантів світла, міграція та перетворення їхньої енергії забезпечується елементарною дискретною системою – ***фотосинтетичною одиницею*** (ФСО). ФСО – це мінімальна структурно-функціональна одиниця, здатна поглинати кванти світла і використовувати їхню енергію для окиснення і відновлення $НАДФ^+$ (нікотинаміддинуклеотидфосфату) та синтезу АТФ (аденозинтрифосфату). ФСО складається з антенного комплексу пігментів (200 – 250 молекул хлорофілу а), реакційного центру та електрон-транспортного ланцюга (2 фотосистеми разом з багатьма переносниками). На один хлоропласт припадає 2×10^6 ФСО, які локалізуються на близько 1000 тилакоїдах. ФСО виконує функцію тригерного (пускового) механізму фотосинтезу.

Хлорофіл поглинає червоне і синє світло, причому ефективність поглинання червоного світла більша, ніж синього, хоча енергія кванта коротких хвиль вища за енергію довгих. Емерсон показав, що швидкість фотосинтезу за спільної дії квантів червоного довгохвильового (700 нм) і короткохвильового (680 нм) світла є більшою, ніж сума швидкостей фотосинтезу в разі окремого освітлення цими довжинами світла. Це явище отримало назву «ефекту Емерсона», що пояснює функціонування двох фотохімічних систем, кожна з яких спеціалізується на поглинанні довгохвильового чи короткохвильового світла і котрі послідовно здійснюють фотохімічні реакції. Ці фотосистеми отримали назву ФС1 (фотосистема 1) та ФС2 (фотосистема 2). Пізніше було з'ясовано, що до складу фотосистем входять такі компоненти: антенний комплекс та реакційний центр. Назагал, ці компоненти є агрегаціями молекул і подібні в обох фотосистемах, але мають окремі відмінності. До складу

антенного комплексу фотосистеми 1 входить 200 молекул хлорофілу а і 50 молекул каротиноїдів, а саме неокиснених каротинів, а реакційний центр ФС1 представлений димером хлорофілу а з максимумом поглинання 700 нм – P_{700}. До складу антенного комплексу фотосистеми 2 також входить 200 молекул хлорофілу а і 50 каротиноїдів, але окиснених ксантофілів, а реакційний центр ФС2 представлений димером хлорофілу а з максимумом поглинання 680 нм – P_{680}.

Кожна фотосистема локалізована на мембранах тилакоїдів гран хлоропластів і має певну просторову орієнтацію. Ансамблі молекул фотосинтетичних пігментів, що входять до складу антенних комплексів, розташовані поміж молекулами фосфоліпідів верхнього моношару ліпідного каркасу мембрани, тоді як димери хлорофілу а, котрі є реакційними центрами фотосистем, розташовані у нижньому ліпідному моношарі. Окрім того, з реакційними центрами асоційовані молекули білків-учасників електрон-транспортного ланцюга (ЕТЛ) – з P_{680} ФС2 електрони мігрують по ділянці ЕТЛ, що називається b_6-*f*комплекс, а з P_{700} ФС1 – НАДФ-редуктаза комплекс.

На мембранах тилакоїдів вищих рослин обидві фотосистеми розташовані поруч і формують т. зв. фотосинтетичну одиницю. ФСО, як було зазначено вище, – це мінімальна структурно-функціональна одиниця, що здатна поглинати кванти світла і використовувати їхню енергію для відновлення НАДФ та синтезу АТФ. Тобто, фотосинтетичну одиницю слід розуміти, як абстрактну агрегацію антенних комплексів і реакційних центрів ФС1 і ФС2, що забезпечують «елементарний акт» світлозалежної фази, а саме один оберт нециклічного фотосинтетичного фосфорилування.

Шлях електрона по фотосистемах називають електрон-транспортним ланцюгом (ЕТЛ). Транспорт електронів буває циклічним і нециклічним. Головним завданням світлозалежної фази фотосинтезу є трансформація недоступної для хімічних реакцій світлової енергії у хімічну, тобто енергію хімічних зв’язків. Як відомо, універсальною сполукою, котра виступає джерелом такої енергії у клітині є АТФ – аденозинтрифосфат, що складається із азотистої основи аденозину, асоційованої із трьома молекулами фосфору. Кожна фосфатна група в молекулі АТФ утворює макроергічний зв’язок, котрий для свого утворення вимагає затрат енергії, але, після гідролізу такого зв’язку, ця енергія вивільняється і може використовуватися в інших хімічних реакціях. Таким чином, АТФ функціонує як акумулятор хімічної енергії – «розряджаючись», втрачаючи фосфатні групи до АДФ (аденозиндифосфату) чи АМФ (аденозинмонофосфату), або ж «заряджаючись», приєднуючи їх. Процес приєднання фосфатних груп називається фосфорилуванням. Існує кілька варіантів фосфорилування АДФ до АТФ, тобто «чарджерних» механізмів заряджання клітинних акумуляторів. Один з них протікає на світловій фазі фотосинтезу і називається ***фотосинтетичним фосфорилуванням***. Оскільки цей процес спряжений із нециклічним транспортом електронів між двома фотосистемами, то такий механізм заряджання АТФ отримав назву ***нециклічногофотосинтетичногофосфорилування***.

У нециклічному транспорті електронів, котре по-іншому ще називають Z-схемою фотосинтезу,беруть участь дві фотосистеми (рис. 3.5). Під час поглинання квантів світла антенними комплексами, їхня енергія передається на реакційний центр, а саме на димер хлорофілу а P_{700}, котрий розташований у реакційному центрі фотосистеми 1. P_{700} має відносно низький окисно-відновний потенціал, його значення становить +480 мВ, отримавши енергію квантів світла переходить у збуджений івіддає електрон сполуці з вищим позитивним значеннямокисно-відновного потенціалу. Електрон сприймається неідентифікованим переносником Z, який транспортує його на залізовмісний білок фередоксин, звідки електрон передається на флавопротеїн ФАД (флавінаденіндинуклеотид) і використовується для відновлення $НАДФ^+$ до $НАДФ·H_2$. Процес відновлення каталізується ферментом фередоксин-НАДФ-редуктазою, що асоційована із зовнішньою поверхнею мембрани тилакоїда й передає електрони наНАДФ, що локалізований у стромі хлоропласта. Після цього запускається ФС2: молекула P_{680}, поглинувши енергію від антенних комплексів, переходить у збуджений стан і втрачає електрон, що приймається цитохромом b_{559}. Далі електрон поступає на пластохінон, потім на цитохром f, після цього – на мідь вмісний білок пластоціанін, що транспортує його на молекулу хлорофілу P_{700} ФС1, де заміщує електронну вакансію («дірку») в його молекулі. Під час переходу електрона від пластохінона на цитохром f, відбувається часткова втрата енергії електрона, що використовується на утворення макроергічного зв’язку в молекулі АТФ. Хлорофіл P_{680}, втративши електрон, виступає окисником (приймає електрони) і сприяє фотолізу води. Під час цього процесу, молекула води розщеплюється на йони H^+ і OH^-, внаслідок чого в системі з’являються вільні електрони.

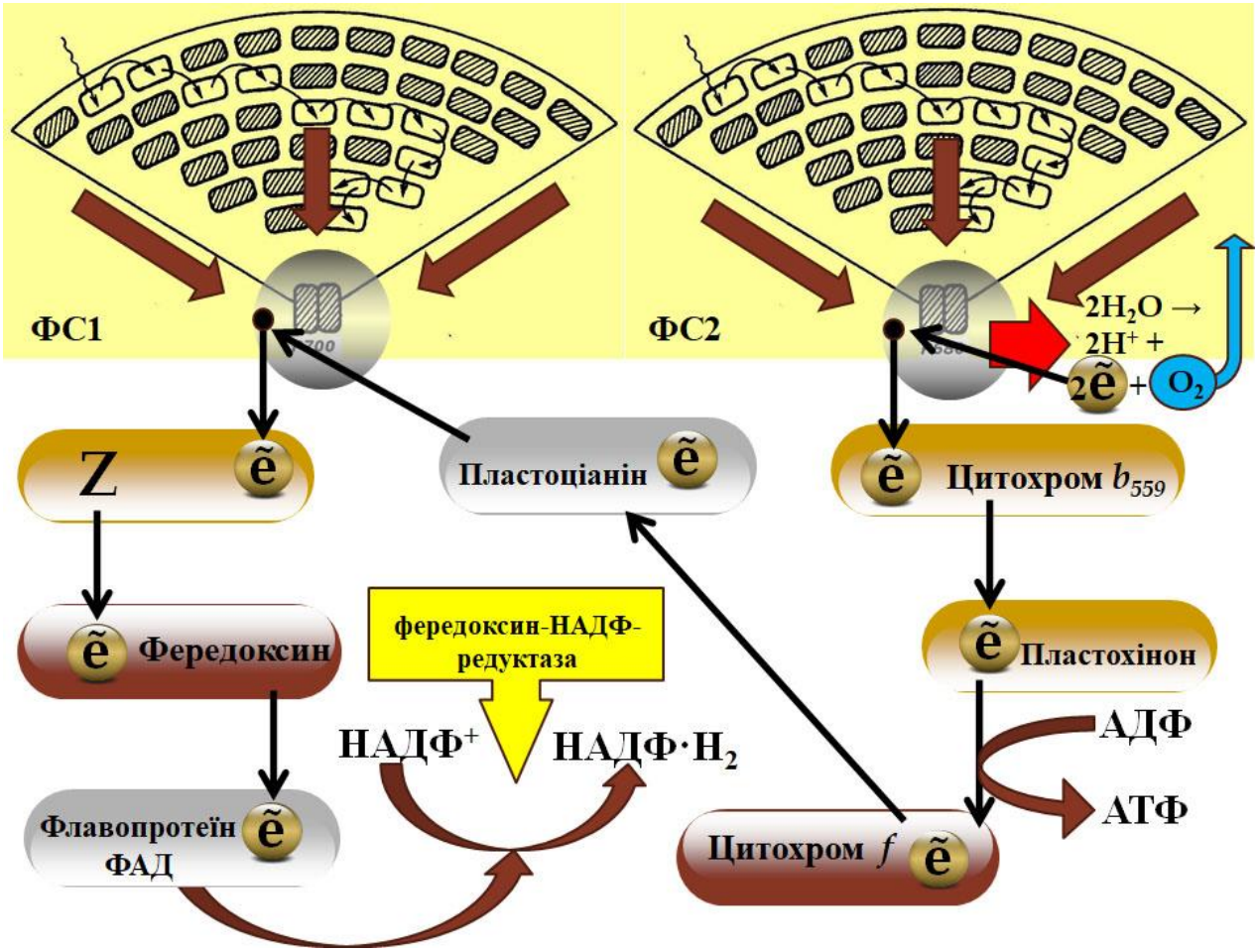


Рис. 3.5. Нециклічне фотосинтетичне фосфорилування, або Z-схема фотосинтезу.

Електрон, який утворився внаслідок розщеплення води, іде на заміщення «дірки» у хлорофілі P_{680}, після чого ФС2 приходить у вихідний стан і готова до поглинання світла, а кисень виділяється як побічний продукт в атмосферу.

За циклічного транспортування електронів, електрон, переданий від P_{700}, повертається до молекули хлорофілу назад. Синтезу АТФ не відбувається, а лише $НАДФ^+$ відновлюється до $НАДФ{\cdot}H_2$.

3.3.3. Синтез АТФ під час фотосинтетичного фосфорилування

Фотохімічні реакції фотосинтезу – це реакції у яких енергія світла перетворюється на енергію хімічних (т. зв. макроергічних) зв'язків. Найпоширенішим акумулятором сонячної енергії є АТФ, що утворюється шляхом фотосинтетичного фосфорилювання (додавання молекули неорганічного фосфору ($Ф_н$) до АДФ) під час проходження електрону по ЕТЛ. Це відбувається завдяки тому, що збуджений електрон, який відривається від P_{700} чи P_{680}, володіє вищою кількістю енергії, за необхідну для його виходу з молекули і транспортування. Цей надлишок енергії використовується для утворення макроергічних зв'язків в молекулі АТФ:

$$АДФ + H_3PO_4 + \text{енергія електрона} \leftrightarrow АТФ$$

Фотосинтетичне фосфорилювання, як і транспорт електронів, буває циклічним і нециклічним. ***Циклічнефосфорилювання*** в еволюційному плані вважається примітивнішим і у деяких бактерій відоме як єдиний спосіб

запасання енергії. ***Нециклічне фосфорилювання*** – еволюційно прогресивніше і характерне для усіх вищих рослин.

Механізм фосфорилювання спряжений з роботою ЕТЛ і пояснюється хеміосмотичною терією Пітера Мітчела (1920 – 1992). Суть теорії Мітчела полягає в тому, що процес транспорту протонів на мембрані спряжений з процесом синтезу АТФ і тому вчений назвав такі мембрани спряженими (кон'югованими). Ця теорія ґрунтується на тому, що ЕТЛ функціонує таким чином, що на мембрані виникає електрохімічний градієнт іонів H^+, зворотній потік яких через протонний канал супроводжується синтезом АТФ, що каталізується ферментом АТФ-синтетазою (АТФ-азою).

АТФ-аза є білковим комплексом, що по іншому називається АТФ-синтетазним комплексом (рис. 3.6). Він розташований на краях тилакоїдів гран таким чином, що одна його частина занурена всередину мембран тилакоїдів, а інша – знаходиться у стромі хлоропласта. Стромальна гідрофільна частина АТФ-ази називається фактор спряження CF_1(conjugatorfactor 1), а гідрофобна мембранна його частина – фактор спряження CF_0 (conjugatorfactor 0)Фактор спряження CF_0побудований з білкових субодиниць, які периферійно містять амінокислоти з гідрофобними радикалами, що надає цій частині молекули гідрофобних властивостей і одночасно забезпечує її інтеграцію та утримання в ліпідному каркасі – гідрофобній частині мембрани. Тому молекула АТФ-ази є полярною і містить два полюси – гідрофільний стромальний CF_1 і гідрофобний мембранний CF_0. У CF_0 міститься катіонний канал, крізь які йони H+ можуть виходити з внутрітилакоїдного простору у строму, але за вихідної конформації молекули CF_1 перекриває цей канал і перешкоджає руху йонів.

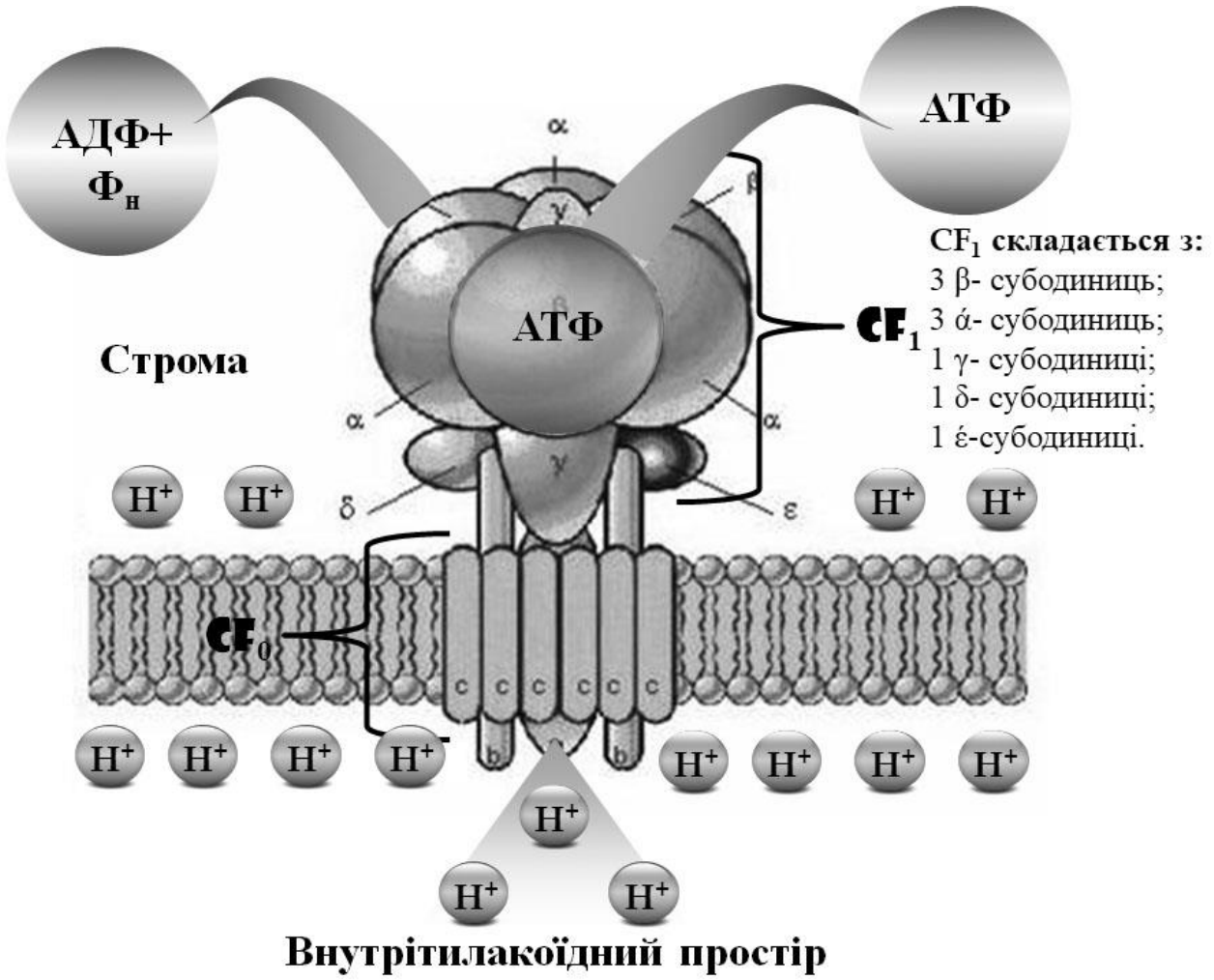


Рис. 3.6.Синтез АТФ у хлоропласті.

Протони надходять через канал в CF_0, потрапляють в фактор спряження CF_1, що складається з 9 субодиниць 5-ти типів: 3-ох β- (бета), 3-ох ά- (альфа), і по одній γ- (гама), δ- (дельта) та έ- (епсілон) субодиниць. У CF_1 процес транспорту іонів H^+ спряжується з процесом фосфорилювання АДФ і утворенням АТФ. Фактор спряження CF_1 є основною частиною фермента і має реакційний центр, у вихідній конформації видоспецифічний до АДФ і неорганічного фосфору. Цей субстрат (АДФ + $Р_н$) приєднується до реакційного центру CF_1і, отримавши енергію від електрона, що мігрує по електрон-транспортному ланцюгу від пластохінона на цитохром f, фермент синтезує АТФ, приєднуючи неорганічний фосфор до АДФ. Процес синтезу АТФ супроводжується зміною просторової орієнтації молекули фермента (конформації), внаслідок чого відбувається побудова нової молекули АТФ. Під час цього процесу, CF_1 обертається навколо CF_0 на 180°, міняючи свою конформацію з видоспецифічності до субстрату (АДФ + $Р_н$) на видоспецифічну до продукта (АТФ). Утворена молекула АТФ міцно зв'язується з молекулою ферменту (АТФ-азою) і для її звільнення потрібна енергія. Цю енергію постачають протони, які, зв'язуючись з ферментом, змінюють його конформацію, після чого АТФ звільняється, а фермент повертається у вихідний стан і приступає до синтезу нової молекули АТФ. Рух електронів уможливлює

зміна конформації CF_1, яка, обертаючись навколо CF_0 відкриває катіонний канал і йони H^+ під дією електро-хімічного градієнту їхньої концентрації, власне осмотичного тиску, виходять із внутрітилакоїдного простору у строму. Кінетична енергія руху цих йонів прокручує CF_1 і повертає її ще на 180°, тобто відновлює вихідну конформацію молекули ферменту, повертаючи їй видоспецифічність до субстрату, але змінюючи видоспецифічність до продукта. Унаслідок цього, продукт (АТФ), втративши зв'язок з активним центром CF_1, звільняється, а фермент знову може приєднувати новий субстрат (АДФ + $Р_н$). Одночасно, з регенерацією вихідної конформації CF_1, йонний канал знову перекривається. Для обертання CF_1 на 180º крізь фермент проходить 3 йони H^+.

Отже, процес синтезу АТФ умовно поділяють на 3 етапи:

1. Приєднання АДФ і $Ф_н$ до активного центру фермента без затрат енергії.
2. Синтез АТФ з АДФ і $Ф_н$ внаслідок зміни конформації ферменту в ділянці фактору спряження CF_1, що спричинюється проходженням іонів H^+ за градієнтом електрохімічного потенціалу через протонний канал у CF_0.
3. Звільнення синтезованої молекули АТФ за рахунок енергії, що постачають протони H^+ та повернення фермента у вихідний стан.

За нециклічного фосфорилювання функціонують 2 фотосистеми – ФС1 та ФС2, донором електронів є вода, а кінцевим їхнім акцептором – $НАДФ^+$. Продуктами нециклічного фосфорилювання є 2 молекули АТФ, 2 молекули $НАДФ·H_2$ і кисень.

Відновлення $НАДФ^+$ відбувається після переходу електрона з фередоксину на флавопротеїн, з якого він, під впливом ферменту фередоксин-НАДФ-редуктази, поступає на молекулу $НАДФ^+$ з утворенням $НАДФ·H_2$. Синтез АТФ відбувається на етапі переходу електрону з пластохінону на цитохром f, внаслідок чого електрон втрачає надлишок енергії, яка й використовується для фосфорилювання АДФ з утворенням додаткового макроергічного зв'язку з молекулою $Ф_н$ і синтезу АТФ.

Тема 3.4. Світлонезалежна (темнова) фаза фотосинтезу

У темновій фазі фотосинтезу відбувається фіксація молекули вуглекислого газу через відновлення його до рівня вуглеводів з використанням енергетичних продуктів, що утворилися на світловій фазі – АТФ і відновленого $НАДФ·H_2$. Для протікання комплексу темнових реакцій безпосередньо світло не використовується, тому її називають темновою. Проте протікає ця фаза за світлових умов паралельно світловій, а не вночі, тому коректнішою є назва світлонезалежні реакції. Протікає фаза у стромі хлоропластів.

Розглянемо такі цикли хімічних реакцій світлонезалежної фази фотосинтезу:

1. C_3-шлях фотосинтезу (Цикл Кальвіна)
2. C_4-шлях фотосинтезу (Цикл Хетча-Слека)
3. МОКТ (метаболізм органічних кислот у товстолистих)
4. Фотодихання

3.4.1. C_3-шлях фотосинтезу (Цикл Кальвіна)

Цикл Кальвіна, або C_3-шлях фотосинтезу – основний метаболічний шлях фіксації вуглекислого газу й синтезу молекули глюкози у вищих рослин. Послідовність його реакцій була розшифрована Мелвіном Кальвіним у 1957 році (рис. 3.7).

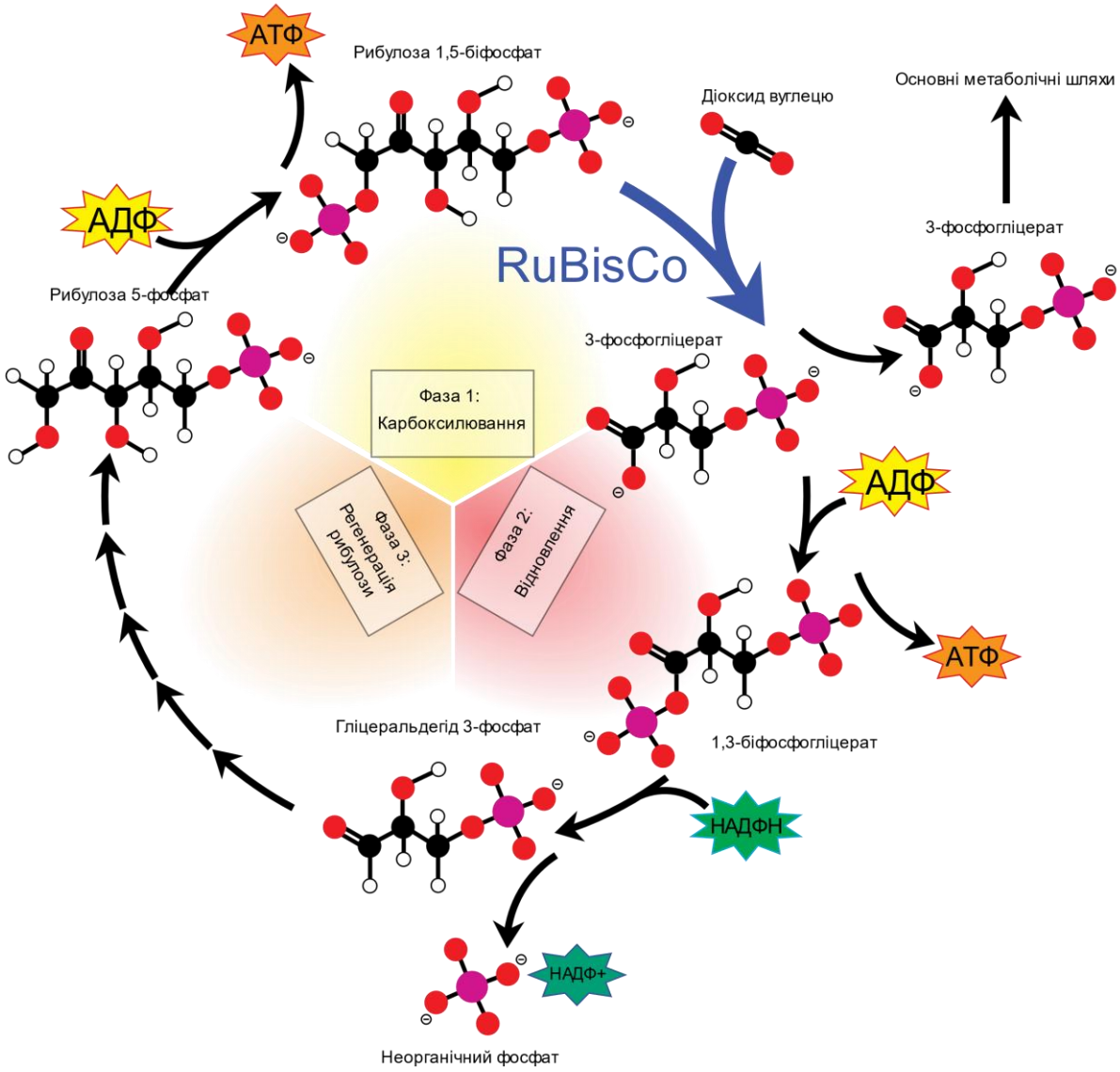


Рис. 3.7. Загальна схема реакцій циклу Кальвіна.
http://surl.li/hbmat

Мелвін Елліс Кальвін – американський біохімік, який з 1940-х років працював над проблемами фотосинтезу. У 1957 році, використовуючи метод мічених атомів карбону CO_2 радіоактивними ізотопами, відкрив механізм фіксації CO_2 рослинами в процесі фотосинтезу, що отримав назву циклу Кальвіна. У 1961 р. Кальвін був удостоєний Нобелівської премії з біохімії. Первинними продуктами у цьому циклі є 3-карбонові кислоти. Протікають ці реакції у стромі хлоропластів.

У цилі Кальвін класично виділяють 3 фази:

1. Карбоксилування
2. Відновлення

3. Регенерації

Сьогодні окремими вченими виділяється ще й четверта фаза продуктів фотосинтезу.

1.Фаза карбоксилування. На цій фазі відбувається карбоксилування первинного акцептора CO_2, тобто приєднання молекули CO_2 до його молекули. **Первинним акцептором вуглекислого газу** у циклі Кальвіна є **рибулозо-1,5-дифосфат**, а **основним ферментом**, що каталізує реакцію приєднання молекули CO_2 до первинного акцептора – **рибулозодифосфат-карбоксилаза** (рубіско – RuBisCO). Цей фермент має два реакційних центри і здатен каталізувати реакцію рибулозо-1,5-дифосфату з киснем за умови відсутності вуглекислого газу в середовищі та наявності кисню, і запускати цикл фотодихання, тобто рибулозодифосфат-карбоксилаза одночасно є й оксигеназою.

Розпочинається цикл реакцією первинного акцептора молекулярного вуглекислого газу рибулозо-1,5-дифосфату із молекулярною формою вуглекислого газу, що каталізується ферментом рибулозодифосфат-карбоксилазою (рис. 3.8). Продуктом цієї реакції є нестійка шестивуглицева сполука 2-карбокси-3-кетоарабінітол-1,5-дифосфат, що, котрий під впливом того ж ферментурибулозодифосфат-карбоксилази, у тій самій реакції реагує з молекулою води і відразу розпадається до двох молекул фосфорилованих тріоз – **3-фосфогліцеринових кислот**, які є **первинними стійкими продуктами** циклу Кальвіна (рис. 3.9).

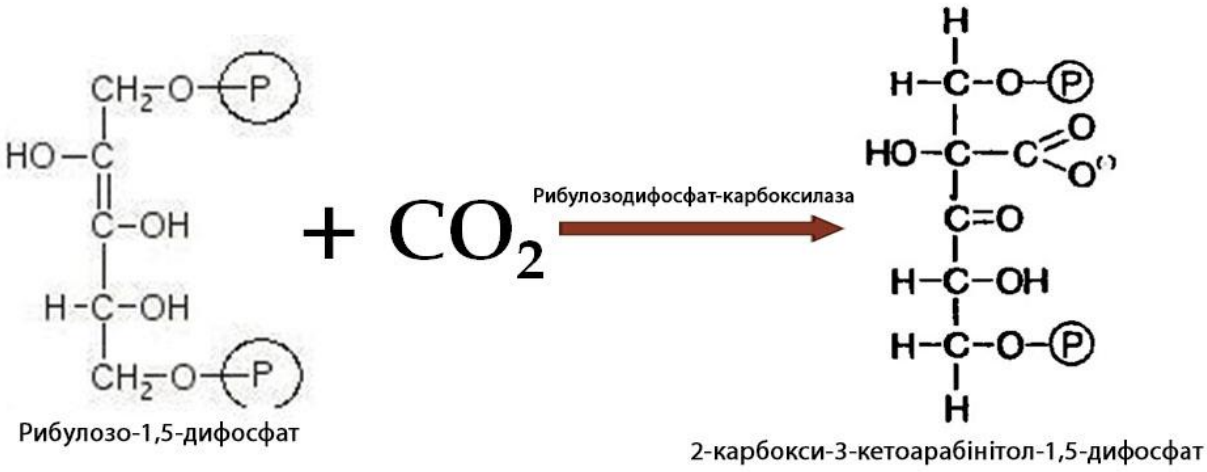


Рис. 3.8. Перший етап реакції карбоксилування первинного акцептора CO_2 з утворенням нестійкої гексози.

2. Фаза відновлення. На цій фазі протікає єдина окисно-відновна реакція циклу і відбувається відновлення двох молекул 3-фосфогліцеринової кислоти до двох молекул 3-фосфогліцеринового альдегіду з наступною їхньою конденсацією до попередника молекули глюкози, а саме її фосфорилованого ізомера фруктозо-6-фосфату. На цій фазі також відбувається використання продуктів світлової фази фотосинтезу – 2 молекул АТФ і 2 молекул відновленого коферменту НАДФ·H_2.

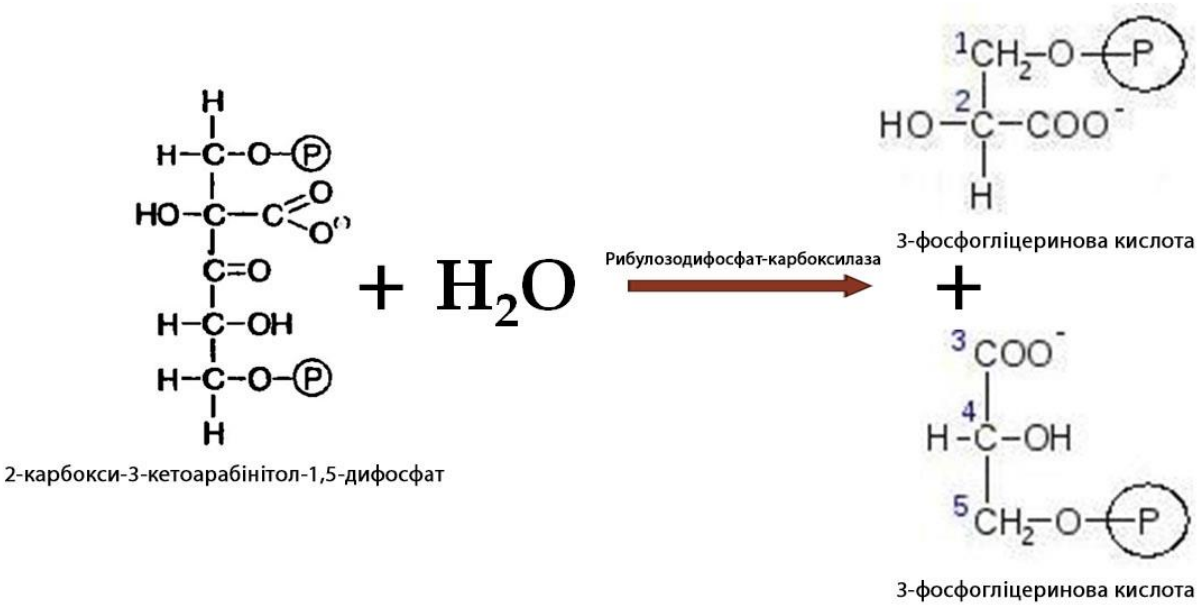


Рис. 3.9.Утворення первинних продуктів циклу Кальвіна – 2 молекул 3-фосфогліцеринової кислоти.

Починається фаза із реакції фосфорилування продуктів фази карбоксилування, тобто 3-фосфогліцеринової кислоти, донором енергії й неорганічного фосфору у якій виступає молекула АТФ. Оскільки, у процесі фази карбоксилування виділяється 2 молекули 3-фосфогліцеринової кислоти, відповідно у цій реакції затрачається 2 молекули АТФ, що використовуються на фосфорилування цих двох молекул кислоти. Каталізує цю реакцію фосфогліцераткіназа за присутності катіонів Mg^{2+}, а її продуктами є 2 молекули 1,3-дифосфогліцеринової кислоти і 2 молекули дефосфорилованого («розрядженого») АДФ (рис. 3.10).

Рис. 3.10.Фосфорилування 3-фосфогліцеринової кислоти.

У наступній реакції протікає процес відновлення двох утворених раніше молекул 1,3-дифосфогліцеринової кислоти до 2 молекул 3-фосфогліцеринового альдегіду (рис. 3.11). Це єдина окисно-відновна реакція циклу. Дві молекули 1,3-дифосфогліцеринової кислоти, за дії тріозофосфатдегідрогенази, реагують з двома молекулами НАДФ·H_2, урезультаті чого відновлюються і дефосфорилуються з утворенням 2 молекул 3-фосфогліцеринового альдегіду, $НАДФ^+$(окисненої форми коферменту нікотинаміддинуклеотифосфату) і H_3PO_4.

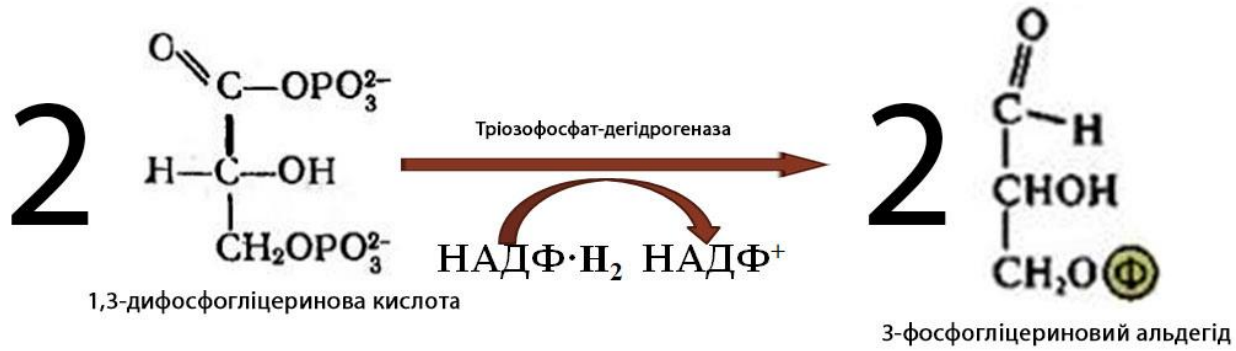


Рис. 3.11.Відновлення 1,3-дифосфогліцеринової кислоти до 3-фосфогліцеринового альдегіду.

Одна з утворених молекул 3-фосфогліцеринового альдегіду, за дії тріозофосфатізомерази, ізомеризується до свого ізомера дигідроацетонфосфату (рис. 3.12). Ця реакція є зворотною й ізомери можуть вільно переходити з однієї форми в іншу.

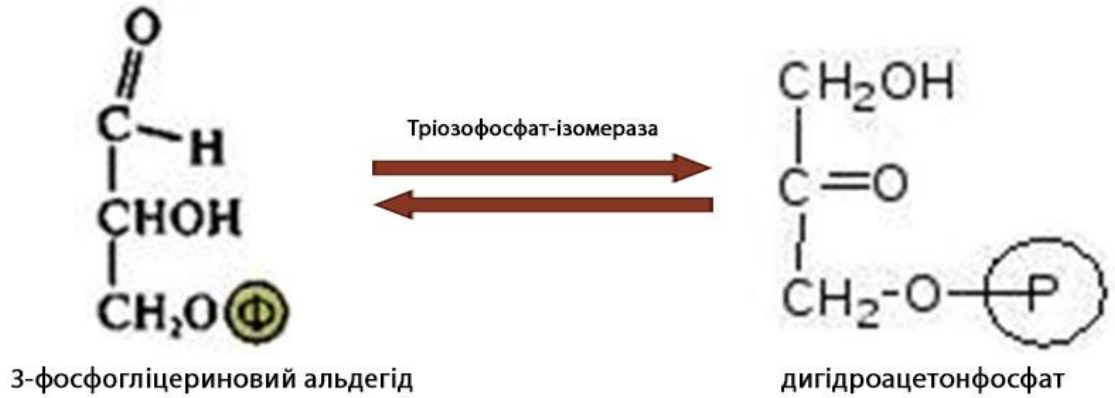


Рис. 3.12.Ізомеризація 3-фосфогліцеринового альдегіду в дигідроацетонфосфат.

Утворений дигідроацетонфосфат у наступній реакції конденсується з іншим 3-фосфогліцериновим альдегідом і, за дії фруктозо-дифосфатальдолази, утворюється перша стійка шестивуглецева сполука (гексоза) – фруктозо-1,5-дифосфат (рис. 3.13).

Далі відбувається дефорфорилування фруктозо-1,5-дифосфату внаслідок його реакції з молекулою води й впливу ферменту фруктозодефосфатази. Продукти реакції – фруктозо-6-фосфат і H_3PO_4(рис. 3.14).

Утворена молекула фруктозо-6-фосфату поступає в наступні реакції з регенерацією первинного акцептора молекулярного CO_2 рибулозо-1,5-дифосфату, а лише один раз на 6 циклів Кальвіна виводиться у якості продуктів фотосинтезу.

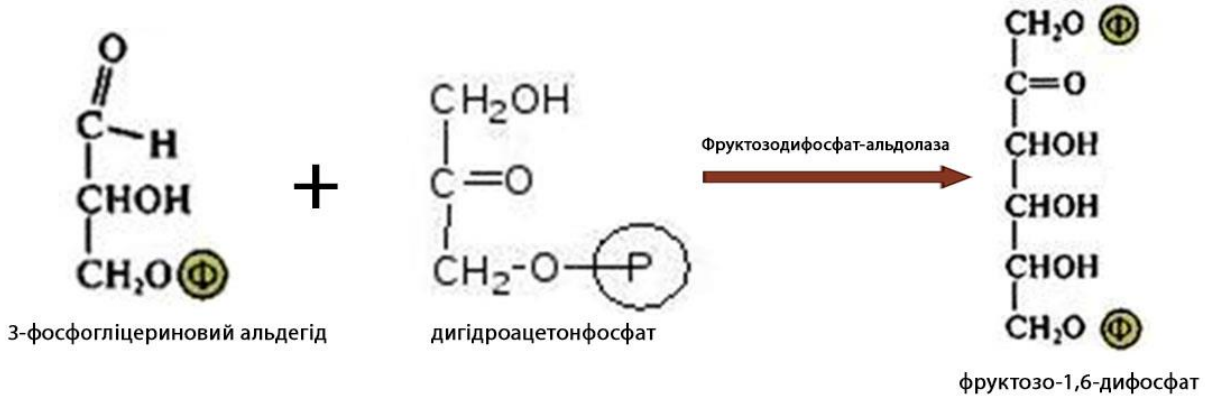


Рис. 3.13.Конденсація ізомерів тріоз з утворенням першої стійкої гексози.

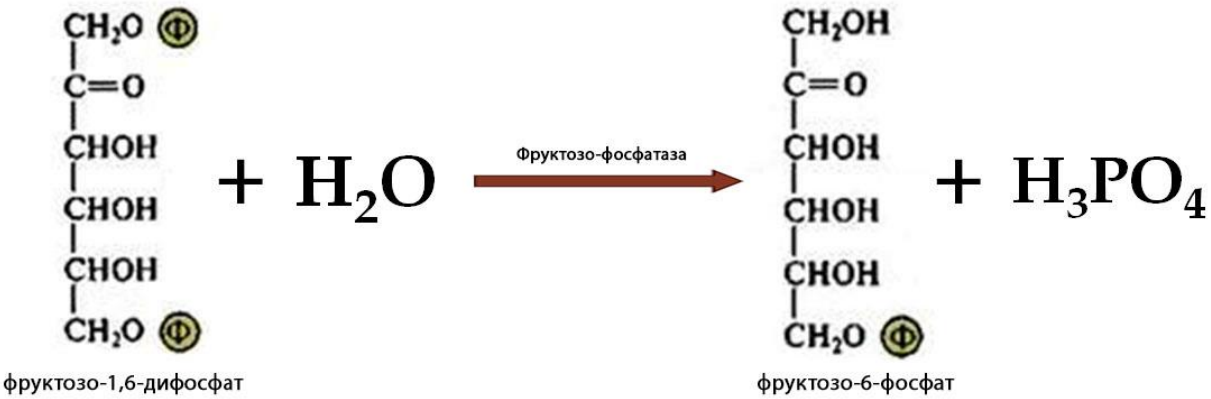


Рис. 3.14.Дефосфорилування фруктозо-1,6-дифосфату.

3. Фаза регенерації. На цій фазі відбувається власне регенерація первинного акцептора CO_2 рибулозо-1,5-дифосфату з утвореної молекули фруктозо-6-фосфату.

Розпочинається фаза із реакціїутвореної у попередній фазі гексозиіз молекулою 3-фосфогліцеринового альдегіду за дії транскетолази (рис. 3.15). Продуктами реакції є чотиривуглецевий еритрозо-4-фосфат і п’ятивуглецевий ксилулозо-5-фосфат.

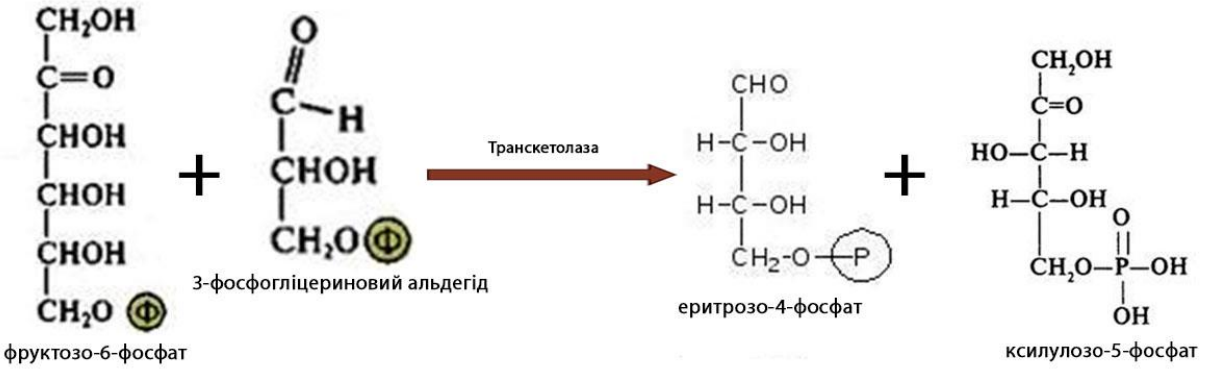


Рис. 3.15. Утворення еритрозо-4-фосфату і ксилулозо-5-фосфату.

Утворений еритрозо-4-фосфат конденсується з дигідроацетонфосфатом із утворенням семивуглецевого седогептулозо-1,5-дифосфату (рис. 3.16). Каталізує реакцію фермент трансальдолаза.

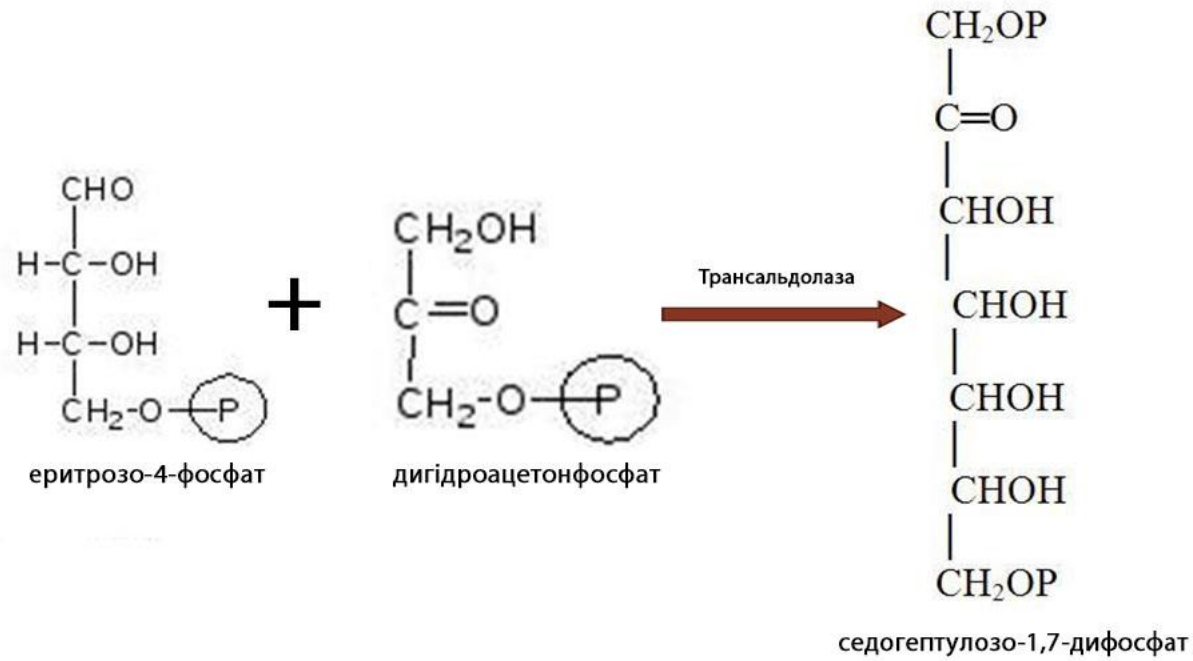


Рис. 3.16.Конденсація еритрозо-4-фосфату з дигідроацетонфосфатом й утворення седогептулозо-1,5-дифосфату.

У наступній реакції молекула седогептулозо-1,5-дифосфату, під впливом седогептулозо-дефосфатази, дефосфорилується до седогептулозо-5-фосфату з виділенням H_3PO_4(рис. 3.17).

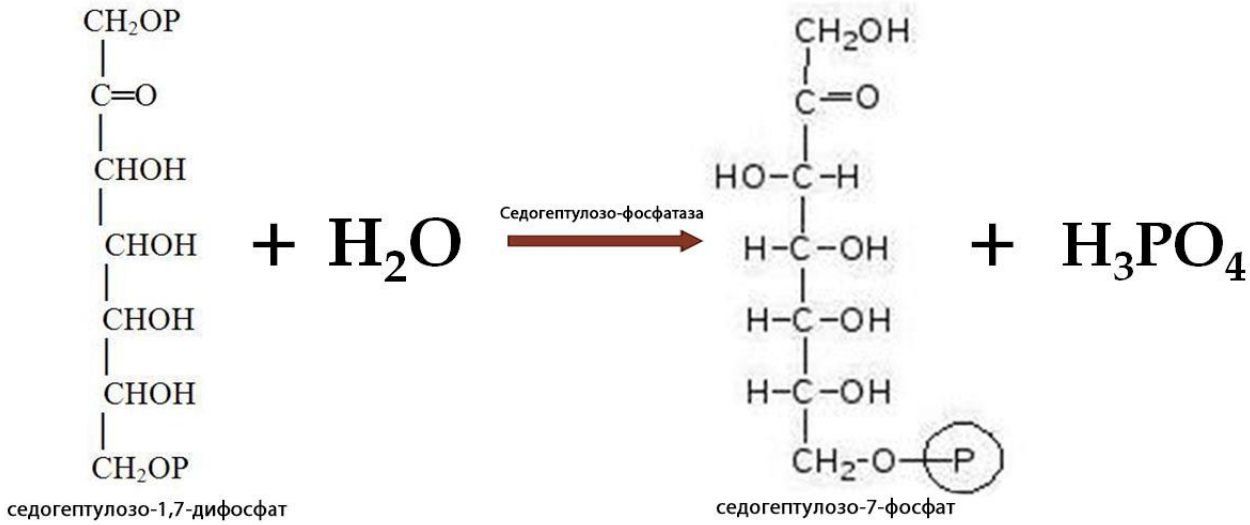


Рис. 3.17.Дефосфорилування седогептулозо-1,5-дифосфату.

Далі седогептулозо-5-фосфат, під впливом ферменту транскетолази, реагує з молекулою 3-фосфогліцеринового альдегіду з утворенням двох пентоз – рибозо-5-фосфату і ксилулозо-5-фосфату (рис. 3.18).

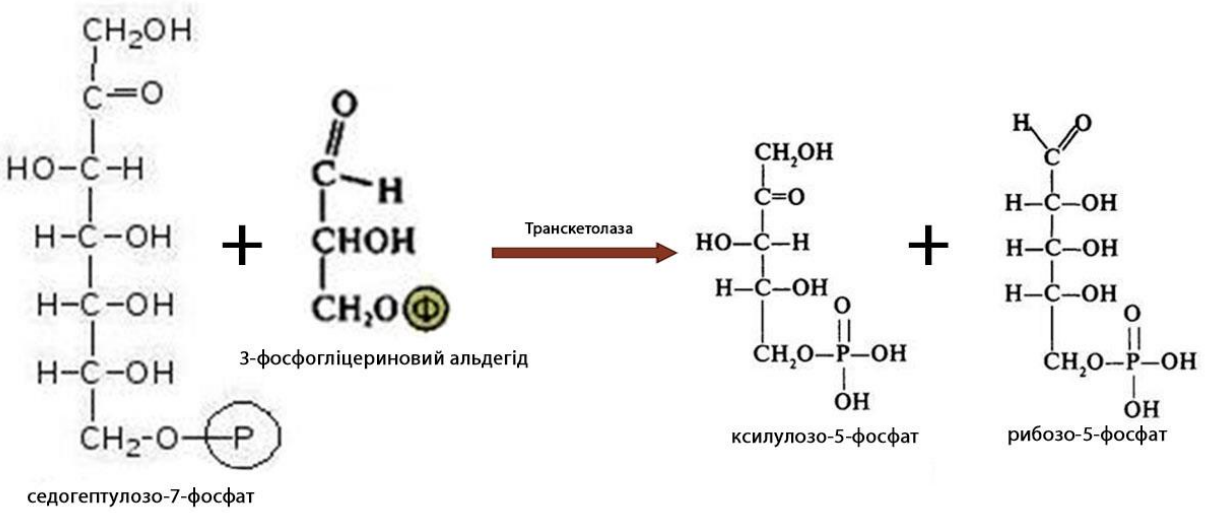


Рис. 3.18. Утворення пентоз.

Після утворення пентоз у циклі Кальвіна протікає їхнє взаємоперетворення: ксилулозо-5-фосфат під впливом ферменту рибулозофосфатепімерази епімеризується у рибулозо-5-фосфат (рис. 3.19), а рибозо-5-фосфат, під впливом ферменту рибулозофосфатізомерази, ізомеризується також до рибулозо-5-фосфату (рис. 3.20).

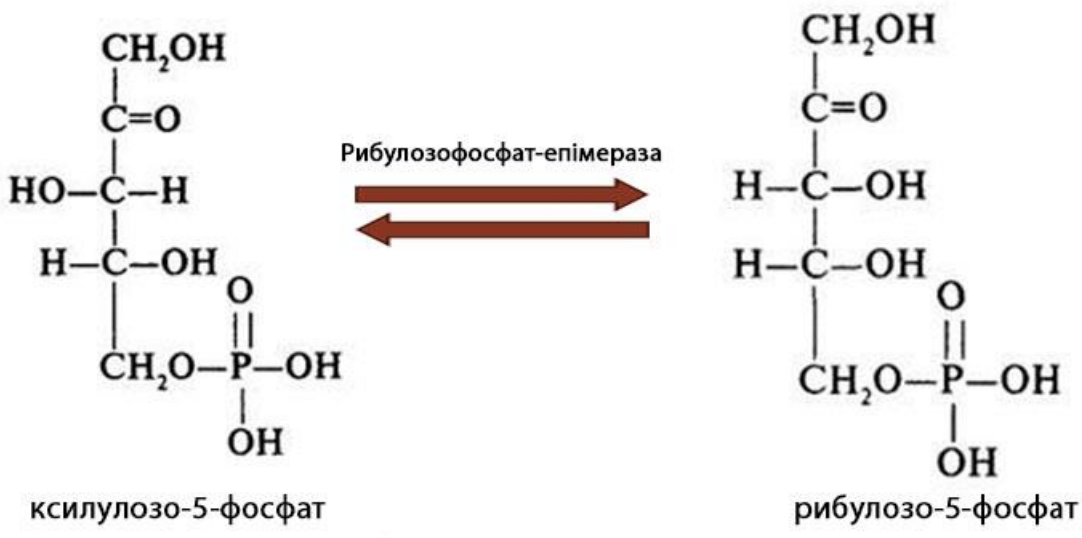


Рис. 3.19.Епімеризація ксилулозо-5-фосфату до рибулозо-5-фосфату.

Таким чином, 3 молекул пентоз, що утворилися на фазі регенерації, утворюється 3 молекули рибулозо-5-фосфату, що є попередником первинного акцептора вуглекислого газу у циклі Кальвіна.

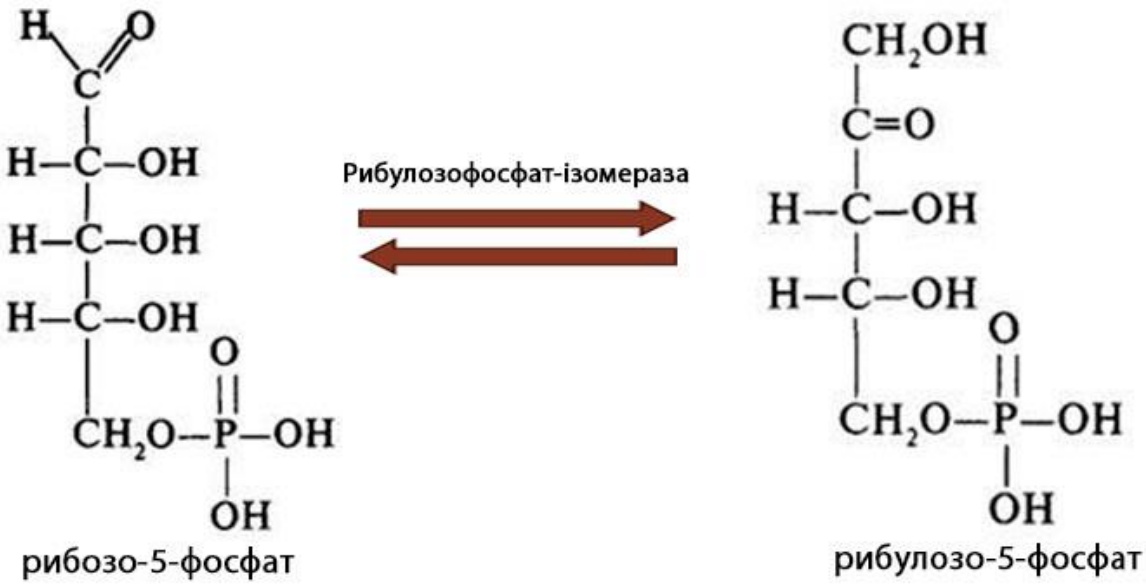


Рис. 3.20.Ізомеризація рибозо-5-фосфату до рибулозо-5-фосфату.

Завершальною реакцією циклу Кальвіна є регенерація первинного акцептора CO_2 рибулозо-1,5-дифосфату шляхом фосфорилування рибулозо-5-фосфату за рахунок молекули АТФ (рис. 3.21, табл. 3.1). Каталізує реакцію фермент фосфорибулокіназа.

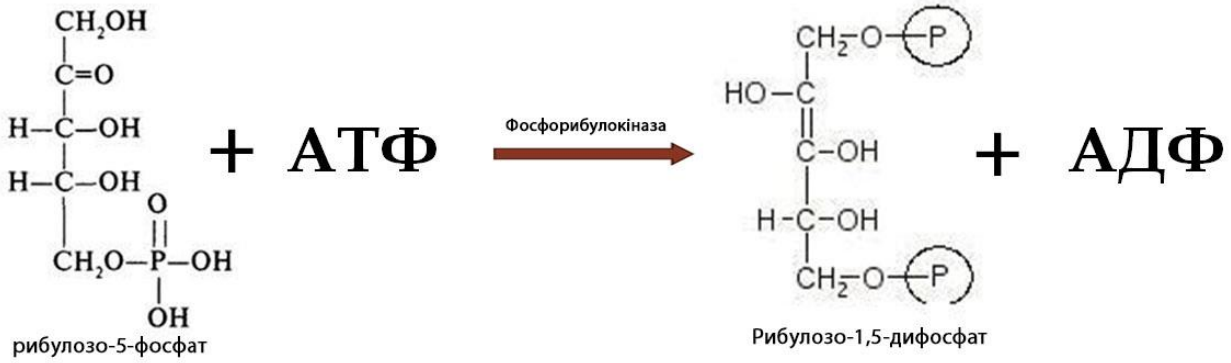


Рис. 3.21.Ресинтез рибулозо-1,5-дифосфату шляхом фосфорилування рибулозо-5-фосфату АТФ.

4. Фаза продуктів фотосинтезу. Виводиться окремою фазою циклу Кальвіна завдяки своєму значенню. За 6 обертів циклу Кальвіна, у середовищі сполук, що брали участь у цьому процесі, утворюється одна екстра молекула фруктозо-6-фосфату, яка уже не вступає у фазу регенерації первинного акцептора CO_2, а виводиться з циклу у якості продуктів фотосинтезу.

Енергетичний баланс циклу Кальвіна

У процесі протікання циклу Кальвіна відбувається асиміляція лише 1 молекули CO_2. Оскільки, молекула глюкози складається з 6 атомів карбону, то для її утворення необхідно проходження 6 циклів Кальвіна.

На асиміляцію 1 молекули CO_2 затрачається 3 молекули АТФ і 2 молекули НАДФ·H_2, тому для утворення 1 молекули глюкози у циклі Кальвіна потрібно 18 АТФ і 12 НАДФ·H_2. Враховуючи, що внаслідок окиснення молекули НАДФ·H_2 на дихальному електрон-транспортному ланцюзі утворюється 3 молекули АТФ (1 НАДФ·H_2 є еквівалентною 3 АТФ), то енергетичний баланс циклу Кальвіна є еквівалентним **54 АТФ**:

$$18 + 12 \times 3 = 54$$

Таблиця 3.1.

Реакції циклу Кальвіна

№ з\п	Реагуючі речовини	Продукти	Ферменти
1	Рибулозо-1,5-дифосфат $+CO_2 + H_2O$	2(3-ФГК)	Рибулозобіфосфаткарбоксилаза
2	3-ФГК+АТФ	1,3-дФГК	Фосфогліцераткіназа
3	1,3-дФГК + НАДФ·H_2	3-ФГА + $НАДФ^+ + H_3PO_4$	Тріозофосфатдегідрогеназа
4	3-ФГА	Диоксиацетонфосфат	Тріозофосфатізомераза
5	3-ФГА + диоксиацетонфосфат	Фруктозо-1,6-біфосфат	Альдолаза
6	Фруктозо-1,6-дифосфат + H_2O	Фруктозо-6-фосфат + H_3PO_4	Фосфатаза
7	Фруктозо-6-фосфат + 3-ФГА	Еритрозо-4-фосфат + ксилулозо-5-фосфат	Транскетолаза
8	Еритрозо-4-фосфат + диоксиацетонфосфат	Седогептулозо-1,7-дифосфат	Альдолаза
9	Седогептулозо-1,7-дифосфат + H_2O	Седогептулозо-7-фосфат + H_3PO_4	Фосфатаза
10	Седогептулозо-7-фосфат + 3-ФГА	Рибозо-5-фосфат + ксилулозо-5-фосфат	Транскетолаза
11	Рибозо-5-фосфат	Рибулозо-5-фосфат	Рибозофосфатізомераза
12	Ксилулозо-5-фосфат	Рибулозо-5-фосфат	Рибулозофосфатепімераза
13	Рибулозо-5-фосфат + АТФ	Рибулозо-1,5-дифосфат + АДФ	Фосфорибулокіназа

3.4.2. C_4-шлях фотосинтезу (Цикл Хетча-Слека)

Таким чином, для ефективного протікання фотосинтезу необхідними є два основних компоненти – висока інсоляція, що забезпечує енергетичні потреби світлозалежних реакцій й індукує утворення достатньої кількості енергетичних продуктів – АТФ і відновленої форма НАДФ, а також постійне надходження молекулярного вуглекислого газу з атмосфери, який є джерелом карбону для скелету органічних речовин (вуглеводів). Найактивніша інсоляція характерна для світлової частини доби, а саме в обідні години дня. Проте, разом з підвищеною інсоляцією, у цей період спостерігається підвищення

температури, що призводить до інтенсифікації транспірації, внаслідок чого рослина починає страждати від водного дефіциту. Надлишкова транспірація змушує рослини замикати продихи для зменшення інтенсивності випаровування води. Внаслідок зменшення розмірів продихових щілин через втрату тургору їхніми замикаючими клітинами, знижується кількість вуглекислого газу, що надходить у міжклітинники губчастого мезофілу листків. Тому у найперспективніший для фотосинтезу період доби з найінтенсивнішою інсоляцією, фіксація вуглекислого газу у рослин з C_3-типом фотосинтезу майже не відбувається. Більше того, утворення надлишку енергетичних речовин, котрі через нестачу CO_2 не використовуються, індукує запуск у таких рослин катаболічних механізмів (фотодихання), що виступаючи акцепторами надлишку енергії, захищають фотосинтетичні пігменти від фотодеструкції внаслідок перезбудження.

Проте існує група рослин, котрі не припиняють процес фіксації вуглекислого газу навіть при закритих продихах в найжаркішу частину доби. Таких рослин відомо більш як тисячу видів, це переважно тропічні злаки (кукурудза, цукрова тростина, сорго), родина амарантових (*Amarantaceae*) та деякі високопродуктивні рослини помірних широт. Усі ці рослини розвинули у своїх листках фізіологічні адаптації, що дозволяють їм фіксувати вуглекислий газ іншим шляхом, ніж C_3-рослини.

М.Д. Хетч та К.Р. Слек у 1966 році виявили, що у цукрової тростини та деяких інших тропічних рослин, вуглець мічений радіоактивним ізотопом CO_2, спершу фіксується у 4-вуглицевих сполуках, а не у 3-вуглицевій 3-фосфогліцериновій кислоті, як у C_3-рослин. Було встановлено, що первинним акцептором CO_2 у таких рослин виступає тривкглицева фосфоенолпірувиноградна кислота, а первинними продуктами є щавелевооцтова та яблучна чи аспарагінова кислоти. Такий цикл фіксації вуглекислого газу отримав назву C_4-шлях фотосинтезу, а пізніше був названий в честь його авторів циклом Хетча-Слека (інколи його ще називають циклом Хетча-Слека-Карпілова, в честь ученого Юрія Соломоновича Карпілова, який незалежно від робіт Хетча і Слека виявив цей шлях фіксації вуглекислого газу у кукурудзи й опублікував свої результати 1960 року у «Трудах Казанского сельскохозяйственного института»).

Для C_4-рослин характерною є наявність анатомічної адаптації до протікання циклу Хетча-Слека у їхніх листках. Мезофіл таких рослин диференційований на клітини двох типів: клітини типового мезофілу та великі клітини обкладки провідних пучків, що локалізовані навколо останніх і на поперечному перерізі листкової пластинки нагадують коронки. Така анатомічна видозміна отримала назву кранц-анатомії листків, або корончастого типу (від німецького слова «Kranz» – корона). У клітинах типового мезофілу розміщені звичайні хлоропласти, проте клітини обкладки провідних пучків містять великі хлоропласти з недорозвиненими гранами та низьким вмістом хлорофілу, через що ці клітини забарвлені по іншому, ніж типовий мезофіл. У клітинах типового мезофілу протікає фотосинтез за C_4-шляхом, а у клітинах обкладки – цикл Кальвіна (C_3-шлях).

Отож, цикл Хетча-Слека диференційований анатомічно на два етапи:

1. C_4-надбудова (протікає у клітинах типового мезофілу).
2. C_3-шлях фотосинтезу (протікає у клітинах обкладки провідних пучків).

Розпочинається цикл Хетча-Слека у клітинах типового мезофілу, у хлоропластах яких відбувається карбоксилювання первинного акцептора CO_2 – фосфоенолпірувиноградної кислоти. Основним ферментом у цьому процесі є фосфоенолпіруват-карбоксилаза. Цей фермент не здатний каталізувати реакції приєднання вуглекислого газу до первинного акцептора безпосередньо у молекулярній формі, тому реакціям циклу Хетча-Слека передує перетворення CO_2 з молекулярної в іонну форму HCO_3^-:

$$CO_2 + H_2O = H^+ + HCO_3^-$$

Каталізує цю реакцію фермент карбоангідраза.

Також перед початком циклу Хетча-Слека відбувається утворення первинного акцептора вуглекислого газу фосфоленолпірувату з піровиноградної кислоти. Джерелом пірувату для цієї реакції може бути регенерація первинного акцептора цього ж циклу, інші метаболічні цикли або полімерні матриці (крохмаль). Каталізує реакцію фермент піруват-ортофосфат дикіназа.

Першою реакцією циклу є карбоксилування первинного акцептора CO_2 – фосфоенолпірувату, що відбувається за рахунок іонної форми HCO_3^- та під впливом ферменту фосфоенолпіруват-карбоксилази (рис. 3.22). Продуктом реакції є 4-вуглицева щавелевооцтова кислота (оксалоацетат), що є нестійкою сполукою і у наступній реакції під впливом НАДФ-малат дегідрогенази відновлюється НАДФ·H_2 до яблучної кислоти (малату)(рис. 3.23).

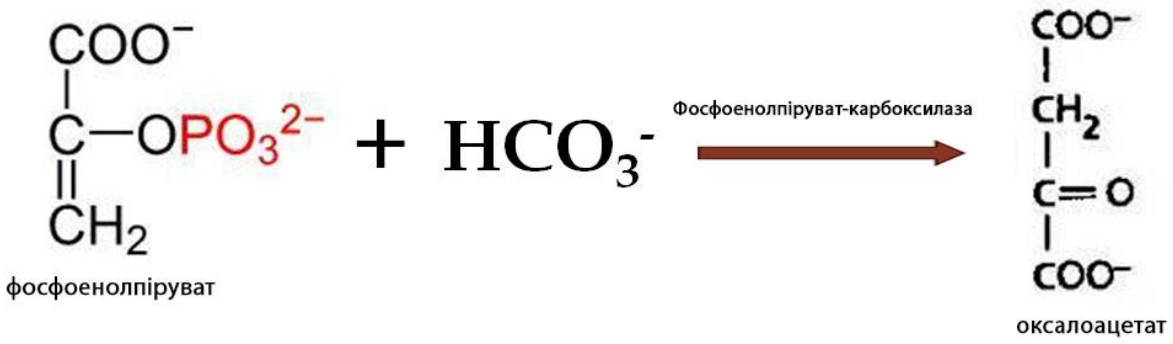


Рис. 3.22. Карбоксилування фосфоенолпірувиноградної кислоти.

Яблучна кислота транспортується в клітини обкладки провідних пучків, у яких декарбоксилується окиснюючись $НАДФ^+$ (реакція окисного декарбоксилування), внаслідок чого утворюється відновлена молекула НАДФ·H_2, піруват і молекулярний CO_2(рис. 3.24). CO_2 реагує з рибулозо-1,5-дифосфатом, тобто розпочинає цикл Кальвіна, а піруват переноситься назад у клітини типового мезофілу і регенерує у первинний акцептор CO_2 фосфоенолпіруват(рис. 3.25).

Таким чином, у циклі Хетча-Слека, C_4-шлях функціонує як помпа вуглекислого газу для C_3-шляху. Утворена яблучна кислота створює певний резерв CO_2, що може використовуватись у період активної інсоляції, коли активно утворюються енергетичні речовини, проте через закриті продихи виникає дефіцит молекулярного вуглекислого газу у середовищі.

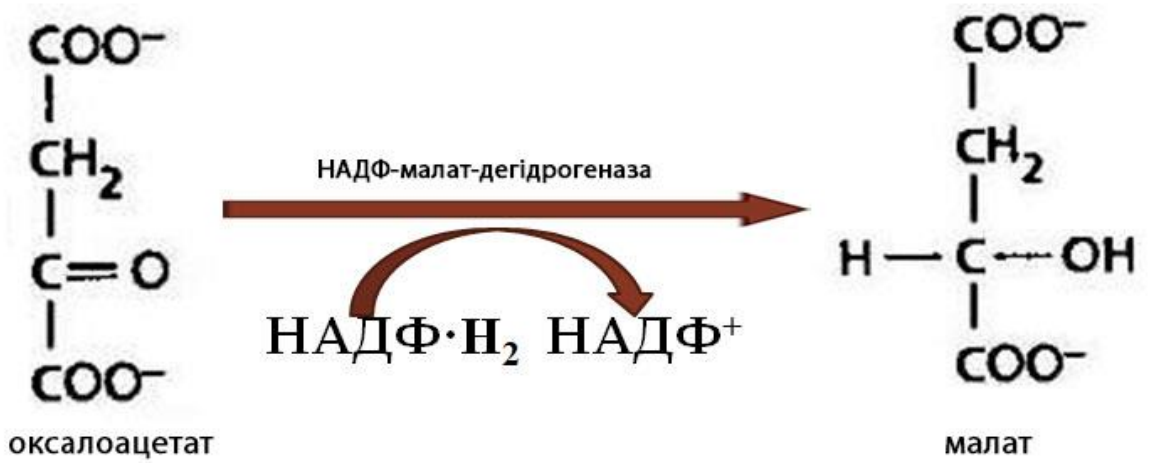


Рис. 3.23. Утворення яблучної кислоти.

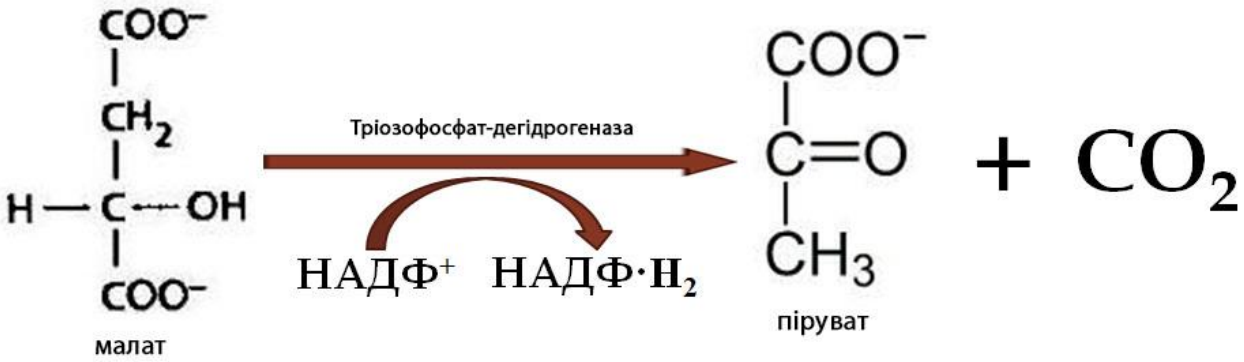


Рис. 3.24. Окисне декарбоксилування малату з утворенням молекулярного вуглекислого газу і пірувиноградної кислоти.

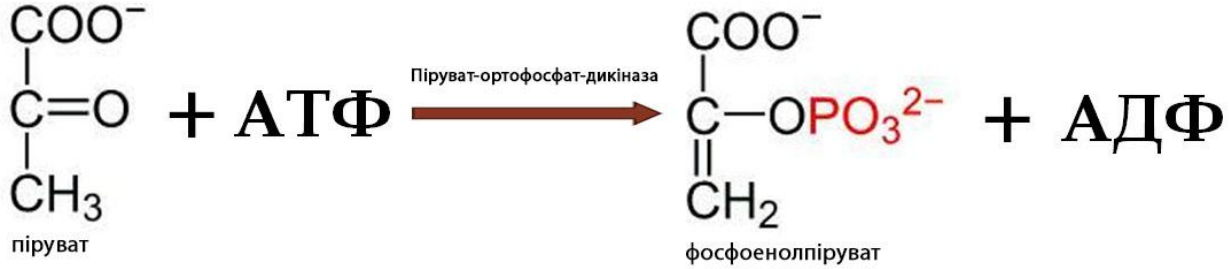


Рис. 3.25. Регенерація фосфоенолпірувату з піровиноградної кислоти, утвореної в циклі.

Енергетика циклу Хетча-Слека

Цикл Хетча-Слека є дещо більш енергозатратним, порівняно з циклом Кальвіна, оскільки на утворення 1 молекули глюкози у ньому затрачається **60 АТФ** (54 – у циклі Кальвіна й 6 – під час регенерації фосфоенолпірувату; затрачений під час синтезу яблучної кислоти НАДФ·H_2 компенсується відновленням цієї молекули у реакції окисного декарбоксилювання яблучної кислоти у великих хлоропластах клітин обкладки провідних пучків). Зате основна частина енергетичних продуктів цього циклу затрачається все-таки на C_3-етапі, а карбоксилювання первинного акцептора не потребує значних енергозатрат, тому такий перерозхід АТФ з лишком компенсується активним його утворенням в процесі фотосинтетичного фосфорилування під час інтенсивної інсоляції у жаркий час доби.

3.4.3. САМ (МОКТ)

Існує екологічна група рослин, яким характерний ще більш спеціалізований, як цикл Хетча-Слека, шлях фіксації вуглекислого газу. По суті, цей шлях є свого роду модифікацією циклу Хетча-Слека, його видозміною.

Цю модифікацію названо САМ (*Crassulaceae* Acid Metabolism), або МОКТ (Метаболізм органічних кислот у товстолистих). Товстолисті, або товстянкові (*Crassulaceae*) – це родина космополітних сукулентів, у представників якої було вперше виявлено особливу форму циклу Хетча-Слека, якій характерна не анатомічна, а періодична диференціація C_3- і C_4-шляхів фіксації вуглекислого газу. Загалом, МОКТ характерний для багатьох сукулентних рослин, не лише з родини товстолистих.

У рослин САМ-типу відбувається фіксація CO_2 вночі при відкритих продихах за C_4-шляхом, а яблучна кислота, яка утворюється у цьому процесі, накопичується у вакуолях. Удень, коли жаркі умови змушують ці рослини тримати продихи закритими, яблучна кислота з вакуолей знову надходить у хлоропласти і стає джерелом CO_2 для C_3-шляху фотосинтезу. Таким чином, екологічні умови, за яких зростають сукулентні рослини, змушують їх фотосинтезувати впродовж доволі тривалого періоду (цілий день) при закритих продихах, для чого цим рослинам потрібен значний запас яблучної кислоти, на відміну від рослин з типовим циклом Хетча-Слека, яким достатньо невеликої її кількості, щоб не припиняти фотосинтез у найжаркіші години дня. Водночас, у сукулентних рослин розвиваються спеціальні водозапасаючі клітини, що формують водоутримуючі тканини, що формуються у різних органах – листках (листкові сукуленти) чи стеблах (стеблові сукуленти). У клітинах цих тканин містяться великі вакуолі, що здатні накопичити достатню кількість яблучної кислоти.

Проте, МОКТ має ще деякі свої особливості (рис. 3.26). У зв’язку з утворенням значної кількості кислот, зростає pH середовища, що негативно впливає на функціонування клітинних білків. Для того, щоб уникнути закиснення середовища, піруват, що утворюється з яблучної кислоти у хлоропластах вдень, не іде на регенерацію первинного акцептора CO_2 фосфоенолпірувату відразу, а під впливом ферменту енолази, перетворюється

спершу на 2-фосфогліцеринову кислоту, яка потім під впливом фосфогліцератмутази перетворюється у 2-фосфогліцеринову кислоту, що залучається у цикл Кальвіна на рівні з двома молекулами цієї кислоти, утвореними як первинні продукти цього циклу внаслідок карбоксилування рибулозо-1,5-дифосфату.

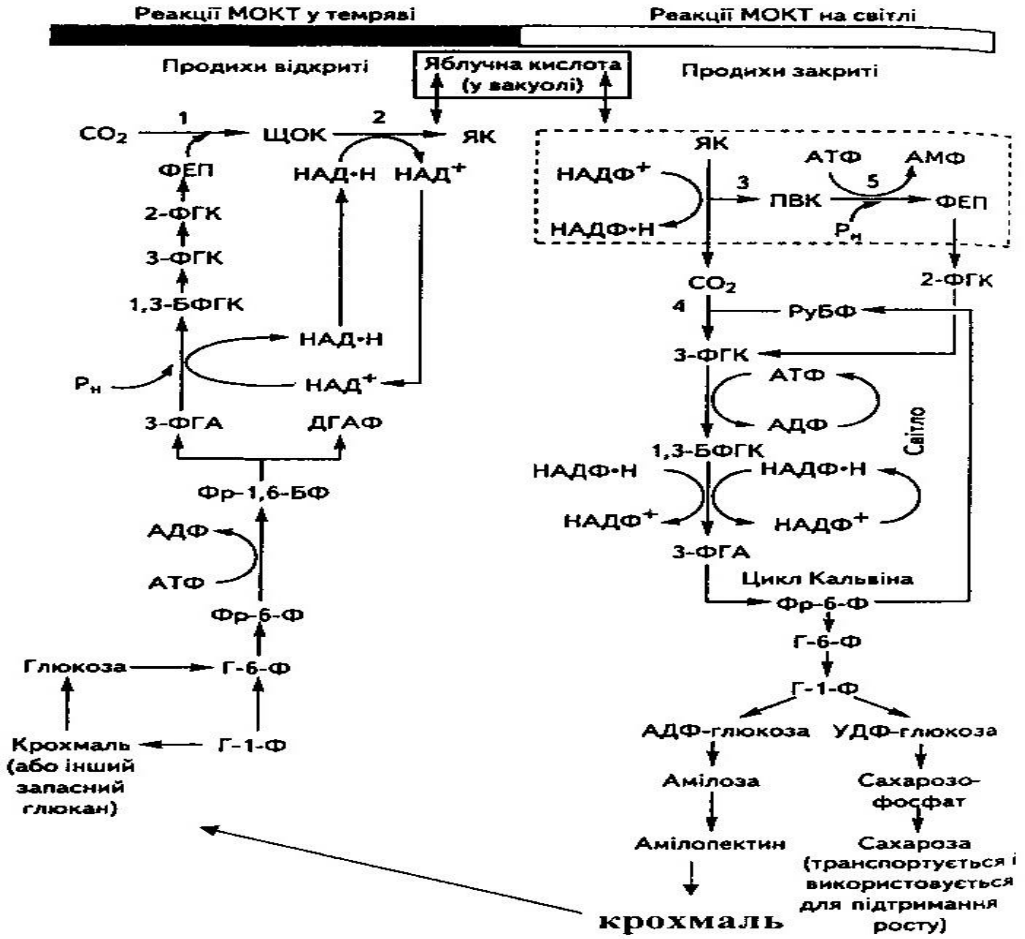


Рис. 3.26. Реакції САМ (за М. Мусієнко, 2005).

Таким чином, ціла молекула яблучної кислоти у циклі Кальвіна перетворюється на глюкозу, яка полімеризується у крохмаль. Уночі молекула крохмалю деполімеризується відщеплюючи мономери (молекули глюкози) й стає полімерною матрицею для синтезу первинного акцептора вуглекислого газу.

Під час денних реакцій циклу МОКТ відбувається запасання не лише речовини для нічних реакцій, а й енергії. Оскільки уночі світлова фаза фотосинтезу не функціонує й, відповідно, забезпечення трансформованою світловою енергією хімічних реакцій не відбувається, тому для їхнього протікання необхідне альтернативне джерело енергії. Цим джерелом є гліколітичні реакції розщеплення глюкози назад до двох молекул фосфоенолпірувиноградної кислоти, власне первинного акцептора вуглецю, у нічних реакціях. Під час гліколізу відбувається відновлення $НАДФ^+$ до $НАДФ•H_2$, що необхідний для відновлення щавелевооцтової кислоти до

яблучної, а також регенерація первинного акцептора не з пірувату, як у циклі Хетча-Слека, а з тріоз, отриманих унаслідок катаболізму глюкози, що не вимагає додаткових затрат енергії АТФ.

Отже, екологічні особливості різних типів фіксації вуглекислого газу свідчать про те, що вирішальне значення для усіх рослин має цикл Кальвіна. C_4- і МОКТ-типи фіксації CO_2 забезпечують додаткове постачання вуглецю, що потім асимілюється у циклі Кальвіна.

3.4.4. Фотодихання

Еволюція циклу Кальвіна відбувалася за тих геологічних епох, коли в атмосфері переважав вуглекислий газ, а не кисень. Очевидно, що такі умови вплинули і на формування властивостей основного ферменту циклу Кальвіна – рибулозодифосфат-карбоксилази (оксигенази). Цей фермент має досить низький рівень спорідненості до CO_2 і тому здатний каталізувати побічну реакцію рибулозодифосфату з киснем, що спричиняє утворення фосфогліколевої кислоти, тобто O_2 і CO_2 – взаємоконкурентні субстрати. Тому рибулозодифосфат-карбоксилаза здатна й до іншого типу активності: вона може діяти як рибулозодифосфат-оксигеназа, тобто за наявності O_2 цей фермент каталізує розщеплення рибулозодифосфату на 3-фосфогліцеринову кислоту і фосфогліколеву кислоту.

Швидкість обох цих реакцій за участі вказаного ферменту залежить від концентрацій O_2 і CO_2 у стромі хлоропласта. Тому рослини, яким характерний лише цикл Кальвіна, як основний тип фіксації вуглекислого газу, значну частину фіксованого в процесі фотосинтезу CO_2 втрачають у результаті розпаду продуктів фіксації та виділення CO_2 в реакціях, що протікають з поглинанням O_2. Зазвичай киснепоглинальні реакції відбуваються водночас із фотосинтезом, у світлову пору дня, тому називаються *фотодиханням*.

Фотодихання – це світлове дихання, тобто процес при якому на світлі поглинається кисень, а виділяється вуглекислий газ.

У цьому процесі участь беруть 3 органели – хлоропласт, пероксисома і мітохондрія(рис. 3.27). Як уже було зазначено, основний фермент циклу Кальвіна рибулозодифосфат-карбоксилаза, здатна діяти також як і рибулозодифосфат-оксигеназа і каталізувати реакцію рибулозо-1,5-дифосфату з молекулярним киснем. За цю особливість вказаний фермент ще називають РубісКО (RuBisCO) – скорочення повної його назви *рибулозодифосфат-карбоксилаза-оксигеназа*. Ця реакція протікає у стромі хлоропластів. Продуктами реакції є 3-фосфогліцеринова кислота (фосфогліцерат) та фосфогліколева кислота (фосфогліколат). Фосфогліколат дефосфорилується у гліколат, який за участі білка-переносника транспортується у пероксисому, в якій вступає в реакцію з ще однією молекулою молекулярного кисню з утворенням гліоксилату й пероксиду водню (H_2O_2). H_2O_2 відразу ж розпадається на молекулу води й $1\backslash 2O_2$, а гліоксилат перетворюється на гліцин, який транспортується в мітохондрію.

Дві молекули гліцину, що потрапляють у мітохондрію, перетворюються на амінокислий серин. Це відбувається таким чином: одна з молекул гліцину,

під впливом ферменту гліциндекарбоксилази, окислюється $НАДФ^+$ і розпадається на NH_3, CO_2 та метилентетрагідрофолат, при цьому $НАДФ^+$ відновлюється до $НАДФ \cdot H_2$. Інша молекула гліцину, під впливом ферменту серин-гідроксиметилтрансферази, реагує з метилентетрагідрофолатом і перетворюється на серин. Утворений серин переноситься знову у пероксисому, де, під впливом ферменту серин-гліоксиамінотрансферази, перетворюється на гідроксипіруват, який, у свою чергу, під впливом ферменту гідроксипіруватредуктази, перетворюється на гліцерат. Донором електронів для цієї реакції виступає $НАДФ \cdot H_2$. Далі гліцерат за допомогою того ж самого білка-переносника, що імпортував у пероксисому з хлоропласту гліколат, переноситься у хлоропласт де, під впливом ферменту гліцератуінази, перетворюється на 3-фосфогліцеринову кислоту і АДФ.

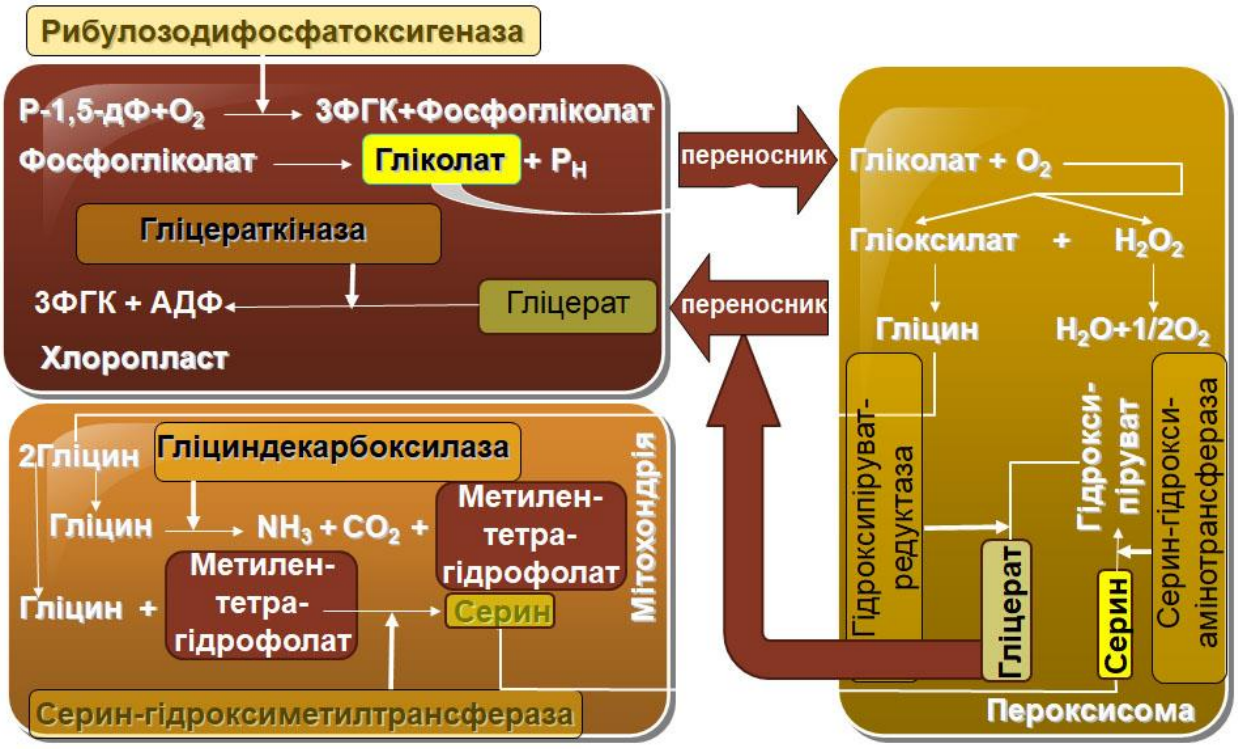


Рис. 3.27. Схема протікання фотодихання.

Питання значення фотодихання є досить дискусійним. Найймовірніше, що цей процес відіграє захисну функцію – ліквідує накопичену під час світлової фази надлишкову енергію тому захищає молекули хлорофілу від фотодеструкції за обмеженого доступу CO_2 (під час посухи чи високої температури). Підтвердженням цього є те, що фотодихання притаманне рослинам з C_3-типом фотосинтезу, які не розвивають пристосувань, що забезпечують накопичення запасу вуглекислого газу. **Продуктами** фотодихання стає молекулярний CO_2, що може залучатися в цикл Кальвіна і асиміляція якого виступає споживачем енергетичних сполук, що утворюються на світловій фазі, а також окиснені коферменти $НАДФ^+$ і молекула АДФ, що є акцепторами енергії збудження електронів фотосистем.

3.4.5. Продукти фотосинтезу. Синтез крохмалю

Основною загасаючою сполукою у рослин є крохмаль. Крохмаль – це рослинний високомолекулярний полісахарид, мономером якого є глюкоза. Резервний гомополісахарид рослин. Нагромаджується в результаті фотосинтезу у плодах, зерні, коренях і бульбах деяких рослин як запасна форма вуглеводів.

Найрухомішою формою вуглеводів у рослин є дисахариди – олігомери, побудовані з двох мономерів (залишків глюкози й фруктози). Найпоширенішим дисахаридом у рослин є сахароза, побудована із одного залишку глюкози і одного фруктози. Сахароза – це добре розчинний у воді кристалічний порошок, що утворюється внаслідок олігомеризації залишків глюкози і транспортується у розчиненому стані по ситовидних трубках флоеми з місць синтезу у місця споживання. Значна кількість сахарози перетворюється на крохмаль і відкладається у спеціалізованих паренхімних тканинах (рис. 3.28).

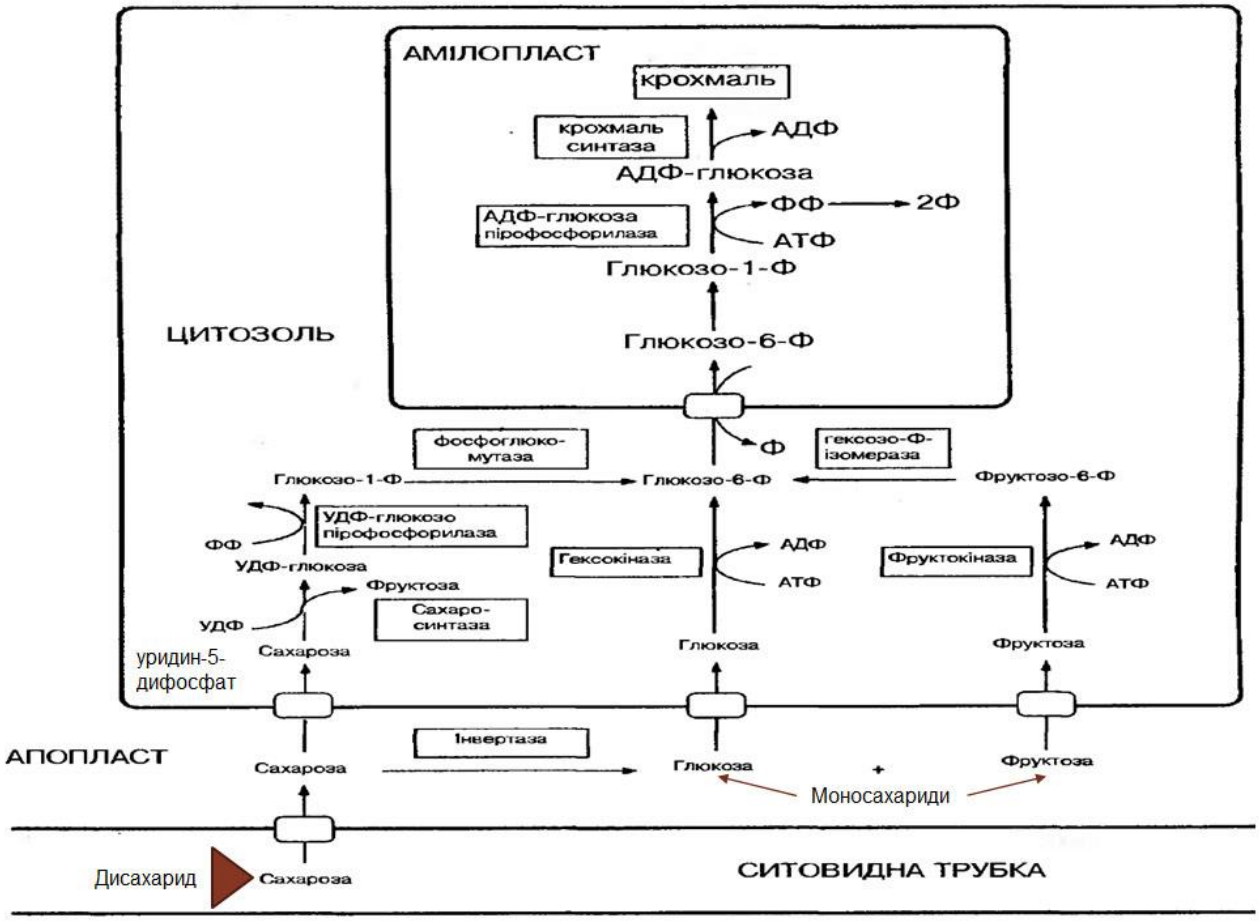


Рис. 3.28. Синтез крохмалю (за М. Мусієнко, 2005 зі змінами).

Синтез крохмалю відбувається у 2 стадії:

1. Утворення глюкозо-6-фосфату із сахарози.
2. Полімеризація глюкозо-6-фосфату до крохмалю

Глюкозо-6-фосфат може утворюватися різними шляхами: безпосередньо із сахарози, або з її ізомерів. По ситовидних трубках флоеми сахароза поступає до клітин, у яких синтезується крохмаль. Флоемне транспортування передбачає перенесення води й розчинених у ній речовин по симпласту, оскільки ситовидні

трубки, на відміну від судин ксилеми, є живими клітинами і зберігають протопласт. З симпласту флоеми, сахароза потрапляє в апопластний простір між протопластами клітин ситовидної трубки і клітини-споживача. З апопласту в гіалоплазму протопласту клітини-споживача сахароза може потрапити у двох формах: олігомерній і у формі мономерів, на які вона розпадається в апопласті під впливом ферменту інвертази.

Потрапивши в гіалоплазму, сахароза реагує з молекулою УДФ (уридин-5-дифосфат) і, під впливом ферменту сахаросинтази, розпадається на мономери, один з яких (фруктоза) звільняється, а інший (глюкоза) перетворюється на комплекс УДФ-глюкоза. Цей комплекс, під впливом ферменту УДФ-глюкозо-пірофосфорилази, розпадається з утворенням глюкозо-1-фосфату. Ця сполука, під впливом ферменту фосфоглюкомутази, перетворюється у глюкозо-6-фосфат.

Потрапивши в гіалоплазму у формі моносахаридів, цукри також перетворюються у глюкозо-6-фосфат: глюкоза – шляхом безпосереднього фосфорилування молекулою АТФ під впливом ферменту гексокінази, а фруктоза – спершу фосфоризується АТФ, під впливом ферменту фруктокінази, до фруктозо-6-фосфату, який, під впливом ферменту гексозофосфатізомерази, ізомеризується до глюкозо-6-фосфату.

Таким чином, молекула сахарози перетворюється на дві молекули глюкозо-6-фосфату, який транспортується із гіалоплазми в амілопласт – спеціалізовану пластиду (лейкопласт), у якій накопичуються запасні поживні речовини у формі крохмалю. В амілопласті, глюкозо-6-фосфат знову перетворюється на глюкозо-1-фосфат, який далі, під впливом ферменту АДФ-глюкозо-пірофосфорилази, реагує з молекулою АТФ й перетворюється на комплекс АДФ-глюкоза, при чому розривається два макроергічних фосфатних зв’язки і два залишки неорганічного фосфору виділяєтються в середовище. Далі АДФ-глюкоза розпадається під впливом ферменту крохмальсинтази, АДФ звільняється, а залишок глюкози переноситься на крохмаль і стає компонентом його полімерної молекули.

Лабораторна робота № 5.
Визначення кількості та відносних розмірів продихів методом целюлозних реплік М.Г. Молотковського

У процесі еволюції усі живі організми пристосовувалися до перенесення несприятливих факторів зовнішнього середовища. В умовах різного зволоження рослини розвивали певні адаптації, які є спільними для тих чи інших екологічних груп. До таких адаптацій належать особливості анатомічної будови продихів, а саме їхні розміри та кількість на одиницю поверхні.

Ксерофіти – це рослини посушливих місцезростань, а мезофіти – помірно зволожених. Ксерфітизація – це набуття рослинами ознак характерних для ксерофітної групи, а мезофітизація – відповідно мезофітної. Для ксерофітів характерні продихи дрібних розмірів, проте на одиницю площі листкової поверхні їх багато, а для мезофітів – навпаки, продихи великі, але їх мало. Така

особливість позволяє ксерофітним рослинам швидше закривати продихові щілини в умовах нестачі вологи адже для закривання великих продихів мезофітів потрібна втрата великої кількості води з листка.

*Мета роботи.*Навчитися розраховуватирівень мезофітизації і ксерофітизації аналізуючи анатомічні особливості продихових апаратівокремих видів кімнатних рослин.

*Предмети і матеріали***.** 5 видів кімнатних рослин, мікроскоп, предметні стекла, прозорий лак, тоненькаклейка стрічка.

Хід роботи:

1. Відібрати 5 видів кімнатних рослин для проведення досліду. На морфологічно нижню (абаксіальну) поверхню їхніх листків поміж жилками нанести тонку смужку лаку і залишити його для підсихання на 5 хв.
2. Перенести целюлозну репліку на предметне скло. Для цього відрізати невелику смужку клейкої стрічки і наклеїти її поверх репліки на листку. Обережно відірватистрічку від поверхні листка знімаючи таким чином репліку, після чого наклеїтисмужку на предметне скло.
3. Розглянути препарати під мікроскопом, підрахувати кількість продихів у полі зору та визначити їхні відносні розміри виставляючи відповідний порядковий номер дослідної рослини починаючи з тієї, у якої виявлено найменші розміри продихів. Результати досліджень записую у таблицю3.2.
4. Вирахувати ступінь мезофітизації і ксерофітизації досліджуваних рослин за формулою:

К/М = К : Р, де

К/М – ксерофітизація/мезофітизація;

К – кількість продихів у полі зору мікроскопа;

Р – відносні розміри продихів.

Результати підрахунків записати у відповідну колонку таблиці3.2.

5. Побудувати екологічний ряд досліджених рослин починаючи з ксерофітніших і закінчуючи мезофітнишими, відповідно до балів їхньої ксерофітизації/мезофітизації.
6. Проаналізуйте результати та запишіть **висновки.**

Таблиця3.2

Ступінь ксерофітизації/мезофітизації дослідних рослин згідно особливостей організації їхніх продихових апаратів

№ з/п	Вид рослини	Кількість, шт.	Відносні розміри	Бали К/М
1	Монстера делікатесна (*Monstera deliciosa*)			
2	Китайська роза (*Hibiscus rosa-sinensis*)			
3	Бегонія королівська (*Begonia rex*)			
4	Сансев'єрія трьохполосна (*Sansevieria trifasciata*)			

5	Потос повзучий (*Pothosscandens*)			

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Яка роль K^+ у регуляції розмірів продихової щілини і яке значення цього процесу для інтенсивності фотосинтезу?
2. Які переваги методу Молотковського порівняно з іншими для польової діагностики стресового стану у рослин?
3. Поміркуйте, які ознаки продихового апарату (ксерофітизації чи мезофітизації) притаманна листкам яблуні домашньої? Чому?

Лабораторна робота № 6.

Хімічні властивості пігментів фотосинтезу

Як відомо, пігменти – це речовини, що мають певне забарвлення, а отже володіють світлофільтаційними властивостями, тобто можуть поглинати частину світлового спектру, а частину відбивати. Власне, відбите світло й зумовлює їхнє забарвлення. Пігменти, що беруть участь у процесі фотосинтезу називають **фотосинтетичними пігментами**. До них належать хлорофілита каротиноїди (неокиснені каротини та окиснені ксантофіли). Ці пігменти знаходяться у хлоропластах й асоційовані з ліпо-протеїднимикомплексами хлоропластів, тобто з їхньою мембранною системою. З'ясовано, що хімічні зв'язки пігментів і компонентів мембранне такі міцні як ковалентні зв'язки і легко руйнуються за дії полярних органічних розчинників, таких як ацетон чи спирт. Ці розчинники викликають денатурацію білкових молекул мембран тилакоїдів. Оскільки, із сухих листків хлорофіли вилучити за допомогою безводних розчинників неможливо, тому для цього використовують 85 % водний розчин етилового спирту чи ацетону.

Мета роботи. Ознайомитися з оптичними та хімічними властивостями хлорофілу у листках рослин гібіскуса.

Предмети і матеріали. 96% етиловий спирт, бензин (ефір, бензол, ацетон), NaOH (KOH), вода, крейда – $CaCO_3$, кварцовий пісок (подрібнене скло), фільтрувальний папір (вата), скляні палички, лійки, мірні циліндри, пробірки, піпетки, зелені листки гібіскуса.

Хід роботи

1. **Отримання спиртовоївитяжки фотосинтетичних пігментів.**Відібрати зелені листки на дослідній рослині, не пошкоджені, без хлорозу. Дрібно нарізати з листкових пластинок наважку у 2–3 грами і розтерти її у ступці за допомогою товкачика до однорідної маси. Для нейтралізації дії органічних, що містяться у складі клітинного соку вакуолей, додати на кінчику ножа потертої крейди. До одержаної гомогенної маси у ступці, додати 10 мл 96-%

етилового спирту, перемішати масу скляною паличкою й профільтрувати її у пробірку. Отриманий спиртовий екстракт пігментів повинен бути забарвленим у зелений колір. Одержаний екстракт розділити на 2 пробірки приблизно пополам.

2. **Розділення пігментів за Краусом.** В одну з пробірок із екстрактом,додати таку ж кількість (приблизно 5 мл) бензину й перемішати. Після цього додати 2–3 краплини води, щоб забезпечити кращий розподіл шарів з пігментами.Потім повільно перемішати, оскільки інтенсивне перемішування спричинитьутворення водонерозчинної емульсії і розділення пігментів не відбудеться, а розчин помутніє. Залишити пробірку для відстоювання на кілька хвилин. Після цього спостерігаємо розділення вмісту пробірки на 2 шари: бензиновий, що розташовується зверху, оскільки є легшим, зеленого кольору і містить хлорофіли і каротин, та спиртовий, розташований внизу, жовтого кольору з вмістом ксантофілів. Якщо розділення не відбулося, потрібно долити ще кілька грам бензину, перемішати вміст пробірки, додатидві краплі води залишити для відстоювання.Якщо жспиртовий шар став непрозоримунаслідок наявності надлишку води, тоді потрібно додати ще трохи спирту.
3. **Реакція на омилення хлорофілу.**Після проведення реакції за Краусом,у пробірку з розділеними пігментами,внести 2–3 краплі розчину NaOH, перемішати й залишити на кілька хвилин для відстоювання.Спостерігаємо розділення суміші знову на два шари, але розміщених протилежно – зверху розташований розчин каротинів жовтого кольору, а знизу – зелений розчин хлорофіліну (калієвої солі хлорофілу).
4. **Реакція на феофітин.**Ця реакція доводить присутність атому магнію в порфіриновому ядрі молекули хлорофілу. Для феофітинізації хлорофілу, до іншої пробірки з 5 мл спиртової витяжки фотосинтетичних пігментів, потрібно додати 2–3 краплі 20 % кислотиHCl, перемішати і залишити для відстоювання. Концентрованіші й сильніші кислоти для реакції феофітинізації не підходять, окільки незворотньо руйнують порфіринове ядра і регенерація металоорганічного зв’язку у цьому випадку є неможливою. За дії кислоти, атом магнію в ядрі хлорофілу заміщується воднем, утворюється феофітин, а розчин змінює забарвлення з зеленого на оливково-буре.
5. **Відновлення металоорганічного зв’язку у порфіриновому ядріхлорофілу**. У пробірку із отриманим розчином феофітину додатикілька кристалів оцтовокислого цинку (або оцтовокислої міді) й обережно довести розчин до кипіння, нагріваючи пробірку над пальником. Після кипіння, залишити розчин для відстоювання. Спостерігаємо зміну оливкового забарвлення на смарагдово-зелене. Ця реакція демонструє залежність зеленого забарвлення розчину хлорофілу від наявності у складі його молекулатомів металу. У таблиці3.3 оформити результати кожного досліду разом з графічним відображенням.
6. Проаналізуйте результати, заповніть таблицю 3.3 та запишіть **висновки.**

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

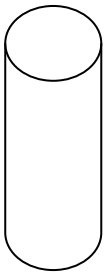
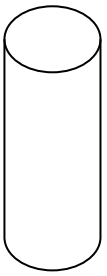
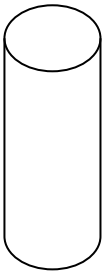
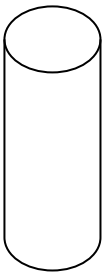
1. Які функціональні групи обумовлюють гідрофобні та гідрофільні властивості хлорофілу?

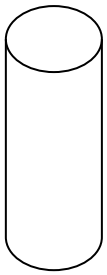
2. Чим хлорофілінова кислота відрізняється від її солі?

3. Поміркуйте, під дією яких чинників у природі може утворюватися феофітин?

Таблиця 3.3

Характер протікання дослідних реакцій

Вихідна сполука	Доданий реактив	Рисунок	Отримана сполука
1.			
2.			
3.			
4.			

5.			

Лабораторна робота № 7.

Оптичні властивості фотосинтетичних пігментів

Під час фотосинтезу, світлова енергія, перед тим, як перетворитися на хімічну, поглинається пігментами. Пластидні пігменти поглинають світло в межах т. зв. видимого спектру (400–700 мкм), що називають ще фотосинтетично активною радіацією (ФАР). Проте, ця ділянка теж поглинається пігментами не повністю, а вибірково, тобто кожен пігмент має свій особливий спектр поглинання. У спиртовому розчині хлорофілів такий спектр містить два максимуми, у яких поглинається світло найкраще – це довгохвильовий червоний (660 та 640 мкм) і короткохвильовий синій (430 і 450 мкм). Мінімум спектру поглинання хлорофілів знаходиться у зоні зеленого світла, тому ця частина спектру відбивається від цих пігментів і зумовлює зелене забарвлення хлорофілів.

У живому листку спектр поглинання хлорофілів більш широкий і вирівняний у порівнянні з розчином. Так, червоний максимум хлорофілу а в хлоропласті має кілька піків – 670, 683, 700 мкм, а хлорофілу b – 650–655 мкм. Така різниця між спектрами поглинання хлорофілу у розчині та живому листку обумовлена ступенем агрегації молекул пігменту, а також їхніми зв’язками з ліпопротеїдним комплексом мембран тилакоїдів.

Каротини і ксантофіли поглинають лише промені в ділянці синьо-фіолетових променів.

Такі оптичні властивості фотосинтетичних пігментів зумовлені особливостями їхньої хімічної будови.

У молекулах хлорофілів і каротиноїдів існує система кон’югованих (спряжених) подвійних зв’язків. Скелет молекули побудований з атомів вуглецю, що з’єднані між собою простими (двоелектронними) ковалентними зв’язками – σ-зв’язками. В утворенні подвійних зв’язків, окрім σ-електронів, беруть участь ще два π-електрони. У таких системах π-електрони не пов’язані з конкретними атомами карбону і тому можуть вільно рухатися по усій молекулі, формуючи хмару делокалізованих електронів, збудження яких може здійснюватися квантами видимого спектру світла.Зі збільшенням кількості подвійних зв’язків у молекулі, підвищується її здатність поглинати кванти світла й одночасно відбувається зміщення максимума поглинання у сторону довгохвильової частини спектру.

У молекулах хлорофілів і каротиноїдів система подвійних кон'югованих зв'язків визначає поглинання квантів у синьому короткохвильовому максимумі. Хроматофорні властивості хлорофілів значною мірою також забезпечені гідруванням зв'язків між атомами вуглецю у положенні 7 і 8 четвертого пірольного кільця порфіринового ядра молекули. Це призводить до появи червоного максимума поглинання і водночас знижує поглинання променів у жовто-зеленій частині спектру. Наявність атома магнію у порфіриновому ядрі ще більше підсилює поглинання червоних променів й одночасно послаблює поглинання зелених.

Окрім вибіркового поглинання спектрів світла, хлорофіл володіє здатністю до ***флуоресценції***. За поглинання кванта видимого світла хлорофілом, один із π-електронів переходить на вищий енергетичний рівень, а молекула – у збуджений стан. Проте, час перебування у стані збудження дуже нетривалий і хлорофіл переходить назад у стан спокою, а електрон повертається на попередній енергетичний рівень. Повернення електрона спряжене з витратою ним надлишкової енергії, отриманої від квантів світла, що розсіюється у вигляді світіння, тобто флуоресценції.

Принцип методу. Для встановлення спектру поглинання пігментів користуються спектроскопом. У нього одночасно проникають два світлових потоки. Один проходить безпосередньо від джерела світла крізь кювету з розчином пігменту, а потім розщеплюється призмою на складові компоненти. Інший потік відбивається дзеркалом у боковий отвір, де потрапляє на грань іншої призми. Унаслідок виникають два паралельних спектра, розташованих один над одним. Спектр, що відбивається дзеркалом слугує контролем, а за появою темних полос на дослідному спектрі, визначають які саме промені поглинає дослідний пігмент.

Мета роботи.Ознайомитися з оптичними властивостями фотосинтетичних пігментів, визначити їхні спектри поглинання.

Предмети і матеріали. Спиртова витяжка фотосинтетичних пігментів з листків, розчин каротину і ксантофілу (бензиновий шар, отриманий після омилення хлорофілу), мірні піпетки, спектроскоп.

Хід роботи

Визначення спектру поглинання хлорофілу.

1. Встановити спектроскоп стосовно джерела світла таким чином, щоб усі ділянки спектру мали однакову яскравість.

2. У кювету налити спиртову витяжку хлорофілу, помістити її перед об'єктивом спектроскопа і визначити положення темних полос, що відповідають променям, котрі поглинув хлорофіл.

Визначення спектру поглинання каротину і ксантофілу.

3. Обережно набрати за допомогою піпетки бензиновий розчин, у який перейшли каротиноїди після реакції омилення хлорофілу і перенести його в кювету, розміщену перед об'єктивом спектроскопа.

4. Розглянути спектр поглинання каротиноїдів і зрівняти його зі спектром поглинання хлорофілу. Зарисувати обидва спектри поглинання в зошит.

Виявлення флуоресценції хлорофілу.

5. Спиртову витяжку пігментів або розчин хлорофілу в бензині, отриманий внаслідок розділення пігментів за Краусом, набрати у пробірку й розмістити на фоні чорного паперу перед джерелом світла.

6. Зафіксувати зміну забарвлення витяжки з зеленого кольору на темно-червоний. Зарисувати флуоресценцію в зошит.

7. Проаналізуйте результати та запишіть **висновки.**

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Які зв'язки у молекулах пігментів визначають їхні спектри поглинання?
2. Чим зумовлена наявність двох максимумів поглинання світлових променів молекулами хлорофілу?
3. Що таке флуоресценція і що її обумовлює?

Лабораторна робота № 8.

Розподіл пігментів методом одномірної паперової хроматографії

До основних фотосинтетичним пігментів листка відносяться **хлорофіли** і жовті пігменти − **каротиноїди**, які відповідно до їхньої хімічної будови поділяються на дві групи: **каротини** ($C_{40}H_{56}$) і окисненіші **ксантофіли** ($C_{40}H_{56}O_n$). Одні й другі являють собою суміш декількох пігментів подібної будови, яку можна розділити на окремі компоненти за допомогою методу хроматографії.

Метод паперової хроматографії був запропонований російським вченим М.С. Цвєтом у 1906 році і зараз широко використовується для якісного поділу суміші пігментів. Всі хроматографічні системи складаються в основному з двох фаз: **нерухомої** і **рухомої.** Зазвичай рухома фаза переміщається по нерухомій або пропускається через неї.

Метод хроматографії заснований на різній рухливості (Rf) кожного компонента на певному адсорбенті. **Адсорбент** − тверда речовина, що здатна утримувати на своїй поверхні певні молекули. У якості адсорбентів можна використовувати сахарозу, оксид магнію, крохмаль, силікагель, папір тощо. Рухливість речовини залежить від її розчинності безпосередньо в розчиннику, пропущеного через адсорбент, і відсотку адсорбції на даному адсорбенті**. Чим вищою** є розчинність пігменту в розчиннику і **чим гірше** він адсорбується на адсорбенті, **тим більшою** є його рухливість, і **тим далі** він буде розташований від стартової смуги. Застосовуючи різні комбінації розчинників і адсорбенти різної природи, можна досягти високого ступеня розділення і очищення пігментів.

Одним з адсорбентів при хроматографії є папір. Хроматографічне розділення на папері проводять **у двох напрямках: низхідному чи висхідному**.

За**висхідної хроматографії**смужку паперу закріплюють вертикально, одночасно її нижній кінецьзанурюють у розчинник. На нижньому кінці хроматографічної смужки перед цим наносять суміш пігментів. Розчинник, під дією капілярних сил адгезії та когезії, піднімається вгору, розчиняє суміш пігментів і розділяє їх на рухливі фракції, розподіляючи ці фракції на хроматограмі (рис. 3.29).

За**низхідної хроматографії** верхній кінець смужки хроматографічного паперу із сумішшю пігментів, нанесених недалеко від його краю, прикріплюють у пробірці, котрувстановлюють у верхній частині дослідної камери. Нижній кінець хроматограмирозміщують таким чином, щоб він не торкався розчинника, щознаходиться на дні камери. Унаслідок дії сили тяжіння та капілярних сил, розчинник рухається униз по хроматограмі і розділяє суміш.

Хроматографію проводять у герметично закритих посудинах, де підтримують насичену парами розчинників атмосферу, що запобігає їх випаровування з паперу. Для ефективного розподілу пігментів папір повинен бути досить щільної рівномірної товщини.

Для характеристики положення плям використовують величину Rf − коефіцієнт рухомості:

Rf = l / L, де

l − відстань між стартом і положенням центру плями на хроматографі;

L − відстань між стартом і фронтом руху розчинника

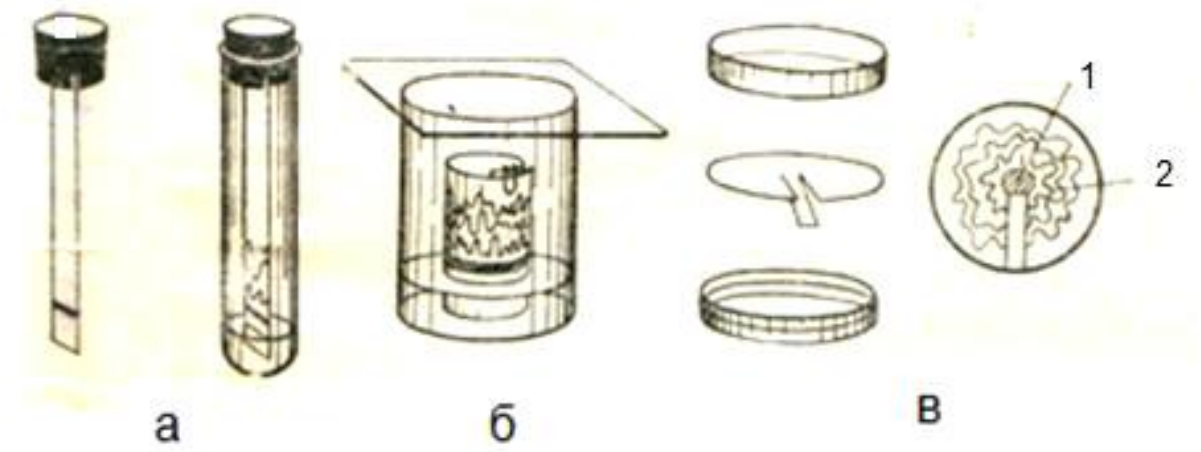


Рис. 3.29. Схема паперової висхідної хроматографії
а − смужка хроматографічного паперу; б − циліндрична хроматограма; в − кругова хроматограма (1 – стартова пляма; 2 – розділені групи пігментів).

Мета роботи.Оволодіти методом одномірної паперової висхідної хроматографії й за його допомогою розділити суміш фотосинтетичних пігментів з листків традесканції.

Предмети і матеріали. 96% етиловий спирт, крейда ($CaCO_3$), ступка, товкачик, фільтрувальний папір (вата), скляні палички, лійки, мірні циліндри, піпетки, зелені листки традесканції, хроматографічний папір, пробірка з корком, оснащеним дротяним гачком, бензин, витяжна шафа.

Хід роботи

1. **Одержання спиртового екстракту пігментів.** Для цього наважку (2 – 3 г) зелених листків дрібно нарізати, розтерти у ступці до однорідної маси. На кінчику скальпеля додати крейди для нейтралізації кислот клітинного соку. У ступку до гомогенної маси додати 5 мл 96% етилового спирту, перемішати скляною паличкою та профільтрувати. Одержаний спиртовий екстракт повинен мати концентрований зелений прозорий колір.

2. На смужку хроматографічного паперу (**2х12 см**) простим олівцем нанести стартову лінію (від краю смужки **1-1,5 см**), занурити цим кінцем у спиртову витяжку пігментів на глибину **1-1,5 см**, висушити на повітрі. Операцію повторити до тих пір (**15 разів**), поки зона занурення не набуде інтенсивного зеленого кольору. Потім опустити цей кінець кілька разів у чистий ацетон на глибину **2 мм**, зігнати все пігменти у рівень стартової смуги (**ширина 2-3 мм**), просушити і вставити протилежним кінцем у крюк пробки. Закрити пробкою пробірку, на дно якої внести бензин Калоша, так щоб папір у нього не занурювався (**до 2 мм**).

Смужка паперу повинна знаходитися у вертикальному положенні, а її нижній край необхідно занурити у розчинник так, щоб останній не торкався стартової смуги (рис.3.29). До і після занурення хроматограми пробірка повинна бути закрита щільно пробкою і перебувати на слабкому світлі для уникнення фоторуйнування пігментів. Коли розчинник досягне верхнього краю хроматограми, смужку паперу вийняти і просушити на повітрі. На хроматограмі відзначити положення плям, які відповідають певним групам пігментів.

3. На хроматограмі пігменти будуть розташовуються у певному порядку. Слабо-зелена зона, яка іноді спостерігається на місці стартової смуги, являє собою **хлорофілід** − бесфітольні похідні хлорофілу, нерозчинні в бензині. Безпосередньо над стартовою смугою знаходиться **хлорофіл b** жовтувато-зеленого кольору, над ним − **хлорофіл a** блакитно-зеленого кольору. Далі розміщуються **ксантофіли**, що не поділені на окремі компоненти при такому способі хроматографії, і ще вище, разом з фронтом розчинника − оранжевий **каротин**.

4. На отриманій хроматограмі відзначити зони розташування пігментів, позначити їх цифрами і злегка підфарбувати в відповідний колір, так як на повітрі вони швидко вицвітають. Розрізати хроматограму на відповідну кількість студентів, що виконували дослід і розшифрувати її. Стрілкою необхідно вказати напрямок руху розчинника і розрахувати Rf для кожної з груп пігментів. Результати внести у таблицю 3.4. Хроматограму сфотографувати чи відсканувати й вставити у першу колонку таблиці.

Таблиця3.4

Результати дослідження розподілу фотосинтетичних пігментів хроматографічним методом

Хроматограма	Коефіцієнт рухомості Rf

5. Проаналізуйте результати та запишіть **висновки.**

Висновок:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Чому розподіл пігментів відбувається у строго відповідній послідовності?
2. Поясність різну розчинність каротиноїдів і хлорофілу?
3. Чому хлорофіл а розміщується на хроматограмі ближче до фінішу порівняно з хлорофілом b?

Питання для обговорення та самоперевіркидо Розділу

1. Що таке фотосинтетичні пігменти? Які види пігментів, що беруть участь у світлових реакціях фотосинтезу вам відомі?
2. Яка різниця між фотофізичним і фотохімічним етапом світлозалежної фази фотосинтезу?
3. Назвіть продукти світлової фази фотосинтезу. Які з них використовуються у наступних асиміляційних процесах, а які для фотосинтезу не потрібні?
4. Скільки виділяють фаз у циклі Кальвіна? На якій із них відбувається виведення синтезованої молекули глюкози?
5. Яка адаптаційна роль циклу Хетча-Слека і МОКТ? Обґрунтуйте свою відповідь.
6. Скільки еквівалентних фосфатних зв’язків молекул АТФ затрачається на синтез однієї молекули глюкози у циклі Кальвіна, Хетча-Слека і МОКТ? Чи є вигідними цикли Хетча-Слека і МОКТ в енергетичному контексті?

Яке значення процесу фотодихання? Поміркуйте, у чому його позитивна, а в чому негативна роль для рослинного організму і сільського господарства?

РОЗДІЛ 4. ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

Тема 4.1. Мінеральний обмін у рослин

Мінеральне живлення рослин є основою їхнього росту і розвитку. Воно складається з поглинання мінеральних елементів та їх включення в метаболізм. Елементи мінерального живлення задіяні у побудові біомолекул і забезпечують перебіг численних фізіологічних і біохімічних процесів: утворення рослинних клітин і тканин, роботу ензимів, електронтранспортного ланцюга, передачу гормональних сигналів, функціонування генетичного апарату. Сповільнення росту, порушення формування вегетативних та генеративних органів, схильність до інфекційних захворювань є характерними ознаками, які виявляються внаслідок дефіциту мінеральних елементів в рослині.

За різними підрахунками в рослинах виявлено понад 80 елементів періодичної системи Менделєєва, які суттєво відрізняються як вмістом в тканинах, так і своїм значенням для забезпечення життєдіяльності рослин.

За вмістом в тканинах рослинного організму мінеральні елементи поділяються на макро- і мікроелементи.

Ця класифікація базується на кількісному вмісті кожного елемента в рослині. *Макроелементи* мають кількісний вміст, що становить десятки і навіть сотні мікромолей на 1 г сухої ваги: *нітроген, фосфор, сульфур, калій, магній, кальцій* (для галофітів *натрій і хлор*). *Мікроелементи* - вміст в рослинах за нормальних умов вирощування зазвичай не перевищує декількох мікромолей на 1 г сухої ваги: *ферум, манган, цинк, купрум, бор, молібден, хлор та ін.*

Слід зазначити, що поділ на макро- і мікроелементи за кількісним вмістом елементу в організмі рослин є відносним, що обумовлено здатністю окремих видів рослин до специфічного накопичення мікроелементів. Зокрема рослини-галофіти характеризуються надмірним накопиченням натрію, брому та хлору. Рослини-гіперакумулятори володіють високою поглинальною здатністю щодо радіонуклідів, важких металів, зокрема нікелю, купруму, цинку, свинцю, кадмію. У високих концентраціях всі мікроелементи, багато з яких за атомною вагою є важкими металами, токсичні для організмів.

Хімічні елементи відіграють різні ролі в житті рослин. Зважаючи на значення кожного конкретного елемента в еволюції форм життя рослин, існує *класифікація, що базується на поширеності елементів в рослинах і земній корі*. Згідно з нею мінеральні елементи складають три групи:

1 група – елементи необхідні для життєдіяльності хоча б деяких організмів;

2 група – елементи токсичні навіть в низьких концентраціях (деякі з них, а саме молібден, йод, потрібні окремим видам рослин;

3 група – елементи, які відіграють пасивну роль в еволюції і не включаються в біохімічні процеси організмів (метали платинової групи і актиноїди).

Згідно з іншою класифікацією, хімічні елементи поділяються на ті, що є *необхідними,* і ті, що є *корисними* для рослин.

Необхідними є елементи, які мають наступні характеристики: присутність елементу є обов'язковою для завершення життєвого циклу конкретної рослини; участь в реалізації фізіологічних функцій без можливості альтернативної заміни іншим елементом; безпосередня задіяність в метаболічних процесах. Безперечно необхідними мікроелементами для рослин є ферум, манган, цинк, купрум, молібден, бор, хлор та нікель, останній був включений до цього переліку лише в 1997 року Г.Маршнером.

Корисними є ті елементи, які стимулюють ріст і розвиток рослин, але не в повній мірі відповідають вищезазначеним вимогам щодо необхідних елементів (кремній, кобальт, селен). До корисних також відносяться елементи, які необхідні тільки при певних умовах або для певних видів рослин.

За фізіологічними функціями хімічні елементи розподіляються на наступні групи:

- *структурні;*
- *потенціалоутворюючі;*
- *задіяні в каталітичних процесах*.

Структурними є елементи (C, H, O, N, S та ін.), які утворюють біомолекули (білки, ліпіди, вуглеводи, нуклеїнові кислоти), забезпечують їх міцність та відповідну конформацію. До цієї групи частково можна віднести бор (формування стінок клітин) і цинк (участь у впорядкуванні і стабілізації мембран).

Потенціалоутворюючі елементи – забезпечують підтримку електрохімічного потенціалу і осмотичної функції клітини (K, Na, Cl). У цю групу мікроелементів входить тільки хлор, який міститься в основному в тих компартментах рослинних клітин, де він може накопичуватись (вакуоль, замикаючі клітини продихів).

Хімічні елементи, що виконують каталітичні функції(більшість мікроелементів) - беруть участь в ферментативних реакціях організму.

Транспорт мінеральних речовин в клітини рослин

Мінеральні речовини зазвичай поглинаються з ґрунту з допомогою коренів, в незначних кількостях надходять через листя і майже завжди вони мають форму іонів. Іони повинні проникнути в цитоплазму через клітинну оболонку і плазмалему, потім, за необхідності, пройти через мембрану, яка оточує вакуолю чи іншу клітинну органелу, щоб опинитися в певному компартменті.

Надходження іонів в рослинну клітину має дві фази:

І фаза - швидке поглинання іонів, що триває кілька хвилин (іони потрапляють в апопласт, надходження оборотне, невибіркове, не залежить від метаболізму рослини);

ІІ фаза - повільне поглинання, що триває кілька годин (абсорбція цієї фази взаємопов'язана з метаболізмом рослин).

Швидкість поглинання іону зазвичай збільшується при збільшенні його концентрації в розчині. Крива поглинання іонівподібна до кривої

кінетики насичення, що характеризує ферментативні реакції (описується рівнянням Міхаеліса-Ментена) і є гіперболою:

$$v = \frac{v_{\max} C_{\text{out}}}{K_{\text{M}} + C_{\text{out}}}$$

де v – спостережувана швидкість поглинання; C_{out}– концентрація іона в зовнішньому розчині; $v_{\max}$- максимальна швидкість поглинання іона; K_{M}– константа Міхаеліса-Ментен, тобто, концентрація йона в розчині, при якій досягається $½v_{\max}$.

Коли фактичне поглинання іона рослинами оцінюється зміною його концентрації в середовищі, зазвичай вимірюється значення I_n– чистий (нетто) потік іону на поглинаючу поверхню або масу коренів однієї рослини. Відповідно, в рівнянні Міхаеліса-Ментена v_{max} замінюється на $I_{max.}$

Проаналізувавши вказані процеси було встановлено існування наступних іонних транспортних систем:

- системи або механізму I - характеризується низькими значеннями v_{max} і K_M, а її насичення відбувається при відносно низьких концентраціях іонів в розчині.

- системи або механізму II - насичується при більш високих концентраціях іона в розчині, має низьку спорідненість до іона і високу v_{max}.

Рослини поглинають макро- та мікроелементи в кілька фаз, число яких залежить від значення кінетичних констант (K_M і v_{max}) та може суттєво варіювати навіть для одного іона, що залежить від віку та генотипу рослини, концентрації іона, його взаємодії з іншими іонами, тривалості спостереження. Кінетика поглинання мікроелементів має такі фази: 1 - фаза обмінної адсорбції (тривалість до 20 хв); 2 - фаза насичення вільного простору (1-3 год); 3 і 4 - активні фази поглинання (до 6 годин і більше).

Надходження іонів в апопласт. Мінеральні елементи живлення, які надходять в клітини рослин, перетинають два бар'єри: клітинну стінку і плазмалему. *Апопласт* – це сукупність клітинних стінок та позаклітинних просторів, які утворюють безперервну структуру.

Клітинна стінка є своєрідним зовнішнім скелетом рослинних клітин, що протистоїть тургору. До складу клітинної стінки входять целюлоза, геміцелюлоза, глікопротеїни та пектинові речовини, що формують гелеву фазу в її матриксі. Зв'язування катіонів клітинною стінкою відбувається за допомогою іонізованих карбоксильних груп перерахованих вище полісахаридів. Ці групи забезпечують розташування в ній значної кількості негативних фіксованих зарядів і надають клітинній стінці властивості катіоніту. Окрім того зв'язування іонів забезпечують й інші функціональні групи, заряджені як позитивно (амінні), так і негативно (фосфатні, гідроксильні). Перші забезпечують аніонообмінні властивості клітинної стінки.

Поглинання катіонів здійснюється пропорційно кількості вільних карбоксильних груп, що містяться в клітинних стінках. Міцність зв'язування катіонів клітинними стінками сильно варіюється в залежності від фізико-хімічної природи іонів і їх концентрації в середовищі. За стійкістю утворених з

клітинною стінкою з'єднань двовалентні катіони мікроелементних металів розташовуються в ряд: $Cu^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Mn^{2+}$. Зі збільшенням ступеня окиснення металів міцність їх зв'язків з клітинними стінками збільшується. Всмоктування аніонів (бору, молібдену) з розчинів, де їх концентрація є низькою, суттєво сповільнена за рахунок електростатичного відштовхування аніонних зарядів однойменних і функціональних груп клітинних стінок.

Провідність клітинної стінки, за рахунок присутності в ній пор, відносно висока та суттєво перевершує провідність плазматичної мембрани. Це обумовлено розміром пор (3-5 нм), що перевищує діаметр гідратованих іонів мінеральних елементів, таких як K^+ (0,66 нм) і Ca^{2+} (0,82 нм).

У апопласті іони розміщуються у системі міжміцелярних і міжфібрилярних пор та міжклітинників, що має назву «уявно вільного простору». Проте така сорбція в «уявно вільному просторі» не є визначальною для наступного переміщення іонів через плазматичну мембрану, хоча іонообмінні властивості клітинної стінки все ж впливають на іонний склад кореня.

Транспорт іонів через мембрани.

Плазмалема є тим бар'єром, який створює перешкоду для вільного переміщення різних речовин, в тому числі мінеральних елементів, із апопласту рослинних клітин в цитоплазму і навпаки (рис. 4.1). Така особливість цитоплазматичної мембрани обумовлена її функціями, головною з яких є підтримка внутрішньоклітинного гомеостазу. Будова плазмалеми не відрізняється від інших біомембран: ліпідний бішар, що утворений фосфоліпідами, гліколіпідами і стеринами. Для рослинних клітин характерними є наступні жирні кислоти: олеїнова, лінолева, пальмітинова, ліноленова (їх склад може варіювати залежно від умов навколишнього середовища (в холодному кліматі переважають ненасичені жирні кислоти) та виду рослин).

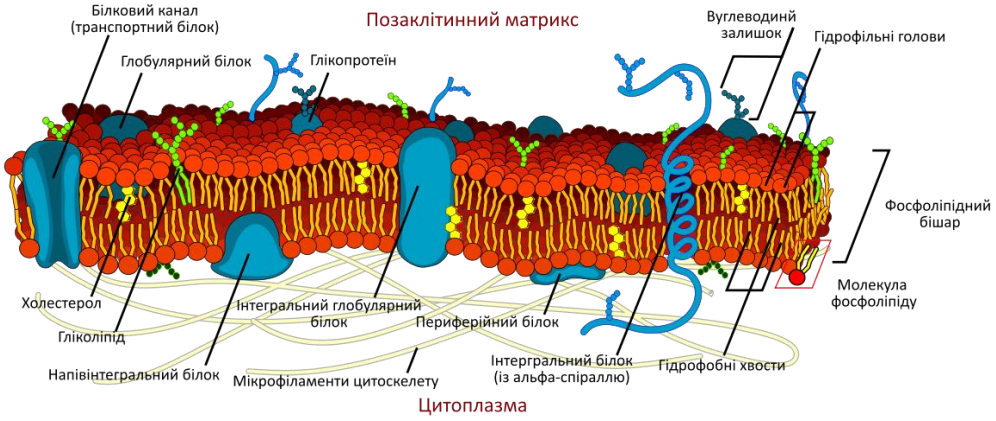


Рис. 4.1. Будова плазмалеми
http://surl.li/jcprb

Окрім ліпідів, до складу плазмалеми входять білки: периферійні (розташовані на зовнішній чи внутрішній поверхні мембрани), інтегральні (помпи, канали), частково занурені або "заякорені".

Периферичні білки – утримуються на мембрані іонними, водневими зв'язками досить слабко.

Інтегральні білки – нерозчинні у воді, вводяться в мембрану одним або декількома доменами, міцно зв'язані з мембранним бішаром.

«Заякорені» білки – у плазмалемі тримаються ковалентно приєднаним гідрофобним "якорем", що являє собою молекули жирних кислот, стерину, залишки ізопрену.

Плазмалема в клітинах рослин залучена до формування *плазмодесм* - цитоплазматичних каналів, які пронизують клітинні стінки, з'єднуючи сусідні клітини. Переміщення речовин через плазмодесми з клітини в клітину називається рухом *по симпласту*.

Переміщення іонів через мембрану пов'язане з рядом ускладнень. Одне з них – гідратована вода, яка оточує іон і значно збільшує його діаметр. В водних розчинах молекули води утримуються навколо іонів електростатичними силами, які утворюються зарядженими частинами ядра атома. Чим ближче можуть підійти до зарядженого ядра атома молекули води, тим більш міцно вони зв'язуються. Молекули води є диполями і біля катіонів орієнтуються всередину негативними полюсами, біля аніонів, навпаки, позитивними. Цей шар молекул води, який міцно утримується навколо іона, називають первинною оболонкою (сильноструктурована вода). Навколо нього формується вторинна оболонка, в якій молекули води не мають такої чіткої орієнтації (слабкоструктурована вода). Зважаючи на утворення гідратної оболонки розміри іонів дуже збільшуються.

Іони й інші речовини проникають через мембрану кількома способами:

1. Проста дифузія (не стосується іонів) – ліпофільні речовини проникають через ліпідний бішар;
2. Полегшена дифузія – гідрофільні речовини переносяться ліпофільними переносниками (транспортерами);
3. Проста дифузія іонів гідрофільними порами (наприклад іонними каналами);
4. Перенесення речовин активними комплексами, так званими насосами;
5. Транспорт речовин шляхом піноцитозу в умовах суттєвих змін архітектури мембран.

Рушійні сили транспорту.

Електрохімічні потенціали.

Рушійною силою транспорту іонів через мембрани є градієнт електрохімічного потенціалу.

Пасивним транспортом є переміщення речовин шляхом дифузії по градієнту електрохімічного потенціалу (проста і, в певній мірі, полегшена дифузія).

Активним транспортом є переміщення речовин проти градієнта електрохімічного потенціалу із витратою метаболічної енергії в формі АТФ або редокс-ланцюга.

Утворення електричного потенціалу на мембрані клітини відбувається не лише за рахунок дифузійного потенціалу, що виникає в результаті пасивного транспорту іонів, але і електрогенного потенціалу, який виникає в результаті активного перекачування протона *протонними насосами* з використанням енергії гідролізу АТФ або пірофосфату ($ФФ_н$).

H^+-помпи рослинних мембран.

Основними насосами, які створюють електрохімічний потенціал на плазматичних мембранах рослин є:

- ✓ *плазмалемна H^+-АТФаза (ПМH^+-АТФаза)*
- ✓ *вакуолярна H^+ -АТФаза (ВН$^+$-АТФаза)*
- ✓ *вакуолярна пірофосфатаза (ВН$^+$-ПФаза)*

Плазмалемна H^+-АТФаза – відкачує протони з клітини, внаслідок чого потенціал мембрани стає більш негативним, що створює рушійну силу для надходження іонів.

Протонні помпи вакуолей. У клітинах рослин зустрічаються переважно вакуолі двох видів: літичні (центральні) і запасаючі (білкові).

Літичні або центральні вакуолі (90 % об'єму клітини) виконують функцію регуляторів тургору клітини та буферних компартментів за рахунок накопичення води і мінеральних елементів. Накопичення в цих вакуолях мінеральних речовин, в тому числі і токсичних, є як захисним пристосуванням задля їх ізоляції, так і створює своєрідні запаси, що використовуються в умовах мінерального дефіциту.

Запасаючі вакуолі менші за розмірами, їх спочатку виявляли лише в клітинах насіння, пізніше була доведена їх присутність і у клітинах вегетативних органів. Завдяки накопиченню в насінні білків, фітатів і мінералів, відбувається розвиток зародків.

В тонопласті літичних вакуолей присутні наступні протонні помпи:

- *ВакуолярнаH^+-АТФаза.*
- *Вакуолярна пірофосфатаза.*

Функції протонних помп. За участю протонних помп створюється рушійна сила для переміщення мінеральних та інших речовин через плазматичну мембрану. Викачування протонів призводить до утворення електрохімічного потенціалу, який використовується у вторинному транспорті іонів. Отриманий градієнт електрохімічного потенціалу, отриманий в результаті викачування протона, є енергією, яка може бути використана для вторинного транспорту іонів. Завдяки протонним насосам підтримується стале pH цитозолю, відбувається підкислення вакуолярного соку та простору апопласта.

Білки, які беруть участь в транспорті елементів мінерального живлення

Білки-переносники. Через плазматичну мембрану переміщення мінеральних елементів здійснюється системою з високою спорідненістю до іону, що переміщується (HATS) і системою з низькою спорідненістю до іону, що переміщується (LATS).

Насичення системи HATS зазвичай відбувається при низьких концентраціях поживних елементів (<1 ммоль / л).

Система LATS забезпечує в першу чергу пасивний транспорт елементів через плазмалему при їх відносно високій концентрації в середовищі (>1 ммоль / л).

Ці системи обумовлюють двофазне поглинання мінеральних елементів.

Білки-переносники переміщують елементи за або проти градієнта електрохімічного потенціалу. Якщо переміщення іонів відбувається одночасно з переміщенням протонів і в одному й тому ж напрямку - це *симпорт*, в протилежному напрямку – *антипорт* (рис.4.2).

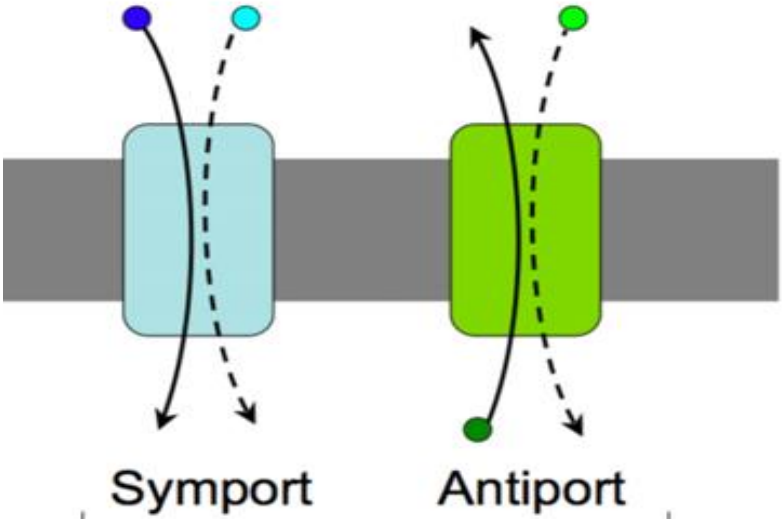


Рис. 4.2. Симпорт і антипорт

Іонні канали. По своїй природі іонні канали є інтегральними білковими комплексами, які є в усіх клітинних мембранах. Вони вибірково виявляють іони і переміщують їх через мембрану зі значною швидкістю ~106–108 іонів/с. Рух іонів по каналу відбувається через структуру, яка називається порою. Пора утворюється гомологічними субодиницями (поліпептидні ланцюги) (рис.4.3). Через пору іони рухаються пасивно, по градієнту електрохімічного потенціалу.

Вибірковість каналів визначається селективним фільтром, і по специфічності є канали калієві, натрієві, кальцієві та ін. Існують також неселективні катіонні канали. Відкриття каналу здійснюється ворітним механізмом під впливом мембранного потенціалу, механічного натягу мембрани, pH, іонів кальцію та ін. Відкривання/закривання іонного каналу супроводжується зміною конформації білкових субодиниць, при чому ці зміни тимчасові і оборотні.

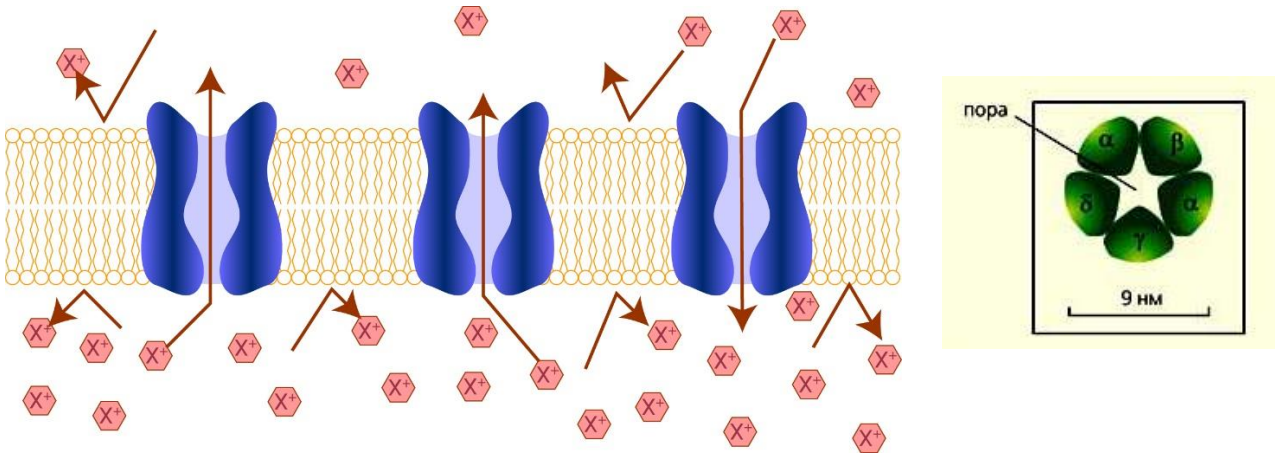


Рис. 4.3.Іонний канал

Аніонні канали тонопласту. Мало вивчені, проте відомо, що тонопласт (мембрана вакуолі) проникний для аніонів малату і хлориду.

Катіонні канали тонопласту. За швидкістю активації катіонні канали в тонопласті поділяються на *швидкі* і *повільні.*

Швидкі канали проникні не лише для калію і натрію, а й інших моновалентних катіонів та інактивуються в разі перевищення концентрації іонів кальцію в цитоплазмі клітини понад 200 нмоль / л. Швидкі канали відкриваються незалежно від величини електричного потенціалу на мембрані вакуолі.

Повільні канали здатні проводити одно- і двовалентні катіони з селективним співвідношенням K^+/Na^+ і K^+/Ca^{2+} 1 до 4 відповідно. Активація каналів відбувається за участі органічних катіонів, фосфорилювання, окиснювального потенціалу, 14-3-3 білка. Повільні канали забезпечують утримання тургору клітини, потенціалу на мембрані вакуолі, не допускають виходу Na^+ з вакуолей за умов засолення.

Транспорт речовин шляхом піноцитозу.

Піноцитоз включає два процеси – екзоцитоз і ендоцитоз. Екзоцитоз являє собою виділення вмістимого в зовнішнє середовище, тоді як ендоцитоз є зворотнім процесом. Через вп’ячування мембрани крапельки рідини з розчиненими речовинами потрапляють в клітину. Явище піноцитозу характерне і для рослин та має кілька фаз: адсорбція іонів на певній ділянці плазматичної мембрани; вп’ячування обумовлене зарядженими іонами; утворення міхурців, наповнених рідиною, які переміщаються цитоплазмою; включення речовин в обмін через руйнування мембрани піноцитозної вакуолі.

Системи поглинання, задіяні в мембранному транспорті металів.

АТФази. Розповсюдженими є АТФази Р-типу: у рослин, грибів - Н+-АТФази, у всіх живих організмів - Ca^{2+}-АТФази. Ці ензими забезпечують активний транспорт визначених катіонів через мембрани з використанням енергії гідролізу АТФ. АТФази, які переносять важкі метали, ще називаються СРх-АТФази і можуть транспортувати Cu^+, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}.

Білки ABC(ATP-binding cassette, ABC) виконують роботу з використанням енергії АТФ, переносять через мембрани іони, ліпіди, пептиди, цукри, пігменти, ксенобіотики, зокрема кадмій, у вакуолі рослин.

Білки Nramp(Natural Resistance Associated Macrophage Proteins) - інтегральні білки, що транспортують іони, зокрема ферум, манган, кадмій.

Білки, які полегшують дифузію CDF (Cation Diffusion Facilitator) задіяні в транспорті цинку, кобальту і кадмію.

Білки ZIP (ZRT/IRT-related Proteins,). Задіяні в транспорті цинку (Zinc Regulated Transporter) і феруму (Iron Regulated Transporter). ZIP-білки є трансмембранними, окрім вищезазначених елементів здатні транспортувати манган і кадмій. Їх молекула має 8 трансмембранних доменів.

Білки, що беруть участь в катіон/H^+-антипорті. Беруть участь в регуляції кількості іонів у цитоплазмі за рахунок їх переміщення у вакуолю, зокрема Ca^{2+}, Cd^{2+}, Mn^{2+}.

4.1.1. Нітроген

Нітроген є важливим структурним елементом, оскільки входить до складу багатьох органічних сполук, таких як протеїни, амінокислоти, нуклеїнові кислоти та ін., забезпечуючи нормальні умови для росту і розвитку рослин.

Вміст нітрогену в рослинах зазвичай становить від 1 до 7 % сухої маси, що залежить від умов вирощування, виду, віку і органу рослини. Так наземна частина ярої пшениці у фазу кущіння містить 2,4 % нітрогену, листя 4-5 ярусу картоплі у фазу цвітіння – 4,1 %, наземна частина конюшини на початку цвітіння - 2 %. Зелені частини рослин містять саму велику кількість білкового азоту – 80-85 % його загальної кількості, при цьому відповідно нуклеїнові кислоти становлять 10 %, а розчинні амінокислоти 5 %. Співвідношення між мінеральними формами, низько- та високомолекулярними органічними формами нітрогену в рослинах дуже варіюється: може різко змінюватись в залежності від умов мінерального живлення, особливо азотного. Застосування азотних добрив призводить до збільшення в рослині розчинних форм азоту – мінеральних, амідів, амінів, вільних амінокислот.

Функції нітрогену. Нітроген – біогенний елемент, обов'язковий компонент нуклеїнових кислот, амінокислот, а відповідно білків та ензимів. У складі нітрату є сигнальноюмолекулою щодо ряду ензимів та процесів. Оксидазотує фітогормоном, стабілізує і навіть збільшує вміст хлорофілу в листі, задіяний врегуляції синтезуферитину. Ця сполука нітрогену також є сигнальною молекулою,задіяноюврегуляціїросту,органогенезу,захиснихреакцій,рухупродихів,апоптозуза звичних та стресових умов.

Всмоктування нітрогену. Азот, що знаходиться в атмосферному повітрі, безпосередньо не засвоюється вищими рослинами, а поглинається з ґрунту переважно як мінеральні іони нітрату чи амонію. Пристосованість рослин до умов довкілля, переважно визначає ту форму, в якій вони поглинають нітроген навколишнього середовища: пристосовані до низьких значень pH і відновних

умов, поглинають нітроген у вигляді амонію чи амінокислот; адаптовані до високих значень pH і аеробних умов - у вигляді нітрату.

Обмін нітрогену див. розділ 4.3.

4.1.2. Фосфор

Вміст фосфору в рослинах (за нормальних умов) становить 0,3-0,5 % їх сухої маси; перевищення понад 1 % сухої маси супроводжується симптомами токсичності. Вакуолі є водночас пулом фосфатів, де утримується близько 85-95 % загального вмісту цього макроелемента в рослині, та буфером, який підтримує концентрацію ортофосфату$Ф_н$, необхідну для фотосинтезу.

Функції. Рослини містять як органічні, так і неорганічні сполуки фосфору. До неорганічних форм елемента належать ортофосфат ($Ф_н$) та пірофосфат ($ФФ_н$). Іони ортофосфату здатні з'єднуватись з органічними сполуками, утворюючи ангідриди, диестери і моноефіри. До фосфоровмісних сполук належать: нуклеїнові кислоти (ДНК, РНК), нуклеозидфосфати (АТФ, АДФ), фосфоліпіди та ін. Структурна роль фосфору реалізується в молекулах фосфоліпідів і нуклеїнових кислот, тоді як в складі інших сполук – метаболічна функція. Первинна структура нуклеїнових кислот забезпечується фосфодиефірними зв'язками, які поєднують між собою нуклеотиди, а в фосфоліпідах, які утворюють клітинні мембрани, фосфатні групи є кінцевими та надають молекулам гідрофільних властивостей, тоді як інша частина залишається ліпофільною.

Запасання енергії клітиною забезпечується пірофосфатними зв'язками в молекулах аденозинтрифосфату (АТФ), аденозиндифосфату (АДФ), ФФн. Саме між фосфатними групами утворюються макроергічні зв'язки, які при розриві виділяють енергію (рис. 4.4).

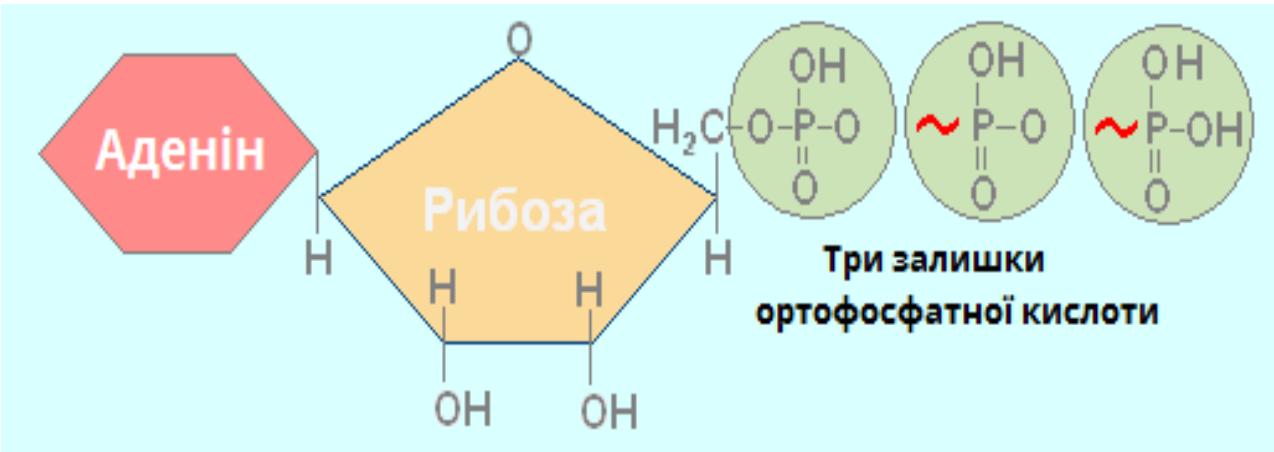


Рис. 4.4.Будова молекули АТФ

У процесі гідролізу АТФ втрачається одна кінцева фосфатна група, що призводить до утворення АДФ і фосфату:

$$АТФ+H_2O \rightarrow АДФ+Ф_н.$$

Окремі реакції гідролізу АТФ супроводжуються відщепленням одразу двох фосфатних груп, при цьому утворюється АМФ (аденозинмонофосфат) і пірофосфат ($ФФ_н$), який гідролізується з виділенням енергії.

Концентрація $Ф_н$ в стромі хлоропластів суттєво впливає на процеси фотосинтезу в рослинах (оптимальною концентрацією є 2,0-2,5 ммоль/л; зниження $Ф_н$ до 1,4–1,0 ммоль/л супроводжується припиненням фотосинтезу; підвищення до приблизно 5 ммоль/л - пригнічення синтезу крохмалю внаслідок алостеричного інгібування АДФ-глюкозофосфорилази та зниження концентрації тріозофосфатів).

У насінні рослин фосфор переважно зберігається у вигляді фітинової кислоти або *міо*-інозитолгексафосфату (рис. 4.5).Вміст фітину в насінні злакових, бобових становить приблизно 1,5 %, олійних до 3 % сухої маси. Місцем накопичення фітину є білкові тільця вакуолярного походження, які називаються алейронові зерна, що свідчить про єдність процесів накопичення в насінні резервних білків і мінеральних елементів живлення. Доведеним є зв’язок між накопиченням резервних білків, фосфору, цинку, феруму, мангану, купруму в насінні рослин. У насінні фітат є основним запасом фосфору. Залежно від виду рослини і частини насіння вміст фосфору фітинової кислоти може варіюватися від 40 до 86 % від загального фосфору.

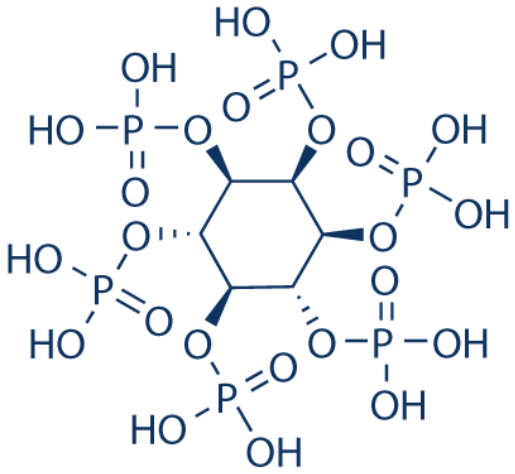


Рис. 4.5.Фітин

Всмоктування фосфору. Фосфор максимально поглинається корінням рослин за pH 4,5–6,0, оскільки при такій реакції середовища він має вигляд одновалентного аніона H_2PO^-. В клітину фосфор транспортується проти градієнта концентрації за участю H^+-АТФаз, оскільки в цитоплазмі вміст фосфору в тисячі разів вищий, порівняно з ризосферою. Надходження фосфору в цитоплазму супроводжується її закисленням. У безпосередньому всмоктуванні фосфору з навколишнього середовища, а також в його транспорті всередині рослини беруть участь фосфатні переносники Pht.

Рослини містять багато ензимів фосфатаз, що відіграють роль в транспорті елементів живлення, енергетичному обміні, гідролізі і активації протеїнів, гідролізі фосфорних сполук та перетворенні органічних сполук

фосфору в доступні для рослини мінеральні. Дефіцит макроелемента приводить до суттєвого зростання каталітичної активності фосфатаз.

Обмін фосфору. Фосфат приєднується до органічних сполук через АТФ (вуглеводний обмін, біосинтез ліпідів) в реакціях фосфорилювання, що каталізуються кіназами. Разом з тим, утворення АТФ каталізується АТФ-синтазою з використанням вихідних сполук - АДФ і $Ф_Н$, при цьому взаємоперетворення і оновлення відбувається надзвичайно швидко. Серед фосфорвмісних сполук у клітинах рослин найбільше фосфоліпідів і нуклеїнових кислот.

4.1.3. Сульфур

Вміст сульфуру в рослинах досить варіабельна величина, яка за оптимальних умов вирощування становить 0,1-0,5 % сухої маси. З культурних рослин найвищі потреби в цьому макроелементі мають рослини роду *Allium* (цибуля) та *Brassica* (капуста), що обумовлено їх схильністю до синтезу значної кількості сірковмісних вторинних метаболітів. Небілкові тіолові сполуки, такі як цистеїн, глутатіон і їх похідні, становлять в тканинах рослин 0,1-3,0 мМ. Доведено, що в білках бобових рослин міститься менше сульфуру, аніж у злаків.

Функції. Сульфур є важливим елементом різних органічних сполук. Так до складу всіх білків входять сульфурвмісні амінокислоти – метіонін, цистин, цистеїн; дисульфідні зв'язки стабілізують структуру білкових молекул. Сульфур бере участь в підтриманні окисно-відновного потенціалу клітини, входить до складу коензиму А та вітамінів, які задіяні в диханні і обміні ліпідів.

Асиміляція та метаболізм. Сульфур всмоктується коренями у вигляді сульфату (SO^{2-}). Процес засвоєння сульфату має багато спільного із асиміляцією нітрату.

Асиміляція сульфату включає: *активацію, відновлення* і *біосинтез сірковмісних органічних сполук*.

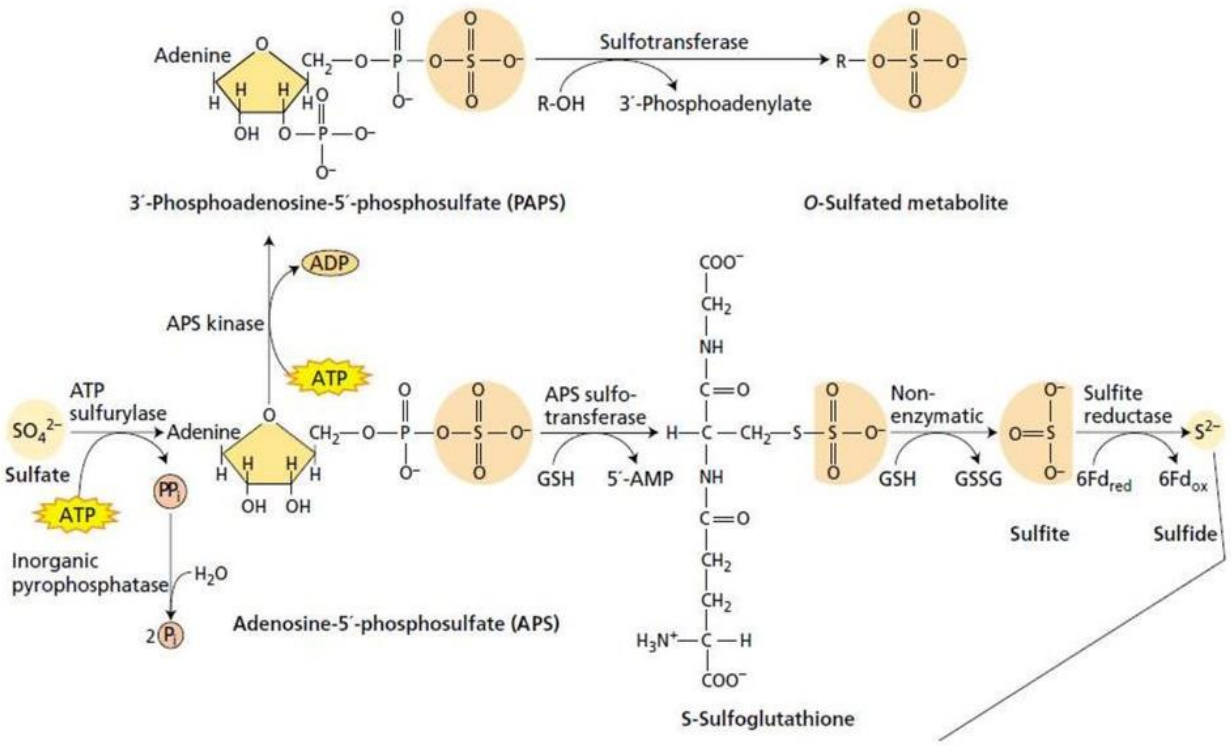


Рис. 4.6.Асиміляція сульфату
https://en.ppt-online.org/125152

Активація сульфату відбувається шляхом заміщення сульфатом пірофосфорильної групи в молекулі АТФ з утворенням аденозин-5′-фосфосульфату (АФС) и пірофосфату (ФФн) за участю ензиму АТФ-сульфурилази.

Відновлення сульфату відбувається в два етапи: 1. АФС відновлюється ензимом АФС-редуктазою до сульфіту. 2. Сульфіт відновлюється до сульфіду за участю сульфітредуктази, донором електронів є відновлений фередоксин. Обидва етапи у рослин відбуваються в пластидах (виключення - водорості Euglena gracilis, у якої відновлення сульфату відбувається в мітохондріях).

Біосинтез сірковмісних органічних сполук.

Біосинтез цистеїну. Першим етапом є утворення із амінокислоти серину і ацетил-КоА О-ацетилсерину, який на другому етапі, після приєднання сульфіду, перетворюється на цистеїн. Цистеїн є амінокислотою, що виконує різні функції – є донором сульфуру для синтезу метіоніну та попередником таких сполук як глутатіон,коензимА,біотин,вториннісірковмісні сполуки.

Глутатіон синтезується в двох АТФ-залежних реакціях із глутамату та цистеїну за каталітичної дії γ-глутамілцистеїнсинтетазиіглутатіонсинтетази.

Саме в цій сполуці акумульовано основну кількість відновленого сульфуру в рослинних клітинах. Відновлений глутатіон забезпечує активний стан багатьох ензимів цитозолю, мітохондрій, строми хлоропластів та виконує захисну функцію через детоксикацію електрофільних низькомолекулярних сполук і ксенобіотиків.

Біосинтез метіоніну відбувається в три етапи, на першому цистеїн і О-фосфогомосерин конденсуючись утворюють цистатіонін, що під впливом цистатіонін-*β*-ліази перетворюється на гомоцистеїн і, в подальшому, за дії метіонінсинтази, на метіонін. Перші два етапи біосинтезу відбуваються в хлоропластах, останній – в цитозолі й хлоропластах.

Поглинання сульфату.Розподіл елемента забезпечує робота так званих сульфатних транспортерів – мембранних білків, що мають 12 трансмембранних доменів. Сульфур здатний засвоюватись рослинами не лише з ґрунту, а і з атмосфери у вигляді SO_2 і H_2S. Ступінь поглинання діоксиду сірки залежить від того, наскільки відкриті продихи, тому що ця сполука легко розчиняється у воді. Після поглинання в клітинах мезофілу SO_2 перетворюється в сульфіт (сульфат) і включається до подальших перетворень. Поглинання листям сірководню залежить від швидкості його перетворення в цистеїн. Позакореневе надходження сульфуру може забезпечувати 10-40 % потреби рослини в цьому елементі.

Регуляція засвоєння сульфатів відбувається з врахуванням потреб рослини у відновлених формах сульфуру. Засвоєння сульфатів регулюється потребою рослин у відновлених формах сірки. Від біодоступності цього елемента залежить рівень транскрипції генів, які контролюють синтез транспортерів сульфатів. Всмоктування і засвоєння сульфуру залежить напряму від концентрації в тканинах рослин цистеїну і глутатіону – їх високий рівень гальмує цей процес і навпаки. Засвоєння сульфатів також регулюється фітогормонами - жасмоновою, абсцизовою кислотами та залежить від стадії розвитку рослини (молоді рослини асимілюють цей елемент набагато активніше). Стрес (захворювання різного генезу, несприятливі умови довкілля) викликає збільшення потреби рослин у відновленій сірці, що є свідченням її важливої ролі у формуванні захисних реакцій.

4.1.4. Магній

Вміст магнію від 0,15 до 0,35 % сухої маси вегетативних органів рослин достатній для забезпечення їх нормального росту. У цитоплазмі та хлоропластах листків загальна концентрація Mg^{2+} становить 2–10 ммоль/л, проте зазвичай фактично кількість вільних іонів магнію менша нижньої межі, оскільки переважна їх частина зв’язана різними молекулами. У вакуолях клітин ендодерми концентрація Mg^{2+} знаходиться в межах 20–120 ммоль/л, що може бути свідченням їх буферної функції в забезпеченні постійності концентрації іонів цього макроелемента в клітинах мезофілу.

Функції.Оскільки в рослинах магній міститься в двохвалентній формі, він не приймає участь в окисно-відновних реакціях. Mg^{2+} здатний взаємодіяти з нуклеофільними лігандами, саме цей макроелемент є центральним атомом в молекулі хлорофілу, а також бере участь в агрегації рибосом. Іони магнію забезпечують роботу таких ензимів, як РНК-полімераза, глутатіонсинтаза, карбоксилази, протеїнкінази, фосфатази, активують дегідрогенази, мутази, ліази. Концентрація Mg^{2+} безпосередньо впливає на активність ключових

ферментів хлоропластів. У рослинних клітинах переважна частина АТФ ~90% зв'язана з Mg^{2+} як комплекс, що має оптимальну стабільність за pH 6 (рис. 4.7).

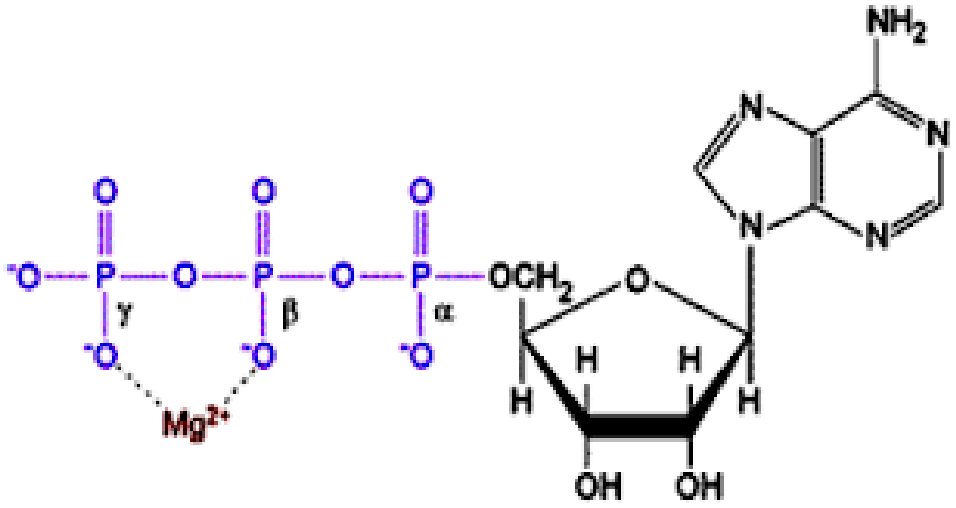


Рис. 4.7.Комплекс АТФ з Mg^{2+}

Фотосинтез. Магній є важливою складовою частиною молекули хлорофілу (рис. 4.8), що визначає її унікальні функції, які полягають в поглинанні, запасанні і перетворенні енергії сонця. Виникнення структури фоторецепторних систем стало можливим завдяки певним фізико-хімічним властивостям цього елемента. Магній має найнижчі значення електронегативності, тоді як магнієвий комплекс порфірину - окисно-відновного потенціалу. Магній в тетрапіроловій структурі хлорофілу обумовлює зниження величини потенціалу іонізації, завдячуючи чому вказані комплекси є потужними відновниками, які відновлюють сполуки, що мають високий відновний потенціал.

Магній має координаційне число 6, тому може утворювати два координаційні зв'язки з атомами оксигену і нітрогену та виступати ланкою, яка забезпечує асоціацію хлорофілу з іншими молекулами (білки, ліпіди, пігменти та ін.). Такі з'єднання зміщують абсорбційний максимум хлорофілу в довгохвильову область, а різні форми цього пігменту виконують різні функції.

Процес включення магнію у структуру хлорофілу каталізує ензим Mg^{2+}-хелатаза, а руйнування з утворенням феофітину - Mg^{2+}-дехелатаза. Конкурентне заміщення Mg^{2+} на іони важких металів, таких як ртуть, купрум, кадмій, нікель, цинк, плюмбум, гальмує активність фотосинтезу.

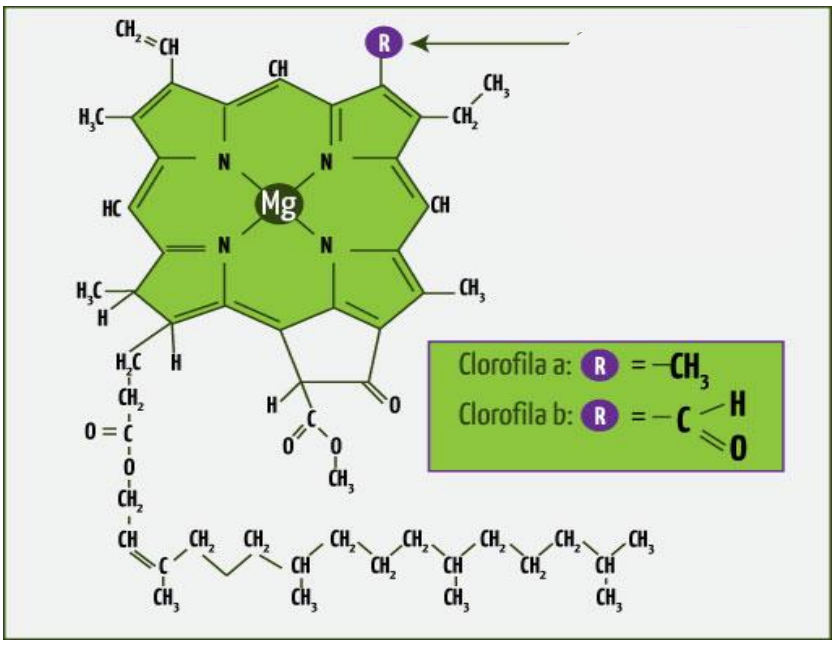


Рис. 4.8.Молекула хлорофілу
https://hpmonarb.blogspot.com/2017/08/pigmentos-en-las-plantas.html

Завдяки руху Mg^{2+} і K^+ з тилакоїдів в строму (проти руху протонів) створюються умови сприятливі для фіксації CO_2, а саме лужна реакція середовища (pH 8, 0) і висока концентрація іонів магнію.

За участю магнію відбувається агрегація субодиниць рибосом, а також стабілізація РНК в хлоропластах.

Дефіцит магнію чи надлишок калію приводить до відокремлення субодиниць рибосом, а відповідно і припинення синтезу білка. Цей макроелемент підтримує активність РНК-полімераз, його відсутність блокує синтез РНК в ядрі клітини. Оскільки близько 25 % білка клітин листя знаходиться в хлоропластах, недостатня концентрація іонів магнію суттєво впливає як на структуру, так і функції цих органел. За дефіциту магнію порушується клітинний метаболізм цукрів та відбувається збільшення сухої маси листя.

Мембранний транспорт. Іони магнію мають регуляторний вплив на протонні помпи тонопласту - вакуолярну H^+-АТФазу і пірофосфатазу, активність яких опосередковано залежить від концентрації Mg^{2+} (субстратами насосів є магнієві комплекси АТФ і пірофосфату). Саме тому транспорт інших іонів через тонопласт залежить від забезпеченості вказаним елементом.

Молекулярні механізми транспорту магнію вивчені недостатньо. Існує припущення, що магній може переміщуватись через плазматичну мембрану в цитоплазму покатіоннихканалахчиз допомогою переносників.

4.1.5. Кальцій

Вміст. Кількість кальцію у рослинах становить від 0,1 до 5 % їх сухої ваги, що залежить від умов зростання. Дводольні рослини мають вищу потребу

в кальції порівняно з однодольними. Концентрація Ca^{2+} в цитоплазмі і ядрі рослинної клітини має нижчий рівень, порівняно з іншими клітинними структурами. Найвища концентрація кальцію міститься в клітинній стінці і вакуолі (збільшення кальцію в навколишньому середовищі приводить до збільшення його надходження в вакуоль). Хлоропласти і мітохондрії мають вищий вміст Ca^{2+} порівняно з цитозолем, що є необхідним для перебігу фотохімічних реакцій і окисно-відновних процесів в цих органелах.

Функції Ca^{2+} в рослинній клітині надзвичайно різноманітні. Хімічні властивості Ca^{2+} дозволяють йому легко утворювати комплекси з білками, компонентами мембран, органічними кислотами. У високих концентраціях кальцій стає токсичним для клітини, порушує фосфорний обмін рослини з утворенням нерозчинних фосфатів кальцію.

Кальцій є необхідним елементом формування клітинної стінки рослин. Ca^{2+} взаємодіє із карбоксильними групами пектинових речовин клітинної стінки, виконуючи цементуючі функції. Міцність і еластичність клітинної стінки залежить від концентрації Ca^{2+}: низькі концентрації підвищують еластичність, але зменшують міцність; збільшення концентрації Ca^{2+} сповільнює відповідно ріст пагону, пилкової трубки, колеоптилю.

Приєднуючись до фосфоліпідів цитоплазматичної мембрани, Ca^{2+} стабілізує бішар та структурну цілісність клітинних мембран, що запобігає виходу іонів і метаболітів з клітини.

Кальцій як універсальний посередник важливий для передачі сигналів за дії факторів зовнішнього середовища (температура, світло, засуха, осмотичний стрес, засолення, механічний вплив, фітогормони, виділення грибів і бактерій) на білки-мішені складним ланцюгом сигнальних шляхів. Зовнішній подразник спричиняє передачу сигналу, початком якого є зростання концентрації Ca^{2+} в цитозолі за рахунок його надходження із зовнішнього середовища і/або органел. Основна кількість іонів кальцію поступає через Ca^{2+}-канали плазматичної мембрани ззовні всередину клітини. Наступний етап реакції-відповіді – зв'язування Ca^{2+} спеціальними *регуляторними білками*. До поширених Ca^{2+}-зв'язуючих білків належить кальмодулін, який виступає проміжним сигналом, що активує інші клітинні компоненти. *Кальмодуліни* рослин мають чотири функціональні «EF-руки» з доменами, зв'язуючими кальцій («EF-рука» є двома α-спіралями E і F, частиною Ca^{2+}-зв'язуючого центру). Приєднання до них іонів приводить до зміни конформації молекули кальмодуліну, завдяки чому він взаємодіє з білками-мішенями впливаючи на їх активність. *Кальциневрин-Б-подібні білки* характерні для грибів, в рослинах вони взаємодіють з групою серин-треонінових протеїнкіназ. *Ca^{2+}-залежні протеїнкінази* каталізують зворотне перенесення фосфату з АТФ на бокові ділянки амінокислот білка. У рослинних клітинах виявлено численні ізоформи Ca^{2+}-залежних протеїнкіназ, які ймовірно задіяні в пізнаванні кальцієвих сигналів. У *білків без «EF-рук»* їх функцію виконує домен С2. В клітинах рослин виявлено два таких білка - копін и фосфоліпаза Д, які використовуються в захисних реакціях рослин. Зростання вмісту іонів кальцію в цитозолі, обумовлене патогенними організмами, активує переміщення копіну до

мембрани, де він пригнічує трансдукцію «сигналу загибелі» клітин. Комплекс Ca^{2+}-фосфоліпаза полегшує зв'язування цього ензиму з мембранними структурами і/або активацію каталізу останніх.

Інформація, яка закодована у вигляді кальцієвих сигналів, сприймається різними Ca^{2+}-зв'язуючими білками, що викликають комплекс ефектів, спрямованих на зміну фосфорилювання цільових білків і експресії генів.

Комплекс Ca^{2+}-кальмодулін має велику кількість білків-мішеней: НАД-кіназа, глутаматдекарбоксилаза, СОД; SV-вакуолярний катіонний канал; Ca^{2+}-АТФаза II В-типу; міозин V; кінезин; пірофосфатази та ін.

Білки-мішені протеїнкіназ - ензими (нітратредуктаза, фосфоенолпіруваткарбоксилаза та ін), транспортні білки мембран (H^+-АТФаза плазматичної мембрани, калієві і аніонні канали замикаючих клітин продихів), фактори транскрипції, білки цитоскелету та ін.

Кальциневрин-Б-подібні білки при засоленні в комплексі з протеїнкіназами активують роботу H^+/Na^+-обмінника в плазмалемі коренів, що приводить до вилучення з клітин іонів натрію та детоксикації.

4.1.6. Калій

Вміст.Калій в рослинах зустрічається як одновалентний надзвичайно мобільний катіон, який не створює міцних комплексів, не конкурує за місця зв'язування та має здатність накопичуватися у тканинах в значних концентраціях без токсичних ефектів. Вказані властивості калію і визначають його функції.

Оптимальним з точки зору росту рослин є вміст калію в сухій масі вегетативних органів від 2 до 5 %, у цитозолі та хлоропластах зазвичай концентрація іонів становить 100-200 ммоль / л, вакуолях - 10 до 200 ммоль / л.

Функції калію. Калій відіграє різноманітні функції: є активатором ензимів, задіяний у біосинтезі білка, фотосинтезі ферментів, осмотичній регуляції та катіонно-аніонному балансі, транспорті окремих речовин по флоемі.

Активація ензимів іонами калію обумовлена здатністю цього елемента змінювати гідратний шар протеїнів, а відповідно і конформацію їх молекул, що приводить до зростання швидкості каталітичної реакції, іноді і спорідненості ензиму до субстрату. Так, калій активує такі ферменти гліколізу як піруваткіназа і фосфофруктокіназа, а також локалізовані в мембрані H^+-АТФази, що задіяні в регуляції мембранного потенціалу.

Іони калію необхідні також для синтезу білка, оскільки вони беруть участь в приєднанні тРНК до рибосоми під час трансляції, а також активують ензим, відповідальний за подовження поліпептидного ланцюга – пептидилтрансферазу. За дефіциту калію неорганічні форми нітрогену не включаються у фракцію білка та накопичуються у формі амідів, нітратів, амінокислот.

Залежність процесів фотосинтезу від концентрації іонів калію є комплексною: цей елемент є протиіоном у процесі транспорту протонів через

мембрани тилакоїдів, що індукується світлом; підтримує трансмембранний градієнт pH для перебігу реакцій фотофосфорилювання.

Калій є важливим в осморегуляції і катіонно-аніонному балансі на рівні клітин і тканин, оскільки збільшуючи осмотичний потенціал вакуолей, впливає: на ріст клітин розтягненням; шляхом підвищення/зниження концентрації калію в замикаючих клітинах, регулює відкривання і закривання продихів через зміну їх об'єму.Продихи відкриваються, коли об'єм замикаючих клітин збільшується, і закриваються, коли він зменшується.

Калій необхідний для завантаження і транспорту по флоемі цукрів шляхом підтримки високого значення pH в ситовидних трубках.

Транспортування калію. У корені зустрічаються транспортні системи, які мають високу і низьку спорідненість до калію. У ризодермі (периферія) зазвичай зустрічаються системи високої спорідненості, в паренхімі кори - низької спорідненості. Синтез транспортерів, що підтримують транспорт калію в діапазоні концентрацій, характерному для систем високої і низької спорідненості (AKT1), відбувається у всіх згаданих кореневих тканинах.

Нині відомо кілька *білків, що беруть участь в мембранному транспорті калію,* і мають різну спорідненість до нього:

- *KT/HAK/KUP (K⁺transporter/high-affinityK⁺transporters/K⁺uptakepermeases);*
- *HKT (high-affinityK⁺transporters);*
- *CPA (cationprotonantiporter);*
- *селективні K⁺-канали.*

По напрямку провідності *калієві канали* є двох типів:*вхідні*і *вихідні*. Вхідні канали калію активуються при гіперполяризації мембран, що приводить до транспорту іонів калію в клітину, а канали виведення - придеполяризації мембрани, приводять до вилучення K^+ з клітин. *Тонопласт вакуоль* має наступні типи *каналів за їх активністю*:*швидкі, повільніівакуолярні.* Перші два типи не є селективними (можуть проводити іони кальцію і натрію).

4.1.7. Силіцій (кремній)

Вміст. Кремній, який входить до складу сполук має валентність 4, утворює стійкі сполуки з оксигеном. У коренях рослин вміст силіцію більший, порівняно з їх пагонами, та переважно представлений мінеральними формами елемента. У пилку Si може становити 0, 87 % від його сухої маси.

У клітинах силіцій розподілений наступним чином: клітинна стінка – понад 90 % загального вмісту, рідини апопласту та симпласту - 0,1 % і менше 1 % відповідно. Силіцій в рослинах міститься у мінеральній та органічній формах. До водорозчинних мінеральних форм належать такі сполуки, як ортокремнієва кислота і ефір, нерозчинних - полікремнієві кислоти, аморфний кремнезем (складник фітолітів), кристалічні домішки. За pH > 8,0 кремнієва кислота в розчині знаходиться у вигляді аніону метакремнієвої кислоти SiO^{2-}, за pH 1-8 переважає мономерна форма ортокремнієвої кислоти - $Si(OH)_4$.

Підвищення концентрації призводить до полімеризації ортокремнієвої кислоти із утворенням оліго- і полікремнієвої кислот та переходу в стан гелю $SiO_2 \cdot nH_2O$.

Силіцій утворює сполуки із органічними речовинами – ліпідами (до 16 % -комплекси олігокремнієвих кислот с лецитином, холіном и холестерином), пектинами (0,2-2,3 %).

Біологічні функції. Монокремнієва кислота має вплив на різноманітні процеси в тканинах рослин. Гелі кремнієвої кислоти можуть бути каталізатором і матрицею в реакціях органічного синтезу, таких як перестановка функціональних груп, циклізація. Кремній пом'якшує негативний вплив водного дефіциту, оптимізуючи параметри водного обміну.

Існують дані щодо ослаблення силіцієм токсичної дії на рослини надлишку важких металів (ВМ), таких як кадмій, манган, алюміній, що реалізується шляхом підвищення сорбційної здатності клітинних стінок, утворення з ВМ комплексних сполук та зміщення pH в лужну сторону (рис. 4.9). Дефіцит силіцію обумовлює порушення включення фосфату до складу АТФ, АДФ, цукрів та зменшення частки лігніну в клітинних стінках, що змінює стабільність рослинних тканин.

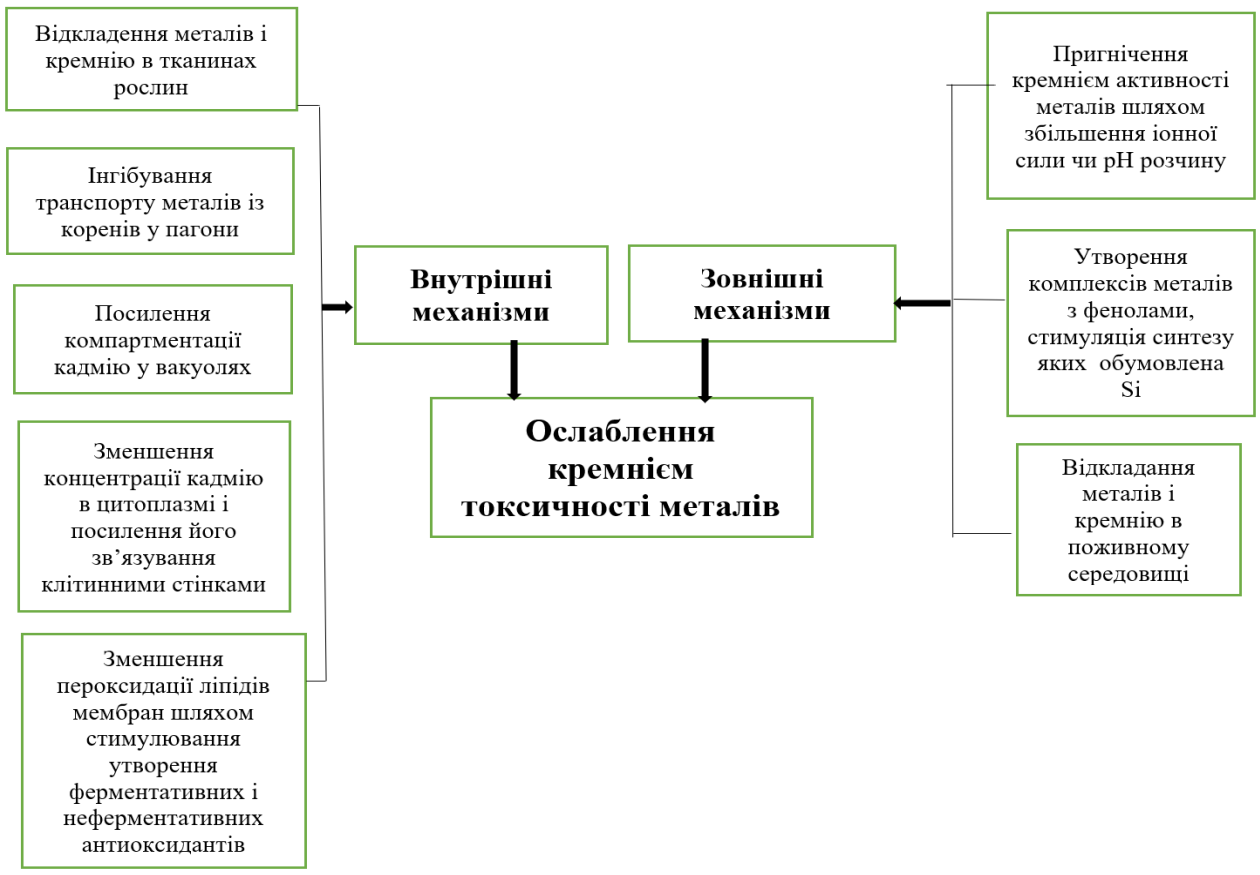


Рис. 4.9.Механізми ослаблення кремнієм токсичної дії ВМ на організм рослин

Наявність кремнію в тканинах рослин зменшує вміст іонів натрію в коренях і пагонах в умовах засолення за рахунок гальмування їх транспорту по апопласту і до судин ксилеми.

УФ промені у рослин викликають оксидативний стрес, що є причиною різних ушкоджень клітин. Силіцій є елементом, що гальмує утворення активних форм оксигену, чим суттєво зменшує пероксидне окиснення ліпідів мембран. Іншим механізмом захисту є Si-обумовлене підвищення концентрації проліну, антоціанів і флавоноїдів, що виконують роль захисних речовин за різних стресових умов, в т.ч. впливу ультрафіолету.

Силіцій захищає рослини від впливу патогенних мікроорганізмів. Відкладаючись в листі під шаром кутикули силіцій створює подвійний бар'єр (кутикула + сполуки кремнію), що є механічною перешкодою для проникнення хвороботворних мікробів і комах в тканини рослин. Разом з тим, в присутності цього елемента рослини посилено синтезують фітоалексини і фенольні сполуки за впливу грибкової інфекції.

Силіцій входить до складу зовнішньої оболонки пилкових зерен, гель SiO_2 при висушуванні пилку кристалізуються, чим підвищує стійкість останнього до розкладання під дією мікробів.

Поглинання силіцію коренями рослин здійснюється у формі недисоційованої молекули монокремнієвої кислоти.

4.1.8. Ферум

Вміст феруму в рослинах значно вищий, порівняно з іншими мікроелементами. В коренях, зазвичай, його концентрація вища, ніж в пагонах, і в середньому в рослинах становить 200 мг/ кг. Близько 80 % феруму листя знаходиться в хлоропластах, а саме в тилакоїдах, а не стромі.

Функції. Атом феруму має будову типову для перехідних елементів, що і визначає змінну валентність цього металу (Fe^{2+}/Fe^{3+}) та виражену властивість утворювати комплекси. Вказані хімічні властивості і визначають основні функції феруму в рослинах. Окисно-відновні реакції відбуваються за участі гемових та негемових форм феруму, причому серед ензимів переважають ті, що містять негемове залізо (99 проти 40).

Гем є поширеним кофактором, він входить до складу ферментів (пероксидаза, каталаза, нітрат-, нітритредуктаза), цитохромів, леггемоглобіну. Електронтранспортний ланцюг (ЕТЛ) фотосинтезу, що міститься в мембрані тилакоїду, має три пігмент-білкових комплекси: ФС II, ФС I і цитохромний-*b6/f*-комплекс.

У рослин пластиди є основним місцем синтезу гемових сполук, лише в коренях основний їх пул знаходиться не в пластидах. Джерелом феруму для синтезу його гемових форм є феритин.

Гемові форми пероксидаз є у всіх наземних рослин. Вони каталізують багато реакцій та впливають на перебіг різних фізіологічних процесів: ріст клітин розтягненням; реакції полімеризації (обумовлюють перехресне зв'язування компонентів клітинної стінки); окиснення ряду сполук за участю неактивного молекулярного кисню; регуляцію рівня ауксинів в рослинній клітині. Активний центр деяких ензимів, а саме оксидаз, містить ферум у вигляді гему в поєднанні з купрумом. Такі оксидази каталізують відновлення

молекулярного кисню до молекули води в ЕТЛ (джерелом електронів виступає цитохром *с* або хінон).

Ферум входить до складу ензиму каталази, яка спільно з саліциловою кислотою грає важливу роль в захисті рослин від активних форм кисню.

Леггемоглобін є білком червоного кольору, оскільки містить ферум у формі гема. Цей білок утворюється в бульбочках бактеріями родів Rhizobium і Bradyrhizobium. Леггемоглобін має спорідненість до вільного кисню, чим створює анаеробні умови, що сприяють диференціації бактероїдів і синтезу нітрогенази, фіксуючої молекулярний нітроген.

Частина феруму в рослинах знаходиться в складі *негемових білків* і зв'язана з тіоловими групами цистеїну, неорганічною сіркою, O- і N-лігандами. Негемові Fe-ензими зазвичай задіюють окисні властивості оксигену в різних окисних реакціях. *Фередоксин* є ферумвмісним негемовим білком, кінцевим акцептором електронів ЕТЛ фотосинтезу. Відновлений фередоксин формується в світлових реакціях ФС I та використовується з метою відновлення $НАДФ^+$.

Нітрогеназа складається з двох негемових білків (Fe-білка і Mo-Fe-білка) та каталізує фіксацію молекулярного нітрогену у азотфіксуючих мікроорганізмів. Окрім молекулярного нітрогену нітрогеназа відновлює деякі сполуки з потрійним зв'язком - азиди, ціаніди, ацетилен.

Супероксиддисмутаза (СОД) є металоферментом, що каталізує дисмутацію вільних супероксидних радикалів (O^-). Деякі ізозими СОД містять ферум в складі простетичної групи (*Fe*СОД).

Ферум входить до складу залізо-сірчаного білка *аконітази*, яка каталізує ізомеризацію цитрату до ізоцитрату в циклі Кребса, та виступає стабілізатором і активатором цього ензиму без зміни своєї валентності.

Ксантиндегідрогеназа / оксидаза - задіяна в каталізі уреїдів і катаболізмі пуринів, міститься в різних тканинах рослин, включно з бульбочками бобових, де його активність дуже висока. Катаболізм пуринів має наступну послідовність (ксантиндегідрогеназа каталізує перші дві стадії): гіпоксантин → ксантин → сечова кислота → алантоїн → алантоїнова кислота.

Ліпоксигенази – ензими, які каталізують приєднання молекулярного кисню до ненасичених жирних кислот (переважно лінолевої, ліноленової) з утворенням їх гідропероксидів. Мають високу активність в швидкоростучих тканинах, при старінні клітин/тканин та у відповідь на дію патогенних мікроорганізмів; локалізовані в цитоплазмі, вакуолях, можуть бути асоційовані з мембранами.

Феритин - це білок, який запасає ферум. Білок без феруму називається апоферитином. Він має центральну порожнину ~5–8 нм для навантаження Fe^{2+}, де останній концентрується і кристалізується в гідроксид Fe^{3+}. Із молекули феритину ферум виходить через пори, при цьому зворотно відновлюється до Fe^{2+}. Феритин міститься переважно в пластидах, особливо тих, що не містять хлорофіл.

У бульбочках бобових цей білок є джерелом феруму для синтезу нітрогенази і леггемоглобіну. В стресових умовах накопичення феритину корелює з підвищенням активності антиоксидантних ензимів. Скупчення

феритину характерні для пластид, цитоплазми, мітохондрій клітин вищих рослин, в насінні - основна форма запасання феруму.

Участь феруму в фотосинтезі полягає в тому, що в тилакоїдних мембранах хлоропластів на кожен пігмент фотосистеми I і II припадає приблизно 20 атомів феруму. Виділяють 3 ферумвмісних білки фотосистеми I – *фередоксин, фередоксин- НАДФ-редуктаза,цитохромний b6/f -комплекс.*

Фередоксин в каталітичному центрі містить 2 або 4 атоми феруму і 4 атоми сульфуру. Фередоксин бере участь в переносі електронів, в формуванні структури білкової глобули. Цитохромний *b6/f* -комплекс бере участь у передачі електронів від ФС II до ФС I. Таким чином дефіцит феруму впливає більше на ФСІ, ніж ФС II.

Ферум необхідний для нормального цвітіння вищих рослин

Поглинання феруму коренями вищих рослин відбувається з використанням 2 стратегій: стратегії I (всі дводольні та однодольні, крім злаків); стратегія II - злаки (*Gramineae*).

Стратегія I включає наступні реакції: 1) виділення протонів; 2) відновлення Fe^{3+} до Fe^{2+} за участю Fe^{3+}-хелатредуктази; 3) транспорт Fe^{2+} через плазматичну мембрану з допомогою переносника. Дефіцит феруму активує компоненти цієї стратегії.

Стратегія II - корені рослин виділяють в середовище низькомолекулярні хелатуючі речовини, так звані фітосидерофори, які утворюють комплекси с Fe^{3+}. Злаки володіють поглинальною системою, високоефективною до комплексів фітосидерофор/ Fe^{3+}. Фітосидерофори по своїй природі є мугеновою кислотою (похідне нікотинаміду), механізм секреції якої коренями в ризосферу поки не відомий. Доведеним є факт, що фітосидерофори виділяються коренями у відповідь на недостатню кількість феруму за чітким добовим ритмом – через дві години освітлення впродовж 4-6 годин. Комплекс фітосидерофор/ Fe^{3+} з ризосфери транспортується специфічною поглинальною системою, яка знаходиться в мембрані ризодермальних клітин кореня. Рослини обох стратегій можуть поглинати ферум в двовалентній формі.

Ферум, як і інші мікроелементи, першопочатково поглинається клітинною стінкою ризодермальних клітин кореня, після чого переміщається до плазмалеми. Безпосередньо в клітину через мембрану потрапляє лише частина феруму, основна кількість окиснюється до гідроксиду чи нерозчинних солей (фосфатів) і формує апопластний пул, де зберігається до 95 % всього вмісту цього елемента в корені.

4.1.9. Манган

Вміст цього мікроелемента в травах знаходиться в межах від 17 до 334 мг/кг. Накопичення мангану в рослинах тим більше, чим вищий в них вміст танінів, алкалоїдів. Концентрація мангану в коренях вища, ніж в пагонах, а в листі більша, ніж в стеблі. Серед органел Mn^{2+} найбільше в хлоропластах, а також вакуолях.

Функції. Манган є перехідним 3d-елементом зі змінною валентністю та в біологічних системах має такі ступені окиснення - Mn^{2+}, Mn^{3+}, Mn^{4+} (в рослинах

переважає Mn^{2+}). Манган виконує важливу роль в окисно-відновних процесах. Достеменно вивчено такі ензими, що містять цей елемент: *Mn-білок* в фотосистемі II і *супероксиддисмутазу(MnСОД)*.

Наявність іонів мангану необхідна для утворення кисню фотосистемою II, оскільки він каталізує розщеплення води з виділенням протонів та електронів і утворенням O_2:

$$2H_2O \rightarrow 4H^+ + O_2$$

У цій реакції Mn-кластер проходить через 5 стадій окиснення. Стабільність функціонування Mn-кластера у фотосистемі II підтримує Mn-білок (рис. 4.10).

Інший ензим, що містить Mn - супероксиддисмутаза (*MnСОД*) каталізує детоксикацію супероксидного радикала, проте, на відміну від ізоформ *FeСОД*, *CuZnСОД*, вона менш поширена у вищих рослинах.

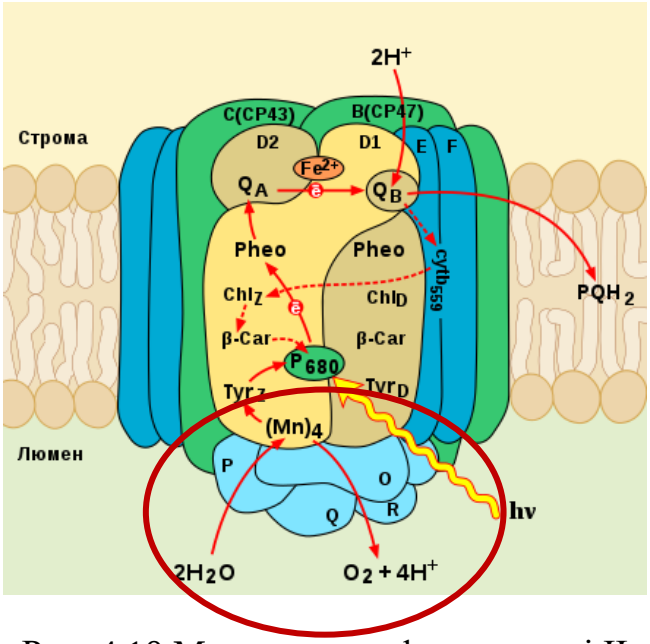


Рис. 4.10.Mn-кластер у фотосистемі II

Місцем її локалізації є мітохондрії та пероксисоми. І хоча ензимів, які включають манган мало, він в багатьох реакціях виступає активатором ферментів, які задіяні в процесах окиснення/відновлення, декарбоксилювання, гідролізу, реакціях ЦТК, біосинтезу ароматичних амінокислот, лігніну, флавоноїдів, індолілоцтової кислоти, фотосинтезу. Деградація алантоїну і алантоїнової кислоти в листі каталізується алантоїнамінодегідролазою, яка має абсолютну залежність від присутності Mn^{2+}, як і інший ензим азотного обміну аргіназа. Цей мікроелемент впливає на обмін білка (через активність ДНК- і РНК-полімераз) та ауксинів.

Транспортування. Рослини засвоюють манган з ґрунту як Mn^{2+}, а через мембрани, як припускається, він переноситься білками IRT таYS1 (злаки стратегіїII).

4.1.10. Цинк

На вміст цинку в рослинах впливають умови довкілля та їх генотипові особливості. Середній вміст цього елемента становить 1-80 мг/кг сухої маси та є найвищим у лишайників і хвойних. Серед органів рослини висока концентрація цинку в листі, точках росту, генеративних органах. Цинк в рослинах представлений двовалентною формою та не бере участі в окисно-відновних реакціях.

Функції. Цинк має каталітичну і структурну функції, які реалізуються за рахунок його здатності формувати тетраедричні комплекси з N-, O-, S-лігандами. У ензимах цинк має чотири ліганди: три з них – амінокислотні залишки гістидину, глутаміну, аспарагіну, четвертий - молекула води. Саме така конфігурація потрібна для реалізації каталітичної функції елемента (рис. 4.11, а).

Білки, в яких цинк відіграє структурну функцію, мають поєднання атома цинку з S-групами чотирьох залишків цистеїну (рис. 4.11, б).

До ензимів, які містять цинк, належать наступні:

- *Карбоангідраза*– каталізує наступну реакцію:

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow HCO^- + H^+$$

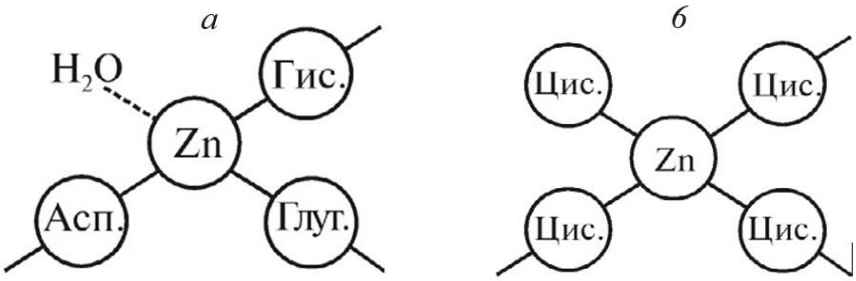


Рис. 4.11. Зв'язки цинку з лігандами при виконанні каталітичної (а) та структурної (б) функції

Карбоангідрази бувають трьох типів:α – характерна для тварин, рослин, бактерій і вірусів; β - рослин і еубактерій; γ - бактерій та рослин. Найбільш дослідженими у рослин є β-карбоангідрази, що задіяні в процесах карбоксилювання/декарбоксилювання. Молекула цього ензиму має значне число SH-груп, за рахунок сульфурвмісних амінокислот, що входять до її складу (цистеїн, метіонін), та зустрічається в плазмалемі, хлоропластах і цитоплазмі. Дефіцит цинку обумовлює гальмування фотосинтезу в С4-рослин (кукурудзи, сорго), в яких без участі карбоангідрази може поповнюватись пул CO_2 в клітині, але не бікарбонату.

- *Рибулозобісфосфаткарбоксилаза* – бере участь в першій стадії фіксації CO_2.
- *Дегідрогенази* - цинк є складовою алкогольдегідрогенази (каталізує відновлення ацетальдегіду до етанолу), глутаматдегідрогенази, D-гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази та ін. Дегідрогенази беруть участь в різних окисно-відновних реакціях, тому важливі для обміну речовин в рослинних тканинах.

- *Супероксиддисмутаза* (ізофермент *CuZnСОД*) містить атом цинку і атом купруму, з'єднані через азот гістидину та локалізується в цитоплазмі, мітохондріях, гліоксисомах, а також в хлоропластах. В цьому ізоферменті цинк відіграє роль підтримання конфігурації активної частини ензиму, що полегшує окиснення. *CuZnСОД* діє і як пероксидаза, окиснюючи органічні субстрати, в т.ч. нітрит.

«Цинкові пальці» (zinc finger proteins) – білки задіяні в різних клітинних процесах, регуляції транскрипції, апоптозу, зв'язуванні РНК, тощо. Окремі з цих білків зв'язуються лише з ДНК, інші лише з РНК, ще деякі з обома нуклеїновими кислотами і саме цинк стимулює таку взаємодію. До ферментів, що вміщують Zn та беруть участь в транскрипції й синтезі нуклеїнових кислот. належать *РНК*- і *ДНК-полімерази, гістондіацетази* та ін.

Цинк є також компонентом *лужної фосфатази, фосфоліпази,* що містять по 3 атоми цього елемента.

Ензими, які активуються цинком. Цинк активує два ензими вуглеводного обміну *–фруктозо-1,6-дифосфатазу і альдолазу*, які локалізуються в хлоропластах і цитозолі.

Цинк необхідний для синтезу протеїнів, оскільки входить до структури рибосом, регулює активність РНКази та забезпечує стабільність генетичного матеріалу. *Протеази* є також Zn-залежними білками і задіяні в протеолітичних процесах.

Цинк впливає на обмін ауксинів: за дефіциту елемента зменшується вміст індолілоцтової кислоти за рахунок її деградації та порушення синтезу.

Роль елемента в інтеграції мембран пов'язана зі здатністю з'єднуватись з фосфоліпідами та сульфгідрильними групами мембран, формувати тетраедричні комплекси із залишками цистеїну поліпептидних ланцюгів, впливаючи на проникність мембран.

Поглинання коренями рослин цинку відбувається у вигляді катіону Zn^{2+}. У цьому процесі задіяно кілька транспортних систем, що належать до ZIP та IRT білків. Дводольні рослини виділяють з коренів в ґрунт органічні сполуки карбону, які зв'язують цинк в специфічні комплекси та полегшують дифузію цього елемента до коренів. Припускається, що у злаків (стратегія II) білок YS1 є переносником цинку в формі нікотинамінових і фітосидерофорних комплексів.

4.1.11. Купрум

Вміст купруму у вищих рослинах доволі незначний і становить в межах 1-20 мг/кг сухої речовини та переважно (98-99 %) представлений комплексами, а концентрація вільних іонів (Cu^{2+}, Cu^{+}) вкрай низька. Купрум може утворювати стабільні комплекси з органічними сполуками, змінюючи валентність $Cu^{2+} \leftrightarrow Cu^{+}$. Одновалентний купрум є нестабільним, на відміну від двовалентного.

Необхідність цього елемента для вищих рослин була аргументована Ж. Мак-Кіннейом та К. Ліпманом в 1931 г. Листя мають досить високий вміст цього елемента, основна частина якого (~ 60 %) локалізується в хлоропластах, половина його зв'язана із пластоціаніном. Купрум, що міститься в коренях,

малоактивний і зв’язаний з клітинними стінками. Цей елемент в значних кількостях міститься в насінні та репродуктивних органах рослин, причому спорідненість Cu до амінокислот вища, ніж до органічних кислот.

Функції купруму визначаються, насамперед, участю в ферментативних окисно-відновних реакціях. Білки, що містять цей елемент, можна умовно поділити на наступні групи:

— білки задіяні в передачі одного електрона, що не мають оксидазної активності (пластоціанін);

— білки, що задіяні в окисненні монофенолів до дифенолів (пероксидази);

— білки, які діють як оксидази (аскорбатоксидаза, дифенолоксидаза) та містять мінімум 4 атоми Cu на одну молекулу.

Пластоціанін – білок блакитного кольору, що містить 1 атом купруму на молекулу. В молекулі Cu зв’язаний 2 молекулами гістидину, 1 молекулою цистеїну і метіоніну в тетраедричній конфігурації. На тисячу молекул хлорофілу припадає 3-4 молекули пластоціаніну, який виконує функції цитохром f-ФС I-оксидоредуктази (рис. 4.12).

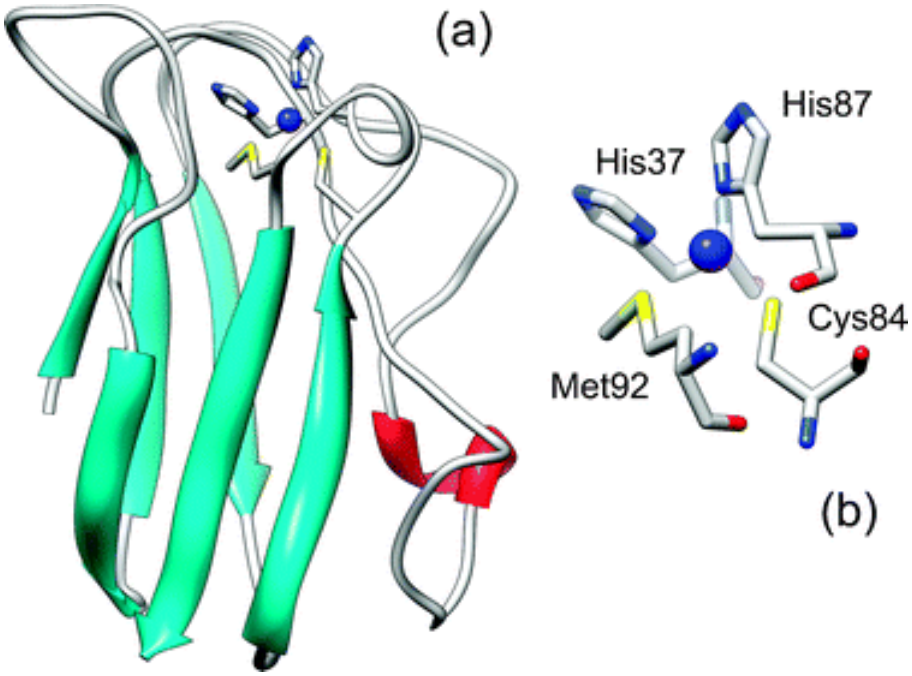


Рис. 4.12. Будова молекули пластоціаніну
https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/cp/b926518j/unauth

Поліфенолоксидаза – ензим, що каталізує перенесення електронів від фенолів (пірокатехін, гідрохінон) на молекулярний кисень. Бере участь в біосинтезі меланінів, лігніну, алкалоїдів. Порушення цвітіння рослин пов’язують зі зниженням поліфенолоксидазної активності внаслідок дефіциту купруму.

Аскорбатоксидаза - каталізує окиснення аскорбінової кислоти до дегідроаскорбінової та містить 4 атоми купруму. Виконує функції самостійно

як термінальна дихальна оксидаза або разом з поліфенолоксидазою, коли молекулярний кисень є акцептором електронів.

Цитохромоксидаза - оксидаза мітохондріального електронтранспортного ланцюга, до складу якої входить по 2 атоми купруму і феруму в гемовій конфігурації. Атоми купруму забезпечують транспорт електрона від цитохрому *с* до гему *а3*, біядерного центру, де і відбувається зв'язування і відновлення оксигену.

Супероксиддисмутаза (ізофермент CuZnСОД) задіяна в детоксикації супероксидного радикалу.

Аміноксидаза – каталізує окиснювальне дезамінування амінів, у рослин приймає участь в захисних реакціях, процесах лігніфікації і формуванні коркової тканини за рахунок відкладення суберину.

$$RCH_2NH_2 + H_2O + O_2 \rightarrow RCHO + NH_3 + H_2O_2$$

Купрум в молекулі аміноксидази зв'язаний з трьома залишками гістидину і 2 молекулами води. Цей ензим міститься в апопласті епідермісу та ксилеми зрілих рослинних тканин.

Поглинання купруму рослинами здійснюється білками CTR. Ці ж білки, локалізовані в тонопласті, можуть брати участь у мобілізації Cu з вакуоль. Білки ZIP здатні переносити купрум всередину клітини, долаючи мембрану, проте в якій формі переміщається елемент (комплексів чи іонів Cu^+, Cu^{2+}) достеменно не відомо.

4.1.12. Молібден

Вміст молібдену в рослинах залежить від видових та ґрунтово-кліматичних особливостей. У рослин, які здатні фіксувати нітроген, накопичується значно більше цього елементу, ніж у інших видів. Переважна більшість бобових рослин, близько 90%, акумулюють молібден, а його вміст в органах змінюється в процесі онтогенезу.

У рослинах, в яких відсутні бульбочки, молібден накопичується в надземних органах – листках, стеблах. pH ґрунту також впливає на накопичення молібдену: кислі ґрунти не сприяють накопиченню елемента, порівняно з нейтральними. При поглинанні молібдену антагоністами є вольфрам і сульфат, тоді як фосфат навпаки сприяє цьому процесу (рис. 4.13).

Функції. У рослинах цей елемент переважно зустрічається у вигляді MoO_4^{2-}. Ступінь окислення молібдену в ензимах - Mo(IV) та Mo(VI). Функції, що виконує молібден в організмі рослин, базуються на здатності змінювати валентність та утворювати комплекси.

У організмі рослин ензимів, що містять молібден у якості кофактора, досить мало: ксантиноксидаза/дегідрогеназа, альдегідоксидаза, нітрогеназа, нітратредуктаза, а також, можливо, сульфатредуктаза.

У організмі молібден зустрічається у комплексі із птерином і формує так звані молібдокофактори (*Moco*) (рис. 4.14).

Іони молібдену у вільному стані не виявляють каталітичної активності. Слід зазначити, що *Moco* ідентичні в усіх ензимах, окрім нітрогенази. З Mo(VI) координаційні зв'язки утворює птеринове кільце. У клітинах присутні 3 фракції

Мо-птерину: вільна форма; зв’язана з білковим фрагментом ензиму; зв’язана з білком фермента.

Вільний *Moco* активний в препаратах, які не піддавались обробці кислотою або температурою в присутності протекторів та надлишку молібдату, а також йому притаманна нітратредуктазна активність і структурна функція (об’єднує субодиниці ензиму в олігомерний комплекс). В ензимах основною функцією Мо-кофактору є каталітична. Вільний *Moco* поєднується з білковою частиною через молекули амінокислот.

Рис. 4.13. Вміст молібдену в органах люпину в онтогенезі, % (мкг/гсухої маси)
Примітка: I – сходи, II – 4 пари листків, III – інтенсивний ріст, IV – цвітіння, V – плодоутворення, VI – початок утворення насіння, VII – кінець утворення насіння).

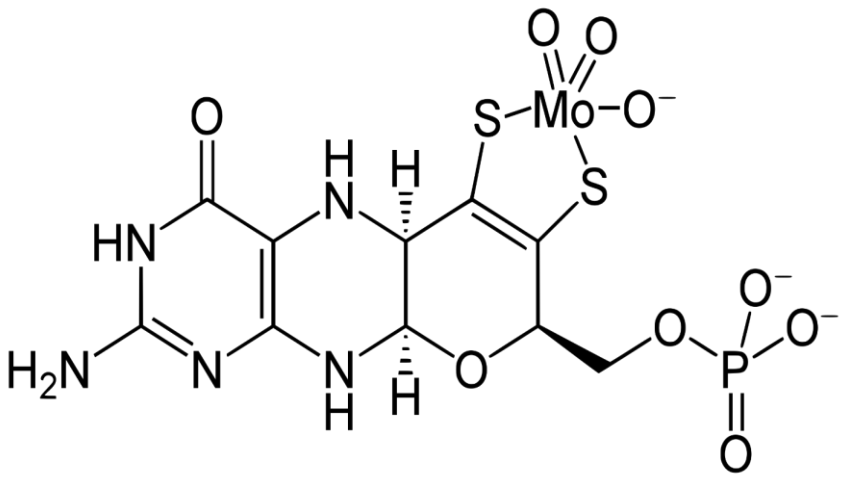


Рис. 4.14. Молібденкофактор

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7a/Molybdenum_cofactor.svg

В олігомерному комплексі ензимів Мо-птерин пов'язаний з певним білковим фрагментом, молекулярна маса якого значно менша маси всього ензиму.

З молекулою білка фермент *Моco* зв'язаний нековалентно, ці зв'язки нестійкі легко руйнуються, зокрема і під впливом кисню, але й приєднання коферменту до білка відбувається легко.

Як зазначалося вище, Мо-кофактор нітрогенази суттєво відрізняється від інших ензимів: крім Мо містить 7 атомів негемового феруму і 9 атомів сульфуру з такими ступенями окислення $[Mo^{4+},6Fe^{2+}, Fe^{3+}, 9S^{2-}]^{+}$; FeMoco має каталітичну і структурну функції.

У більшості живих організмів Мо легко *in vivo* може замінюватись вольфрамом, але утворені таким чином аналоги є неактивними, разом з тим заміна є оборотною.

Мо-ензим *альдегідоксидаза* аналогічний ксантиндегідрогеназі по молекулярній масі, кофакторам, структурі та каталітичній дії, відноситься до оксидаз (не зв'язує $НАД^{+}$, використовує кисень як акцептор електронів, продукуючи пероксид водню). Цей ензим каталізує перетворення абсцизового альдегіду в фітогормон абсцизову кислоту.

Сульфітоксидаза - каталізує окиснення сульфіту до сульфату. У рослин сульфітоксидаза не має в складі цитохрому b5 (на відміну від тварин). Відновлення сульфіду супроводжується перенесенням 2 електронів, що супроводжується відновленням Мо-центру ферменту (Mo(VI) → Mo(IV)).

Сульфітредуктаза - присутня в пероксисомах, проте її роль достеменно не встановлена. Припускається, що цей ензим необхідний для вилучення з клітини сульфіту, який утворюється при руйнуванні метіоніну і цистеїну чи поглинання з атмосфери.

Нітратредуктаза, сульфітредуктаза активуються після приєднання *Моco*; *ксантиндегідрогенази, альдегідоксидази* потребують після приєднання Мо-коферменту приєднання до Мо-центру сульфуру.

В активних центрах ферментів молібден може зв'язуватися з гідроксильними і карбоксильними групами амінокислот, сульфуром цистеїну і гістидину, флавіновими коферментами і субстратами.

Молібден задіяний в транспорті електронів, стабілізації вторинної структури нуклеїнових кислот за рахунок зниження їх гідратації та блокування ДНКази і РНКази, має антистресову (кріопротекторну) дію, що реалізується за рахунок накопичення ненасичених жирних кислот, підвищення текучості мембран, регулюванням активності альдегідоксидази і нітратредуктази.

Надходження молібдену в клітини рослин недостатньо вивчене, відомо, що воно відбувається вформімолібдатуз допомогоюсульфатнихі/абофосфатнихтранспортерів.

4.1.13. Нікель

Вміст нікелю у вегетативних органах рослин від 1 до 10 мкг/кг сухої маси. Після поглинання коренями нікель досить швидко транспортується в стебло, у флоемі та ксилемі рослин цей елемент має підвищену мобільність.

У біологічних об'єктах нікель міститься в формі Ni (II), але зустрічається в окислених формах Ni (I) и Ni (III), утворює стійкі комплекси з органічними сполуками, які мають негативний заряд.

Функції. У організмі рослин найбільш дослідженим є ензим уреаза, що містить нікель. Фермент має 6 субодиниць, кожна з яких містить по 2 атоми нікелю.

Зв'язування Ni^{2+} активним центром уреази здійснюється білками, так званими уреазоспецифічними шаперонами. Ni стабілізує структуру цього ензиму та необхідний для прояву ним каталітичних функцій. Уреази в рослинах локалізовані у насінні, вегетативних тканинах і беруть участь в трансформації сечовини. І хоча функції нікелю не достатньо вивчені, доведена його необхідність і незамінність для вищих рослин.

Молекулярні механізми поглинання коренями рослин Ni мало вивчені, відомим є той факт, що воно може бути активним (переважає) і пасивним. Припускається, що в клітини рослин іони Ni надходять активованими кальцієвими каналами, оскільки специфічних переносників Ni^{2+} поки що не знайдено.

4.1.14. Бор

Вміст бору в рослинах залежить від їх виду, віку, умов мінерального живлення та в середньому становить від 1 до 100 мг/кг сухої маси. Злаки і дводольні рослини суттєво відрізняються потребою в борі, що пояснюється різним складом їх клітинних стінок: в листі злаків (кукурудза, пшениця,) вміст бору до 9 мг/кг сухої маси, цукровий буряк - до 100 мг/кг сухої маси. У рослинах зустрічаються водорозчинні (борна кислота) і не розчинні у воді форми бору. Більше 90 % елемента міститься в клітинних стінках, міжклітинному просторі, тобто апопласті вищих рослин. У бора переважають неметалічні властивості, ступінь окислення в сполуках +3.

Функції бора в рослинах з фізіологічної точки зору малозрозумілі, оскільки він не є структурним компонентом, а також не виступає активатором ензимів. В той же час саме бор бере участь у регуляції росту, обміні вуглеводів, нуклеїнових кислот, фенолів, ауксинів, диханні, процесах лігніфікації, транспорті цукрів.

Бор є необхідним елементом для формування клітинних стінок де він утворює комплексні сполуки, зокрема В-полісахаридний комплекс В-рамногалактуронан II. Структура цього комплексу представлена бором, який зв'язаний хрест навхрест 2 (4) залишками апіози рамногалактуронану II (RG II) через В-діолефірні зв'язки (рис. 4.15).

Без бору, а також кальцію не відбувається перехресне зв'язування пектинових ланцюгів, що призводить до дезінтеграції клітинної стінки. Борат-ефірні зв'язки в клітинній стінці слабкі, порівняно з кальцієвими, і тому при розтягненні клітин легко руйнуються і знову утворюються.

Бор підтримує структурну цілісність мембран, в яких є молекулярні акцептори, що формують комплекси з боратами, борною кислотою, наприклад деривати цукрів (манози, апіози, галактози). Можуть зв'язувати бор мембранні білки і інші мембранні структури, зокрема поверхневі протеїни, що кріпляться до поверхні глікозилфосфатидилінозитолом. Дефіцит бору обумовлює зміни складу мембран, активності процесів транспорту та мембранного потенціалу. При недостатньому надходженні елемента підвищується проникність мембран, через що порушуються процеси фотосинтезу, а саме транспорт електронів в тилакоїдах.

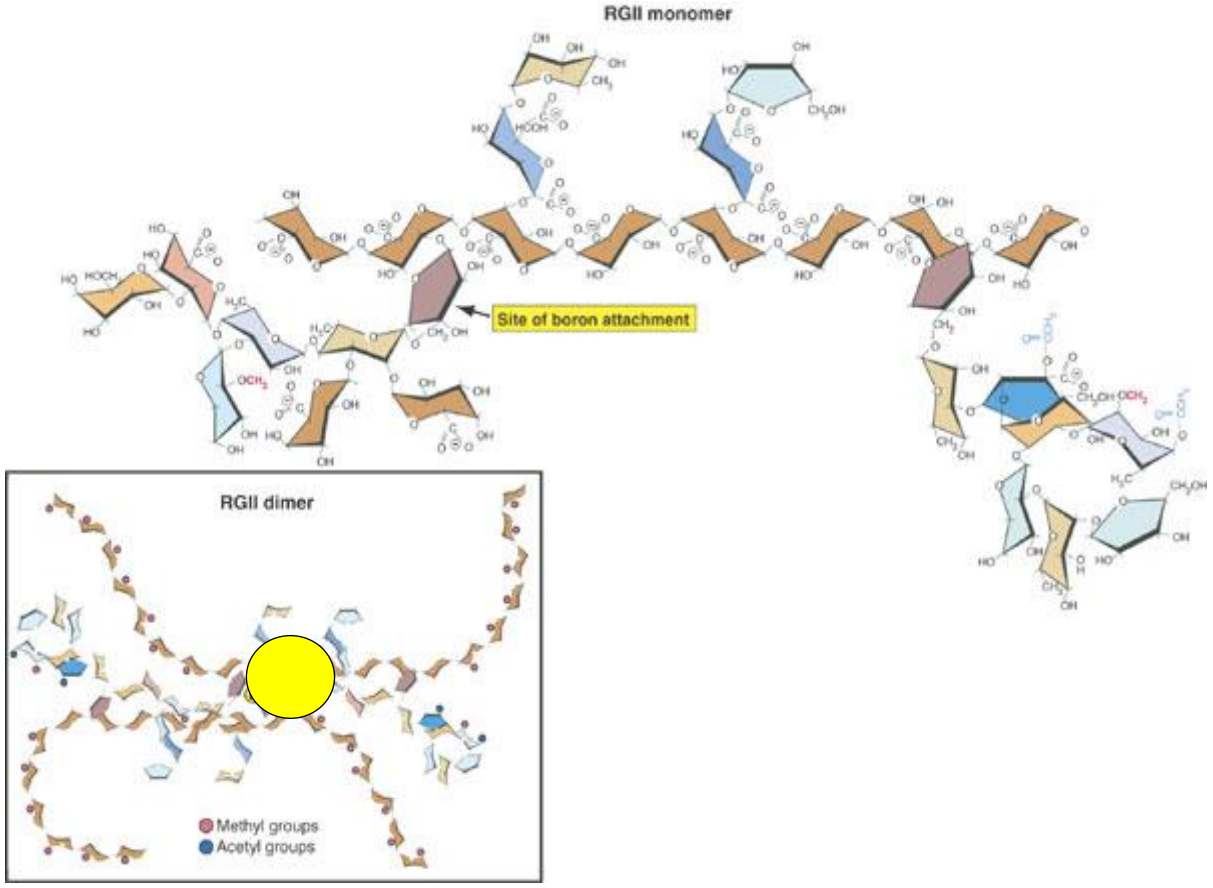


Рис. 4.15. В-рамногалактуронан II
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7a/Molybdenum_cofactor.svg

Бор задіяний в синтезі і функціонуванні клітинних стінок та плазмалеми, тому впливає на ріст пилкової трубки: за дефіциту елемента утворюються розриви, потовщується її кінчик. Підкормки бором суттєво впливають на урожайність насіння культурних рослин.

Дефіцит бору обумовлює накопичення фенолів та зростання каталітичної активності поліфенолоксидази з підвищенням реактивності проміжних продуктів (хінон, активований фенол) та зростанням концентрації індолілоцтової кислоти.

Бор бере участь у формуванні симбіозу бобових рослин та бактерій роду Rhizobium, тому його дефіцит знижує утворення бульбочок і їх азотфіксуючу

здатність. Цей елемент покращує функціонування антиоксидантних систем та підвищує стійкість рослин до стресу.

Поглинання бору здійснюється пасивно з потоком води по специфічних водних каналах, а також активно.

4.1.15. Хлор

Вміст хлору в рослинах складає від 2 до 20 мг/г сухої маси, хоча реальні потреби є значно нижчими. Найвищі концентрації хлору відмічають в замикаючих клітинах продихів, зонах розтягнення осьових органів. В черешках цього елемента більше, ніж в листових пластинках. Серед органел найбільше хлору у вакуолях.

Вищі рослини містять цей елемент як вільний аніон чи в слабко зв'язаному стані. В рослинах існує близько 30 органічних сполук, що містять хлор. Хлор важливий для фотосинтезу, а саме фотосистеми II на етапі окиснення води та виділення оксигену, де Clє тим лігандом, що стабілізує окиснені стадії марганцю. Хлорид входить до складу асоційованих поліпептидів, впливає на роботу H+-АТФази тонопласту. Хлорид відіграє важливу роль в азотному метаболізмі за рахунок активації аспарагінсинтетази, яка каталізує переніс NH_3з глутаміну на аспарагін.

Хлорид є одним з головних елементів, що підтримують осмотичний тиск у вакуолях за рахунок накопичення. Особливо яскраво осмотична функція хлору проявляється в замикаючих клітинах, зонах розтягнення кореня і пагона.

Хлор рослинами поглинається як аніон (Cl^-), найбільш інтенсивно цей процес відбувається в зоні розтягнення кореня. Електрохімічний потенціал на мембрані визначає надходження хлору, яке може бути активним і пасивним. Концентрація Cl^- в середовищі 10-60 ммоль/л обумовлює активний транспорт за рахунок гідролізу АТФ або градієнта вторинних іонів, зокрема протонів водню. За умов засолення надходження хлору відбувається пасивно, по електрохімічному градієнту, мембранними каналами чи за участю переносників (полегшена дифузія).

Білки CLC виконують роль хлорних каналів, які наявні в усіх біомембранах та активуються при деполяризації/гіперполяризації останніх. Вони транспортують аніони в клітину і назовні, забезпечують мембранний потенціал, сигналізацію, регуляцію тургору, осмосу. У плазмалемі клітин кореня хлорні канали не відрізняються високою селективністю і можуть транспортувати аніони NO^- і I^-.

4.1.16. Кобальт

Вміст кобальту в рослинах становить від 0,05 до кількох мг/кг сухої ваги (у гіперакумулюючих рослинах – 4 000–10 000 мг/кг). Цього елемента у бобових рослинах набагато більше, ніж у злаках. Більша частина кобальту (понад 55 %) накопичується в коренях, а саме в тканинах кори.

Кобальт є елементом зі змінною валентністю (II, III) та по фізико-хімічних властивостях подібний до феруму. У тканинах рослин зустрічається у вигляді іонів Co^{2+}, Co^{3+}, а також і в складі комплексів. Цей елемент довгий час

вважався необхідними лише для тварин і мікроорганізмів, а нині доведеним є факт його корисності й для вищих рослин.

До основних функцій кобальту належить його участь в фіксації атмосферного азоту бульбочками рослин, оскільки він необхідний *Rhizobium* та іншим подібним мікроорганізмам. У видів *Rhizobium* і *Bradyrhizobium* є Co-залежні ензими, такі як:

— метіоніінсинтаза - бере участь в синтезі метіоніну;

— рибонуклеотидредуктаза - каталізує відновлення рибонуклеотидів до дезоксирибонуклеотидів, тобто бере участь в синтезі ДНК і діленні клітин Rhizobium;

— метилмалоніл-коензим А-мутаза - синтез гему в бактероїдах.

Кобальт в оптимальній концентрації сприяє збільшенню об'єму мезофілу в листі, числа і розмірів клітин стовпчастої і губчатої паренхіми. Цей елемент сприяє концентруванню хлоропластів і пігментів в листі. Кобальт впливає на синтез білка через регуляцію структури та стійкості рибосом і функціонування РНК.

Іони Co здатні каталізувати утворення сукцинілкоензиму А, який є попередником Fe- і Mg- порфіринів; він бере участь в синтезі бокових ланцюгів хлорофілу через переміщення радикалів в пірольному ядрі та може окиснювати каротиноїди, залучаючи їх до окисно-відновних реакцій.

Мембранний транспорт кобальту здійснюється білками IRT та, імовірно, у формі Co^{2+}.

4.1.17. Селен

Вміст селену в різних видах рослин суттєво відрізняється. Так покритонасінні включають три умовні групи по здатності асимілювати і накопичувати цей елемент: не здатні акумулювати Se, Se-акумулятори та Se-індикатори. Більшість рослин належать саме до першої групи, оскільки концентрація селену, що перевищує 10-100 мкг/г сухої ваги впливає на їх ріст. Представники родів Atriplex, Aster, Astragalus, Comandra, Castilleja, Graia, Gutierrezia, Grindelia, Machaeranthera, Mentzelia, Sideranthus ростуть як на бідних, так і збагачених селеном ґрунтах, накопичуючи цей елемент в своїх тканинах у високій концентрації (>1000 мкг / г сухої маси), без негативних наслідків для себе. Рослини-індикатори, це ті, що містять стільки елементу, скільки ґрунт, на якому вони ростуть. Корені рослин поглинають селен по різному, на що впливає його хімічна форма, концентрація, pH ґрунту та вміст іонів-конкурентів (сульфату, фосфату). Селенат є пріоритетною формою поглинання Se, на відміну від селеніту. Доступними для рослин є органічні сполуки селену, наприклад, селенометіонін, селеноцистеїн, тоді як колоїдна форма елементарного селену і селенід є недоступними. По хімічних властивостях Se подібний до сульфуру.

Селен для вищих рослин є корисним елементом. Він може стримувати старіння рослин, активуючи глутатіонпероксидазу і репараційні процеси та пригнічуючи пероксидацію ліпідів. Попереджуючи накопичення в тканинах рослин активних форм кисню, він опосередковано оптимізує діяльність ФС II.

Цей елемент впливає на активність СОД, імовірно, через зміну експресії генів, що відповідають за синтез ензиму, оскільки власне Se не є складовою частиною або активатором останньої.

До органічних форм селену належать селеноамінокислоти і селенобілки. Припускається, що асиміляція селену в рослинах відбувається в пластидах, а також частково можлива в цитозолі.

АТФ-сульфурилаза каталізує утворення аденозин-5'-фосфоселенату із АТФ і селенату. Проте ця сполука є нестабільною і піддається селенолізису з утворенням АМФ і селенату. Відновлення останнього до селеніду відбувається неферментативним шляхом за участю глутатіону.

В подальшому селеніди можуть трансформуватись в Se-цистеїн та включатись до складу білків. Включення селеноамінокислот в білки може викликати порушення їх функцій і бути причиною токсичності для рослин, що не здатні акумулювати цей елемент. Рослини-індикатори і акумулятори накопичують селеноцистеїн обмежено, оскільки він перетворюється в метильовані форми селеноцистеїну, селенометіоніну, селеноглутамілу тощо.

Диметилдиселенід – летка форма селену в рослинах, яка утворюється в результаті окиснення і наступного метилювання метилселеноцистеїну за участю фермента селеноцистеїнметилтрансферази.

Поглинання Se здійснюється сульфатними транспортерами HATS, які мають високу спорідненість до селену. Воно відбувається в симпорті з H^+ (1 : 3) та проти електрохімічного потенціалу.

Поглинання селенату і органічних сполук селену є активним процесом, тоді як абсорбція селеніту пасивна, інгібується фосфатом. Абсорбований селеніт, на відміну від селенату, швидко відновлюється до органічних сполук. У тканинах деяких видів рослин селеніт в невеликих кількостях здатний окиснюватися до селенату.

Тема 4.2. Транспортування елементів живлення в рослинах

- **Радіальний (близький) транспорт** мінеральних елементів може здійснюватись *по клітинних стінках* (по апопласту або так званому «вільному простору») і *через цитоплазму по плазмодесмах* (транспорт по симпласту).

Вільний простір кореня переважно представлений порами (3-8 нм), які розміщені між мікрофібрилами целюлози, і становить приблизно 5 % його об'єму. Зважаючи на діаметр пор, молекули більші за розміром ніж 3 нм мають суттєві труднощі у транспортуванні вільним простором. Окрім того, транспорт по апопласту на рівні ендодерми може утруднюватись наявністю смужок Каспарі. Радіальний транспорт іонів закінчується судинами ксилеми, а руховою силою є градієнт електрохімічного потенціалу, що виникає між ризодермою і клітинами ксилемної паренхіми, в плазмалемі яких локалізована протонна помпа.

Навантаження ксилеми регулюється під час транспортування іонів по клітинах кори, а вакуолі виконують роль підтримки потрібної концентрації іонів в симпласті за рахунок їх депонування. Таким чином відбувається обмеження надходження хімічних елементів у ксилему та здійснюється

регуляція селективності й швидкості транспорту мінеральних речовин із коренів у пагони.

Вихід іонів в ксилему здійснюється пасивно по іонних каналах (катіонних і аніонних), які мають різну селективність, провідність та залежність від мембранного потенціалу.

Із ксилеми в оточуючі клітини катіони надходять через вхідні канали. Так іони K^+ транспортуються через вхідний калієвий канал KIRC, що активується H^+-АТФазою, яка забезпечує гіперполяризацію мембрани.

Таким чином, радіальний транспорт іонів в корені пов'язаний із функціонуванням різних білків-переносників, що забезпечують переміщення мінеральних елементів.

Радіальний транспорт *азоту* (нітрату) в коренях здійснюється транспортером NRT1.5, що бере участь в завантаженні ксилеми, але він є не єдиним транспортером, який має таку функцію.

Фосфор є мобільним елементом і транспортується до ксилеми по симпласту за участю білка PHO1, який при цьому не є безпосередньо фосфатним транспортером.

Горизонтальний транспорт *сульфуру* відбувається у формі сульфату по симпласту і апопласту: в ендодермі повернення сульфату із симпласту в апопласт є пасивним процесом; у клітини паренхіми ксилеми - за участю транспортера низької спорідненості SULTR2;1, де після накопичення він пасивно надходить в судини ксилеми.

Магній переміщається в ендодерму по апопласту і саме вона є основним бар'єром на шляху переміщення цих іонів до провідної зони кореня.

Радіальний рух *кальцію* в корені є дуже інтенсивним та здійснюється по апопласту клітин ризодерми і паренхіми кори. Зона ендодерми, де локалізовані смужки Каспарі, є основною механічною перешкодою для руху цього елемента по апопласту до ксилеми, тому в апікальній частині кореня, що має незрілу ендодерму, транспорт є максимально інтенсивним.

Кремній в радіальному напрямку в корені транспортується в формі монокремнієвої кислоти.

Мікроелементи в радіальному напрямку переміщаються також двома шляхами - *по апопласту* і *по симпласту.* У всіх рослин переміщення по симпласту регулюється транспортною активністю плазмалеми і тонопласту, по апопласту - катіонообмінною здатністю клітинних стінок, смужками Каспарі в ендодермі та швидкістю потоку води.

- **<u>Транспорт по ксилемі</u>**

Дальній транспорт мінеральних елементів в рослині відбувається спеціалізованими тканинами - ксилемою і флоемою (рис. 4.16.). По ксилемі транспорт речовин здійснюється висхідним током, по флоемі - з висхідним та низхідним током.

Мінеральні речовини, що були поглинуті коренями, в пагони переміщуються по структурних елементах ксилеми, а силами руху є гідростатичний кореневий тиск і градієнт водного потенціалу, що виникає внаслідок транспірації води листям.

Склад ксилемного соку змінюється як впродовж доби, так і залежно від сезону року, але зазвичай має кисле pH (впливає вид рослини, умови вирощування, стадія онтогенезу). До складу ксилемного соку входять фітогормони, зокрема цитокінін і абсцизова кислота (АБК),

Катіони переміщаються по ксилемі ніби по катіонообміннику: вони взаємодіють з негативно зарядженими стінками судин, тому швидкість транспорту зменшується залежно від валентності, заряду ксилеми (дводольні рослини > однодольні), pH соку ксилеми. Що стосується важких металів (купрум, кадмій, цинк), швидкість їх переміщення суттєво зростає, якщо вони знаходяться в складі комплексів.

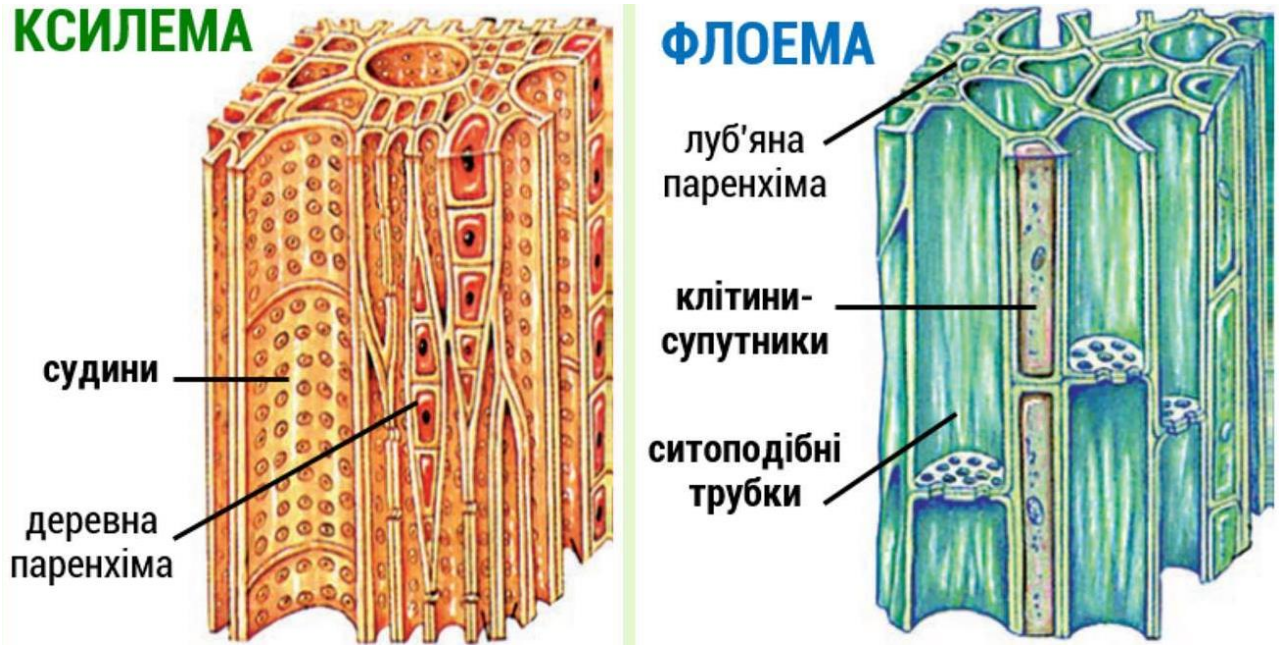


Рис. 4.16. Провідні тканини
https://ep3.nuwm.edu.ua/4486/.pdf

Транспорт *нітрогену* по ксилемі залежить від концентрації і складу сполук азоту, на що впливає азотний склад поживного середовища, біологічні особливості рослин, орган, в якому відновлюється нітрат (пагони чи корені), інтенсивність ремобілізації елемента в тканинах. По ксилемі переміщення нітрогену здійснюється у вигляді нітрату або органічних сполук, таких як амінокислоти, білки, аміди.

Регуляція транспорту нітрату здійснюється транспортерами родини NRT. Надходження амонію з ксилеми в симпласт листків супроводжується виділенням протонів. В плазмалемі листків існують транспортери NH_3^+ високої і низької спорідненості, окрім того, незаряджені молекули аміаку NH_3 можуть переміщатись простою дифузією за концентраційним градієнтом.

По ксилемі *фосфор* до листків переміщається в мінеральній формі, а завантаження фосфатом контролюється генами PHO1.

Вважається що поглинання *сульфату* із ксилеми і її завантаження цим елементом відбувається за участю транспортеру AtSultr2;1. Завантаження ксилеми магнієм і його транспорт ксилемою досліджені недостатньо, але

вважається, що в цьому процесі бере участь Mg^{2+}/H^{+}-обмінник, локалізований в тонопласті і її паренхімних клітин.

Швидкість провідності *кальцію* через ксилему залежить від величини кореневого тиску, а *калій* переноситься в рослинах на великі відстані в формі K^{+}. Навантаження ксилеми іонами калію здійснюється через калієві канали типу ORK.

Кремній транспортується ксилемою переважно у вигляді монокремнієвої кислоти, але вона є нестійкою і після потрапляння в листя, де інтенсивно випаровується вода, полімеризується з утворенням кремнезему.

Завантаження судин ксилеми мікроелементами здійснюється за допомогою передавальних клітин і є процесом, який контролює надходження поживних речовин в паростки.

Транспортування мікроелементів ксилемою може здійснюватися як в іонній, так і в хелатній формі. В цілому рухливість і форма, в якій мікроелементи транспортуються по ксилемі, багато в чому залежать від значень pH і Eh ксилемного соку (рис. 4.17).

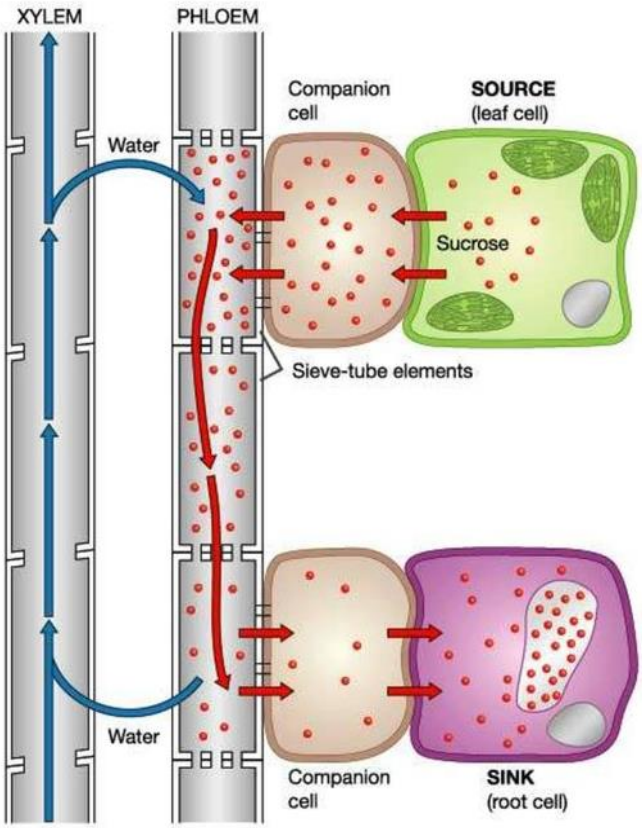


Рис. 4.17. Ксилемно-флоемний транспорт
https://ep3.nuwm.edu.ua/4486/.pdf

Механізми розвантаження ксилеми в паростках також малозрозумілі. Ферум з судин ксилеми може виділятися у вигляді комплексів з нікотианаміном або цитратом, а також у вигляді катіонів феруму.Нікотианамін - металхелатна молекула, повсюдно поширена у вищих рослинах. Проникнення купруму з ксилеми в клітини листя можливе в іонній або нікотианаміновій формі.

Сполуки, що беруть участь в транспорті цинку і надходить в листя ксилемою, до сих пір не вивчені.

У рослинах поглинений селен трансформується в селенат і транспортується ксилемою. Передбачається, що рослини цілеспрямовано направляють сульфат і селенат в сторону верхівкового листя, що росте.

- **Транспорт по флоемі**

Рух речовин по флоемі відбувається у відповідності з градієнтом водного потенціалу. Підвищення концентрації сахарози в порожнині ситовидних елементів викликає приплив води і підвищення внутрішнього тиску (тургору). Цей тиск ініціює масовий потік у флоемі до місць розвантаження сахарози, де внутрішній тиск знижується. Тому транспортування речовин флоемою залежить від інтенсивності експорту з неї сахарози.У листі навантаження флоеми цукрами контролюється калійними каналами і H+-АТФазами.

Флоемний сік відрізняються від ксилемного більш високими значеннями pH (7-8) і в кілька разів більш високими концентраціями органічних і неорганічних сполук.

У флоемному соці дуже високий вміст сахарози, що може складати 90 % вмісту сухої речовини. Окрім цього дисахариду, органічні речовини представлені амінокислотами, органічними кислотами, білками, нуклеотидами, також він містить гормони, вітаміни. Серед елементів мінерального живлення переважає калій, потім фосфор, магній і сульфур.

Сульфур у флоемному соці міститься у редукованій формі (глутатіон > метіонін > цистеїн), так і в сульфатній формі. Вміст останнього залежить від зовнішніх умов, виду рослини, може досягати високих значень. Тоді як кальцію в флоемному соці значно менше, ніж в ксилемному.

Надходження мінеральних елементів з ксилеми в флоему можливе також завдяки наявності передавальних клітин, що мають клітинні стінки з численними, виступаючими в порожнину клітини, виростами, і забезпечують високу швидкість транспортування речовин. У місцях переносу їх плазмалема характеризується високим потенціалом і значною щільністю транспортних білків. Для виконання транспортних функцій передавальні клітини переважно розміщуються на початку і кінці траєкторії руху речовин по симпласту або пов'язані з судинними елементами рослини. Проте ці клітини характерні не для всіх видів рослин.

Найбільшою швидкістю пересування по флоемі відзначаються калій, магній, фосфор, сульфур, натрій, амінокислоти, хлорид; середньою – купрум, ферум, цинк, бор, молібден; малою рухливістю – кальцій, манган.

Транспортні форми *нітрогену* в флоемі можуть бути різними: нітрат, аспарагін, глутамат і глутамін. Азот у вигляді нітрату переміщається за участю транспортерів NRT1.7 і NRT1.9. Якщо раніше вважали, що нітрат рухається виключно по ксилемі, то нині відомо про існування двох шляхів: по ксилемі (першочерговий шлях) і по флоемі (вторинний шлях).

Фосфор по флоемі переміщається як в мінеральній, так і органічній формі (нуклеотиди (АТФ), гексозофосфати), але в основному у вигляді фосфату.

Переміщення цього елемента по флоемі від старого листя і коренів до молодого листя і коренів, здійснюється під контролем білка PHO2 і miR399.

Сульфур у флоемі переміщується у вигляді сульфату та у відновленому вигляді, як глутатіон і S-метилметіонін (рідше). Сульфатний транспорт регулюється кількома транспортерами - SULTR1;3, SULTR2;2 (регулює завантаження флоеми сульфатом).

У транспорті *калію* по флоемі беруть участь Shaker-білки, зокрема. AKT2 і KAT2. Білок AKT2 задіяний в завантаженні і розвантаженні флоеми калієм. У рослині калій здатний інтенсивно рециркулювати - переміщуватися від пагонів до коренів по флоемі, а потім знову потрапляти в пагони по ксилемі, що дозволяє контролювати поглинання цього елемента і його секрецію в провідникові елементи ксилеми.

Крім білка IRT, в транспорті *феруму* по флоемі бере участь нікотианамін. Нікотианамін є основним лігандом для *мангану, купруму, цинку*, який в флоемному соці зв'язується з ними в співвідношенні 1 : 1. Завантаження флоеми комплексами Cu, Zn, Mn з нікотианаміном можливе за участі YSL-білків.

Бор у флоемі представлений борною кислотою чи її аніоном.*Хлорид* характеризується високою рухливістю у флоемі, а також високою інтенсивністю рециклювання між флоемою і ксилемою.

Молекулярні механізми транспорту мікроелементів з флоеми в акцепторні органи вивчені недостатньо, проте відомо, що флоема відіграє важливу роль в перерозподілі деяких мікроелементів між органами рослин.Серед досліджуваних металів (Zn, Mn, Co, Ni, Cd) рухливість у флоемі нікелю найвища, а мангану і кобальту найнижчі. Органічні сполуки сульфуру і селену можуть перерозподілятися від пагонів до коренів по флоемі.

Обмін розчинами між ксилемою і флоемою. Окремі клітини в судинному пучку ксилеми мають вирости стінок, які вистелені плазмалемою і за рахунок цього мають більшу площу поглинання. Вони мають назву перехідних, оскільки забезпечують транспорт речовин в судини і назад. Часто вони межують з судинами ксилеми і ситовидними трубками флоеми та забезпечують їх зв'язок в корені, стеблі, листках та інших частинах рослин.

- **Транспорт всередині клітини**

Нітроген. У тонопласті вакуолей мезофілу листя виявлено два переносники нітрату: CLCa і CLCb (chloride channel), що діють по принципу H^+/NO^--антипортерів та забезпечують переміщення нітрату у вакуолю.

Фосфор за умов достатнього надходження концентрується у вакуолях (85-95 %), куди він потрапляє завдяки H^+-АТФазам, що створюють градієнт протонів, необхідний для його переміщення. Переміщення фосфору через мембрану хлоропластів здійснюється за участю тріозофосфат / фосфат переносника та здійснюється пасивно, шляхом обміну молекули фосфату на молекулу тріозофосфату чи гліцерат-3-фосфату. Експорт фосфату з хлоропластів у цитозоль здійснюється за тим же принципом - транспортерами групи PPT (phosphoenolpyruvate/phosphate translocator).

Сульфур. Запасання сульфату відбувається в вакуолях, куди він переміщається по електрохімічному градієнту, а відновлення - в хлоропластах або інших пластидах. З вакуолі сульфат транспортується транспортером, що локалізується в тонопласті SUKTR4.

Магній. Транспортування Mg^{2+} у вакуолю здійснюється Mg^{2+}/H^{+}-обмінниками (присутні в усіх органах рослини) та вакуолярними каналами, тоді як виведення з вакуолі - лише останніми.

Сигнальна функція *кальцію* безпосередньо обумовлена підтриманням низької концентрації його іонів в цитоплазмі. Гомеостаз Ca^{2+} забезпечується такими транспортними системами: кальцієві канали, Ca^{2+}/H^{+} - антипортери, Ca^{2+}-АТФаза Р-типу.

Мікроелементи в клітинах переміщаються до певних органел завдяки транспортним системам, які розміщуються в їх мембранах.Для нормального росту і розвитку рослин необхідне збалансоване мінеральне живлення. Взаємодія між елементами робить істотний вплив на їх доступність для рослини, зокрема на прояв їх дефіциту. Взаємодія хімічних елементів може бути антагоністичною або синергетичною. Антагонізм проявляється тоді, коли сумарний фізіологічний вплив декількох елементів є слабшим за аналогічний вплив окремо взятого елемента. Про прояв синергії можна сказати, коли спільна фізіологічна дія декількох елементів вища, ніж у кожного окремо.

Конкуренція між елементами мінерального живлення проявляється на етапі їх засвоєння і транспортування. На стадії поглинання можлива конкуренція між іонами уже при їх фізико-хімічній адсорбції клітинними стінками, яка обумовлена наявністю лімітованої кількості сорбційних ділянок та зворотністю переважної більшості сорбційних процесів.

На надходження мікроелементів в рослину і їх накопичення в тканинах рослин сильно впливають важкі метали. Більшість з них (Cd, Pb) не є необхідними, а скоріше токсичними у високих концентраціях. Наприклад, під впливом кадмію значно пригнічується поглинання коренями таких мікроелементів як Fe, Mn, що супроводжується зниженням їх концентрації в тканинах рослин. В цілому фізіологічний прояв взаємодії іонів залежить від багатьох факторів: біологічних особливостей культур, властивостей і концентрації в навколишньому середовищі іонів, а також специфіки органу або органели рослини, де вимірювалася концентрація елементів.

Тема 4.3. Метаболізм азоту у рослин

Ґрунт як середовище проживання більшості наземних рослин займає третє місце за запасами нітрогену після атмосфери і морів, оскільки містить цей елемент в кількості 0,1–0,6 % від сухої маси, а в абсолютній величині $1{,}5 \cdot 10^{11}$ т. В основному нітроген ґрунту міститься в органічних сполуках, а мінеральні форми (амоній і нітрат)зазвичай не перевищують 1–2 % його загального вмісту.

Органічні форми азоту – переважно утворюються в результаті розкладання рослинних і тваринних тканин, а також представлені численними мікроорганізмами ґрунту та продуктами їх перетворення. Органічний ґрунтовий нітроген представлений переважно важко- та негідролізованими

сполуками, що фактично в такому вигляді є недоступними для використання рослинами, тоді як легкогідролізовані сполуки становлять лише ~15 %. Мінералізації найважче піддаються ядра гумінових кислот. Ґрунти з високою біологічною активністю містять різні азотовмісні мономери, що утворилися за мікробіологічного руйнування органічних полімерів, зокрема вільних амінокислот: аспарагінової, серину, треоніну, глутаміну тощо.

Мінеральні форми азоту представлені переважно солями амонію і нітрату.

Нітрат ґрунту взаємодіє з катіонами, що приводить до утворення водорозчинних солей, таких як $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$; $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$; $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$; KNO_3; $NaNO_3$; NH_4NO_3; $Fe(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$; $Fe(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$. У природних водах селітра міститься в розчиненому вигляді. Сорбція нітратів твердою фазою грунту визначається її зарядом. При pH 5,5-8,0 глинисті мінерали заряджаються негативно, а такий заряд активує сорбцію ґрунтом амонію (катіони) та, навпаки, гальмує сорбцію нітратів (аніони).

Амоній, в противагу нітрату, існує лише у водному середовищі:

$$NH_3 + H_2O \leftrightarrow NH_4OH \leftrightarrow NH^+ + OH^-.$$

Цей катіон легко сорбується ґрунтом та рідко переміщається вглиб, що не стосується лише піщаних ґрунтів.

Перетворення сполук азоту ґрунту складається з наступних процесів (рис. 4.18):

- Мінералізації;
- Іммобілізації;
- Денітрифікації;
- Фіксації.

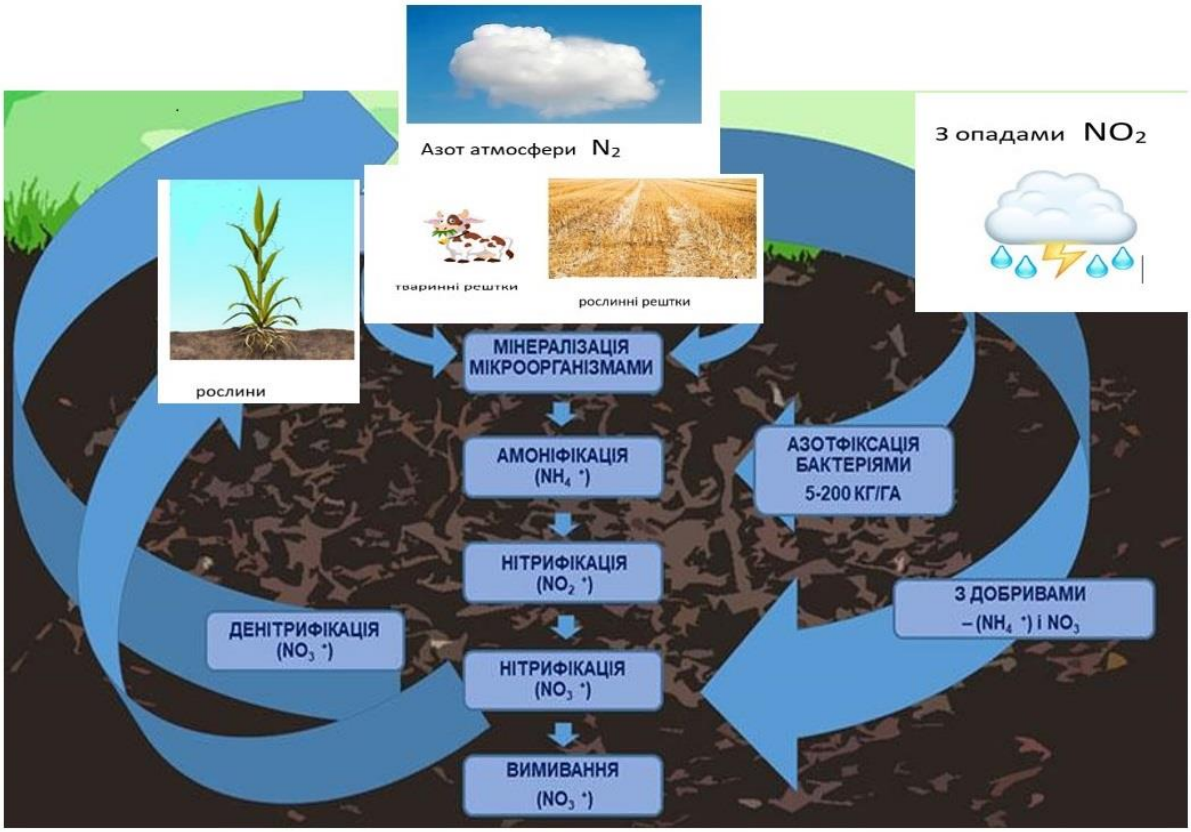


Рис. 4.18. Рух і перетворення азоту
http://himagro.com.ua/vtrati-azotu-pid-kontrolem

Мінералізація є процесом утворення мінеральних сполук з органічних за участю мікроорганізмів ґрунту і включає стадії *амоніфікації* і *нітрифікації*.

Амоніфікація:

$$\text{органічний азот} \rightarrow NH_4^+ + OH^-.$$

Процес амоніфікації забезпечується аеробними і анаеробними бактеріями (*Pseudomonas*, *Achromobacter* і ін.), актиноміцетами, цвілевими грибами (*Penicillium*, *Mucor*). На цей процес впливають ґрунтово-кліматичні фактори, зокрема якісний склад органічних сполук.

Нітрифікація є процесом окиснення з утворенням нітрату із амонію:

$$2NH_4^+ + 3O_2 \rightarrow 2NO_2^- + 4H^+ + 2H_2O$$

$$2NO_2 + O_2 \rightarrow 2NO_3$$

Перший етап нітрифікації відбувається за участю бактерій *Nitrosomonas* і *Nitrosospira*, які є облігатними аеробами, що обумовлює залежність швидкості процесу від аерації ґрунту. Оптимальними умовами для нітрифікуючих бактерій є слаболужне середовище та температура 25-30 ºС –за таких умов інтенсивність процесу може складати 10-20 кг N /га за сезон, проте нітрифікація відбувається і при 0ºС.

Іммобілізація азотних сполук є процесом зворотнім мінералізації та відбувається за участю різних ґрунтових організмів, зокрема гетеротрофних. Вони поглинають амоній і нітрат та включаються в органічні сполуки. Процесу іммобілізації підлягають мінеральні добрива, а саме їх азот у кількості 20-80 %. На інтенсивність цього процесу впливають pH, температура, вологість ґрунту,

співвідношення C/N, мікробіологічна активність, при цьому іммобілізація амонію є більш інтенсивною (до 80-90 %), ніж нітратів (до 45%).

Денітрифікація є процесом відновлення нітрату чи нітриту мікроорганізмами та синтезу продуктів, які не є компонентами клітин останніх. Цей процес включає кілька реакцій відновлення азотистих сполук:

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$

Оскільки в анаеробних умовах нітрат є акцептором електронів, тому денітрифікацію за подібність до аеробного дихання іноді називають нітратним диханням чи дисиміляторною денітрифікацією.

Перший етап денітрифікації (відновлення нітрату до нітриту) здійснюється різними мікроорганізмами, в тому числі еукаріотами: водоростями, грибами, дріжджами. Однак еукаріоти здатні використовувати нітрит в процесі обміну речовин, відновлюючи його до амонію (асиміляторне відновлення нітрату). Денітрифікацію в повному обсязі (з утворенням газоподібних сполук азоту) можуть проводити тільки прокаріоти. Більшість денітрифікаторів є факультативними анаеробами, які в аеробних умовах для отримання енергії використовують кисневе дихання. Денітрифікуючі мікроорганізми використовують нітрат як джерело азоту в процесах його асиміляційного відновлення.

*Відновлення нітрату.*Атмосферний азот безпосередньо не засвоюється вищими рослинами, вони поглинають його з ґрунту переважно у вигляді іонів нітрату або амонію. Засвоєння азоту передбачає відновлення нітрату (NO_3^-) до амонію (NH_4) з подальшим включенням амонію до складу амінокислот:

$$NO_3^{-(2e-)} \quad NO_2^{-(6e-)} \quad NH_4^+ \rightarrow \text{амінокислота}$$

Усього в два етапи нітрат відновлюється до амонію:

1 етап – відновлення нітрату до нітриту (NO_2^-) (реакцію каталізує нітратредуктаза);

2 етап – відновлення нітриту до амонію (реакцію каталізує нітритредуктаза).

Нітратредуктаза - гем- і молібденвмісний флавопротеїн, що каталізує відновлення нітрату (NO_3^-) до нітриту (NO_2^-):

$$NO_3^- + НАД(Ф)Н + H^+ \rightarrow NO_2^- + НАДФ + H_2O$$

Нітратредуктаза має молекулярну масу 200–270 кД. Кожна субодиниця ензиму має 3 простетичні групи: флавінаденіндинуклеотид (ФАД), цитохром b557, молібденовий кофактор, що в процесі каталізу діють послідовно.

У клітинах рослин по локалізації розрізняють цитозольну та плазмалемну нітратредуктазу. Більша частина цього ензиму зосереджена в цитозолі, внаслідок неміцних зв'язків з мембранами. Проте існує ензим, що зв'язаний з ламелярними структурами і стромою хлоропластів. Відновлені кофактори нітратредуктази в фотосинтезуючих клітинах утворюються в реакціях фотосинтезу або дихання.

Плазмалемна нітратредуктаза, що зв'язана з мембраною за допомогою молекули глікозилфосфатидінозитолу, типова оксидоредуктаза, що забезпечує перебіг кількох окисно-відновних реакцій. Цей ензим по структурі і функціях подібний цитозольній нітратредуктазі, проте в коренях вона додатково

каталізує перенесення електронів від сукцинату на нітрат з утворенням фумарату і нітриту.

Впродовж доби асиміляція нітрату коренями здійснюється в два етапи: вночі нітрат відновлюється апопластною нітратредуктазою (використовуються сукцинатні електрони); вдень – цитозольною нітратредуктазою (використовується НАДН).

Нітритредуктаза – ензим молекулярною масою 60–63 кД з простетичними групами, представленими нековалентно зв'язаним гемом і залізо-сірчаним кластером $[4Fe–4S]^+$. Цей ензим у рослинах, водоростях, ціанобактеріях бере участь у відновленні нітриту до аміаку:

$$NO_2^- + 6Фд_{відн.} + 8H^+ \rightarrow NH_4^+ + 6Фд_{окисл.} + 2H_2O$$

(Фд – фередоксин)

Відновлений фередоксин в зеленому листі утворюється ФС I, в нефотосинтетичних тканинах (коренях) - відновлюється НАДФ. Відновлення нітриту до амонію енерговитратна реакція, що використовує ~75% енергії відновлення, яка потрібна для всього процесу вцілому. Нітритредуктаза у фотосинтезуючих еукаріотів розміщена в стромі хлоропластів, а в коренях - у пластидах.

Асиміляція амонію. Амоній є кінцевою відновленою мінеральною формою азоту, яку здатні засвоювати рослини. Він синтезується в усіх органах і тканинах рослин у різних катаболічних і анаболічних процесах, окрім того коріння рослин поглинає його безпосередньо з ґрунту. Крім того, в коренях амоній утворюється під час відновлення нітрату та за рахунок фіксації азоту в бульбах. Виділення амонію є наслідком його реасиміляції, яка відбувається в тканинах старих вегетативних і репродуктивних органів, а вихідними речовинами є транспортні форми азоту, включаючи білки та інші азотовмісні метаболіти. У вищих рослинах включення амонію до складу органічних сполук відбувається за участю глутамінсинтетази і глутаматсинтази.

Фактори, що впливають на концентрацію амінокислот. Відновлення нітрогену та його включення до складу амінокислот є другим по енерговитратності процесом, що відбувається в хлоропластах (після засвоєння CO_2), проте ці процеси не є конкурентними стосовно відновлювальних еквівалентів. Разом з тим, достатнє надходження азоту стимулює ріст рослин та фотоасиміляцію вуглекислого газу. Таким чином, визначальними факторами, які мають вплив на вміст амінокислот в рослинних тканинах, є вміст азоту і освітленість.

Біологічна фіксація атмосферного азоту

Біологічні системи фіксації азоту

Фіксація азоту властива лише прокаріотам - бактеріям і ціанобактеріям. Вцілому цей процес базується на відновленні N_2 до амонію. В результаті інертний азот повітря перетворюється в форму, яка доступна рослині. Механізм цього процесу в азотфіксуючих мікроорганізмів майже однаковий. Азотфіксуючі організми щорічно забезпечують наземні екосистеми приблизно

100 млн тонами азоту, при цьому в наземних екосистемах реалізується три стратегії фіксації атмосферного азоту (рис. 4.19).

Рис. 4.19. Стратегії фіксації атмосферного азоту

Симбіоз (*Rhizobium*, *Actinomycetes*): джерело енергії - сахароза і її метаболіти із рослини-господаря; масштаби фіксаціїазоту –бобові 50-400 (кгN/га), бульбочкові небобові 20-300 (кгN/га).

Асоціація (*Azospirillum*, *Azotobacter*): джерело енергії - кореневі ексудати із із рослини-господаря; масштаби фіксаціїазоту – 10-400 (кгN/га).

Вільноживучі мікроорганізми (*Azotobacter*, *Klebsiella*, *Rhodospirillum*): джерело енергії – рослинні залишки у гетеротрофів, продукти фотосинтезу у автотрофів; масштаби фіксаціїазоту - гетеротрофи (1-2 кгN/га), автотрофи 10-80 (кгN/га).

Симбіотичні системи

Мають найвищий потенціал фіксації атмосферного азоту та поділяються на два типи: симбіоз бульбочкових бактерій з бобовими та небобовими рослинами; симбіоз ціанобактерій з вищими і нижчими рослинами, а також з грибами і водоростями.

В утворенні бульбочок (рис. 4.20) беруть участь бактерії р. *Rhizobium*(симбіоз з бобовими рослинами) і актиноміцети р. *Frankia* (симбіоз з небобовими). Проникнення бульбочкових бактерій відбувається через кореневі волоски (конюшина), в місцях виходу бічних коренів з головного кореня через структурно змінені клітинні стінки клітин кори (арахіс) або через основу стебла (*Sesbania rostrata*).

Рис. 4.20. Симбіотична система фіксації атмосферного азоту (бульбочки)

*Симбіоз с ризобіями.*Ризобії – грамнегативні мікроорганізми, протеобактерії, що утворюють симбіоз з бобовими рослинами (*Fabaceae*) трьох підродин: *Caesalpinioideae, Mimosoideae, Papilionoideae*. Більшість культурних видів рослин бобових відносяться до підродини *Papilionidae*. З небобових рослин відомий тільки один вид дикорослих рослин (*Parasponia* sp.), за допомогою яких ризобія може утворювати симбіоз і забезпечувати фіксацію атмосферного азоту.

Вибірковість ризобії у виборі рослини-господаря залежить, з одного боку, від складу кореневих ексудатів, наявності специфічних флавоноїдів, з іншого - від структури Nod-фактора (сигнальної молекули, що виробляється ризобіями). Вибірковість ризобій до рослини-господаря виявляється не лише під час зараження, але і під час фіксації атмосферного азоту.

Бактерія при контакті з кінчиком кореневої волосини обумовлює скручування, що призводить до деградації клітинної стінки в місці деформації та утворення випину плазмалеми, яка містить бактерії. Тобто процес проникнення бактерій не є наслідком їх активності, а наслідком захоплення їх кореневими волосками з утворенням інфекційної нитки та закладкою бульбочкового примордію. Дистальні ділянки інфекційної нитки перетворюється в інфекційні краплі (не мають клітинної стінки) і мембранні везикули, що містять бактерії. Одна чи кілька бактеріальних клітин, оточених перибактероїдною мембраною, мають назву симбіосома (рис. 4.21). Симбіосома є своєрідною органелою, яка відповідає за забезпечення рослини азотом.

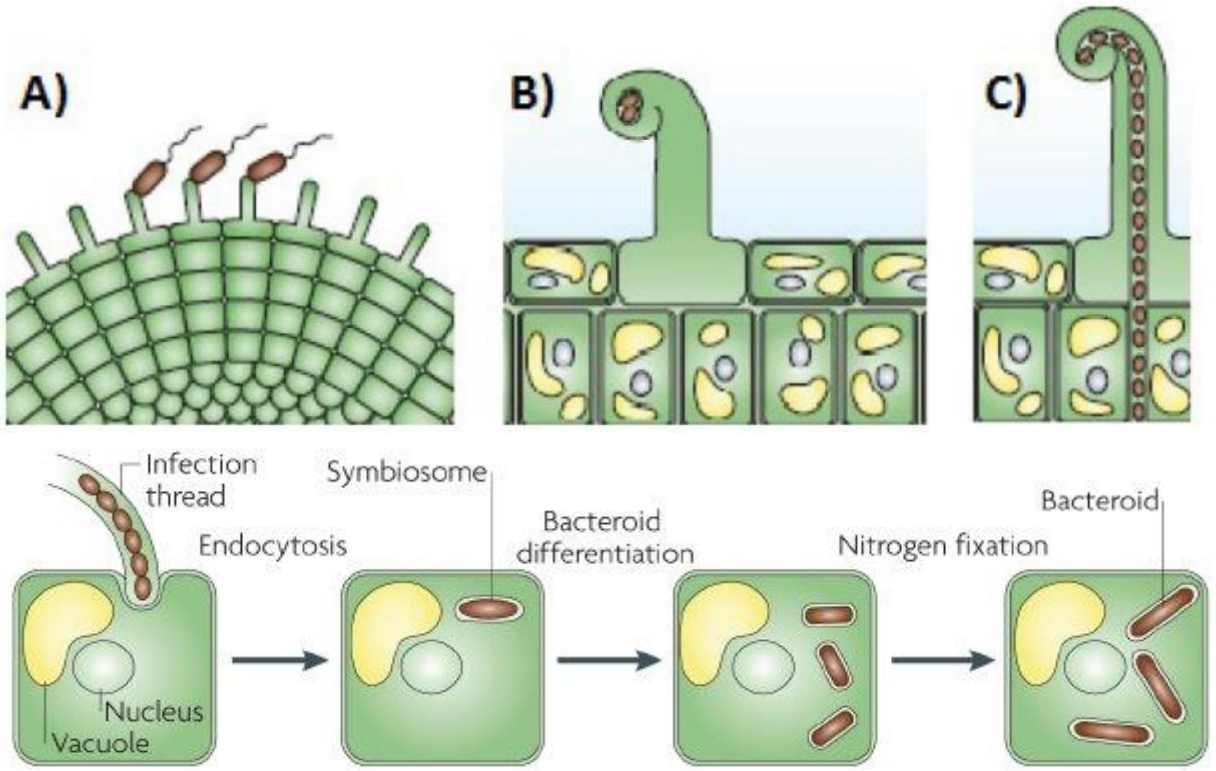


Рис. 4.21. Етапи ризобіально-бобового симбіозу. A) з'єднання ризобій з кореневим волоском; B) початок утворення інфекційної нитки; C) проникнення нитки інфекції; D) утворення симбіосоми і бактеріоїдів. https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/8226/1/uy24-17759.pdf

Вийшовши із інфекційної нитки ризобії деякий час зберігають свої розміри і паличкоподібну форму, а потім трансформуються в особливі форми – бактероїди, які більші за розміром, мають різноманітні форми і не здатні ділитись. При формуванні бульбочок тканини рослини набувають характерного вигляду, у них відбувається синтез леггемоглобіну (обумовлює рожевий колір бульбочок на зрізі) і специфічних ензимів обміну азоту (нітрогеназа) та вуглеводів.

Вцілому розрізняють 2 *типибульбочок* - *недетерміновані* і *детерміновані*. *Недетерміновані* бульбочки мають витягнуту форму та постійно функціонуючу меристему і притаманні еволюційно розвиненим бобовим (конюшина, люцерна, горох). Вони мають гістологічну зональність: за апікальною меристемою знаходиться зона інфікування; зона бактероїдів, що активно фіксують азот; зона старіння (в базальній частині).

Детерміновані бульбочки зустрічаються в сої, квасолі. Вони мають округлу форму, меристеми відсутні. Тривалість функціонування бульбочок обчислюється декількома тижнями, після чого вони відмирають та на молодих частинах коренів змінюються новими. Недетерміновані вузлики розвиваються під більш жорстким контролем господаря, ніж детерміновані вузлики.

Симбіоз з актиноміцетами. Актиноміцети є грампозитивними бактеріями *Frankiaceae*, перший штам яких виділений в 1978 році з бульбочок рослин

Comptonia peregrina. Актиноміцети мають міцеліальну структуру, слабкий ріст та здатні утворювати спори (репродуктивна функція) і везикули (фіксація атмосферного азоту). На даний час відомо більше 200 видів рослини з 8 родин (*Casuarinaceae, Coriariaceae, Elegnaceaceae, Datisticaceae, Myricaceae, Betulaceae, Rhamnaceae, Rosaceae*).

Інфікування рослин актиноміцетами відбувається двома способами: внутрішньоклітинне інфікування кореневих волосків і міжклітинна інвазія в корінь. Перший вид інфікування подібний до такого ризобіями. Після інвагінації зростаючої нитки *Frankia* в кореневому волоску зараження відбувається в клітинах кори кореня: гіфи актиноміцетів інкапсулюються клітинними стінками рослини-господаря. У безпосередній близькості до кореневого волоска поділ клітин слабкий, що приводить до утворення маленьких бульбочок. Актиноміцетні бульбочки схожі по будові на корінь: в центрі провідні пучки, по периферії - азотфіксуюча тканина.

Симбіоз з ціанобактеріями. Ціанобактерії є грамнегативними прокаріотами з фотосинтетичною функцією. З вищими рослинами здатні утворювати асоціації лише ціанобактерії родів *Nostoc* і *Anabaena*. В умовах дефіциту азоту представники цих родів здатні утворювати гетероцисти (спеціалізовані клітини, що беруть участь у зв'язуванні атмосферного азоту). Асоціації з ціанобактеріями можуть утворювати бріофіти, гриби, водорості, деякі папороті та багато морських еукаріотів.

Асоціативна стратегія фіксації азоту

Згідно цієї стратегії фіксації азоту бактерії задіяні в його зв'язуванні, проте не мають симбіотичних відносин із рослинами. Залежно від ступеня зв'язку з рослиною бактерії поділяються на дві групи: ризосферні (населяють ризосферу) і ендофітні (населяють внутрішні тканини рослин). До ґрунтових ризосферних бактерій належать: *Azospirillum, Azotobacter, Alcaligenes, Bacillus, Beijerinckia, Campylobacter, Derxia* та ін.

До ендофітних бактерій належать *Azoarcus, Buckholderia, Herbaspirillum, Gluconacetobacter*. Ці бактерії виявляються в тканинах рослини, проте не завдають їй шкоди. Зараження цими бактеріями здійснюється в місцях прикріплення кореневих волосків і подібне до зараження ризосферними бактеріями. Межа між ендофітами і ризосферними бактеріями не настільки очевидна, а основною відмінністю є те, що перші не можуть існувати в ґрунті.

Стратегія фіксації азоту за участю вільноживучих мікроорганізмів

Азотфіксуючі організми цієї групи повсюдно поширені в ґрунті. До них належать анаероби (*Clostridium pasteurianum*), факультативні анаероби (*Klebsiella*) і аероби (*Azotobacter, Azospirillum*). Внесок цих гетеротрофних мікроорганізмів у забезпечення ґрунту азотом є незначним, що обумовлено обмеженістю органічних форм вуглецю, проте може суттєво зростати при їх додаванні в грунт, особливо тих, що мають високе співвідношення C/N (солома злаків). Ціанобактерії, що мешкають на поверхні грунту або на мілководді, здатні до фотосинтезу, а тому набагато інтенсивніше фіксують азот, порівняно з нефотосинтезуючими мікроорганізмами.

Фактори, що впливають на фіксацію азоту

- *Забезпечення фотосинтатами*.
- *Рівень ґрунтового азоту*: збільшення швидкості фіксації атмосферного азоту відбувається в діапазоні помірних концентрацій азоту в ґрунті, при цьому зниження відбувається в діапазоні високих концентрацій. У високих концентраціях нітрат є сильнішим інгібітором нітрогенази порівняно з амонієм.
- *Кисла реакція середовища.*
- *Дефіцит кальцію, фосфору, феруму, молібдену і кобальту.*

Тема 4.4. Гетеротрофне та симбіотичне живлення рослин

Симбіоз– тісне співіснування двох різних видів організмів, з яких обидва отримують хоча б тимчасові вигоди. Симбіоз, таким чином, відрізняється від коменсалізму (вигода партнеру без помітного впливу на іншого) і паразитизму (користь одному через пригнічення іншого). Симбіотичне співіснування виникло від взаємного паразитизму (алелопаразитизму), в якому був баланс між партнерами, зокрема стосовно ураження та захисту, і тепер обидва організми взаємно відбирають поживні речовини і гормони. Якщо один з партнерів стане домінуючим під час симбіозу, цей баланс може зникнути і знову перетворитися в паразитизм, як при перетравленні бульбочкових бактерій клітинами-господарями.

До найбільш поширених симбіозів належить:

- азотфіксуючий симбіоз (р. 4.3);
- мікориза;
- лишайники.

Мікоризи - асоціації між біотрофними мікоризними грибами і корінням вищих рослинЗалежно від локалізації мікоризного гриба в коренях рослин мікоризи діляться на дві великі групи: *ендомікоризи* і *ектомікоризи*.

Лишайники є організмами, які утворилися завдяки симбіозу грибів з водоростями чи ціанобактеріями. При цьому основою їх тіла є гриб, а клітини водоростей знаходяться всередині. Останні за рахунок фотосинтетичних властивостей забезпечують надходження поживних речовин, а гриб забезпечує захист від несприятливих зовнішніх факторів.

Крім вище названих симбіозів виявлено безліч інших живих спільнот симбіотичного характеру. Ендосимбіоз характеризується тим, що один з партнерів повністю або частково проникає в клітини іншого. При цьому проникаюча структура залишається оточеною мембраною господаря, яка відходить від плазмалеми і називається симбіосомальною мембраною. Вона важлива для обміну речовин між обома партнерами та забезпечує послаблення захисних реакцій господаря проти «іммігранта». Паразитичні фітопатогенні гриби (наприклад, облігатний біотрофний ооміцет *Reronosroga* або гриб борошнистої роси *Erysiphe graminis*) потрапляють в клітини-хазяїни спеціалізованими гіфами, які називаються гаусторією, а гаусторія також оточена мембраною клітини-господаря, яка має всі ознаки симбіосомальної

мембрани. Тут теж добре видно тісні структурні та функціональні зв'язки між паразитизмом і симбіозом.

Гетеротрофне живлення.

На відміну від автотрофних організмів, які метаболізують неорганічні поживні речовини, *гетеротрофи* живляться органічними речовинами. Якщо переважно автотрофному організму для зростання потрібні окремі прості органічні сполуки, говорять про *міксотрофії, або прототрофії.* Мутантів, які втратили здатність утворювати окрему органічну речовину, необхідну для росту (наприклад, амінокислоти, кофактор), позначаються як *ауксотрофи:* вони повинні отримувати таку речовину ззовні.

Серед гетеротрофів *виділяють сапрофіти*, які беруть органічну їжу з мертвого субстрату, і *паразитів*, які використовують живі організми або клітини.

Сапрофіти– це більшість бактерій і грибів. Слід зазначити, що вони не існують серед вищих рослин. Вимоги сапрофітів до живильного субстрату сильно відрізняються. Поряд з неорганічними речовинами їм необхідно джерело вуглецю, яким можуть бути не тільки вуглеводи, жири або білки, а й спирти, органічні кислоти тощо.

Часто сапрофіти виділяють екзоферменти, які поза клітиною розкладають високомолекулярні субстрати (наприклад, лігнін, целюлозу, білки) до продуктів, придатних для абсорбції. Потім поглинений органічний матеріал включається в нормальний (катаболічний або анаболічний) обмін речовин. Багато сапрофітів не потребують органічно зв’язаного азоту.

Паразити зустрічаються серед бактерій, грибів, лишайників і насінних рослин. Деякі гетеротрофні червоні водорості паразитують на близькоспоріднених представниках багрянок *(адельфопаразитизм).* Організми, які харчуються в природі як сапрофітно, так і паразитично, називаються факультативними паразитами, ті, які в природі постійно потребують живих організмів як господарів, називаються облігатними паразитами.

Лабораторна робота № 9

Мокре озолення рослинного матеріалу

Принцип методу. Наважку висушеної рослинної тканиниозолюють концентрованою сірчаною кислотою і пероксидом водню, після чого визначають вміст макроелементів в пробі.

Реактиви і обладнання: Колба конічна, плитка електрична, ваги.

Реактиви. Концентрована H_2SO_4,30% пероксид водню

Хід роботи

1. Сухий рослинний матеріал зважити в кількості 200 mgі перенести в конічну колбу із жароміцного скла ємністю 100 ml і залити 10 ml конц. H_2SO_4. Колбу помістити у витяжку і по краплях долити 3-5 мл 30 % пероксиду водню. Наважка матеріалу повністю розчиняється, а вміст знебарвлюється (іноді може мати легке забарвлення).

2. Включити електричну плитку і нагріти на ній колбу з рідиною до потемніння і виділення білих парів. Зняти колбу з плитки, охолодити і знову додати пероксиду водню (доки рідина не знебарвиться, приблизно 5-8 крапель) і повторно нагріти на плитці до потемніння розчину. Повторюють процедуру доти, доки рідина не потемніє і не почнуть виділятися білі пари, що є ознакою завершення озолення.

3. Після охолодження перенести рідину в мірну колбу V 250 мл, промивши кілька разів посуд, в якому проводили озолення, дист.H_2O, і довести об'єм до мітки.

Визначення азоту

Реактиви і обладнання: Колби конічні 100 ml, 1000 ml; ФЕК, кювети, піпетки скляні, мірні циліндри, ваги.

Реактив: порошок NH4Cl, 2,5 % розчин NaOH,реактив Несслера, дистильована вода.

4. Відміряти в колбу V 100 ml отриманий розчин (2 ml) і для нейтралізації сульфатної кислоти в цю колбу додати 2,5 % NaOH (~1-2 мл). Долити у колбу дистильованої води приблизно 80 мл, струсити, додати 4 мл реактиву Несслера, довести об'єм до мітки і знову перемішати. Визначення азоту проводиться на фотоелектроколориметрі за довжини хвилі 440-490 нм.

5. В цей же час готується модельна шкала. Приготувати робочий розчин: 0,3820г NH_4Cl залити невеликою кількістю дист.H_2O, розчинити і довести до 1л; щоб отримати концентрацію р-ну 0,01 mg N у 1 ml попередньо отриманий розчин розводять в 10 разів (це і є робочий розчин). З робочого розчину взяти 2, 5, 10, 15, 20 мл в колби V 100 ml, додати по 60 ml дист.H_2O і по 4 мл реактиву Несслера, після чого вміст довести до позначки дист.H_2O і перемішати. Залишити настоюватися на 2-3 хвилини. Зрівняти колір. Розведення вказаних розчинів водою не допускається, тому в разі великої різниці в кольорі слід приготувати розчини інших (більших чи менших) концентрацій.

Таблиця 4.1

Шкаларозведень робочого розчину

Робочийрозчин,мл	2	5	10	15	20
КонцентраціяN,мг/100мл	0,02	0,05	0,1	0,15	0,2
Показник ФЕК					

6. Вміст загального азоту розрахувати по формулі:

$$N\ (мг/100\ г) = \frac{a \times Dx \times V \times 100}{D_{ET} \times V_1 \times n}$$

$$N\% = N(мгна100г) / 1000$$

де а – концентрація розведеного робочого розчину (мг/100 мл), оптична щільність якого близька до аналогічного показника дослідного розчину; D_x – оптична щільність дослідного розчину; $D_{ет}$ – оптична щільність відповідного стандартного розчину; V – загальний об'єм витяжки, мл; V_1 – об'єм витяжки,

взятий надослідження із врахуванням розведення, мл; n – наважка рослинного матеріалувг; 100– дляперерахункуна100 гречовини.

Визначення кальцію

Прилади і матеріали: Ваги, колби конічні, бюретка, піпетки скляні, мірні циліндри.

Реактив: 2,5 % розчин сульфіду натрію $Na_2S \cdot 9H_2O$, солянокислий розчин гідроксиламіну$NH_2OH \cdot HCl$ (5% водний розчин), 10 % розчин КОН, мурексид з хлористим натрієм 1:1, 0,01 н розчин ЕДТА, дистильована вода.

Принцип методу. Метод заснований на здатності кальцію утворювати з індикатором мурексидом комплексну сполуку рожевого забарвлення. Отриманий комплекс титрується розчином ЕДТА (етилендіамінтетраоцтової кислота) до зміни забарвлення з рожевого на фіолетовий.

(Са + індикатор) + ЕДТА = (Са + ЕДТА) + індикатор + 2Н

Зміна забарвлення при титруванні трилоном відбувається в інтервалі pH від 9,6 до 11,6. Для створення сильнолужного середовища до розчину додається луг – КОН або NaOH. Присутність у розчині невеликої кількості аміаку, купруму, мангану, феруму заважає проведенню даного аналізу. Негативну роль може при цьому відіграти надлишок магнію, який випадає в осад у вигляді $Mg(OH)_2$ і заважає нормальному титруванню. Тому при аналізі робиться велике розведення розчину.

Для усунення шкідливого впливу купруму до аналізованого розчину додають сульфід натрію, щоб перевести купрум у нерозчинний купруму сульфід. Для запобігання негативної дії мангану, який у лужному середовищі може випадати в осад і знебарвлювати розчин, до розчину, що випробовується, слід додати розчин гідроксиламіну. Шкідлива дія феруму на перебіг реакції усувається як додаванням гідроксиламіну, так і великим розведенням аналізованого розчину. Сульфід натрію можна замінити сірководнем (додають одну краплю розчину H_2S).

7. Після озолення рослинного матеріалу з колби із розчином перенести піпеткою 5 мл в колбу об’ємом 200 мл. Налити циліндром 100 мл дистильованої води, збовтати. Додати 3 краплі 2,5 %-ного розчину сульфіду натрію $Na_2S \cdot 9H_2O$ (розчин повинен бути свіжоприготовленим). Додати 8 крапель солянокислого розчину гідроксиламіну. Прилити 3 мл 10 % розчину КОН (pH аналізованого розчину має бути близько 12). На кінчику скальпеля внести суміш мурексиду з хлористим натрієм (0,02 – 0,03 г). Повільно, при безперервному збовтуванні, титрувати аналізований розчин розчином ЕДТА з мікробюретки, доки розчин не стане фіолетовим.

$$\mathbf{Ca\ (\%) = (V \times c \times p \times 100 \times 0{,}02)/n}$$

де V – кількість ЭДТА, що пішла на титрування, $см^3$;

с –концентрація розчину ЭДТА, ммоль/ $см^3$;

р – розведення (250/5);

0,02 –молярнамаса;

n–наважкарослинного матеріалу,г.

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Фізіологічне значення кальцію в житті рослин.
2. Які мінеральні елементи належать до макроелементів?

Лабораторна робота № 10

Вплив мінеральних елементів на процеси життєдіяльності рослини

Принцип методу: при вирощуванні рослин в водних розчинах, що містять різний склад мінеральних солей, проводять спостереження за розвитком пагонів та порівнюють їх з контролем, який складається з усіх потрібних складників у оптимальній кількості.

Мета роботи: дослідити вплив окремих мінеральних елементів на процеси життєдіяльності рослин.

Прилади і матеріали: Ваги лабораторні, скляні стакани (банки) V 1000 ml, фольга або листи темного паперу, рослинні пагони, індикатор універсальний.

Реактиви: солі х.ч. кальцію нітрат, кальцію сульфат, калію сульфат, магнію сульфат, дигідрофосфат калію (KH_2PO_4), феруму (II) хлорид;кислота борна,слабкі розчини HCl і NaOH,

Хід роботи

1. Для проведення досліду слід підготувати посуд, оптимальний для проведення спостереження. З цією метою можна використати хімічні стаканчики або скляні банки V 1000 ml, отвори яких накривають кришками, в яких зроблено 3-4 отвори.

2. Для запобіганню проникненню світла посуд слід обгорнути світлонепроникним матеріалом (темний папір, фольга) в кілька шарів. Посудини пронумерувати - контроль, № 1, № 2, № 3. Готують чотири розчини згідно з прописом, наведеним в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2.

Приготування контрольного і дослідних розчинів

Реактив, г/л	Варіант досліду			
	контроль	вилучений		
		нітроген	фосфор	магній
$Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$	2,5	-	2,5	2,5
$CaSO_4 \times 2H_2O$	-	1,8	-	-
KH_2PO_4	0,6	0,6	-	0,6
K_2SO_4	-	-	0,4	0,4
$MgSO_4 \times 7H_2O$	0,5	0,5	0,5	-
Розчин $FeCl_2$ 2 %	5	5	5	5

3. В кожному з трьох дослідних розчинів виключений один з елементів, а

саме: № 1 – нітроген, № 2 – фосфор, № 3 – магній. Відважити компоненти у вказаній кількості та розвести у дистильованій воді, довівши об'єм до 1000 мл, та кількісно перенести у попередньо підготовлені ємності.

4. Універсальним індикатором визначають pH та додаванням слабких розчинів HCl або NaOH корегують показник до оптимального (6-7).

5. В отвори поміщають рослини одного розміру і забарвлення, проводять систематичний догляд і спостереження за ними (4-5 тижнів). Догляд потребує підтримання рівня води,додавання розчину$H_2O_2$3-4краплі та контролю і корегування pH середовища (один раз в тиждень).

6. Результати спостереження записати до таблиці 4.3.

Таблиця 4.3.

Результати спостереження (дата)

Варіант досліду	Висота пагона, см	Кількість листків, шт.	Загальна площа листків, $см^2$	Довжина кореня, см	Маса пагона, г
Контроль					
Відсутній N					
Відсутній P					
Відсутній Mg					

7. Проаналізувати результати та зробити відповідні **висновки** про значення кожного з вилучених елементів.

Запитання і завдання для самоконтролю:

3. Як проявляється дефіцит нітрогену, фосфору, магнію у рослин?
4. Яке фізіологічне значення фосфору для рослин?

Лабораторна робота № 11

Дослідження впливу різного складу солей на процес поглинання катіонів та аніонів

Принцип методу: під час поглинання катіони та аніони здатні обмінюватись на іони, які знаходяться зовні на клітинах коренів. Таким чином катіони K^+, Ca^{2+}, Na^+ обмінюються на протони, а аніони NO_3^-, PO_4^{3-} на HCO_3^-.

При поглинанні катіонів відбувається підкислення середовища через надходження протонів, які виходять з клітин, тому ці солі мають назву фізіологічно кислих. При поглинанні аніонів виділяється HCO_3^-, що обумовлює зміщення pH в лужний бік, а такі солі мають назву фізіологічно лужних. Якщо швидкість поглинання катіонів і аніонів однакова – pH залишається незмінним (фізіологічно нейтральні солі).

Мета роботи: дослідити як впливає різний склад солей на асиміляцію катіонів та аніонів.

Прилади і матеріали: рослинні пагони (традесканція), стаканчики

фарфорові V 50 ml, індикаторні папірці або pH-метр, мірні піпетки.

Реактиви: 0,02 % розчин $NaNO_3$, 0,02 % розчин NH_4Cl.

Хід роботи

1. Пронумерувати 3 фарфорові стаканчики V 50 ml. В стакан № 1 внести 0,02 % розчин натрію нітрату (50 мл), в № 2 – 0,02 % розчин амонію хлориду (50 мл), в № 3 (контроль) – воду (50 мл). Виміряти та записами pH розчинів на початку досліду, після чого помістити в них пагони рослини і поставити у добре освітлене місце. Через 7 діб повторити вимірювання та порівняти його значення з тими, що були на початку.

2. Зробити та записати відповідні **висновки.**

Таблиця 4.4.

Результати спостереження

Назва рослини	Розчин	pH		Висновок
		початокдослі ду	7доба	
	$NaNO_3$			
	$(NH_4)Cl$			
	H_2O			

Висновки:

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Яке середовище називають нейтральним, кислим, лужним?
2. Чи впливає pH ґрунту на рухливість іонів?

Лабораторна робота № 12

Визначення мікрохімічних показників золи

Принцип методу: під час спалювання рослинного матеріалу утворюється зола, яка містить мінеральні елементи.

Мета роботи: визначити якісні мікрохімічні показники золи.

Прилади і матеріали: зола з рослинного матеріалу, пробірки лабораторні, предметні скельця, палички скляні, піпетки, мікроскоп, фільтрувальний папір.

Реактиви: 10 % р-н аміаку, 10 % р-н арґентуму нітрату, 10 % р-н хлоридної кислоти (HCl), 1% р-н сульфатної кислоти, 1% р-н динатрію гідрофосфату (Na_2HPO_4), 1% р-н амонію молібдату $(NH_4)_2MoO_4$, 1% р-н азотної кислоти, 1% р-н гексаціаноферату (II) калію (жовта кров'яна сіль).

Хід роботи

1. Із золи приготувати водну та кислотну витяжку. У пробірки помістити рослинну золу, у пробірку № 1 додати води, № 2 – 10 % розчину хлоридної кислоти у співвідношенні 1:4. Після розмішування впродовж 5-8 хв відфільтрувати витяжки у інші пробірки.

Виявлення хлоридів у золі

2. У пробірку внести кілька крапель водної витяжки золи і додати кілька

крапель 10 % розчину арґентуму нітрату. Присутність у золі іонів хлору призводить до утворення білого осаду.

Виявлення у кислотній витяжці золи іонів кальцію,магнію, фосфору, феруму.

3. Для проведення якісних реакцій на макроелементи на предметне скло скляною паличкою нанести краплю кислотної витяжки золи та на відстані кількох міліметрів краплю реактиву, який потрібний для виявлення конкретного елемента. Провести паличкою від краплі витяжки до краплі реактиву, що обумовить швидку кристалізацію продукту реакції по краях утвореного каналу. Під мікроскопом уважно роздивитися утворені кристали та змалювати їх.

а) Для *виявлення іонів кальцію* використати 1 % розчин сульфатної кислоти.

$$CaC1_2 + H_2SO_4 \rightarrow CaSO_4 + 2HCl$$

При утворенні гіпсу (продукт реакції) можна спостерігати утворення кристаликів голчастої форми.

Малюнок кристаликів

б) Для *виявлення іонів магнію* провести нейтралізацію витяжки золи розчином NH_3, як реактив використати 1% розчин динатрію гідрофосфату.

$$MgCl_2 + Na_2HPO_4 + NH_3 \rightarrow NH_4MgPO_4 + 2\ NaCl$$

На присутність іонів Mg вказує наявність кристаликів NH_4MgPO_4, що мають вигляд зірок чи чотирикутників.

Малюнок кристаликів.

в) Для *виявлення іонів Р* як реактив використати 1% розчин молібдату амонію в нітратній кислоті.

$$H_3PO_4 + 12(NH_4)2MoO_4 + 21HNO_3 \rightarrow (NH_4)PO_4 \cdot 12MoO_3 + 21NH_4NO_3 + 12H_2O$$

На присутність іонів Р вказує наявність кристаликів жовто-зеленуватого кольору $(NH_4)PO_4 \cdot 12MoO_3$, що мають круглу, овальну, квадратну чи ромбовидну форми.

Малюнок кристаликів

г) Для *виявлення іонів Fe* використовують в якості реактиву 1 % розчин гексаціаноферату (II) калію

$$4\ FeCl_3 + 3K_4[Fe(CN)_6] \rightarrow 3Fe_4[Fe(CN)_6] + 12KC1$$

За умови присутності у кислотній витяжці іонів феруму спостерігається утворення берлінської лазурі, що має синій колір.

Малюнок кристаликів

Висновок.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Як проявляється дефіцит Fe в організмі рослини?
2. Які існують методи озолення рослинного матеріалу?

Лабораторна робота № 13

Антагоністична дія іонів на процеси росту й розвитку рослин

Антагонізм це конкуренція однойменно заряджених іонів в процесі поглинання їх рослиною. Це явище характерне як для йонів рівних валентностей, так і для відмінних по величині. Найбільш виражений антагонізм виявлений між І- і ІІ-валентними катіонами, до прикладу K^+ та Ca^{2+}. Явище антагонізму обумовлене суперництвом іонів за ділянки зв'язування на плазматичній мембрані, приєднанням до переносників і активних центрів ензимів та різнонаправленим впливом на ступінь гідратації білкових молекул, характеристики цитоплазми і т.п. Моносолі в чистому вигляді чинять шкідливу дію на рослини, а в комплексі, за оптимального поєднання, навпаки, стимулюють їх ріст і розвиток.

Мета роботи. Оцінити комплексну та індивідуальну дію іонів K^+ та Ca^{2+} на життєдіяльність проростків рослин.

Реактиви і матеріали. Злакові проростки; KCl 0,9 % р-н, $CaCl_2$ 0,67 % р-н (для приготування використовуються х.ч. солі і бідистильовану H_2O); ємності об'ємом 250-500 ml, лінійка.

Хід роботи

1. Із злакових проростків відібрати 30 екземплярів, максимально наближених по розміру, та промити їх кілька разів бідистилятом.

2. Три ємності обгорнути щільним папером та зверху нанести номери.

3. В ємності внести приготовані розчини солей: № 1 – р-н хлориду кальцію (200 ml), № 2 – р-н калію хлориду (200 ml), № 3 – обидва попередні розчини по 100 ml кожного.

4. У кожну ємність посадити 10 злакових проростки і розмістити на світлі.

5. Через 7 діб виміряти, яка довжина стебла і коренів, порахувати середнє арифметичне з 10 показників та записати до таблиці 4.5.

Таблиця 4.5.

Величина морфометричних показників проростків за дії іонів K^+ та Ca^{2+}

Дослідний розчин	Морфометричні показники, см	
	Стебло	Корені
Калію хлорид		
Кальцію хлорид		
Суміш		

6. Проаналізуйте результати вимірювань та запишіть ***висновки***, порівнюючи дію моносолей і їх суміші.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Перерахуйте ті органи рослини, які мають найвищу чутливість до зміни складу йонів в поживному середовищі

2. Чи можливо зменшити прояви антогонізму іонів?

Лабораторна робота № 14

Оцінювання фізіологічної ролі B та Mn для рослинного організму

Мікроелементи відіграють важливу роль в регуляції метаболізму рослини за рахунок впливу на окисно-відновні процеси, фотосинтез, азотний, вуглеводний обмін. Вони забезпечують підвищення стійкості рослини до біотичних і абіотичних чинників. Дефіцит мікроелементів обумовлює виникнення ряду хвороб та спричиняє загибель рослини у ранні періоди вегетації.

Мета роботи. Встановити, як впливають бор і манган на ріст і розвиток рослин за їх морфометричними параметрами.

Реактиви і матеріали. Льон (насіння), суміш Кнопа (на 1000 ml H_2O): 1000 mg $Ca(NO_3)_2$, 250 mg KH_2PO_4, 125 mg KCl, 250 mg $MgSO_4$, слідові кількості $FeCl_3$;H_3BO_3, $MnSO_4$; лабораторний посуд.

Хід роботи

1. Приготувати живильну суміш Кнопа та виростити на ній льон до довжини корінців 1-1,5 сантиметрів.

2. З паростків відібрати схожі за розміром та розвитком і помістити в ємності з живильними розчинами, що приготовлені згідно прописів, наведених в таблиці.

Таблиця 4.6.

Морфометричні параметри рослин за дії B та Mn

Склад живильної суміші (Ж.с.)	**Доза мікроелементів, мг/л**		**Рослинний об'єкт**	**Висота надземної частини, см**	**Довжина головного кореня, см**	**Маса рослини, г**
	B	**Mn**				
Ж. с., контроль	-	-				
Ж.с. із B і Mn	0,3	0,4				
Ж.с. із B	0,3	-				
Ж.с. із Mn	-	0,4				

3. Живильний розчин спочатку міняти на свіжий щотижня, пізніше – через 10 діб.

4. Спостерігати за зміною рослин дослідних груп за такими параметрами: висота надземної частини, довжина коренів, маса проростків.

5. Всі результати (середнє арифметичне) внести в таблицю. Сформулювати і записати **висновки**.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Які мінеральні елементи для рослини є мікроелементами?
2. Як проявляється дефіцит Mn і B у організмі рослини?

Лабораторна робота № 15

Виявлення антагонізму K^+ та Ca^{2+} за їх дії на цитоплазму клітин

Калій та кальцій, натрій і калій, амоній та калій є найбільш поширеними іонами-антагоністами, які спричиняють протилежний вплив на фізико-хімічний стан протоплазми, обмін речовин, як безпосередньо, так і внаслідок їх впливу на ряд ензимів. Антагонізм проявляється по-різному: вирощування рослин на середовищах, які містять багато K, P і Fe, зазвичай мають прояви дефіциту фосфору; рослини, що отримують середні кількості Fe та K, і надмірні кількості P мають ознаки апікального хлорозу та ознаки дефіциту K в старіючому листі; Mo стримує надходження Fe та сповільнює його просування у верхніх частинах рослини. Тобто, при формуванні врожаю високої якості важливо враховувати не тільки кількість елементів живлення, але й їх оптимальне пропорційне поєднання.

Мета роботи. Встановити прояви антагоністичної дії K^+ та Ca^{2+} на протопласт рослинних клітин.

Обладнання і реактиви. Цибулина синього кольору; 1 М р-н калію нітрату, 1 М р-н кальцію нітрату; мікроскоп світловий, скельця, леза, склянки хімічні.

Хід роботи

1. Пронумерувати 3 склянки і внести в першу 5 мл нітрату калію, в другу – нітрату кальцію, в третю – суміш 9:1 нітратних солей K і Ca відповідно.

2. З цибулини зрізати тонкий шар забарвленої епідерми та помістити їх у приготовані розчини на 30 хвилин.

3. По закінченню вказаного часу дістати зрізи на предметне скло та обстежити під мікроскопом.

В зрізах, що знаходились в KNO_3, клітини зазнають ковпачкового плазмолізу, що є наслідком дії K^+, тоді як в розчині нітрату кальцію це явище відсутнє. Клітини зрізу, що знаходився в суміші розчинів K і Ca нітрату, також не мають ковпачкового плазмолізу, що є свідченням антагоністичної дії Ca^{2+} (навіть в незначній концентрації) на іони калію.

4. Отримані дані оформити у вигляді таблиці 4.8.

Таблиця 4.8.

Зміни протопласту рослинних клітин за дії іонів K^+ та Ca^{2+}

Розчин	*Тривалість досліду, год*	*Наявність ковпачкового плазмолізу (+/-)*	*Форма клітини (малюнок)*
Калію нітрат			
Кальцію нітрат			
Суміш 9:1			

5. Запишіть **висновки** згідно отриманих результатів.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Чи має явище антагонізму певне фізіологічне значення для рослин?
2. Назвіть приклади антагонізму серед мінеральних елементів.

Лабораторна робота № 16

Якісне визначення нітратів в тканинах рослин

Принцип методу: при взаємодії з нітратами дифеніламін перетворюється в дифенілбензидин, який має синьо-фіолетовий колір.

Мета роботи: навчитися визначати нітрати в рослинних тканинах.

Прилади і матеріали: фарфорові ступки, товкачики, палички скляні, фільтрувальний папір, рослинні тканини.

Реактиви: 1 % розчин дифеніламіну в 80-85% H_2SO_4.

Хід роботи

1. У окремі ступки помістити зразки рослинного матеріалу (листя, плоди, бульби тощо) та розтерти за допомогою товкачика. На рослинні тканини нанести 1-2 мл 1 % розчину дифеніламіну та провести спостереження. Якщо з'являється синє забарвлення – це є свідченням наявності нітратів в зразку рослинного матеріалу. Отримані результати оцінити за трьохбальною шкалою: I – відсутнє забарвлення – нітрати не виявлено, II - блакитний колір – нітрати присутні у зразку, III – темно-синій колір – значна кількість нітратів у зразку.

2.**Висновки** оформити у вигляді таблиці 4.9.

Таблиця 4.9.

Виявлення нітратів в рослинних об'єктах

Об'єкт	Умови вирощування	Вміст нітратів		
		в листку	в стеблі	в корені

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Які є кількісні методи визначення нітратів?
2. Які органи рослини в більшій мірі накопичують нітрати?

Лабораторна робота № 17

Дослідження прикореневої та ризосферної мікрофлори рослин

Мета роботи: вивчити один з методів дослідження ризосферної і прикореневої мікрофлори.

Прилади і матеріали: стерильні голки, пінцети, скельця, ножиці, колби, пробірки, шпателі, піпетки, пергаментний папір, спиртівка, ваги, мікроскоп.

Реактиви: стерильна вода, м'ясо-пептонний агар.

Хід роботи

1. В ґрунті за допомогою пінцету і ножиць відібрати 1 г молодого коріння з частинками прилиплого ґрунту. Помістити відібрані зразки у колбу з 100 мл стерильної води і збовтати впродовж 2 хв. Після цього послідовно перемістити корені у колби з стерильною водою 2, 3, 4, 5, 6, 7 проводячи аналогічне відмивання. За допомогою стерильної піпетки відібрати з кожної із колб окремо 0,05 мл вмістимого і нанести на поверхню МПА, розподіливши шпателем над полум'ям спиртівки. Помістити чашки Петрі в термостат за температури 28 – 30°С приблизно на 3 − 5 діб. В останніх колбах кількість бактерій не обов'язково зменшується, а може навіть збільшуватись. Слід зазначити, що зазвичай в перших колбах переважають спороносні бактерії, а в останніх – дрібно-точкові колонії неспорових мікроорганізмів (псевдомонади, мікобактерії).

2. Визначення числа мікроорганізмів в розрахунку на 1 г коріння, проводять наступним чином: множать кількість колоній на 20, ступінь розведення та коефіцієнт 600 (6 змивів по 100 мл у кожному) та ділять на масу коренів.

3. Зробити **висновки**, описавши морфологічні характеристики колоній.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Яка роль ризосферної мікрофлори в життєдіяльності рослин?
2. Яким чином рослини впливають на ризосферні процеси?

Питання для обговорення та самоперевірки до Розділу

1. Фізіологічна роль макро-імікроелементів.
2. Назвіть механізмиактивноготранспортумінеральних елементів черезплазматичнумембрану.
3. Що таке радіальний транспорт?
4. Ознаки дефіциту фосфору у рослин.
5. Які особливості ксилемного і флоемного транспорту?
6. Як відбувається фіксація атмосферного азоту у рослин?
7. Чим відрізняється ризосферна мікрофлора від прикореневої?
8. Назвіть приклади найбільш поширених симбіозів.
9. В чому полягає суть гетеротрофного живлення?

РОЗДІЛ 5. ФІЗІОЛОГІЯ СТРЕСУ У РОСЛИН ТА АДАПТАЦІЇ ДО БІОТИЧНИХ ТА АБІОТИЧНИХ УМОВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА. МЕХАНІЗМИ СТІЙКОСТІ У РОСЛИН

Тема 5.1. Поняття стресу і чинники, які його спричиняють у рослинному організмі

Несприятливі умови навколишнього середовища спричиняють стресову реакцію у живих організмів. ***Стрес*** як термін походить з англійської мови «*stress*» – *тиск, вплив*, і вперше його запропоновував у 1936 році фізіолог Ганс Сельє. ***Стрес*** - це неспецифічні реакції організму на дію зовнішнього чинника, що супроводжується активацією захисних систем. ***Фітострес*** – реакція та метаболічні перетворення в рослин у відповідь на дію чинників навколишнього середовища. Для рослин характерно три фази стресу («тріада Сельє») (рис. 5.1): 1) первинна стресова реакція; 2) адаптація; 3) виснаження.

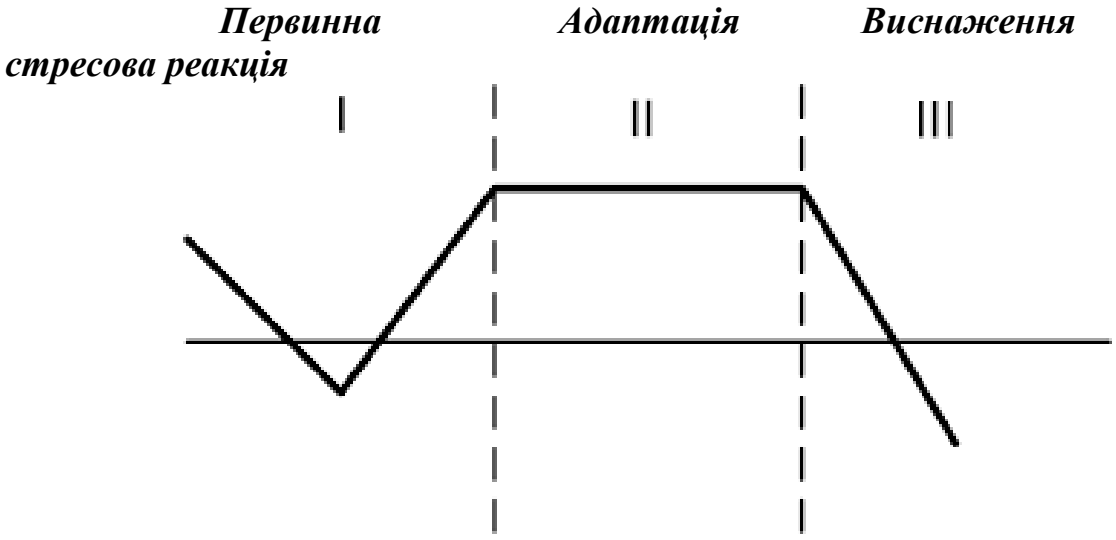


Рис. 5.1.Фази тріади Сельє у розвитку стресу рослин.

Тема 5.2. Основні ознаки стресових реакцій у рослин

У рослин, порівняно з тваринами і людиною, відсутні нервова система і гормони, які беруть участь у стресових і захисних реакціях. Однак, рослини здатні швидко адаптуватися до екстремальних умов навколишнього середовища внаслідок синтезу біологічно активних сполук – глікозидів, фенолів, фітоалексинів тощо і активації поліфенолоксидази.

В **першу фазу** стресу у рослин порушується гормональний баланс та гальмується гормональний обмін, що супроводжується посиленим синтезом етилену та інгібіторних фітогормонів – жасмонової кислоти і АБК. Тоді як вміст стимулюючих розвиток і ріст рослин фітогоромонів – ауксину, цитокініну, гіберелінів, значно зменшується. Такі реакції призводять до зупинки поділу клітин і росту рослини вцілому. Характерними особливостями

на рівні клітин є зміни молекулярного складу внутрішньоклітинних компонентів та підвищення проникності мембран. Внаслідок чого зворотно з клітини викачуються іони калію і закачуються іони кальцію крізь клітинну стінку, спостерігається явище деполяризації мембран. Підвищення проникності мембран і пригнічення активності H^+-АТФ-ази призводять до закислення цитоплазми, активації гідролаз і посилення процесів розщеплення полімерів. Відбувається пригнічення синтетичних процесів білка та його конформаційні зміни, а також пригнічення процесів транскрипції РНК та реплікації ДНК. Репресовані гени піддаються експресії, синтезуються стресові білки, посилено збираються елементи цитоскелету, що обумовлює збільшення в'язкості цитоплазми. Через зміну структурних особливостей білкових і ліпідних молекул в складі тилакоїдних мембран гальмується інтенсивність фотосинтетичних та дихальних процесів, знижується рівень АТФ. Вільнорадикальні процеси активуються. Катаболічні процеси переважають анаболічні, внаслідок чого накопичуються продукти розпаду, тому мономери використовуються в якості субстратів синтезу фітогормонів, стресових білків, а також в процесах дихання і клітинного енергетичного забезпечення. Проміжні продукти катаболізму та стресові метаболіти виконують регуляторну функцію в клітинному обміні і загальному метаболізмі рослини за екстремальних умовах існування.

Рис. 5.2. Чинники, які викликають у рослин абіотичний стрес

http://surl.li/jdeyt

У **другій фазі** стресу – фазі адаптації – у рослин внаслідок змін під час першої фази, включаються головні механізми адаптації, які характеризуються зниженням активності гідролітичних і катаболічних реакцій і посиленням синтетичних процесів. Пролін взаємодіє з поверхневими гідрофільними залишками білків і збільшує їх розчинність, захищаючи від денатурації. Внаслідок чого у клітині утримується більше води, що підвищує життєздатність рослин в умовах посухи, засолення, високої температури. Продукти деградації геміцелюлоз, пектинових речовин – олігоглікозиди індукують синтез фітоалексинів, які виконують захисну функцію при інфекційному ушкоджені рослин. Азотисті сполуки знижують проникність мембран, пригнічують протеазну активність, знижують процеси пероксидного окиснення ліпідів, регулюють pH середовища. При стабілізації мембран відновлюється транспорт іонів. Активність функціонування мітохондрій, хлоропластів і рівень енергозабезпечення підвищуються. Знижується продукування активних форм кисню. При стресових реакціях включається природний відбір, внаслідок якого з'являються більш пристосовані організми і нові види.

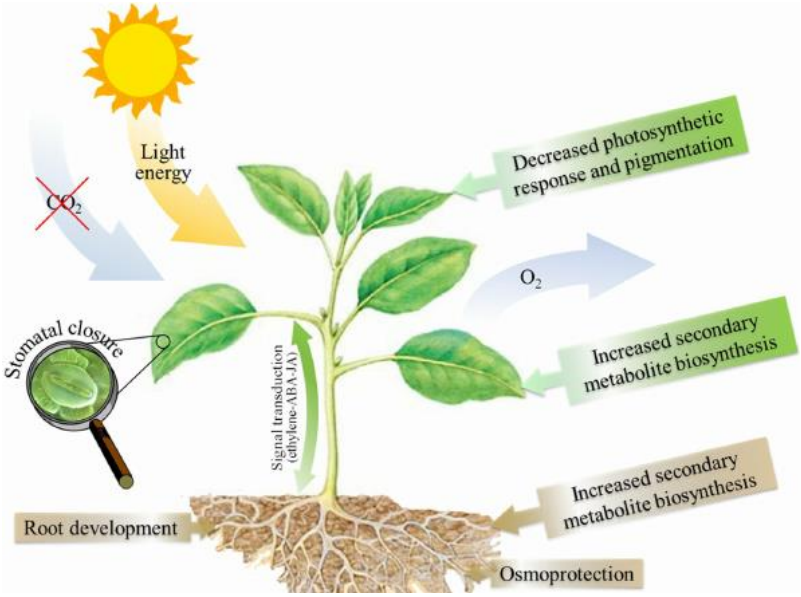


Рис. 5.3.Вплив дефіциту вологи на врожайність
http://surl.li/jdezm

Третя фаза, яка ще називаєтьсяфазою виснаження, характеризується неспецифічними реакціями, і проявляється спочатку підвищенням, а потім поступовим виснаженням захисних резервів організму. Ця фаза на клітинному рівні супроводжується руйнуванням багатьох структур клітини: деструкцією ядра, розпадом гран хлоропластів, зменшенням кількості мітохондріальних крист, формуванням додаткової кількості вакуоль. Зміна ультраструктури енергетичних центрів клітини, якими є мітохондрії і хлоропласти, обумовлює її енергетичне виснаження.

Варто зазначити, що переважно дія кількох стресорів є одночасною: висока температура повітря і активність сонячних променів зазвичай поєднуються з посухою; затоплення призводить до кисневої недостатності, в той же час і інтоксикації токсичними сполуками, а також поєднується з низькою температурою, слабкою освітленістю і надлишком вологи і т.п.

До стресових чинників відносяться звичні ритмічні метаболічні порушення, такі як зміна інтенсивності життєвоважливих процесів, якими є фотосинтез, дихання чи транспірація. Проте не відносяться до стресових зміни метаболізму при цвітінні, плодоношенні і старінні, не зважаючи на їх подібність зі стресом.

5.2.1. Пошкодження рослин за дії стресорів

1. Первинне пошкодження за дії стресорів може бути спричинене прямим впливом на рослини та швидко проявлятися. Так, короткий низькотемпературний стрес, що триває кілька секунд чи хвилин, може призвести до загибелі рослини, оскільки швидке заморожування обумовлює замерзання цитоплазми, за якого відбуваються розриви плазмалеми утвореними кристалами льоду, втрата її функцій та загибель клітини.

2. Непряме пошкодження рослин відбувається за тривалої дії (години чи декілька днів) стресових чинників. Якщо рослини тривалий час перебувають у діапазоні низьких температур, це може спричинити замороження, при цьому в окремих випадках структурні і метаболічні зміни є не критичними та з часом здатні повернутися до нормального рівня, тобто є оборотними. Втім тривала дія стресора може викликати незворотні процеси у рослин, що стають причиною ушкодження чи гибелі рослинного організму.

3. Вторинний стрес. Виникає тоді, коли дія температурного чинника не обумовлює критичних пошкоджень рослини, проте призводить до дефіциту води, що і стає причиною її гибелі.

Девісоном і Пірсоном було запропоновано стрес у рослинних організмів ділити на наступні типи: 1) лімітований - спричинений недостатніми ресурсами (слабке освітлення або нестача біогенів), 2) ушкоджуючий – причиною якого є несприятливі умови чи перерозподіл ресурсів задля недопущення пошкодження.

Дія стресора обумовлена природою, величиною пошкоджуючого фактору, тривалістю його дії та стійкістю рослин. Остання визначається фазою онтогенезу, зокрема, найбільш стійкими є рослини, які знаходяться у стані спокою, а найбільш чутливі – у молодому віці.

Фактор зовнішнього середовища, який спричиняє негативну дію, ушкодження і, як наслідок, призводить до загибелі організму, має назву ***стресового фактора чи стресора*** (рис. 5.4). Доза або концентрація стресора, за якої спостерігається загибель організму, називається летальною дозою (ЛД). Показник ЛД50 за дії певного чинника спричиняє загибель 50% живих організмів у дослідній групі.

За походженням і характером дії стресові чинники поділяються на абіотичні та біотичні. Зокрема, за екологічною класифікацією до *абіотичних стресових чинників* належать:

1. Кліматичні умови – це влив світла, тепла, повітря (хімічного складу та інтенсивності переміщення повітряних мас), вологи (опадів, вологості ґрунту).

2. Ґрунтово-земельні або так звані едафічні умови – вплив хімічного і механічного складу ґрунтів, їх фізичних властивостей тощо.

3. Топографічні особливості – вплив рельєфу.

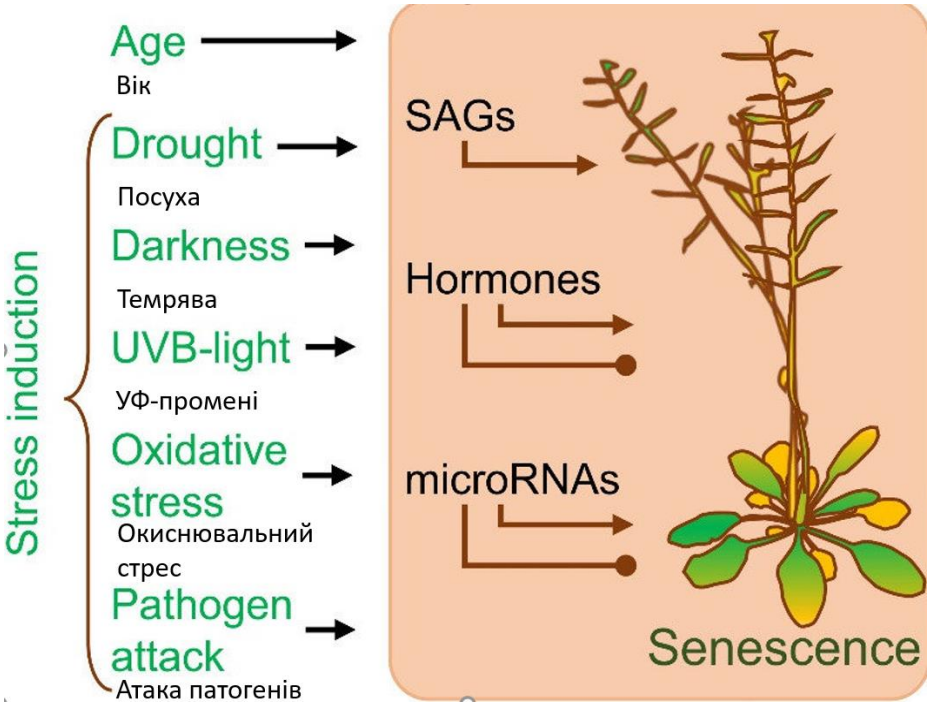


Рис.5.4.Фактори індукції стресу

Окрім того, існує інша класифікація стресових факторів у рослин:

1) Фізичні – вплив освітлення, нестачі/надлишку вологи, підвищеного рівня радіації, механічної дії.

2) Хімічні – вплив мінеральних солей і ксенобіотиків (газів, пестицидів, промислових відходів, важких металів).

3) Біологічні – це фітопатогени, зокрема, збудники захворювань: гриби, бактерії, віруси тощо.

Біотичні стресові чинники поділяються на:

1. Фітогени – взаємовплив інших рослин, який існує у вигляді симбіозу, механічного контакту, паразитизму та непрямої дії, і проявляється змінами середовища проживання.

2. Зоогени – вплив тварин (запилення, поїдання, механічна дія).

3. Мікробогени – вплив, що чинять мікроорганізми, бактерії, віруси.

4. Мікогени – вплив, що чинять гриби.

Окрему групу становлять антропогенні чинники, що обумовлені господарською діяльністю людини.

Для сільськогосподарських рослин визначальними стрес-факторами є вплив посухи, високих/низьких температур, надлишку/дефіциту води та солей у ґрунтах, нестачі кисню (гіпоксії), високої/низької освітленості, ультрафіолетової радіації, іонів важких металів, забруднення повітря шкідливими сполуками.

5.2.2. Стійкість рослин

Здатність рослин за несприятливих умов зберігати морфологічну будову і функціональну активність називається **стійкістю або стрес-толерантністю.**

Залежно від характеру чинника рослинам притаманні такі види стійкості, як холодо- та зимостійкість, посухо- та жаростійкість, солестійкість, газостійкість, стійкість до осмотичного стресу і забруднення важкими металами, радіостійкість, стійкість до хвороб і шкідників тощо.

Поріг стійкості рослин визначається для кожного чинника окремо, дія якого є різною у різних видів рослин. Ділянка між верхнім (мінімальна дія чинника) і нижнім (максимальна дія чинника) порогом стійкості рослин становить зону адаптації, або зону толерантності (рис. 5.5). Наприклад, зоною адаптації до дії несприятливого чинника є діапазон температури між найнижчим і найвищим значенням, до якого може адаптуватися рослина.

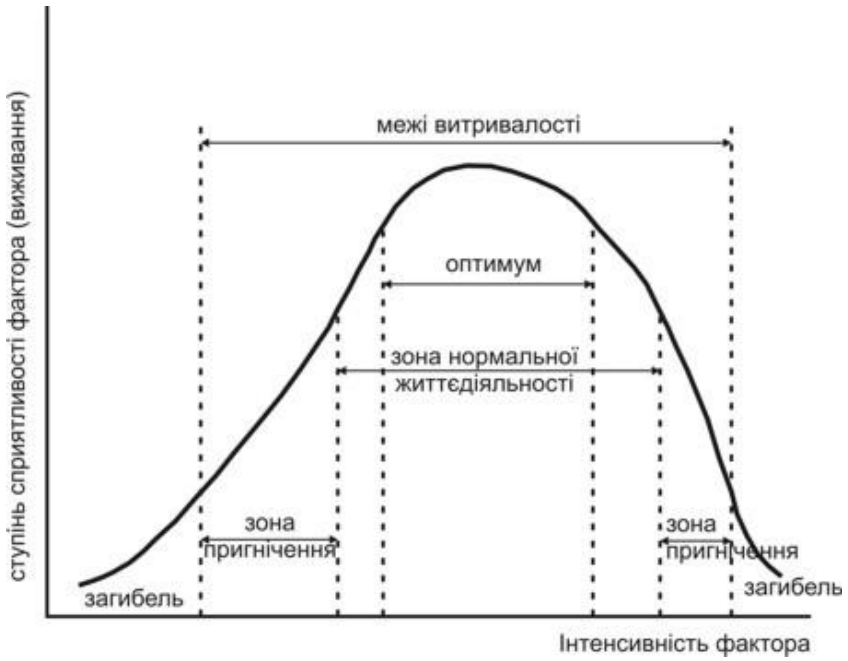


Рис. 5.5. Діапазон екологічної толерантності

Розрізняють два види стійкості рослин: 1) біологічна стійкість – збереження структури і функціональних властивостей і 2) агрономічна стійкість – збереження урожайності культурних рослин.

Стійкість рослин до несприятливих умов може проявлятися по різному. Деякі рослини уникають дії стресових чинників. Наприклад, сукуленти запасають воду попереджаючи зневоднення при посусі, саксаули формують глибоку кореневу систему, яка досягає рівня ґрунтових вод, ефемери з коротким вегетаційним періодом завершують життєдіяльність до випадання опадів.

Досить велике значення у стійкості відіграє витривалість клітин рослин, що дозволяє у процесі адаптації змінити швидкість і перебіг метаболічних реакцій задля реалізації своїх функцій в змінених умовах.

Автори І.Ю. Усманов та інші (2001) запропонували декілька форм стійкості у рослин:

1) анатомічна, яка пов'язана з особливостями клітин і тканин та їх здатністю мінімізувати дію стрес-факторів;

2) фізіологічна, яка залежить від особливостей перебігу фізіологічних процесів, зокрема фотосинтезу, дихання та ін.;

3) біохімічна, яка залежить від особливостей метаболічних перетворень і синтезу захисних речовин;

4) габітуальна, яка залежить від особливостей морфогенезу рослини, розміру і форми всіх її частин;

5) феноритмічна, яка залежить від проходження етапів онтогенезу, за яких мінімізується дія несприятливих чинників на рослини;

6) анабіотична, спрямована на підготовку рослини до несприятливого періоду року (зими, літніх посух);

7) регенераційна, здатність рослини відновлювати втрачені органи або їх частини.

Тема 5.3. Специфічні і неспецифічні стресові реакції

Стійкість рослини до дії несприятливого чинника залежить від багатьох параметрів – інтенсивності і терміну дії чинника, ресурсу рослини та ін. Крім того, рослина може проявляти стійкість до певного чинника, а до іншого бути нестійкою.

Розрізняють дві форми стійкості у рослин – *неспецифічну* і *специфічну.Неспецифічною стійкістю* є та, яка базується на загальних захисних реакціях рослин, що проявляються на будь-який негативний вплив чинника. Тоді як *специфічна стійкість* базується на захисних реакціях, які проявляються лише на вплив певного негативного чинника і лише у певного виду рослин.

Неспецифічна стійкість у рослин проявляється різноманітними механізмами. Одним із таких механізмів є синтез *стресових* білків клітинами рослин у відповідь на дію стресорів: на підвищення і зниження температури, дефіцит кисню, утворення ран, зневоднення, високі концентрації солі, вплив важких металів або шкідників.

Білки теплового шоку урослин синтезуються за підвищеної температури, однак можуть синтезуватися і за впливу інших стресорів. Стресові реакції базуються на генетичних механізмах, в результаті яких активується експресія генів відповідальних за стресостійкість рослин (рис. 5.6.).

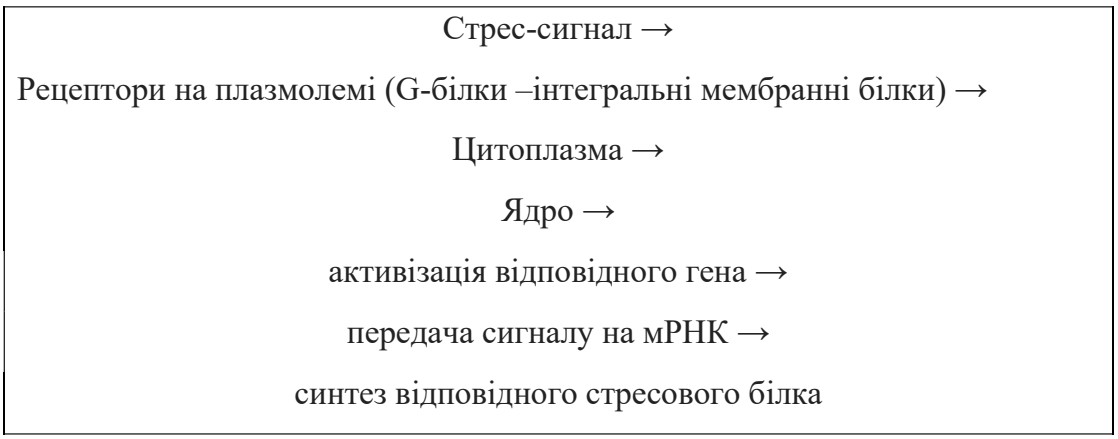


Рис. 5.6. Схема передачі сигналу у рослин на дію несприятливих чинників

Після видалення чи завершення впливу стресового чинника в клітині відновлюється нормальна робота генетичного апарату і синтез стресових білків гальмується.

Шаперони – стресові білки теплового шоку, переважна більшість яких синтезується у відповідь на дію високих температур. Вони приймають участь у відновленні правильної нативної третинної або четвертинної структури білків, в утворенні/дисоціації білкових комплексів, транспортують речовин через мембрани, зокрема ендоплазматичної сітки та мітохондрій.

Лектини–стресові білки, які синтезуються за підвищеної температури, посухи, грибної інфекції. Вони взаємодіють з фітогормонами та сприяють адаптивним реакціям рослин на стреси і підвищують стійкість особин.

Усі метаболічні перетворення білків у стійких рослин направлені на збереження цілісності клітинних мембран за рахунок: 1) перебудови складу і структури мембран; 2) пригнічення розпаду сполук у складі мембран; 3) посилення процесів транспортування йонів кальцію.

Отже, стресові білки відіграють важливу роль у захисних реакціях живих організмів за несприятливих умов.

Іншим механізмом неспецифічної стійкості у рослин є зміна вмісту і співвідношення фітогормонів. Як адаптаційна реакція при стресі у рослин знижується вміст гормонів-стимуляторів і накопичуються інгібітори росту, внаслідок чого пригнічується інтенсивність обмінних процесів, призупиняється процес ділення та росту клітин, як наслідок організм переходить у стан спокою. Рослинний організм економно використовує свої енергетичні запаси і направляє свій ресурс на підтримку клітинних структур. Абсцизова кислота і етилен - інгібують ростові процеси у рослин і переводять їх у стан спокою.

Пігмент антоціан у клітинах вегетативних органів захищає рослини від дії низьких температур, посухи і ультрафіолетової радіації.

Продукування активних форм кисню (АФК), зокрема супероксидного аніон-радикалу $O_2^{\cdot-}$, пероксиду водню H_2O_2, гідроксильного радикалу $^{\cdot}OH$ тощо, є також неспецифічною реакцією живого організму на вплив стресора. Для нейтралізації АФК активується система антиоксидантного захисту, що представлена такими ензимами як супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидази, трансферази та ін.

Антиоксиданту роль виконують вітаміни С і Е. Так, вітамін С взаємодіє з АФК і перекисами та знижує їх вміст у клітинах. На сьогодні отримано трансгенні рослини з генами, які здатні посилювати рівень антиоксидантного захисту. Такі рослини є стійкі до посухи та інших видів стресу.

Рівень стійкості, реакція і адаптація у рослин на стрес залежить від біологічних особливостей видів та їх генотипу. Рослини з різною стійкістю однаково реагують на стрес, але структурні зміни, біохімічні і фізіологічні реакції є різноманітною та ефективною в межах зони толерантності того чи іншого виду рослини. Систему неспецифічного фізіолого-біохімічного захисту рослин від стресів можна посилити шляхом обробки рослин певними препаратами або шляхом створення трансгенних сортів. Основні гени, які здатні підвищувати стійкість рослин до несприятливих умов:

а) гени, які кодують ензими-регулятори осмотичного захисту задля зростання стійкості рослин в умовах посухи;

б) гени, експресія яких приводить до синтезу білків-транспортерів йонів;

в) гени, які регулюють антиоксидантний захист;

г) регуляторні гени, які контролюють неспецифічну відповідь на стресові чинники;

д) гени, які забезпечують синтез шаперонів;

е) гени, які регулюють синтез фітогормонів.

Більшість стресових реакцій належать до неспецифічних. Але як наслідок впливу стрес-факторів розвиваються також умовно специфічні реакції, характерні лише для певних стресових впливів. Так засолення обумовлює накопичення йонів, дисбаланс мінерального живлення, викликає пожовтіння листя (хлороз), затоплення коренів обумовлює розростання кореневої шийки, посуха – посилення транспірації, за перегріву або дії металотіонеїнів і фітохелатинів синтезуються стресові білки, зокрема шаперони. За довготривалої дії різних за природою стресових чинників у рослин спостерігаються короткотривалі та істотно виражені ефекти, що належать як до специфічних, так і неспецифічних механізмів стійкості.

До первинних неспецифічних процесів в рослинних клітинах, які виникають у відповідь на дію стресора належать:

1. Підвищення проникності мембран з деполяризацією мембранного потенціалу плазмалеми.

2. Йони Са транслокуються в цитоплазму з клітинної стінки, а також вакуолі, ендоплазматичного ретикулюма, мітохондрій, які є основними компартментами.

3. Активуються процеси збирання актинових мікрофіламентів в цитоскелеті, які сприяють підвищенню в’язкості та розсіювання світла цитоплазмою.

4. pH середовища у цитоплазмі закислюється.

5. Посилюється асиміляція кисню, активуються вільнорадикальні реакції, прискорено використовується АТФ.

6. Підвищується вміст проліну, що агрегує і обумовлює утворення гідрофільних колоїдів, завдяки яким вода краще утримується в клітині. Пролін

здатен зв’язуватись з молекулами білків і таким чином захищати їх від денатурації.

7. Активується утворення стресових білків.

8. Посилюється активність протонового насосу в клітинній мембрані та мембрані вакуолі, що запобігає зміні сталості йонного складу клітини.

9. Посилюється утворення етилену та абсцизової кислоти, призупиняються процеси поділу і росту, поглинальної здатності клітини.

Прояв специфічних реакцій рослини на дію стресових чинників за невисоких доз, які повторюються, обумовлюють її загартовування, і у випадку його формування у відповідь на один стрес-фактор, це є сприяючим моментом підвищення стійкості і щодо іншого фактору. На організменному рівні відбувається збереження всіх клітинних механізмів адаптації та доповнення їх новими, що є відображенням взаємодії різних органів рослини. Передусім це стосується конкурентних відносин щодо фізіологічно активних речовин та їжі.

Екстремальні умови, в яких перебуває рослина, призводять до формування мінімуму генеративних органів, що забезпечуються всіма сполуками задля їх дозрівання. Несприятливі умови обумовлюють прискорення процесів старіння, зокрема опадання нижнього листя, при цьому органічні сполуки, що входять до їх складу, гідролізуються і в подальшому йдуть на живлення молодих листків і утворення квітів, плодів, насіння. При пошкодженнях або втраті органів рослина заміщає їх регенерацією і розвитком додаткових бруньок. Корелятивне зростання відбувається за участю різних міжклітинних систем регуляції -гормональної, трофічної та електрофізіологічної.

За довготермінового та сильного стресу спочатку гинуть менш стійкі рослини, що призводить до їх витіснення із популяції, тоді як насіння формують стійкіші екземпляри. У такий спосіб відбувається природній відбір на рівні популяції з появою пристосованіших рослин і нових видів.

Спроможність адаптуватися задля самозбереження у відповідь на дію несприятливого чинника довкілля є необхідним для всіх живих організмів, зокрема й вищих рослин. Кожна стадія розвитку рослини здатна адаптуватися до стресових умов, а саме водного дефіциту, гіпотермії, засухи, засолення ґрунту тощо, внаслідок чого змінюються метаболічні, фізіологічні і ростові процеси організму без порушення його функцій, життєздатності і витривалості.

Тема 5.4. Загальні поняття про адаптацію, класифікація адаптацій

Є декілька підходів щодо визначення терміну «адаптація».

Адаптація (за Кузнєцовим) є генетично детермінованим процесом розвитку систем захисту для зростання стійкості та перебігу онтогенезу в тих умовах, які в минулому вважалися несприятливими.

Адаптація (за Усмановим) – це поєднання первинних пристосувальних реакцій, що характеризуються морфологічними, фізіологічними та біохімічними змінами, для забезпечення можливості видоспецифічного виживання рослин в умовах довкілля, які є несприятливими щодо цього виду.

Адаптація є важливим механізмом завдяки якому підвищується витривалість біологічних систем у змінених умовах життя. Краща пристосованість організму до певного чинника забезпечує його більшу стійкість при змінах останнього. Адаптація характеризується анатомічними, морфологічними, фізіологічними, біохімічними, поведінковими змінами, що забезпечують виживання виду та підвищення стійкості. Стратегія адаптації обирається рослинами залежно від ряду чинників, основним з яких є часовий період, за який організм має дати відповідь. Більш тривалий часовий період забезпечує більшу кількість імовірних стратегій. Якщо ж дія фактору є раптовою та екстремальною реакція-відповідь повинна бути терміновою.

В цілому адаптація має кілька типів. ***Еволюційна (філогенетична) адаптація*** виникає в процесі еволюції за рахунок генетичних мутацій, добору та передається спадково.

Для рослини характерні механізми захисту, які не є постійними, а обумовлені впливом стресу. Вони формуються завдяки диференціюванню експресії генів, тобто є генетично детермінованими.

Онтогенетичні (фенотипові) адаптації є довготривалими, до них належить зміна окремими рослинами C_3-фотосинтезу на САМ-тип, що відбувається задля економії води в умовах засолення та водного дефіциту.

Еластична стійкість попереджає оборотній вплив фізико-хімічних ушкоджень за дії стресора на рослину, тоді як ***пластичною*** називається стійкість, що розвивається внаслідок необоротного впливу, який чинять фізико-хімічні ушкодження.

Адаптації здатні розвиватися постійно від одного покоління до іншого, чи не постійно, на що впливає стадія онтогенезу та фактори довкілля.

Еколого-фізіологічні дослідження передбачають використання термінів «***толерантність»*** та «***резистентність»,*** які позначають витривалість рослини до чинників довкілля. Абіотичні чинники довкілля характеризуються мінімальною і максимальною дією, поза межами яких рослина гине. Вони визначають нижню і верхню межі толерантної зони, діапазон яких виходять за межі оптимуму. У діапазоні толерантної зони, що обумовлено генотиповими особливостями, відхилення меж чинника не призводить до загибелі організму. Все, що виходить за межі вказаної зони належить до зони резистентності або летальної дії. Пристосування рослини до помірної дії чинника є ***зоною толерантності***, до екстремального впливу чинника - є ***зоною резистентності***.

Адаптації зони толерантності супроводжуються змінами метаболічних процесів, ензиматичної активності та призводять до змін в генетичному апараті клітини, сприяючи проявам функцій генотипу. Зона резистентності організму забезпечує відновлення пошкоджень, подовжуючи тривалість існування клітини в критичних умовах довкілля.

Тема 5.5. Головні напрямки адаптацій рослини до стресорів

Терміновою адаптацією називають ту, що розвивається у відповідь на швидкі та інтенсивні зміни умов існування та забезпечується функціонуванням

шокової захисної системи (БТШ). Це забезпечує лише короткотривале виживання організму за негативної дія чинника, внаслідок чого формуються надійні довготривалі механізми адаптації. Наприклад, при дефіциті кисню утворюється поверхнева коренева система, при водному дефіциті закриваються продихи і т.п. У разі неможливості запобігання стресу пристосування організму відбувається або пригніченням метаболізму, або його пристосуванням.

Окрім того виділяють ***пасивну і активну*** адаптацію. ***Пасивна*** це та адаптація, що спрямована на запобігання шкідливого впливу стресора чи паралельне існування з ним, зокрема це перехід до стану спокою. ***Активною*** називають ту адаптацію, при якій формуються захисні механізми через синтез ензимів чи білків, що мають нові властивості. За реакцією у відповідь на дію стресорів адаптація поділяється на:

- термінову первинну реакцію (***стрес-реакція***), що покликана забезпечувати короткотривалий захист рослин від можливої загибелі активацією швидких механізмів захисту з наступним розвитком надійніших і ефективніших механізмів;
- довготривалу реакцію (***спеціалізовану адаптацію***) для забезпечення метаболізму за змінених умов існування відбувається синтез нових ензимів чи стресових білків. Рослина після припинення дії стрес-фактору може помалу відновлюватись у випадку якщо вплив чинника не переважив захисні сили. В такому разі ушкодження лише наростають, що приводить до загибелі рослини.

Тема 5.6. Акліматизація та аклімація

Аклімація відображає реакції пристосування рослини в стресових умовах, що супроводжується фізіологічними, метаболічними змінами, модифікацією гомеостазу, експресії генів тощо.

Загартовування рослин викликає так званий еустрес, який стимулює закладання механізмів адаптації з формуванням неспецифічної стійкості, активної і до інших стресових факторів. Генкель застосував на позначення цього явища термін ***сполучна стійкість***. До прикладу, при загартовуванні озимини за низької температури паралельно спостерігається підвищення її стійкості до дефіциту O_2 в умовах утворення крижаних кірок. Наразі таке явище називається ***«крос-адаптацією»***.

Акліматизацією називається процес адаптації,коли рослина призвичаюється до змін кількох параметрів довкілля, тоді ж як під терміном ***аклімація*** розуміють аналогічні процеси при зміні тільки одного параметру, який відтворюють в умовах лабораторії. Вищевказані адаптації відбуваються на фенотиповому рівні.

Тема 5.7. Пристосування і стійкість рослин

Упродовж життя на рослину впливають зовнішні фактори, в тому числі й несприятливі – це дія високих/низьких температур, надлишок/нестача води, солей у ґрунті, фітопатогени тощо. За несприятливих умов рослина не гине, а пристосовується то таких умов, що супроводжується стійкістю.

5.7.1. Стійкість до посухи та вододефіцит

Посуха – це несприятливі метеорологічні умови, які у рослини спричиняють вододефіцит. Посуха може бути атмосферною і ґрунтовою. Перша є наслідком недостатньої вологості повітря, зокрема внаслідок виникнення сухого, гарячого вітру (суховію). Збереження атмосферної посухи впродовж тривалого часу обумовлює і ґрунтову посуху, причиною якої є відсутність дощів, вивітрювання вологи із поверхневих шарів ґрунту та інтенсивної транспірації. Розрізняють також мерзлу засуху, спричинену низькими температурами в поєднанні з низькою вологістю ґрунту та повітря.

Під впливом посухи передусім відбувається зниження кількості внутрішньоклітинної вільної H_2O, яке позначається на гідратних оболонках протеїнів, функціональній активності ензимів, концентрації вакуолярного соку. Тривале в'янення викликає активацію гідролітичних процесів, як наслідок підвищується вміст у клітині низькомолекулярних протеїнів та вуглеводів. Посуха впливає на кількість РНК в напрямку її зменшення, що є наслідком зниження активності транскрипції та зростання каталітичної активності рибонуклеаз, і призводить до розпаду цитоплазматичних полісом. Вплив на структуру і функції ДНК може спостерігатись тільки за тривалої посухи. Зневоднення рослини, не пристосованої до засухи, спочатку спричиняє посилення інтенсивності дихання, але згодом, навпаки, спостерігається його зниження. Разом з тим, посухостійкі рослини не мають відхилень у процесах дихання. За недостатності води уповільнюються процеси поділу і росту клітин та рослини, а новоутворені клітини переважно є дрібними. В той же час корені реагують на посуху спочатку посиленням росту і лише коли дія цього чинника є тривалою їх ріст знижується. Посуха є тим фактором, який обумовлює пришвидшення диференціації клітин коренів, а екзодерма зазнає суберинізації і обпробковування.

Зневоднення також супроводжується перегрівом рослини, внаслідок чого клітинний сік концентрується, а клітинні мембрани стають більш проникними для розчинених в ньому компонентів, що призводить до поступового зниження осмотичного тиску. Проте такий розвиток спостерігається лише до 35°С, оскільки подальше підвищення температури спричиняє збільшення осмотичного тиску внаслідок зростання концентрації продуктів гідролітичного розщеплення крохмалю і білків (моноцукри, амінокислоти, аміак). Нестійкі до спеки рослини є чутливими до аміаку, що є для них токсичним. Жаростійкі рослини синтезують органічні кислоти, які зв'язують надлишкові кількості аміаку. Вплив посухи і високої температури індукує утворення HSPs (Heat shock proteins або білки теплового шоку), які зв'язують ДНК, утворюючи ядерні гранули і блокуючи експресію генів. Остання відновлюється після припинення дії стрес-чинника і розпаду гранул. Для одного з HSPs властива здатність стабілізувати плазмалему.

Передпосівне загартовування насіннєвого матеріалу (одноразове зволоження і висушування) є одним з методів підвищення посухостійкості с.-г. рослин. Посухостійкість або жаростійкість – це спроможність рослин витримувати перегрівання і зневоднення. Посухостійкі рослини

пристосовуються в онтогенезі до високої температури атмосферного повітря і нормально ростуть, розвиваються і розмножуються.

За високої температури (більше 40°С) перебіг нормальних фізіологічних функцій пригнічується, що призводить до відмирання клітин; порушується водний баланс, осмотичні властивості клітин і фізіологічні процеси – збільшується проникність гіалоплазми, зменшується всисна сила, не відбувається фаза розтягування, ріст призупиняється.

5.7.2. Стійкість рослин до холоду і морозу

Рослини, які ростуть у різних кліматичних умовах, характеризуються різною стійкістю до гіпотермії. Наприклад, рослини, що ростуть на Крайній Півночі здатні переносити холод до -60 °С, тоді як теплолюбиві рослини південних регіонів погано витримують навіть низьку плюсову температуру, зокрема, загибель бавовника спостерігається впродовж доби за +13°С.

Холодостійкістю та морозостійкістю називають витривалість рослини до низької температури, остання характеризує можливість рослини виносити t нижчі 0°С.

У теплолюбивих рослин низькі позитивні температури викликають порушення транспорту води, що супроводжується втратою тургору клітин наземної частини; змінюється рідинно-кристалічний стан фосфоліпідів до гелеподібного і, відповідно, структурно-функціональна активність мембрани; інтенсифікуються процеси руйнування протеїнів і нагромаджуються у тканинах розчинні форми нітрогену.

Наразі розроблено ряд агротехнічних підходів, які дозволяють підвищити холодостійкість с.-г. культур, зокрема додавання калійного добрива та передпосівне гартування насіння. Холодостійкість підвищується шляхом замочування посівного матеріалу 0,25 % розчинами мікроелементів чи NH_4NO_3. Насіння або розсаду теплолюбивих культур (огірки, помідори, дині та ін.) кілька діб почергово з інтервалом 12 год тримають при низькій і високій (15-20 °С) температурі.

Основні причини гибелі рослинних клітин при від’ємних температурах – це зневоднення клітин та ушкодження різних структур клітини внаслідок механічного стиснення кристалами льоду. Утворені в міжклітинниках кристали льоду відтягують воду з клітин, що обумовлює втрати внутрішньоклітинної рідини. Тривалий вплив мінусової температури сприяє утворенню кристалів льоду великого розміру, що не просто стискають клітини, а й пошкоджують мембрани.

Морозостійкі рослини мають в клітинній мембрані переважно ненасичені жирні кислоти, через це лише від’ємні температури призводять до фазового переходу фосфоліпідів із рідинно-кристалічного стану в гель, що приводить до різкого зниження проникності. Морозостійкі рослини за низьких температур здатні посилено синтезувати кріопротектори – гідрофільні білки, моно- та олігоцукри, гідратні оболонки яких включають воду, для якої не властиве замерзання та вихід з клітини. До кріопротекторів іншого типу належать

геміцелюлози, що секретуються в клітинній стінці, де огортають льодяні кристали і гальмують їх збільшення.

5.7.3. Солестійкість

Надземні рослини по різному реагують на надлишок солей у ґрунті. За реакцією рослин на засолення ґрунту вони поділяються на галофіти і глікофіти. Галофітами називають рослини, що зростають на ґрунті з високим вмістом солей, тоді як глікофіти – в незасолених водоймах і ґрунтах.

Галофіти належать до 3 груп:

1. Справжніх галофітів (еугалофітів) – ці рослини є найстійкішими, оскільки володіють здатністю концентрувати у вакуолі значні кількості солей. Всисна сила еугалофітів є більшою, що забезпечує поглинання води із дуже засолених ґрунтів. Ці рослини мають м'ясисті листки, але вирощування на незасоленому ґрунті призводить до зникнення м'ясистості.

2. Солевидільних галофітів (криногалофітів) – стійкість цих рослин забезпечується не накопиченням солей в клітинах, а їх виведенням назовні листка, що реалізується секреторними залозами та іонними насосами клітинних мембран.

3. Соленепроникних галофітів (глікогалофітів), які зростають на ґрунтах з меншим ступенем засолення. Підтримання високого осмотичного тиску у клітинах цих рослин забезпечується продуктами фотосинтезу, в той же час їх мембрани малопроникні для солей.

Підвищити стійкість рослин до солей можна загартовуванням насіннєвого матеріалу: замочуванням у розчині NaCl (3%) упродовж 1 години з наступним аналогічним по часу промиванням; при сульфатному засоленні - вимочуванням з 0,2% розчином $MgSO_4$ впродовж 24 годин.

Засолення ґрунтів відбувається переважно хлоридними (NaCl), сульфатними (Na_2SO_4) і карбонатними ($NaHCO_3$) солями. Основний спосіб боротьби із засоленням ґрунтів – меліорація, тобто вимивання ґрунтів від надмірного вмісту солей.

5.7.4. Газостійкість

Газостійкістю є властивість рослини підтримувати процеси життєдіяльності за впливу небезпечних газів. Газостійкі рослини здатні в органах і тканинах накопичувати велику кількість сірки і хлору. Надходження шкідливих газів у листя приводить до утворення кислот або лугів, а відповідно зрушення цитоплазматичного pH, розпаду хлорофілу, зміни мембран клітин. Існує видовий поріг чутливості рослин до рівня шкідливих газів: хлор і сірчистий газ в більшій мірі впливають на липи і каштани, ніж на тополі та клени. Стійкість рослин до інших стрес-факторів переважно поєднується і з високою газостійкістю.

Оптимізація забезпечення рослин мінеральними речовинами і водою, загартовування (зволоження насіння слабкими розчинами хлоридної і сульфатної кислот) обумовлюють підвищення їх стійкості до газів.

5.7.5. Радіостійкість

Рослини зазнають прямого і опосередкованого впливу радіації. За прямого впливу радіаційного опромінення молекула переходить у збуджений чи іонізований стан. Надзвичайно небезпечними є ушкодження ДНК: руйнуються фосфодиефірні зв'язки, дезамінуються азотисті основи, утворюються димери піримідинових основ. За непрямої дії радіація впливає опосередковано через продукти радіолізу води, які обумовлюють ушкодження біомолекул та біомембран. Різні види опромінення у клітинах призводять до генерування вільних радикалів та активних форм оксигену, які спричиняють розвиток окисного стресу. Внаслідок цього ушкоджуються нуклеїнові кислоти, білки і ензими, мембранні ліпіди. Стійкість рослин до дії радіації визначається такими факторами:

1. Ензиматичні системи відновлення ДНК клітин.

2. Присутність радіопротекторних речовин (сульфгідрильних сполук, аскорбінової кислоти, каталази, пероксидази, поліфенолоксидази), що нейтралізують вільні радикали та пероксиди, генеровані опроміненням.

3. Репарація на організменному рівні: а) неоднорідність клітинних популяцій, які діляться, та меристем, що включають клітини на різних фазах мітозу з неоднорідною стійкістю до радіації; б) сплячі бруньки, які інтенсивно функціонують і регенерують ушкодження опісля гибелі апікальних меристем.

5.7.6. Стійкість рослин до хвороб і шкідників та механізми розвитку фітоімунітету

У рослин виникає ряд хвороб паразитарних, спричинених вірусами (мозаїка), віроїдами, мікоплазмами, бактеріями (загнивання), нематодами, грибами (сажа, іржа) і непаразитарних, спричинених температурою, вологістю, живленням (хлорози, гомози). Розрізняють факультативні патогени, що проживають на некротичних рослинних залишках та здатні уражати виснажені рослинні організми; факультативні сапрофіти переважно є паразитами, хоча за певних обставин здатні живитися сапрофітно; облігатні паразити – паразитують тільки на живих рослинах. По характеру живлення паразити поділяються на некротрофи та біотрофи.

У взаємодії рослини з паразитом можна виділити кілька стадій: 1) перший етап – проростання спор на поверхні хазяїна; 2) укорінення гіфи у тканину рослини; 3) фізіологічна взаємодія інфекційної гіфи з внутрішньоклітинним вмістом хазяїна. Через певний період співіснування паразита і рослини-хазяїна спостерігається омертвіння протопласта і некроз клітини, внаслідок чого інфекція не поширюється в організмі рослини. Таке явище у живих організмів відбувається за рахунок активації імунних захисних властивостей, а саме активації окисних ензимів, наприклад пероксидази. Пероксидази здатні інгібувати гідролітичні ензими та нейтралізувати токсини мікроорганізмів-паразитів.

Крім того, рослини при захворюваннях здатні накопичувати сполуки, що забезпечують підвищення стійкості до патогенів. При неспецифічній стійкості рослини синтезують фітонциди, які є низькомолекулярними речовинами

(аліфатичними сполуками, хінонами, глікозидами з фенолами, спиртами), крім того феноли й фітоалексини. Ензим поліфенолоксидаза активується у клітинах рослин за патогенних станів та окиснює феноли до високотоксичних хінонів, які знешкоджують патогени та інактивують лігнінсинтезуючі екзоферменти. Крім того, рослинами синтезуються інгібітори вірусів – це білки, глікопротеїни, полісахариди, РНК, фенольні сполуки.

Фітоімунітет – це стійкість рослин до інфекційних уражень та хвороб. Розрізняють абсолютний імунітет – повна стійкість і відносний імунітет - часткова стійкість до інфекційного захворювання у рослин.

Фізіологічну роль у стійкості рослин на рівні клітини відіграють продихи, кислотність і осмотичний тиск клітинного соку, колоїдний стан цитоплазми, активність ензимів, обмін вуглеводів і білків; на рівні тканин – накопичення БАР глікозидів, алкалоїдів, фенольних сполук, а також мінеральне живлення і мікроелементи.

Лабораторна робота №18.

Оцінка показників дефіциту води в організмі рослини

Порушення постачання рослини водою викликає явище так званого вододефіциту, який обумовлює нетривалі чи затяжні зміни, що проявляються порушеннями на біохімічному і фізіологічному рівнях та впливають на продуктивність рослин і якість сировини рослинного походження.

Принцип методу. Дефіцит H_2O в організмі рослини можна представити відсотками від загального вмісту за умови повного насичення тканини водою.

*Мета роботи.*Обчислити показник дефіциту води в рослинах при відтворенні різноманітних умов клімату в лабораторії.

*Реактиви і обладнання.*Рослинний матеріал, H_2O дистильована, ваги, ексикатор, шафа сушильна, фарфорові стаканчики, піпетки, свердла d=0,8 см, папір фільтрувальний, пінцет, чашки Петрі, пробірки скляні, штатив.

Хід роботи

1. З допомогою свердла витиснути в листовій пластинці 10 отворів, обминаючи великі прожилки.

2. Визначити точну масу отриманих проб рослинної тканини, що мають діаметр 8 мм, на аналітичних вагах та перемістити в чашки Петрі з попередньо налитою дистильованою водою на 2 години (тканини насичуються H_2O).

3. Такі вирубки в тургесцентному стані підсушити з використанням фільтрувального паперу та повторно визначити їх масу.

4. Процедуру насичення водою повторити (тривалість 30 хв) і знову провести зважування (про цілковите насичення тканини листка H_2O свідчить повне співпадіння показника маси вирубок з результатом попереднього визначення).

5. Отримати абсолютно суху речовину з насиченого водою рослинного матеріалу: помістити просушені фільтрувальним папером виїмки в термостійкі стаканчики та не закриваючи їх перемістити до сушильної шафи (t 105 °С, 5

годин). Після висушування матеріал остудити в ексикаторі та визначити його масу. Вказані процеси слід проводити доти, доки результати зважування не будуть аналогічними, тобто маса буде постійною.

6. Маса сухої речовини розраховується як різниця маси стаканчика з вирубками листка до його висушування та опісля.

7. Використовуючи отримані дані за нижче вказаною формулою обчислити показник вододефіциту (*ВД*) в зразку рослин:

$$ВД = \frac{а-б}{а} \text{ х } 100\%,$$

де *а* – кількість води у виїмках за водонасичення, г;

б – початковий вміст води у виїмках, г;

100 – коефіцієнт для перерахунку *ВД,* %.

8. Обчислення релятивної тургесцентності (*РТ*) (частка у % від початкового вмісту H_2O в тканинах листкової пластинки порівняно зі станом насичення) проводиться за формулою:

$$РТ = \frac{в-г}{д-г} \text{ х } 100\%,$$

де *в* – маса сирої тканини до занурення її у воду, г;

г – маса сухої тканини до занурення її у воду, г;

д – маса тургесцентної тканини після насичення її водою, г.

9. Для розрахунку дефіциту релятивної тургесцентності *(ДРТ)* (кількості H_2O, що необхідна для отримання тканинами листкової пластинки стану насиченості) використати наступну формулу:

$$ДРТ = 100\ \% - ВЕ$$

10. Отримані результати оформити у вигляді таблиці (табл.5.1).

Таблиця 5.1.

Показники тургесцентності й вододефіциту

№ п/п	*Маса бюкса, г*	*Сира маса, г*	*Суха маса, г*	*Початковий вміст води, г*	*Кількість води в стані тургесцентності, г*	*Показники водозабезпечення, %*		
						ВД	*ВТ*	*ДВТ*

11. Сформулюватиі записати**висновки**.

Запитання і завдання для контролю:

1. Поясніть термін вододефіцит?

2. Які показники можна використати для оцінки рослинного вододефіциту?

3. Як впливає вододефіцит на фотосинтетичні процеси?

Лабораторна робота № 19.

Дослідження водоутримуючого потенціалу рослин (за Арландом)

Стан інтрацелюлярної води, проникність біомембран забезпечують здатність рослинних клітин втримувати H_2O за високих температур та невисокого парціального тиску в атмосферному повітрі. Водоутримуюча здатність клітин збільшується при зниженні проникності цитоплазматичної мембрани. На цей показник впливає набряк таких органел, як мітохондрії і хлоропласти, збільшення вмісту H_2O у зв'язаному стані. Зворотні внутрішньоклітинні зміни приводять до того, що водоутримуюча здатність клітин, навпаки, знижується. Цей показник характеризує той об'єм H_2O, який присутній в рослинних клітинах опісля впливу певного чинника, яким може виступати осмотичний потенціал середовища, низький тиск водяної пари.

Принцип методу. Величину водоутримуючої здатності оцінюють за методикою, яку запропонував А. Арланд, суть якої полягає у встановленні втрат H_2O рослиною через її підсихання.

Мета роботи. Дослідити водоутримуючу здатність дослідної рослини.

*Реактиви і обладнання.*Квасоля чи пшениця в стадії вегетації, що вирощені в піщаному ґрунті без використання добрива (контроль) та на аналогічному ґрунті з внесеними добривами (дослідні проби); штатив; ніж; розтоплений парафін; ваги аналітичні.

Хід роботи

1. Десять вирощених рослин зрізати і одразу обробити зріз попередньо розтопленим парафіном, задля недопущення втрат вологи.

2. Почергово на вагах визначити масу кожної рослини, після чого помістити їх в штативи. Повторно визначити масу кожного зразка через 30 хвилин, 1 годину та 1,5 години.

3. Результати зважувань внести в табл. 5.2.

Таблиця 5.2.

Водоутримуюча здатність рослин

№ п/п	Маса рослин, г				Кількість випаруваної води за кожні 30 хв, г			Випаро-вуюча маса, г			Втрата води за 30 хв, г			Випару-вана вода за час		
	Термін, хв															
	0	30	60	90	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1																
2																
3																
4																
5																
6																
7																
8																
9																
10																

4. Провести розрахунок кількості H_2O, яка була випарувана (%), упродовж досліджуваних термінів, беручи до уваги початкову масу кожної рослини.

5. Одержані результати щодо водоутримуючої здатності досліджуваних рослин представити у вигляді графічної кривої.

6. Сформулюйте **висновки** по отриманих результатах, а саме водоутримуючій здатності контрольних та дослідних рослин, які вирощені в різних умовах живлення.

Запитання і завдання для контролю:

1. Що називається водоутримуючою здатністю та які фактори на неї впливають?

2. Запропонуйте варіанти матеріалів, якими можна замінити парафін в цій роботі?

3. Чи впливають на водоутримуючу здатність рослинних тканин наявність мінеральних речовин (іонів нітрогену, кальцію, калію)?

Лабораторна робота № 20
Оцінка жаростійкості рослин (за Ф. Ф. Мацковим)

Гіпертермія викликає структурні та функціональні ушкодження плазмалеми, внутрішньоклітинних компартментів, ензимів і білків, пригнічує транслокацію цитоплазми, знижує мітотичний індекс, впливає на поділ клітин та ін. Оцінити адаптацію рослини до впливу високої температури можна визначивши стан фотосинтетичного апарату, а за феофітинізацією хлорофілу є можливість встановити жаростійкість рослини.

Принцип методу. Під дією високої температури у мезофільних клітинах листка змінюється проникність біомембран, через що речовини можуть

покидати межі органел та клітини. Внаслідок таких процесів листок, оброблений розчином HCl, буріє, що свідчить про окиснення хлорофілу (феофітинізація).

Мета роботи. Оцінити жаростійкість рослин.

Реактиви і обладнання. Зелене листя; HCl р-н 0,2 н; баня водяна, керамічні ступки, спиртовий термометр.

Хід роботи

1. Листки, по 5 шт. з кожної рослини, помістити у нагріту до 40°С воду і витримувати упродовж 30 хв.

2. Відібрати першу пробу – 1 листочок кожної рослини і занурити під холодну воду, попередньо налиту в фарфорову ступку.

3. Підвищити t бані до 50°С, за 10 хвилин дістати 2 пробу – 1 листочок кожної рослинки і також занурити під холодну воду.

4. Підвищити t бані до 60°С, за 10 хвилин дістати 3 пробу по 1 листку і охолодити.

5. Повторити маніпуляції при t 70°С (4 проба) і 80°С (5 проба) з наступним охолодженням.

6. Листки після охолодження занурити в HCl (0,2 н) і витримувати у кислоті 20 хвилин. Міру ушкодження листків оцінювали за утворенням та розмірами коричневих плям.

7. Отримані результати оформити як таблицю (табл. 5.3), оцінюючи зміну забарвлення листків за наступною шкалою:

Ознаки	***Оцінка***
відсутність побуріння листя	–
незначне побуріння листя	+
побуріння понад 50% площі листка	++
повне побуріння листя	+++

Таблиця 5.3.

Оцінка стійкості рослин до гіпертермії за ступенем окиснення хлорофілу мезофільних клітин листків

Рослина	*Ступінь пошкодження листя за температури, °С*				
	40	50	60	70	80

8. Сформулюйте та запишіть **висновки** згідно отриманих результатів.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Поясніть суть феофітинізації хлорофілу та що її може обумовити?
2. Які пошкоджуючі фактори викликають окиснення хлорофілу?

Лабораторна робота № 21.

Стійкість рослин до гіпертермії і її оцінка за показником в'язкості цитоплазми

Цитоплазма жаростійких рослини має високу еластичність та в'язкість.

Принцип методу. Термін, що необхідний задля трансформації плазмолізу з увігнутого в опуклий визначається мірою в'язкості цитоплазми клітин.

*Мета роботи.*Оцінка жаростійкості рослин за в'язкістю цитоплазми.

Реактиви і обладнання. Рослинний матеріал (листя цибулі, алое); нейтральний червоний 0,02% р-н; 1М р-н сахарози; папір фільтрувальний; вазелін; скальпель, мікроскоп, скельця (предметні, покривні).

Хід роботи

1. Для приготування мікропрепаратів зробити поперечні зрізи із зразків листя.
2. Нанести на кожен мікропрепарат нейтральний червоний на 5-10 хв.
3. Змити барвник за допомогою дистильованої води, шматком фільтрувального паперу видалити залишки рідини та помістити кожен зріз в краплю р-ну сахарози, нанесеної попередньо на предметне скло.
4. Зверху на зріз помістити покривне скельце, по периметру якого нанести вазелін.
5. Приготовлені пофарбовані препарати дослідити за допомогою світлового мікроскопа.
6. Зафіксувати, за який час увігнутий плазмоліз трансформується в опуклий.
7. Сформулюйте і запишіть **висновки** згідно отриманих результатів.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Чи існує взаємозв'язок в'язкості цитоплазми і жаростійкості рослини?
2. Що називають в'язкістю цитоплазми?

Лабораторна робота № 22.

Визначення холодостійкості рослин в ранніх періодах їх розвитку

Холодостійкістю є властивість кожної рослини адаптуватися у відповідь на дію низької плюсової температури або ж заморозку. Несприятливі холодні умови, що мають вплив у початковому періоді росту рослини шкідливі для подальших етапів вегетації і спричиняють втрати якості та кількості урожаю.

Саме тому для галузі рослинництва важливим є ретельне дослідження реакцій рослинного організму на вплив низької температури.

Принцип методу. Схожість насіння і швидкість росту паростків кукурудзи залежить від здатності цієї рослини адаптуватися до дії гіпотермії.

Мета роботи. Оцінити холодостійкість кукурудзи (різні сорти) за впливу різного температурного режиму.

Реактиви і обладнання. Насіннєвий матеріал кукурудзи, підібраний таким чином, щоб сорти мали різну холодостійкість; холодильні камери з можливістю регулювання t; папір фільтрувальний; касети для розсади.

Хід роботи

1. В касетах розмістити насіння підібраних сортів кукурудзи (по 50-100 шт.), розміщуючи їх на фільтрувальному папері таким чином, щоб у воду був занурений лише кінчик насінини.

2. Холодильні камери попередньо налаштувати на режим 6°С, 10°С, 14°С, та проростити в кожній з них насіння, розміщене на касетах.

3. Частку насінин кукурудзи, які проросли, порахувати у % через 6 днів після того, як посадили.

4. Результати досліду оформити у вигляді таблиці (табл. 5.4).

Таблиця 5.4.

Залежність швидкості проростання кукурудзи від температурного режиму

№ проби	*Сорт кукурудзи*	*Кількість проросли насінин за температури, % від загальної кількості насінин*		
		6°С	10°С	14°С

5. Проаналізуйте результати та запишіть **висновки**.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Охарактеризуйте термін холодостійкість рослин?
2. Назвіть шляхи підвищення холодостійкості рослин?
3. Обґрунтуйте, чому саме кукурудза стала об’єктом дослідження?
4. Перерахуйте ті фізіологічні процеси, на які мають вплив низькі температури?

Лабораторна робота № 23.

Морозостійкість плодових культур та її визначення за кількістюкислоторозчинних флавоноїдних метаболітів

Багаторічні рослини переважно без ушкоджень витримують комплексний вплив різних факторів довкілля у зимовий період та, зокрема, дію морозу, що і називають *морозостійкістю*. Її формування відбувається в визначених кліматичних умовах та з урахуванням віку і фізіологічного стану рослини, особливостей вирощування. Для плодових культур застосовується кілька методів дослідження їх стійкості до морозу: польовий - візуальна оцінка міри ушкодження рослини (число рослин чи їх частин, які загинули); лабораторний – враховує біофізичні, фізіологічні, біохімічні, мікроскопічні показники рослини під час підготовчого періоду та зимівлі; метод М.О. Соловйової – передбачає визначення концентрації метаболітів флавоноїдів, розчинних в хлорній кислоті, що дозволяє просто і швидко порівняти морозостійкість плодових культур та ступінь готовності їх органів до зимового періоду.

Принцип методу. Морозостійкі рослини у корі та бруньках пагонів в більшій мірі накопичують антоціани та флавоноїди.

Мета роботи. Дослідити морозостійкі сорти яблунь та абрикосів на вміст в корі й бруньках флавоноїдних метаболітів.

Матеріали, реактиви, обладнання. Пагони морозостійких яблунь (Антонівки, Кальвілю снігового, Ранету Симиренка тощо) і абрикосів (Київського раннього, Червонощокого й ін.), пісок кварцовий, 5 % р-н $HClO_4$, скальпель, спектрофотометр, ступки фарфорові.

Хід роботи

1. З центральної частини пагонів абрикосів і яблунь зняти з допомогою скальпелю кору та бруньки.

2. Посікти відібрані зразки та з кожного взяти 2 проби наважки масою 200 мг та 500 мг.

3. До подрібненого матеріалу у фарфоровій ступці додати кварцовий пісок, (на кінчику скальпеля), 1,2 мл 5% р-ну $HClO_4$ та з допомогою товкачика максимально гомогенізувати.

4. Всю перетерту кашку кількісно перемістити у мірний стаканчик, промивши ступку розчинником, та довести об’єм до 10 мл. Відстояти 1,5 години з періодичним помішуванням.

5. Отриманий настій (червоного кольору) перелити в чисту пробірку так, щоб не потрапив осад. У разі, коли осад не утворився, то проби слід відцентрифугувати (5 хв при 1,5 тис об/хв). Далі у роботі використовувати надосад.

6. Провести вимірювання оптичної густини поглинання надосадової рідини за λ 520 нм (видимий діапазон), використовуючи спектрофотометр.

7. Результати вимірювання оформити у вигляді таблиці (табл. 5.5).

Таблиця 5.5.

Кислоторозчинні метаболіти в корі і бруньках пагонів

№ проби	*Об'єкт*	*Оптична густина поглинання розчинів за відповідної довжини хвилі, нм*	
		520	*364*
1	Кора		
	Бруньки		
2	Кора		
	Бруньки		
3	Кора		
	Бруньки		
4	Кора		
	Бруньки		

8. Розвести надосадову рідину 1:10 та провести вимірювання оптичної густини за λ364 нм (ультрафіолетовий діапазон).

9. Внести результати вимірювання до таблиці 5.5.

10. Проаналізувати результати та написати **висновки** щодо взаємозв'язку між вмістом метаболітів флавоноїдів і морозостійкістю рослин.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Що за речовини флавоноїди і які умови стимулюють їх синтез в рослині?

2. Обґрунтуйте необхідність саме кислотної екстракції метаболітів, чому не використовувався ацетон або етиловий спирт?

Лабораторна робота № 24.

Вивчення газостійкості рослин

Проникнення шкідливих газоподібних речовин із довкілля в клітини мезофілу листя відбувається через продихи, які є специфічними утвореннями, які забезпечують транспірацію і газообмінпри фотосинтезі. Дія газоподібних забруднювачів на листя визначається ярусністю, морфоанатомічними і фізіолого-біохімічними характеристиками, метаболізмом полютантів. Такі рослини як тополя, троянда, липа характеризуються високим рівнем газостійкості, тоді як хвойні і гіркокаштан є чутливими. Газостійкі види рослин мають тривалий вегетаційний період, пізніше та нетривале квітнення, розвиненішу кореневу систему. Газонесприятливі умови викликають суттєві порушення водного режиму рослин з втратами вологи і такі зміни викликають зниження їх маси.

Принцип методу. За шкідливої дії газів у великій кількості втрачається листям вода, що супроводжується порушенням механізмів регуляції

транспірації. Необхідним є дослідити ці втрати в кількісному виразі в розрахунку на масу конкретної площі листової пластинки перед газовим впливом та опісля нього.

Мета роботи. Встановити стійкість листя до газоподібних речовин з огляду на їх функціональні таструктурно-морфологічні ознаки. Дослідити вплив віку, а відповідно і ярусності листків, на їх рівень стійкості до дії газів.

Реактиви і обладнання. Листки, ваги, газонепроникні камери, керамічні ступки, озонатор, свердло 0,10 см, пінцет анатомічний, годинник.

Хід роботи

1. В листових пластинках різного ярусу свердлом витиснути по 5 вирубок так, щоб проби можна було взяти повторно після газового впливу.

2. Вирубки дістати з отвору і визначити їх масу та розмістити кожну окремо вверх продихами на папері.

3. Іншу частину листків розмістити під витяжною шафою в камерах, куди попередньо поставили ступки з відповідними реактивами, та витримати 30 хвилин.

4. Накамеру розміром 0,5х0,5х0,5 $м^3 V=0,125$ $м^3$ концентрація газу має бути NO_2 – 10^{-2} % об., SO_2 –10^{-3} % об., O_3 – 10^{-5} % об., тому з огляду на відповідне рівняння реакції слід розрахувати об'єм реактиву.

$$Na_2SO_3 + H_2SO_4 = Na_2SO_4 + O_2 + H_2O$$
$$Cu + 4HNO_3\ (конц.) = Cu(NO_3)_2 + 2NO_2 + 2H_2O$$
$$2KMnO_4 + 3H_2SO_4\ (конц.) = K_2S0_4 + 2MnSO_4 + O_3 + 3H_2O$$

5. Зробити аналогічні вирубки з листових пластинок, які піддавали впливу газів, і так же, як контрольні зразки, розмістити кожну з них догори продихами. Зважувати з інтервалом 15 хвилин, щоб моніторити процес втрати води в динаміці.

6. До таблиці записати масу дисків в контрольній та дослідній пробах.

Таблиця 5.6.

Аналіз газостійкості рослин

№	*Проба*	*Яруси листя*	*Газ*	*Маса дисків, мг*			
				0 хв	*1 хв*	*15 хв*	*30 хв*
1	Контроль	Середній	SO_2				
			NO_2				
			O_3				
		Верхній	SO_2				
			NO_2				
			O_3				
2	Дослід	Середній	SO_2				
			NO_2				
			O_3				
		Верхній	SO_2				
			NO_2				
			O_3				

7. Зробити **висновки** згідно отриманих результатів щодо рівня стійкості до досліджуваних газів.

Запитання і завдання для самоконтролю

1. Чому зручним об’єктом оцінки стійкості до газів є листові пластинки?
2. Назвіть найчутливіші до шкідливих газів тканини листків.

Лабораторна робота № 25.

Оцінка пероксидазної активності в клітинах рослин

Пероксидази(КФ 1.11.1.) – ензими класу оксидоредуктаз, що здійснюють каталіз реакцій окиснення субстратів із залученням H_2O_2:

$$H_2O_2 + AH_2 \longrightarrow A + 2H_2O$$

де А – окиснена, AH_2 – відновлена форма субстрату.

В рослинних тканинах, як і в тканинах багатьох інших живих організмів, пероксидази є досить поширеними ензимами, що локалізуються в клітинній стінці й спеціальних органелах - пероксисомах. Пероксидаза має більше 20 ізоформ і може змінювати свою активність залежно від стадії онтогенезу рослини та під дією стрес-факторів. Цей ензим разом з каталазою виконує ряд функцій: перешкоджання наростанню кількості H_2O_2 в клітині; регуляція фітогормонального статусу рослини окисненням ІОК (індолілоцтова кислота), синтезом етилену; нейтралізація продуктів вторинного обміну (фенолів).

Принцип методу. Оцінка пероксидазної активності має в основі визначення забарвлення, що виникає внаслідок окиснення фенолів, до яких належить гваякол, бензидин, катехол, гідрохінон, а сам метод має назву *гваяколового*:

$$\text{Фенол} + H_2O_2 \xrightarrow{\text{пероксидаза}} \text{Хінон} + 2H_2O$$

Окиснення гваяколу відбувається під дією пероксидази за наявності H_2O_2. При цьому утворюється тетрагваякохінон (коричнево-червона речовина), забарвлення якої дозволяє дати спектрофотометричну оцінку швидкості ензиматичної реакції.

*Мета роботи.*Встановити пероксидазну активність в рослинних клітинах.

*Реактиви і обладнання.*Проростки гороху (листя); 67 мкМ буфер фосфатний (pH 6,5-6,7), р-н H_2O_2 (0,1 %), гваякол (366 мг / 100 ml води); товкачики, ступки, лійки скляні, градуйовані колби V=50 ml, хімічні стаканчики V=100 ml, піпетки V=2-5 ml, фільтрувальний папір, спектрофотометр, кювети.

Хід роботи

1. Зважити відокремлені з проростків гороху листки (100 мг) та гомогенізувати їх з 10 ml фосфатного буферу з допомогою товкачика і ступки.

2. Гомогенізовану суміш кількісно перемістити в колбу V= 50 ml, долити буфер до позначки, змішати і відстоювати 15 хвилин.

3. Отриману суміш відфільтрувати через 2 шари фільтрувального паперу чи центрифугувати 10 хвилин за швидкості 3000 об/хв.

4. Супернатантвикористовують у спектрофометричних дослідженнях для оцінки активності ензиму при довжині хвилі 440 нм за швидкістю кольорової реакції 0,025-0,4 ум.од.

5. Контрольна проба (К) - відміряти 2 ml дистильованої H_2O, у дослідну пробу (2 паралельних пробірки, відповідно Д1 і Д2) - 2 ml супернатанту.

6. Потім до кожної пробірки (К, Д1 і Д2) додати по 2 ml буферу.

7. Далі вміст пробірки перелити у кювету, помістити її у СФ, додати 2 ml 0,1% р-ну H_2O_2 і одразу увімкнути секундомір.

8. Переливати проби з пробірок у кювету слід по черзі, попередньо промиваючи кювету дистильованою водою.

9. Пробу ретельно і обережно перемішати з допомогою скляної палички.

10. Зміну оптичного поглинання реакційної суміші спостерігати у динаміці за утворенням забарвлення.

11. У динаміці за допомогою секундоміра зафіксувати оптичне поглинання.

12. Результат порахувати використовуючи формулу:

$$A = \frac{D \cdot \alpha \cdot \beta \cdot \gamma}{t \cdot d},$$

де A – активність ензиму (відносні одиниці на сиру речовину, маса якої 1 г за час 1 с; D – екстинція при 440 нм; t – час в секундах; d – шлях в сантиметрах, який проходить промінь в рідині, рівний ширині кювети; α, β, γ – індекси розведення: α – співвідношення кількості фосфатного буферу, що пішла на розведення гомогенату (50 ml), до його маси, яка була використана (0,1г); β – коефіцієнт повторного розведення супернатанту (в разі виконання такої процедури); γ – розведення зразків у кюветах (=4).

13. Отримані результати спектрофотометричних досліджень оформити у вигляді таблиці 5.7.

Таблиця 5.7.

Пероксидазна активність у рослинних тканинах

№ проби	*Оптична густина, ум.од.*	*Активність пероксидази, ум.од.*
К		
Д1		
Д2		

14. Запишіть **висновки** за отриманими результатами стосовно пероксидазної активності в листі гороху.

Запитання і завдання для самоконтролю:

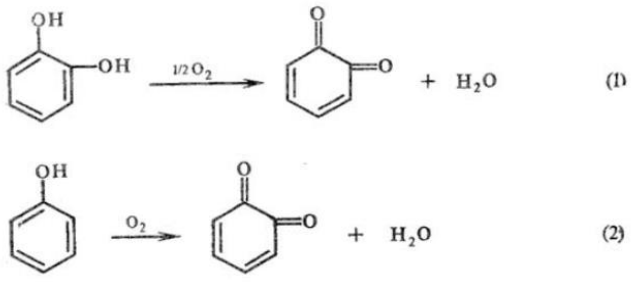
1. Як корелюється пероксидазна активність з інтенсивністю пероксидного окиснення ліпідів?
2. Які залізовмісні ензими залучені у процеси дихання?

Лабораторна робота № 26.

Метод О.М. Бояркіна: оцінка поліфенолоксидазної активності тканин рослини

ПФО(*поліфенолоксидаза, фенолоксидаза, катехолоксидаза)* (КФ 1.10.3.1) - ензим класу оксидоредуктаз, який проявляє:

1. катехолазну чи дифенолоксидазну активність -*о*-дифеноли окиснюються до *о*-дихінонів;
2. креозолазну чи монофенолгідролазну активність – монофеноли піддаються *о*-гідроксилюванню:

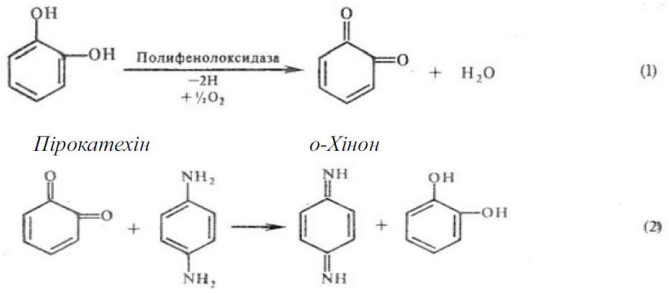


Синтез і розпад рослинних фенолів здійснюється такими шляхами: окисненням та гідроксилюванням.

Цей ензим належить до купрумвмісних, що каталізує перетворення хлорогенової, галлової кислот, катехолу, пірокатехіну й інших *о*-дифенолів. Субстрати окиснюються ПФО з застосуванням одноелектронного механізму,

при цьому утворюються вільні радикали і активні форми оксигену. pH-оптимум поліфенолоксидази коливається в діапазоні 5,0-7,0.

Принцип методу. Активність ПФО оцінюють за швидкістю утворення кольорових продуктів, що синтезуються при окисненні фенолів. Продуктами реакції є пірокатехін-*р*-фенілендиамін чи пірокатехін-діетил-*р*-фенілендиамін, присутність яких реєструють спектрофотометрично (ультрафіолетова ділянка спектру).



*Мета роботи.*Встановити поліфенолоксидазну активність в рослинних тканинах.

Реактиви і обладнання. Горохові, квасолеві, соняшникові чи картопляні проростки; 67 мкМ фосфатна буферна суміш, pH 7,0-7,4; пірокатехін 1% (розчин готувати перед використанням), диметил-*р*-фенілендиамін 0,02 % (розчин готувати перед використанням); товкачики, керамічні ступки, лійки, градуйовані колби V 25 ml, стаканчики V 50, 100 ml, піпетки, фільтрувальний папір, центрифуга лабораторна, спектрофотометр, ваги аналітичні, годинник.

Хід роботи

1. Корінці чи листки проростків (250-500мг) помістити в керамічну ступку та перетерти, поступово додаючи фосфатний буферний розчин (10 ml).

2. Отриманий гомогенат перелити в колбу і тим же буферним розчином довести V до 50 ml.

3. Після перемішування залишити відстоюватися упродовж 15 хв.

4. Отриману суміш відфільтрувати через 2 шари фільтрувального паперу чи центрифугувати 10 хвилин за швидкості 3000 об/хв.

5. Надосадову рідину використовують у спектрофометричних дослідженнях для оцінки активності ензиму λ=590 нм за швидкістю реакції 0,025-0,4 ум.од.

6. Контрольна проба (К) - відміряти 2 ml дистильованої H_2O, у дослідну пробу (2 паралельних пробірки, відповідно Д1 і Д2) - 2 ml супернатанту.

7. Потім до кожної пробірки (К, Д1 і Д2) додати по 2 ml буферу та 2 ml диметил-*р*-фенілендиаміну.

8. Далі вміст пробірки перелити у кювету, помістити її у СФ, додати 2 мл пірокатехіну і одразу увімкнути секундомір.

9. Переливати проби з пробірок у кювету слід по черзі, попередньо промиваючи кювету дистильованою водою.

10. Вміст кювети ретельно і обережно змішувати за допомогою скляної палички.

11. Спостерігати утворення кольорових продуктів і зміну оптичної густини поглинання та зафіксувати необхідну оптичну густину поглинання секундоміром за певний термін.

12. Аналогічні виміри провести з іншими дослідними пробами.

13. Активність ензиму розрахувати за формулою:

$$A = \frac{D \cdot \alpha \cdot \beta \cdot \gamma}{t \cdot d},$$

де A – активність ензиму (відносні одиниці на сиру речовину, маса якої 1 г за час 1 с; D – екстинція при 440 нм; t – час в секундах; d – шлях в сантиметрах, який проходить промінь в рідині, рівний ширині кювети; α, β, γ – індекси розведення: α – співвідношення кількості фосфатного буферу, що пішла на розведення гомогенату (50 ml), до його маси, яка була використана (0,5 г); β – коефіцієнт повторного розведення супернатанту (в разі виконання такої процедури); γ – розведення зразків у кюветах (=4).

14. Отримані результати спектрофотометричних досліджень оформити у вигляді таблиці 5.8.

Таблиця 5.8.

Поліфенолоксидазна активність в рослинних тканинах

№ проби	*Оптична густина, ум.од.*	*Активність пероксидази, ум.од.*
К		
Д1		
Д2		

15. Запишіть **висновки** за отриманими результатами стосовно поліфенолоксидазної активності в тканинах паростків рослин.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Біологічна роль поліфенолоксидази в організмі рослин?
2. Які купрумвмісні ферменти приймають участь в метаболізмі рослин?

Лабораторна робота № 27.

Оцінка життєздатності клітин внаслідок дії токсикантів за використання вітального барвника

Зручним методом оцінки життєздатності клітин за використання світлової мікроскопії є фарбування вітальними барвниками, зокрема метиленовим синім, нейтральним червоним, малахітовим зеленим та іншими. За нормального функціонування, клітини накопичують барвники у вигляді гранул переважно в апараті Гольджі, тоді як у пошкоджених клітинах забарвлення поширюється дифузно як в цитоплазмі, так і ядрі. Клітина здатна відновити свою функціональну активність після видалення токсиканта (обернена фаза

пошкодження), що можна спостерігати за відновленням гранул (утворення і накопичення), при цьому дифузно забарвлена протоплазма знебарвлюється.

Принцип методу. Властивістю вітальних барвників є здатність проникати та дифузно накопичуватися у пошкоджених/мертвих клітинах, або у вигляді гранул у живих клітинах.

*Мета роботи.*Встановити міру ушкодження рослинних клітин пероксидом водню (H_2O_2) та біхроматом калію ($K_2Cr_2O_7$) за використання вітального барвника (0,4% трипановий синій).

Реактиви і обладнання. Рослинні тканини з елодеї (верхівки пагонів) чи валіснерії (ближче до основи); H_2O_2; $K_2Cr_2O_7$; 0,4% трипановий синій; скельця, мікроскоп, скляні градуйовані стаканчики і колби V 100 ml, піпетки.

Хід роботи

1. Розвести токсиканти до концентрацій: H_2O_2 - 20; 50; 100 мкМ; $K_2Cr_2O_7$ - 0,01; 0,1; 1,0 mg/l.

2. Відібрані частини рослин помістити у хімічні стакани та залити до їх повного занурення підготовленими розчинами H_2O_2 та $K_2Cr_2O_7$ – експозиція 1 година.

3. По завершенні цього часу перенести рослини в трипановий синій 0,4 % концентрації і також залишити на 1 годину.

4. Використовуючи предметні і покривні скельця з частинки кожної рослини зробити мікропрепарати та розглянути їх під мікроскопом.

5. Невикористані частини рослин перемістити в ємності з дистильованою H_2O та залишити ще на 1 годину, що дозволить з’ясувати ті концентрації токсикантів, які викликають зворотні зміни (клітина може відновитись), про що свідчить утворення гранул барвника. З цих рослин також приготувати мікропрепарати та розглянути їх під мікроскопом.

6. Користуючись таблицями зі шкалою, оцініть рівень накопичення трипанового синього та інтенсивність забарвлення клітин:

Ознаки	***Оцінка***
відсутність гранул (дифузне забарвлення)	–
слабке (поодинокі гранули)	+
середнє (невеликі китиці на фоні поодиноких гранул)	++
інтенсивне (великі китиці гранул)	+++

Ознаки	***Оцінка***
відсутність забарвлення	0
слабке (світло-рожеве)	1
середнє (інтенсивно-рожеве)	2
інтенсивне (яскраво малинове)	3

7. Результати внесіть в табл. 5.9.

Таблиця 5.9.

Оцінка змін у при вітальному забарвленні клітин після дії H_2O_2 та $K_2Cr_2O_7$

Рослина	*Токсикант, концентрація*	*Забарвлення клітин після витримування у розчині токсиканта*		*Забарвлення клітин після витримування у розчині токсиканта і dist. H_2O*
		гранулярне	*дифузне*	
Валіснерія	20 мкМ H_2O_2			
	50 мкМ H_2O_2			
	100 мкМ H_2O_2			
	0,01 мг/л K2Cr2O7			
	0,1 мг/л K2Cr2O7			
	1,0 мг/л K2Cr2O7			
Елодея	20 мкМ H_2O_2			
	50 мкМ H_2O_2			
	100 мкМ H_2O_2			
	0,01 мг/л K2Cr2O7			
	0,1 мг/л K2Cr2O7			
	1,0 мг/л K2Cr2O7			

8. Сформулюйте **висновки** стосовно випадків оберненого та необернеого ушкодження клітин за різного вмісту досліджуваних токсикантів в розчинах.

Запитання і завдання для самоконтролю:

1. Які вітальні барвники використовуються у цитоплазматичних дослідженнях?
2. Який механізм їх дії?
3. Назвіть органели рослинних клітин, які акумулюють токсиканти і барвники?
4. Чому різні ділянки клітини неоднорідно накопичують вітальний барвник?

Питання для обговорення та самоперевіркидо Розділу

1. Чи існує співвідношення між стійкістю і надійністю рослин?
2. Чому саме у рослин виявляється високий рівень стійкості лише за екстремальних умов?
3. Як пояснити явище масового опадання недостиглих плодів за тривалої посухи?
4. Як пояснити прояв фізіологічних адаптацій до екстремальних умов у рослин?
5. Яка особливість прояву біохімічних і фенотипових адаптацій?
6. Назвіть ті зміни, що індукуються в онтогенезі рослин при морозостійкості?
7. Які біохімічні процеси включаються у рослин для нейтралізації токсичних речовин, в тому числі забруднювачів навколишнього середовища?

8. Яку роль виконують поживні речовини в органах і тканинах багаторічних рослин, що зимують, і де їх більше накопичується?

Список використаної літератури

1. Burma V. A Text Book of Plant Physiology for under graduate and Post graduate students. Edited and production associated by Prem kumar Mehta. Emkay Delhi: Publishing House, Swami Dayanand Marg,2001. 110051. 201 p.
2. Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants. Second Edition. Academic Press, 1997. 889 p.
3. Pandey S. N., Sinha B. K. A Text Book of Plant Physiology. Vikas Publishing House Pvt. Ltd., 2015. 514 p.
4. Pessarakli M. Handbook of Photosynthesis. Tucson: CRC Press, 2016. 846 p.
5. Pessarakli M. Handbook of Plant and Crop Physiology. Tucson: CRC Press, 2021. 1200 p.
6. Susheela M Das. Latest Portfolio of Theory and Practice in Plant Physiology. New Delhi: Dominant Publishers and Distributors, 2011. 110002. 816 p.
7. Академік Власюк Петро Антипович (1905–1980) : біобібліогр. покажч. / УААН, ДНСГБ, НАУ ; уклад. : В.А. Вергунов, М.М. Городній, А.Г. Сердюк, А.П. Лісовал, Т.Ф. Дерлеменко, О.П. Анікіна, Н.Г. Чайка, О.О. Черниш ; наук. ред. В.А. Вергунов. К. ННЦ ІАЕ, 2005. 110 с. ; порт. (Сер. «Біобібліографія вчених-аграрріїв України. Кн. 12.
8. Анішин Л. А., Пономаренко С. П., Грицаєнко З. М. Регулятори росту в рослинництві. Київ : Міжвід. наук.-техн. центр «Агробіотех», 2007. 28 с. 11.
9. Береговий П. М., Лагутіна М. А. Володимир Миколайович Любименко (1873–1937). Видатні вітчизняні ботаніки. Вид. 2-е, (переробл. і доповн.). Київ, 1969. С. 168–171.
10. Борисюк В. О. Фізіолого-біохімічні показники в селекції однонасінних цукрових буряків : зб. наук. праць [Інституту цукрових буряків]. 2010. Вип. 11. С. 181–189. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/znpicb_2010_11_27
11. Брайон О. В. [та ін.]. Фізіологія рослин : практикум : навч. посібник для студ. вищих навч. закладів, що вивч. дисципліну «Фізіологія рослин» / ред. М. М. Мусієнко. Київ : Вища шк., 1995. 191 с.:іл.
12. Бугаєвський М. Ф. Як визначити стан озимини / УНДІ рослинництва. Харків : Держсільгоспвидав, 1933. 64 с. : мал.
13. Вергунов В. А. Історія інституалізації агрохімічної науки в Україні у світлі творчої спадщини академіка АН УРСР О. І. Душечкіна (до 140-річчя від дня народження). Вісник Національного технічного університету «ХПІ». Серія : Історія науки і техніки. Київ. 2014. № 59. С. 46-52.
14. Вергунов В. А., Григорюк І. П., Лютова Т. І. Євген Пилипович Вотчал – засновник української школи фізіологів рослин і ботаніків. Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. 2005. № 2. С. 171–178.
15. Веселовський І. В., Лисенко А. К., Манько Ю. П. Атлас-визначник бур'янів. Київ : Урожай, 1988. 72 с.
16. Власюк П. А. Академік О. І. Душечкін: біографічний нарис. Київ, 1968. 80 с.

17. Воловик О. Г. Фотофорилювання білків фотосинтетичних мембран та його роль у регуляції фотосинтезу. Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. 2001. Т. 1. С. 75–86.
18. Георгій Хрисанфович Молотковський – вчений-фізіолог рослин, педагог. Біоресурси і природокористування. 2014. Т. 6, № 1–2. С. 195.
19. Горова А. І., Орлов Д. С. Гумінові речовини. Київ : Наук. думка, 1995. 230 с.
20. Григорюк І. П. Полозенко Л. П. Професор Іван Михайлович Толмачов : життєвий шлях і науково-педагогічнаспадщина(1888–1979). Київ: видав. центр НУБіП України, 2013. 28 с.
21. Григорюк І. П. Федір Пилипович Мацков (1897–1977). Вісн. Харків. аграр. університету. Сер. Біологія. 2012. Вип. 3(27). С. 114–115.
22. Григорюк І. П., Бойко О. А., Прилуцька С. В. Фізіологія рослин з основами біохімії: практикум. Київ: Аграр Медіа Груп, 2014. 148 с.
23. Григорюк І. П., Нижник Т. П. Фізіологічні основи регуляції посухостійкості картоплі. Хмельницький–Київ : Вид-во Сергія Пантюка. 2004. 236 с.
24. Грицаєнко З. М., Грицаєнко А. О. Вплив гербіцидів на анатомічну будову злакових рослин і формування їх продуктивності. Біолого-екологічні основи вирощування с.-г. культур в умовах Лісостепу України : зб. наук, праць. Уманський СГІ. Київ : Сільгоспосвіта, 1994. С.61–72.
25. Гродзинський А. М. Основи хімічної взаємодії рослин. Київ : Наук. думка, 1973. 190 с.
26. Гродзинський Д. М., Гуляєв Б. І., Макаренко К. І., Імануїльський Д. В. Особливості газообміну листя цукрових буряків при різкому послаблені інтенсивності світла. Доп. АН УРСР. 1969. № 6. С. 560–563.
27. Гуляєв Б. І. Екофізіологія фотосинтезу: досягнення, стан і перспективи досліджень. Фізіологія рослин на межі тисячоліть. Київ : Фітосоціоцентр, 2001. Т. 1. С. 60–74.
28. Доброчаєва Д. М., Любінська Л. Г., Рибалко О. Л. Нестор Гаморак : Сторінки життя вченого. Український ботанічний журнал. 1993. Т. 50. № 5. С. 86–92.
29. Довідник агронома по удобренню: довід. вид. / під ред. П. А. Власюка, П. О. Дмитренка. 2-ге вид., перероб. і доп. Київ : Урожай, 1966. 672 с.
30. Екологічна фізіологія рослин: підручник / Скляр В. Г.; за заг. ред Ю. А. Злобін. Суми: Університетська книга, 2018. 271 с.
31. Злобін Ю. А. Курс фізіології і біохімії рослин: підручник. Суми: ВТД «Універсальна книга», 2004. 464 с.
32. Коваленко О. А. Стрес та адаптація рослин: методичні рекомендації. Миколаїв: Видавничий відділ Миколаївського національного аграрного університету, 2020. 71 с.
33. Коновалова О. Ю., Лебеда А. П. Цілюще зілля (звіробій у терапії й профілактиці захворювань). Київ : Медкнига, 2008. 288 с. : іл.
34. Костишин С. С. Поліфункціональність гетерозису рослин : монографія. Чернівці : Рута, 2006. 254 с.

35. Кравець В. С. Адаптація рослин до низьких температур і експресія у них генів, що регулюються холодом . Физиология и биохимия культур. растений. 1999. 31, № 6. С. 403–413.
36. Льовшин А. М. До теорії первинного органічного синтезу, властивого зеленій рослині. Наукові записки Київського університету: Біологічний збірник. 1935. №1–2, с. 49–72
37. Маковецька О. Ю., Марковський А. Л., Лебеда А. П. Вміст флавоноїдних сполук у дикорослих видів роду звіробій флори України. Фармац. журн. 2000. № 4. С. 70–75.
38. Макрушин М. М., Макрушина Є. М., Петерсон Н. В., Мельников М. М. Фізіологія рослин : підручник / за редакцією професора М. М. Макрушина. Вінниця: Нова Книга, 2006. 416 с.
39. Мананков М. К., Мананкова О. П. Роль світла і гібереліну в морфогенезі суцвіть та вусиків винограду. Український ботанічний журнал. 2004. Т. 61, № 1. С. 111–118. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/UBJ_2004_61_1_17
40. Мацьків Т. І., Букачук О. М., Деревенко О. С., Мельник П. О., Кондурацька Н. Л., Соколова В. М., Должицька А. Г., Ягодинець П. І. Вплив стимуляторів росту рослин на стійкість картоплі до грибних захворювань. Тези доп. Міжнарод. наук. конф. «Навколишнє середовище і здоров'я». Чернівці, 1993. С. 153.
41. Мережко О. І., Величко М. І. Таємниці зеленої фабрики. Київ: Наукова думка, 1990. 104 с.
42. Меркушина А. С. Використання регуляторів росту в імунітеті рослин : зб. наук. праць [присвячено 100-річчю з дня народження С. С. Рубіна]. Умань : УСГА, 2000. 464 с.
43. Моргун В. В., Мусіяка В. К., Яворська В. К.Історія розвитку фізіології рослин в Україні. Фізіологія рослин на межі тисячоліть. Т. 1. Київ, 2001. С. 6–19.
44. Мордерер Є. Ю., Мережинський Ю. Г. Гербіциди. Том 1. Київ : Логос, 2009. 379 с.
45. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин: підручник. Київ: «Либідь», 2005. 808 с.
46. Мусієнко М. М. Фотосинтез : навч. посібник для студ. вузів, що вивч. дисципліну «Фотосинтез». Київ : Вища шк., 1995. 247 с.:іл.
47. Мусієнко М. М., Славний П. С. Біологія : основні поняття. 3.вид. Київ : Либідь, 1996. 96 с.
48. Оканенко А. С. Фізіологічні основи підвищення цукристості цукрових буряків : наукове видання. Київ : Наукова думка, 1966. 312 с.
49. Орловський М. Професор В. В. Колкунов : Біогр. нарис. зап. Київ. с.-г. інституту. 1929. Т. 4. С. 4–6.
50. Пілецька О. В., Пілецький С. А., Лаврік М. В., Сергеєва Т. А., Панасюк Т. Л., Созінов О. О. Створення оптичної системи детекції гербіцидів на основі Д1 білку. Агроекологія і біотехнологія : зб. наук. праць.1998. № 2. С. 74–79.
51. Проблеми фітогормонології / Укр. ботан. т-во, Укр. т-во фізіологів рослин, Ін-т ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України ; голов. ред. К. М. Ситник. Київ : [б.в.], 2007. 420 с. : рис., табл.

52. Сакало В. Д., Пономаренко С. П., Боровикова П. С. Регулятори росту рослин у землеробстві. Київ : Аграр. наука, 1993. С. 48–51.
53. Стасик О. О., Кірізій Д. А. Регуляторні зв'язки і лімітувальні чинники в системі фотосинтез-продукційний процес та перспективи їх оптимізації. Физиология и биохимия культурных растений. 2011. Т. 43, № 3. С. 226–238.
54. Табенцький О. О. Анатомія та біологія цукрових буряків. Київ, 1926. 56 с.
55. Терек О. І. Пацула О. І. Ріст і розвиток рослин: навч. посібник. Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2011. 328 с.
56. Ткачук К. С., Богдан Т. З. Азотний обмін і адаптація рослин до умов живлення. 2000, Аверс. 200с.
57. Троян В.М. Клітинний цикл рослин та його регуляція / НАН України, Ін-т фізіології рослин та генетики. Київ : Наукова думка, 1998. 171 с.
58. Турченюк Л. О., Шевченко М. О., Шевченко О. І. Вивчення залежності між урожайністю та якістю зерна ярої пшениці за обробки насіння регуляторами росту. Наук.-техн. бюл. МІП. Вип. 2. Київ : Аграрна наука, 2002. С. 236–242.
59. Уманець Н. О., Гуляєв Б. І. Роль процесів реутилізації вуглецю і азоту у формуванні зернової продуктивності гібридів кукурудзи за різних умов вирощування. Физиология и биохимия культур. растений. 2000. 32, № 3. С. 179–183.
60. Федоровский А. Д., Сиренко Л. А., Звенигородский Э. Л. и др. Оценка экологического состояния водоемов с использованием космической информации. Космічна наука і технологія. 1996. № 5–6. С. 103–106.
61. Фекета І. Ю. Фізіологія рослин: методичні вказівки. Ужгород: Видавництво УжНУ «Говерла», 2011. 56 с.
62. Христова Т. Є., Мусієнко М. М. Наукова спадщина Євгена Пилиповича Вотчала (до 145-річча від дня народження). Физиология и биохимия культ. растений. 2009. №3, т. 41. С. 268–273.
63. Христова Т. Є., Мусієнко М. М. Становлення та розвиток фітофізіології в Україні : монографія / Держ. вищ. навч. закл. «Запоріз. нац. ун-т», Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. Мелітополь : Вид. будинок ММД, 2012. 466 с. : рис., табл.